

【原著・基礎】

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* の世代時間と
vancomycin の抗菌力に関する検討

藤田 欣一・長町 幸雄・鈴木 隆男

群馬大学医学部第一外科学教室*

(平成9年5月22日受付・平成9年6月24日受理)

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) の世代時間 (generation time) と vancomycin (VCM) の抗菌力との関係を細菌学的な立場から検討を行った。その結果、

1) VCM の抗菌力は菌の培養条件、すなわち対数期と定常期、培養温度 35 °C と 30 °C の比較ではいずれも世代時間が長い条件下の方がより低濃度で菌の増殖を抑制した。

2) 培地の条件を変えて臨床分離の MRSA 25 株の世代時間と VCM の最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。世代時間は感受性測定ブイオン (ニッスイ: STB) では平均 1.8 時間 (h) (1.3~2.8 h) であったが、培地の成分を 1/2 にした 1/2 STB では 2.1 h (1.5~4.3 h), 1/4 STB では 4.0 h (2.3~15.0 h) と培地の条件が悪くなるほど長くなった。VCM の MIC の感受性のピークは感性ディスク用培地 N (ニッスイ: STA) では 1.56 µg/ml が 21 株 (84.0%), 1/2 STA では 0.78 µg/ml が 21 株 (84.0%), 1/4 STA では 0.78 µg/ml が 23 株 (92.0%) であり培地の条件が悪くなるほどより低濃度で MRSA の増殖を抑制した。また培地の条件は変えずに菌の培養温度を 30 °C とした時の MIC は 0.78 µg/ml が 24 株 (96.0%) ともっとも多く、35 °C の時の 1.56 µg/ml が 21 株 (84.0%) と比べて 1/2 の濃度で抑制した。つまり VCM の抗菌力は菌の世代時間が長くなる条件下ほど強い傾向がみられた。

3) MRSA 25 株より一濃度ディスク法にて選んだ代表 3 株に対して imipenem (IPM) を作用させた時の増殖曲線を測定すると、濃度依存性に世代時間が長くなり、その増殖に影響のみられる菌株に対する VCM の抗菌力は良好であった。また、かかる菌株に対して VCM と IPM の併用効果はより強かった。

以上、VCM の抗菌力は菌の培養条件、培地の条件、併用する薬剤による世代時間の延長に伴い抗菌力が強くなった。

Key words: MRSA, vancomycin, 世代時間, 抗菌力, 併用効果

院内感染症の原因菌の一つであるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) は、多剤耐性化傾向を示すため本感染症に対する治療には困難をきわめているのが現状である。多剤耐性であるため一部の抗菌薬を除くと単剤では十分な抗菌力を示さない。また β-ラクタム薬を中心にいろいろな併用効果が検討され、その有効性が臨床面でも証明されてきている。たとえば、β-ラクタム薬と fosfomycin (FOM), β-ラクタム薬とアミノグリコシド系薬、ペニシリン結合蛋白 (PBP) に対する親和性の違いを利用した β-ラクタム薬の併用などが報告されている¹⁻⁵⁾。その後 1990 年代になり単剤で抗菌作用の期待ができる arbekacin (ABK), vancomycin (VCM) が市販され MRSA 感染症の治療上の問題は解決の方向へ向かっている⁶⁻⁹⁾。

VCM は 1958 年米国で *Amycolatopsis orientalis* から分

離されたグリコペチド系薬である。現在まで MRSA に対しての明らかな耐性上昇の報告はない。VCM は細菌の細胞壁の構成ブロックである murein monomer の一部である D-alanyl-D-alanine に結合して、murein monomer が細胞壁の一部として組み込まれるのを阻害する。その結果として細胞壁合成をストップすることで¹⁰⁾、*S. aureus* をはじめとするグラム陽性菌に対して優れた抗菌力を発揮する。しかしグラム陰性菌に対してほとんど抗菌力を示さない。また投与方法を順守しないと副作用として腎毒性、ヒスタミン遊離作用などがあり抵抗力の減弱した高齢者にとっては致命的ともなりうることもある⁷⁾。このため MRSA に有効な薬剤とはいえその特徴を十分理解したうえで使用する必要がある。

一方細菌学的な立場から抗菌薬の抗菌力を検討する場合、菌の生理的な条件、たとえば栄養状態、培地中の金属イオン含有量などによって抗菌力が影響を受けることが知られてい

る。β-ラクタム薬は菌の増殖速度が遅くなると抗菌力が低下することが良く知られている¹¹⁾。アミノ配糖体薬は培地中の Ca²⁺ イオン、Mg²⁺ イオンによって抗菌力が影響を受ける¹²⁾。VCM は先に述べたように細胞壁合成初期段階を阻害することから、β-ラクタム薬のように菌の増殖と抗菌力との間に何らかの影響が見られるものと推定される。本稿では MRSA に対する VCM の効果を菌の世代時間との関係について基礎的立場から検討したので報告する。

I. 材料および方法

1) 使用菌株

1989 年から 1992 年の間に群馬大学第一外科および附属病院において臨床材料より分離された MRSA26 株を用いた。

2) 使用抗菌薬

VCM (塩野義製薬), imipenem (IPM, 萬有製薬) はそれぞれ力価の明らかな標品の供与を受け用いた。

3) 薬剤感受性測定法

薬剤感受性測定は感受性測定ブイヨン (ニッスイ: STB) および感性ディスク用培地 N (ニッスイ: STA) を用い、化学療法学会標準法に準拠した¹³⁾。接種菌量は 35°C 1 夜培養菌液を約 4×10⁶ cells/ml になるように Buffered Saline Geratine (BSG) にて調整し、この 5 μl をマイクロプランター (佐久間製作所) にて各平板に接種した。30°C および 35°C にてそれぞれ 18 h 培養後、最小発育阻止濃度 (MIC) を求めた。

4) 菌の培養条件と VCM の抗菌力

微生物自動増殖解析システム (Bioscreen C, Labosystems 社: 総代理店大日本製薬) を用いて菌の培養条件の変動と VCM の抗菌力を検討した。使用菌株を感受性測定ブイヨンにて 30°C および 35°C で 18 h 培養し、一部は新しい同培地に接種後、同温度にて 2 h 振盪、菌液量を約 10⁶ cfu/ml になるよう調整し 4 種類の条件下の菌液、即ち①培養温度 30°C、18 h 培養のみ: 30°C 定常期 (stationary phase cells), ②培養温度 30°C、18 h 培養後 2 h 振盪: 30°C 対数期 (log phase cells), ③培養温度 35°C、18 h 培養のみ: 35°C 定常期, ④培養温度 35°C、18 h 培養後 2 h 振盪: 35°C 対数期を調整した。これらの各菌液に VCM の各濃度 0, 0.2~6.25 μg/ml を添加した。その後、ただちに 4 条件の菌液の 300 μl をマイクロプレートのウェルに注入し 5 分毎に 24 h 後まで菌の増殖を測定した。測定波長は 540 nm を用いた。

5) 培地の違いによる VCM の抗菌力

(1) 培地の違いによる MRSA の世代時間

MRSA の世代時間を Bioscreen C を用いて測定した。培地は通常使用する STB とその成分を 1/2 にした 1/2 STB, 1/4 にした 1/4 STB を用いた。一定の OD (540 nm) が 0.3 から 0.6 に達する時間を世代時間 (h) として求めた。

(2) MRSA に対する VCM の MIC

MRSA 25 株に対する VCM の MIC を通常使用する STA, 成分を 1/2 量にして寒天で補正した 1/2 STA, 1/4 にした 1/4 STA の 3 種類の培地を作製し、化学療法学会標準法に準拠し測定した。

6) 薬剤前処理による MIC の変化

MS 18273 を 1 夜培養しその菌液を約 10⁶ cells/ml になるように BSG にて調整し、IPM 1.56~12.5 μg/ml および VCM 0.20~1.56 μg/ml 各濃度の薬剤を加え 35°C、2h 培養後、IPM および VCM の MIC を化学療法学会標準法に準拠し測定した。

7) IPM との併用効果

Checkerboard dilution 法にて VCM と IPM の単独、またはその組み合わせの並列希釈薬剤含有平板を STA にて作り、35°C での 2 薬剤間の最小 MIC を求めた。またこれら MRSA 25 株より一濃度ディスク法にて IPM の MIC の異なる 3 株、高度耐性株 MS 18274 (IPM の MIC: 100 μg/ml), それ以外から MS 18273 (MIC: 25 μg/ml) および MS 18269 (MIC: 1.56 μg/ml) を選び、IPM による菌の増殖曲線を求めた。方法は Bioscreen C を用いて IPM 0, 0.0125~100 μg/ml 各濃度での 18 h までの増殖曲線を求めた。

II. 結果

1) 菌の培養条件の変動と VCM の抗菌力

Fig. 1 に今回検討した 4 条件下での増殖曲線を示す。培養温度 30°C および 35°C の条件、対数期および定常期 2 条件下の菌株を、それぞれ用いた 4 条件下で、VCM 各濃度の菌の増殖に対する影響を調べた。その結果、35°C 対数期の菌においては、VCM 0.2~6.25 μg/ml の濃度では菌の増殖は薬剤無添加の対照とほぼ同じであった。しかし 0.78 μg/ml では対照に比べ増殖に影響がみられ、1.56 μg/ml の濃度では約 15 h まで菌の増殖が抑制され、19 h 後には再増殖を認めた。これに対して 35°C 定常期の菌に対する VCM の増殖曲線に対する影響は、0.78 μg/ml では対数期の 1.56 μg/ml に類似の傾向を示し、1.56 μg/ml では菌の増殖は 24 h 後でもまったく認められなかった。

次に 30°C 対数期の菌株では、VCM の濃度が 0.78 μg/ml 以下では菌の増殖は 35°C 対数期のそれと極端な違いはみられなかったが、1.56 μg/ml では菌の増殖を 24 h 後まで完全に抑制した。一方 30°C 定常期の菌の増殖は対照それ自体も悪く、それと共に 0.39 μg/ml では 15 h 後まで菌の増殖は認められず、20 h 後の増殖は 35°C 定常期の 0.78 μg/ml の結果に近かった。またこの条件下では 0.78 μg/ml で菌の増殖を 24 h まで完全に抑制した。以上の結果は VCM の菌の増殖に対する作用は、培養条件により変動し、対数期よりも定常期、35°C よりも 30°C の方が、より低濃度で効果的に菌の増殖を抑制することを示している。

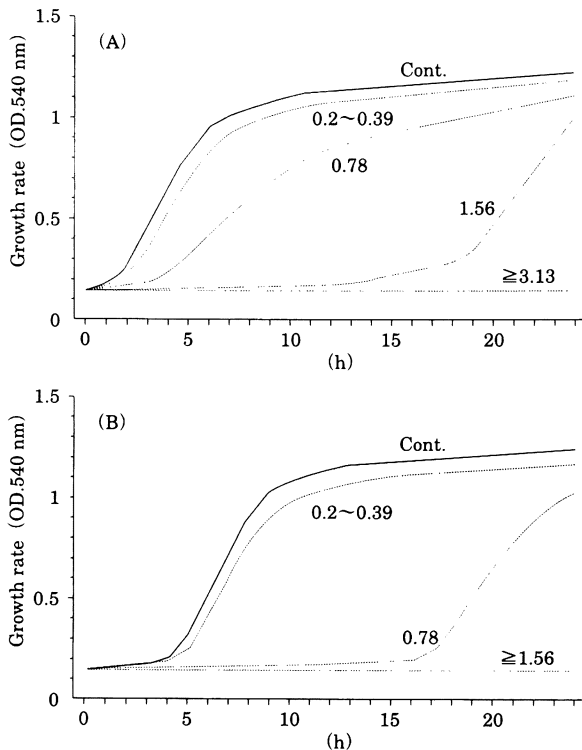


Fig. 1-A. Inhibition of proliferation by vancomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* MS 15576 under different culture conditions (A): log phase cells at 35°C (B): stationary phase cells at 35°C Proliferation within 24 hours was calculated at each concentration of vancomycin at 0, 0.2 to 6.25 $\mu\text{g/ml}$ using a Bioscreen C.

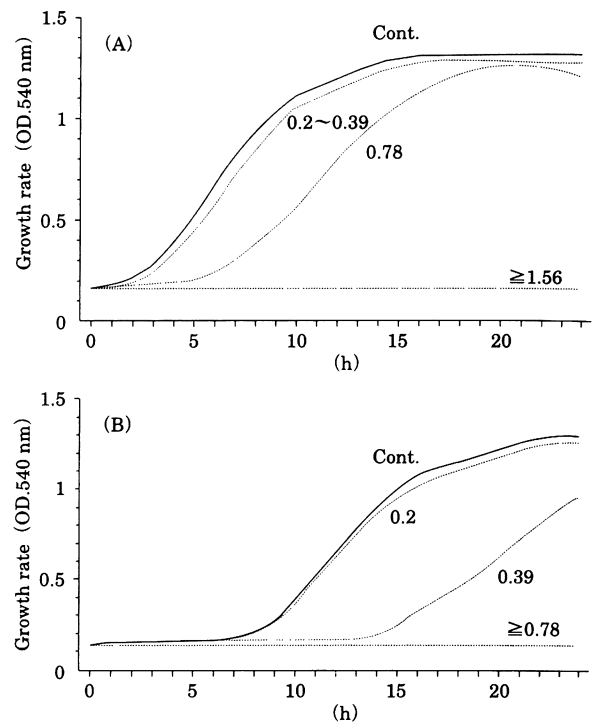


Fig. 1-B. Inhibition of proliferation by vancomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* MS 15576 under different culture conditions (A): log phase cells at 30°C (B): stationary phase cells at 30°C Proliferation was calculated as described in the legend for Fig. 1-A.

2) 培地の違いによる VCM の抗菌力

使用培地と世代時間の関係を MRSA 25 株を用いて調べた。その結果 STB では平均 1.8 h (1.3~2.8 h) であった世代時間が、1/2 STB では 2.1 h (1.5~4.3 h)、1/4 STB では 4.0 h (2.3~15.0 h) と培地の条件が悪くなるほど MRSA の世代時間は長くなった。この 25 株から選んだ代表 3 株の世代時間を Table 1 に示した。MS 18274 では STB で 2.0 h であった世代時間が 1/2 STB では 2.3 h、1/4 STB では 2.5 h と長くなった。MS 18273 では STB と 1/4 STB を比べると 1.0 h、MS 18269 では 0.5 h それぞれ長かった。また培地の条件は変えずに 30°C と 35°C 下での世代時間を比較すると、MS 18274 では 1.0 h、MS 18273 では 1.0 h、MS 18269 では 0.5 h 共に長かった。

以上の結果をもとにして、次に MRSA 25 株の VCM の MIC を 3 条件の培地 (STA, 1/2 STA, 1/4 STA) を用いて比較測定した。その結果を Table 2 に示した。STA では 1.56 $\mu\text{g/ml}$ を示す株が 23 株 (92.0%) で 0.78 $\mu\text{g/ml}$ は 2 株 (8.0%) であった。1/2 STA では 0.78 $\mu\text{g/ml}$ を示す株は 21 株 (84.0%) と増え、1/4 STA では 0.78 $\mu\text{g/ml}$ は 23 株 (92.0%) となり、培地の条件が悪くなるほど、明らかにより低濃度で MRSA の

Table 1. Generation time of MRSA strains under different culture conditions

Culture condition		Generation time (h)		
		MS 18274	MS 18273	MS 18269
STB	35°C	2.0	1.5	1.8
1/2 STB	35°C	2.3	2.0	1.8
1/4 STB	35°C	2.5	2.5	2.3
STB	30°C	3.0	2.5	2.3

STB: Sensitivity-testing broth.

1/2 STB and 1/4 STB are one half and one-fourth of the constituents of STB.

30°C, 35°C: temperature.

Table 2. Sensitivity distribution of MRSA against vancomycin under different culture conditions

Culture condition*		MIC of VCM ($\mu\text{g/ml}$)				
		0.2	0.39	0.78	1.56	3.13
STA	35°C	0**	0	2	23	0
1/2 STA	35°C	0	0	21	4	0
1/4 STA	35°C	0	2	23	0	0
STA	30°C	0	1	24	0	0

*See footnotes to Table 1.

**No. of strains

VCM: vancomycin

増殖を抑制した。しかも 1/4 STA では 1.56 $\mu\text{g/ml}$ の MIC を示す菌株は検出されなかった。また培養温度を 30°C とした時 STA では 24 株 (96.0%) が 0.78 $\mu\text{g/ml}$ を示し、この結果は 35°C の 1/4 STA とほぼ同じ結果であった。つまり世代時間が長くなる条件ほど VCM はより低い濃度で MRSA の増殖を抑制した。

3) IPM 作用時の世代時間

MRSA 25 株より選んだ代表 3 株に、IPM を作用させた時の各濃度での世代時間を検討した。IPM 高度耐性株である MS 18274 の増殖曲線は IPM の濃度が 6.25 $\mu\text{g/ml}$ から 25 $\mu\text{g/ml}$ までは薬剤無添加の対照とほぼ同じ曲線を描き、50 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で 9 h 後より再増殖を認めた。しかし MS 18273 と MS 18269 は共に IPM の濃度が高くなるにつれてその増殖が抑制され、再増殖する時間も濃度を上げると共に徐々に延長した。Table 3 に 3 株の IPM 各濃度における世代時間を示す。MS 18274 では 50 $\mu\text{g/ml}$ の 4.5 h を除いて各濃度の世代時間は 2.0 h~2.3 h で対照の 2.3 h とほぼ同程度であったが、MS 18273、MS 18269 は IPM の濃度の上昇と共に世代時間は延長した。

4) 薬剤前処理による MIC の変化

IPM または VCM 単剤で処理した菌に対する VCM と IPM の MIC を Table 4 に示す。IPM の各濃度で処理した菌に対する VCM の MIC は、未処理菌に対する MIC (1.56 $\mu\text{g/ml}$) よりも 1/2~1/8 低い値であった。一方、VCM 処理菌に対する IPM の MIC は未処理菌の MIC (25 $\mu\text{g/ml}$) と同じであり、VCM の濃度を変えても変動は認められなかった。

Table 3. Generation time of MRSA strains in the presence of imipenem

IPM ($\mu\text{g/ml}$)	Generation time (h)		
	MS 18274	MS 18273	MS 18269
0	2.3	1.8	1.5
0.025			2.3
0.05			2.0
0.1		2.0	2.0
0.2		2.3	3.0
0.39	2.0	2.3	3.8
0.78	2.3	2.3	2.8
1.56	2.0	2.5	*
3.13	2.0	2.5	
6.25	2.0	*	
12.5	2.0		
25	2.3		
50	4.5		
100	*		

*: MIC

Generation time was determined with a Bioscreen C at the concentrations of IPM indicated.

The time required for the constant OD (540 nm) to reach 0.3 to 0.6 was considered the generation time.

IPM: imipenem

Table 4. MICs of VCM and IPM against MRSA MS 18273 pretreated with either imipenem or vancomycin

Concentration* ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	
	VCM	IPM
IPM	1.56	25
	3.13	25
	6.25	25
	12.5	25
VCM	0.20	25
	0.39	25
	0.78	25
	1.56	25
**	1.56	25

*Each group was pretreated with IPM or VCM for 2 h at 35°C.

**not pretreated

VCM: vancomycin, IPM: imipenem

5) VCM と IPM の併用効果

IPM がその濃度条件において MRSA に対する増殖に影響を与えることから、IPM と VCM の併用を世代時間の延長との関係から検討した。MRSA 25 株に対する VCM と IPM の単剤での MIC、および両薬剤を併用した時の MIC を Fig. 2 に示す。単剤では VCM の MIC は 23 株 (92.0%) が 1.56 $\mu\text{g/ml}$ であり、その他 2 株は 0.78 $\mu\text{g/ml}$ であった。IPM は 0.39 $\mu\text{g/ml}$ から 100 $\mu\text{g/ml}$ の範囲内にあり、6.25 $\mu\text{g/ml}$ 以上の株は 19 株 (76.0%) で、特に 100 $\mu\text{g/ml}$ を示す高度耐性株が 4 株であった。

次に両薬剤を併用し、その効果が認められた時の MIC を見ると、VCM では 18 株 (72.0%) が 0.2 $\mu\text{g/ml}$ 、4 株 (16.0%) が 0.39 $\mu\text{g/ml}$ 、3 株 (12.0%) が 0.78 $\mu\text{g/ml}$ であり、ほとんどの菌株の MIC は 1/8 も低下した。IPM ではすべての株が 1.56 $\mu\text{g/ml}$ 以下となり感受性のピークは 0.39 $\mu\text{g/ml}$ の 15 株 (60.0%) であった。

III. 考 察

生体内においては細菌の世代時間は、*in vitro* よりも長いと報告されている¹⁴⁾。今回、我々は *in vitro* で MRSA の世代時間の変動と VCM の抗菌力について検討を行った。その結果、VCM の抗菌力は対数期よりも定常期の菌、35°C よりも 30°C、さらに培地条件を変えた結果、いずれも世代時間が長くなる条件下で VCM はより低濃度で MRSA の増殖を抑制した。生体内における感染時には、細菌の世代時間が長くなることを考えると、VCM の抗菌力は *in vitro* よりも *in vivo* において強いことが予想されよう。しかし感染時の生体内においてかかる条件を設定することは実際には不可能である。そこでその他に世代時間を変化させるための条件を設定し、VCM の抗菌力がどのように変動するか調べた。

我々が日常みる MRSA の特性として、一濃度ディス

		Imipenem ($\mu\text{g/ml}$)													
		0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	Total
Vancomycin ($\mu\text{g/ml}$)	0.1														
	0.2														
	0.39														
	0.78						1*				1				2
	1.56					1	1	1	2	1	7	6		4	23
	3.13														
Total						1*	2	1	2	1	8	6	4		

		Imipenem ($\mu\text{g/ml}$)													
		0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	Total
Vancomycin ($\mu\text{g/ml}$)	0.1														
	0.2		2*		2	12	1	1							18
	0.39	1	2		1										4
	0.78					3									3
	1.56														
	3.13														
Total		1*	4		3	15	1	1							

Fig. 2. Correlation of MICs between imipenem and vancomycin in 25 strains of MRSA
 (A) MICs of IPM or VCM given in without combination
 (B) MICs of IPM and VCM given in with combination
 *No. of strains

ク法での β -ラクタム薬において二重阻止円や阻止円内の集落の発育が認められる。これは MIC 以下でもその薬剤によって菌の増殖が抑制されたためである。本実験では IPM を使い臨床分離の MRSA 25 株に対する増殖におよぼす影響を調べた。その結果、薬剤濃度に関わらず対照とほとんど同じ増殖曲線になる高度耐性株 (IPM の MIC: 100 $\mu\text{g/ml}$) と、濃度依存性にその増殖が抑制される 2 株 (IPM の MIC: 25 $\mu\text{g/ml}$, 1.56 $\mu\text{g/ml}$) の代表的菌株 3 株を選んだ。これらの 3 株に対して VCM と IPM の併用を試みると、前者では効果の認められた時の VCM の濃度は、単剤の時の MIC と比べ良くて 1/2 低くなるだけである。それに対して後者の株では 1/4 から 1/8 も下がっている。また後者の 1 株に対して IPM にて前処理した菌の VCM の MIC を測定すると、未処理の時の MIC より 1/2~1/8 低下し、しかも濃度依存性に VCM の抗菌力が強くなった。一方、VCM で前処理した時は IPM の MIC には変化が認められなかった。その理由は、IPM は黄色ブドウ球菌に対して Postantibiotic effect (PAE) を示すことが知られており、前処理することによって PAE 効果で世代時間が延長されるために VCM の抗菌力が強くなったと考えられる。一方 VCM 前処理した場合にも世代時間は延長するが、IPM は増殖期菌と同様定常期初期菌のような増殖速度の遅い菌に対しても抗菌力を発揮することから、VCM 前処理菌と未処理菌に対する MIC の差が認められなかったと考えられる。つまり菌の培養条件や培地の条件だけでなく、薬剤によっても菌の世代時間は長くなり、その結果、VCM の抗菌力が増殖したと考えられる。小林らが VCM と IPM の合剤は IPM 耐性である多くの MRSA に対して優れた併用効果を示したと報告しているが¹⁶⁾、この理由については述べていない。

今回の我々の実験結果から、世代時間の延長が優れた併用効果を発揮する 1 つの理由と考えられる。しかし薬剤の他の要因も抗菌力に影響を与えていると思われる、その要因の検索は今後の課題の一つである。

β -ラクタム薬は一般には増殖期の細菌にもっとも高い活性を発揮するが、その中で cefminox (CMNX) は、他の β -ラクタム薬と違い定常期初期の細菌にも抗菌力を発揮することが知られている^{16,17)}。その理由はペプチドグリカンの断片を遊離する活性が強いことが原因と推定されている。VCM はペプチドグリカンの架橋阻害反応が比較的遅いため、菌の増殖速度が速い条件下では VCM の標的となる架橋の合成量が増え、結果的に十分阻害作用が発揮できないと考えられる。一方、菌の増殖速度が遅い場合、当然架橋量は対数期のそれに比べ量的に少なく、結果として VCM はそれらを十分阻害するものと考えられよう。この点について菌の増殖速度の変動と、VCM のペプチドグリカン層への結合の割合を、放射性 VCM を用いることにより、より明らかになるものと考えられる。VCM はペプチドグリカンの架橋を阻害する β -ラクタム薬との併用作用が認められるものの、アミノ配糖体薬とは併用作用が見られないことは、これらの可能性を示していると思われる。

アメリカを中心に VCM 耐性腸球菌が分離されるなど、わが国においてもその使用量の増加や年数が経過すると共に、今後 VCM 耐性菌検出の可能性も否定できない^{18~22)}。腸球菌から黄色ブドウ球菌に VCM 耐性遺伝子の伝達が実験的に証明されており²³⁾、MRSA に対しての VCM の安易な使用は、耐性菌出現の危険性が考えられよう。

以上より MRSA 感染症、特に呼吸器感染症に対して VCM の臓器移行性は悪いと報告されているが、IPM

を先行投与し VCM を併用すれば、その抗菌力が増し臨床的治療効果があがる可能性が考えられる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、臨床分離株を分与していただきました群馬大学中央検査部 小林 功教授、高橋綾子氏、四方田幸恵氏に謝意を表します。

文 献

- 1) Alvarez S, Jones M, Berk S L: *In vitro* activity of fosfomycin, alone and combination, against methicillin resistant *S. aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 28: 689~690, 1985
- 2) Utsui Y, Ohya S, Magaribuchi T et al.: Antibacterial activity of cefmetazole alone and in combination with fosfomycin against methicillin- and cephem-resistant *S. aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 30: 917~922, 1986
- 3) Takahashi K, Miyazaki Z, Kanno H: *In vitro* synergistic activity of imipenem and fosfomycin against methicillin-resistant *S. aureus*. *Chemotherapy* 38: 220~225, 1990
- 4) 藤田欣一, 長町幸雄, 橋本 一, 他: MRSA に対する cefuzonam と他抗菌剤との併用効果について。北関東医学 41: 671~675, 1991
- 5) 鈴木隆男, 長町幸雄, 橋本 一, 他: 外科入院患者より分離された MRSA の薬剤耐性と β -ラクタム剤の併用効果について。北関東医学 41: 661~670, 1991
- 6) 島田 馨: 注射用塩酸バンコマイシン。第 38 回日本化学療法学会東日本支部総会, 第 40 回日本感染症学会東日本地方会総会, 合同学会, シンポジウム, 札幌, 1991
- 7) 島田 馨, 花谷勇治, 目黒英典, 他: MRSA による重症感性症に対する注射用バンコマイシンの臨床研究。 *Chemotherapy* 40: 86~101, 1992
- 8) 島田 馨, 小林寛伊, 砂川慶介, 他: MRSA 感染症に対する注射用塩酸 vancomycin の臨床成績。 *Chemotherapy* 42: 192~201, 1994
- 9) 小西敏郎, 出月康夫, 小林寛伊, 他: Vancomycin の経口投与によるメチシリン・セフェム耐性黄色ブドウ球菌腸炎治療の臨床研究。 *Chemotherapy* 42: 436~450, 1994
- 10) Arthur M, Courvalin P: Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37: 1563~1571, 1993
- 11) Eng R H K, Padberg F T, Smith S M, et al.: Bactericidal effects of antibiotics on slowly growing and nongrowing bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35: 1824~1828, 1991
- 12) D'amato R F, Thornsberry C, Baker C N, et al.: Effect of calcium and magnesium ions on the susceptibility of *Pseudomonas* species to tetracycline, gentamicin, polymyxin B and carbenicillin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 7: 596~600, 1975
- 13) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について (1968 年制定, 1974 年改訂)。 *Chemotherapy* 29: 76~79, 1981
- 14) 井上松久, 長曾部紀子, 野乃山勝人: グラム陽性菌に対する Teicoplanin の抗菌力とその基礎的検討。 *Chemotherapy* 41 (S-2): 47~55, 1993
- 15) 小林芳夫, 内田 博: Imipenem 耐性 MRSA に対する imipenem と vancomycin あるいは arbekacin との *in vitro* における併用効果の検討。 *臨床と微生物* 21: 599~601, 1994
- 16) 鶴岡 勉, 宮田愛子, 吉田 隆, 他: 緩慢な増殖をした細菌に対する Cefminox の溶菌力。 *Jap. J. Antibiotics* 48: 1003~1008, 1995
- 17) Cozens R M, Tuomanen E, Tosch W, et al.: Evaluation of the bactericidal activity of β -lactam antibiotics on slowly growing bacteria cultured in the chemostat. *Antimicrob. Agents Chemother* 29: 797~802, 1986
- 18) Leclercq R, Derlot E, Duval J, et al.: Plasmid-mediated vancomycin and teicoplanin resistance in *Enterococcus faecium*. *N. Engl. J. Med.* 319: 157~161, 1988
- 19) Leclercq R, Derlot E, Weber M, et al.: Transferable vancomycin and teicoplanin resistance in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33: 10~15, 1989
- 20) Shlaes D M, Bouvet A, Devine C, et al.: Inducible, transferable resistance to vancomycin in *Enterococcus faecalis* A256. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33: 198~203, 1989
- 21) Clark N, Tenover F, Hill B, et al.: Characterization of glycopeptide resistant enterococci from 14 U. S. hospitals. *Program Abstr. 31st Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother.*, abstr. 400. 1991
- 22) Jacoby G A, Archer G L: New mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *N. Engl. J. Med.* 324: 601~612, 1991
- 23) Noble W C, Virani Z, Cree R: Cotransfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiology Letters* 93: 195~198, 1992

Generation time of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and the antibacterial activity of vancomycin

Kin-ichi Fujita, Yukio Nagamachi and Takao Suzuki

The First Department of Surgery, Gunma University School of Medicine,
3-39-22, Showamachi, Maebashi, Gunma 371, Japan

The relationship between the generation time of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and the antibacterial activity of vancomycin (VCM) was examined bacteriologically. When the antibacterial activity of VCM under 2 culture conditions was compared, a lower concentration of VCM inhibited bacterial proliferation under the condition that prolonged the generation time. In various media, the generation time of MRSA and the minimal inhibitory concentration (MIC) of VCM were measured in 25 strains of MRSA isolated from patients. The generation time of MRSA was prolonged under poorer medium conditions, and a lower concentration of VCM inhibited MRSA proliferation under more unfavorable medium conditions. Three representative strains selected from the 25 MRSA strains by the one-concentration disc method were treated with imipenem (IPM), and the proliferation curve was determined. The generation time of MRSA was prolonged in a dose-dependent manner. The antibacterial activity of VCM against strains showing an effect on proliferation was good. Furthermore, the effect of combination therapy with VCM and IPM on these strains was much stronger. Therefore, the antibacterial activity of VCM was enhanced depending on the temperature of the culture, bacterial growth phase, medium condition, and prolongation of generation time by addition of the combined drugs.