

【短 報】

1997 年度分離メチシリン耐性ブドウ球菌に対する arbekacin, vancomycin
および teicoplanin の *in vitro* 抗菌力の比較高橋 孝行¹⁾・松本 文夫²⁾・宮崎 修一³⁾¹⁾神奈川県衛生看護専門学校付属病院検査科, ²⁾同 内科³⁾東邦大学医学部微生物学教室

(平成 10 年 9 月 14 日受付・平成 10 年 12 月 9 日受理)

最近臨床材料より分離した MRSA 161 株に対する arbekacin (ABK), vancomycin (VCM), teicoplanin (TEIC) の *in vitro* 抗菌力を検討し, 以下の結果を得た。ABK の MRSA に対する感受性ピークは, 0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり, VCM と TEIC のそれは 0.78 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。VCM の MIC₉₀ 値は 0.78 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で, 他の 2 薬剤のそれは, 1.56 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり, 被験菌に対する 3 抗菌薬の抗菌力は, ほぼ同等であった。被験菌に対する ABK と VCM の MIC 相関において, 同等が 23%, ABK の優る株が 59%, VCM の優る株が 18% であった。ABK と TEIC の MIC 相関は, 同等が 27%, ABK の優る株が 61%, TEIC の優る株が 12% であった。VCM と TEIC の MIC 相関は, 同等が 40%, VCM の優る株が 40%, TEIC の優る株が 20% である。ABK は 2 MIC 濃度以上において短時間殺菌作用を示し, 2 MIC および 4 MIC 添加 6 時間後, それぞれ約 2.5 log および約 5 log の生菌数の減少を認めた。VCM は, 2 MIC および 4 MIC 添加群の 6 時間後において, 約 3 log の生菌数の減少を認めた。しかし, TEIC では 4 MIC 添加群の 6 時間後において約 1.5 log の生菌数の減少しか認められなかった。

Key words: arbekacin, vancomycin, teicoplanin, 抗菌力, 抗 MRSA 薬

本邦におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) による院内感染症は, 1980 年代後半から問題となっている。この MRSA 感染症は第 3 世代セフェム系抗菌薬の汎用に伴い増加し, これら抗菌薬が MRSA の選択に深くかかわっていると考えられている¹⁻⁴⁾。現在, 全国の病院で MRSA の分離率が 50% 以上の病院は, 78% に達しており, MRSA 平均分離率は 65.5% にのぼっている⁵⁾。さらに, セフェム系抗菌薬はもちろんのこと, ニューキノロン系抗菌薬, カルバペネム系抗菌薬に対しても耐性を示す MRSA が増加している⁶⁾。このような状況下の本邦において, 現在 MRSA 感染症患者に有効な抗菌薬としては, arbekacin (ABK), vancomycin (VCM) および teicoplanin (TEIC) がある。ABK はアミノグリコシド系薬であり, VCM と TEIC はグリコペプチド系抗菌薬である。米国において, 黄色ブドウ球菌感染心内膜炎の治療に teicoplanin を投与したところ, teicoplanin 耐性 MRSA を分離した。さらに, *in vitro* で詳細に検討した結果, vancomycin にも耐性を示す変異株が出現したという報告がある⁷⁾。さらに, 平松らは本邦における VCM 低感受性 MRSA の疫学調査を実施したところ, ヘテロ型 vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) が 7 大学病院では 9.3%, 市中病院では 1.3% 検出されたと報告している⁸⁾。以上のような状況下で, 新鮮分離 MRSA に対する VCM, TEIC

および ABK の抗菌活性を測定することは, これら抗菌薬に耐性を示す菌株の早期発見と, その可能性を予測する上で有益であると考え, 1997 年度に当病院および関連病院で分離された株を対象に 3 抗菌薬の MIC および殺菌力を測定したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 使用菌株

当病院は内科, 外科, 小児科, 産婦人科, 整形外科, 耳鼻科, 眼科, 皮膚科などの診療科を配備しており, 250 床の総合病院である。また, 開放型病院として近隣の一般医療機関から紹介患者を受け入れている。その中で感染症と考えられる患者では, 細菌検査も行っている。

1996 年 6 月から 1997 年 7 月までの約 1 年間に当院の入院・外来患者および紹介患者の臨床材料から分離された菌株のうち, 起炎菌と判断された黄色ブドウ球菌 1,108 株を採取した。これらの菌に対する methicillin, cefazolin および ceftizoxime それぞれの MIC が 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の株を methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA (161 株) として試験に用いた。

2. 使用薬剤

検討した抗菌薬は, arbekacin (ABK, 力価: 705 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 明治製薬), vancomycin (VCM, 力価: 1,094 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 塩野義製薬) および teicoplanin (TEIC, 力価: 826

$\mu\text{g}/\text{mg}$, ヘキスト・マリオン・ルセル) であり, それぞれ力価の明らかな試験用原末の分与を受けた。また, MRSA の選択用抗菌薬は, methicillin (DMPPC, 万有製薬), cefazolin (CEZ, 藤沢薬品) および ceftizoxime (CZX, 藤沢薬品) の市販品を用いた。これらの抗菌薬は, 使用直前に溶解し使用した。

3. 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法

最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration, MIC) の測定は, 日本化学療法学会標準法による寒天平板希釈法に準じて行った⁹⁾。

スキムミルクに懸濁後, -80°C で保存しておいた被験菌の前培養には, Mueller Hinton broth (MHB, Difco) を用い, 35°C 一夜培養し, 同培地により $10^6\text{CFU}/\text{ml}$ となるように菌の浮遊液を調製した。

被験薬の MIC は, 2 倍希釈系列の抗菌薬を含む Mueller Hinton agar, MHA (Difco) の平板培地に調整した菌浮遊液の $5\mu\text{l}$ を接種し, 35°C 20 時間培養後, 菌の発育を阻止したもっとも低い濃度とした。

4. 短時間殺菌作用

MRSA TH 1371 株を 35°C , MHB で一夜培養後, 同じ新鮮培地で希釈し, さらに緩やかに振盪培養した。培養開始 2 時間後, 被験菌に対する ABK, VCM および TEIC それぞれの MIC 値の $1/4$, $1/2$, 1 , 2 および 4 MIC 濃度を添加し, 緩やかに振盪培養を続けた。抗菌薬添加後, 経時的にサンプリングし, 適宜希釈した希釈液を抗菌薬無添加の Heart Infusion Agar (HIA, Difco) に塗布した。一夜, 培養後発育したコロニー数から生菌数 (CFU/ml) を算出した。

II. 実験成績

1. MRSA に対する ABK, VCM および TEIC の MIC 累積分布

ABK, VCM および TEIC の MRSA 161 株に対する MIC の累積分布を Fig. 1 に示した。ABK の感受性ピークは $0.39\mu\text{g}/\text{ml}$ であり, VCM と TEIC のそれは 0.78

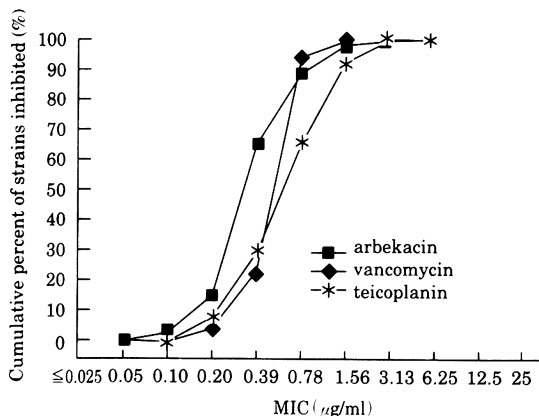


Fig. 1. MIC distributions of arbekacin, vancomycin and teicoplanin against 161 strains of clinically isolated MRSA.

$\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。VCM は $1.56\mu\text{g}/\text{ml}$ で被験菌 161 株すべての発育を阻止した。ABK および TEIC では, $6.25\mu\text{g}/\text{ml}$ ですべての被験菌の発育を阻止した。

Table 1 に VCM, TEIC および ABK の MRSA 161 株に対する MIC range, MIC₅₀, MIC₈₀ および MIC₉₀ を示した。MIC₅₀ 値で 3 薬剤を比較すると, ABK のそれは $0.39\mu\text{g}/\text{ml}$ であり, VCM, TEIC のそれは共に $0.78\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。VCM の MIC₉₀ 値は MIC₅₀ 値と同じ $0.78\mu\text{g}/\text{ml}$ であったが, 他の 2 薬剤のそれは, $1.56\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。したがって, 3 抗菌薬の MRSA 161 株に対する抗菌力は, ほぼ同等であった。

2. 感受性相関図による抗菌力の比較

MRSA 161 株に対する ABK と VCM, ABK と TEIC および VCM と TEIC の MIC 相関を Fig. 2 に示した。ABK と VCM の MIC の比較では, 同等が 37 株 (23%), ABK が優っている菌株数 95 株 (59%) および VCM が優っている菌株数 29 株 (18%) であった。

ABK と TEIC の MIC の比較では, 同等が 43 株 (27%), ABK が優っている菌株数 99 株 (61%) および TEIC が優っている株数 19 株 (12%) であった。VCM と TEIC の MIC の比較では, 同等が 65 株 (40%), VCM が優っている菌株数 64 株 (40%) および TEIC が優っている菌株数 32 株 (20%) であった。

3. 短時間殺菌作用の比較

MRSA TH 1371 株に対する被験薬の短時間殺菌作用を検討し, Fig. 3 に示した。使用した MRSA TH 1371 に対する ABK, VCM および TEIC の MIC は, それぞれ $0.39\mu\text{g}/\text{ml}$, $0.78\mu\text{g}/\text{ml}$ および $0.39\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。ABK 添加群は, 2 MIC 濃度以上において短時間殺菌作用を示し, 2 MIC および 4 MIC 添加 6 時間後において, それぞれ約 $2.5\log$ および約 $5\log$ の生菌数の減少を認めた。また, VCM を 2 MIC および 4 MIC 添加 6 時間後において, 共に約 $3\log$ の生菌数の減少であった。TEIC の 2 MIC および 4 MIC 添加群においては, 6 時間後に約 $1.5\log$ の生菌数の減少を認めたに過ぎなかった。

III. 考察

かつて黄色ブドウ球菌感染症患者に対しペニシリン G 使用が優れた治療効果をもたらしたことは周知のことである。しかし, 10 年を経ずして出現したペニシリナー

Table 1. Antibacterial activity of arbekacin, vancomycin and teicoplanin against 161 strains of clinically isolated MRSA

Drug	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)			
	range	MIC ₅₀	MIC ₈₀	MIC ₉₀
ABK	0.10~6.25	0.39	0.78	1.56
VCM	0.20~1.56	0.78	0.78	0.78
TEIC	0.10~6.25	0.78	1.56	1.56

ABK: arbekacin, VCM: vancomycin, TEIC: teicoplanin

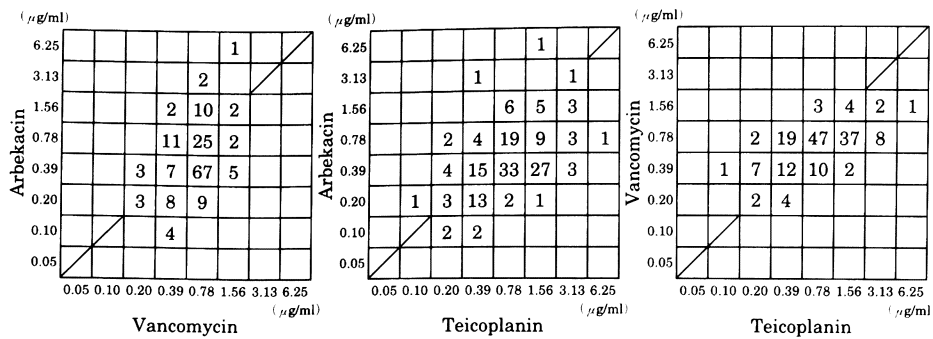
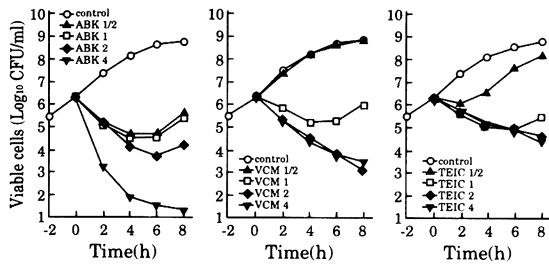


Fig. 2. Correlation diagram of MIC for arbekacin, vancomycin and teicoplanin.



ABK: arbekacin, VCM: vancomycin, TEIC: teicoplanin

Fig. 3. Time killing curves of MRSA TH 1371 for arbekacin, vancomycin and teicoplanin. The MICs of arbekacin, vancomycin and teicoplanin were 0.39 µg/ml, 0.78 µg/ml and 0.39 µg/ml, respectively.

ゼ産生ブドウ球菌に対して、耐性ブドウ球菌用ペニシリン薬が開発、使用され、再びブドウ球菌感染症は減少傾向を示した。かわってわが国では1970年代になりグラム陰性桿菌の分離頻度が増加すると、これら細菌に有効なセフェム系抗菌薬が盛んに開発された。1980年代には第三世代セフェム系抗菌薬の使用量の増加に伴い、MRSAの分離頻度が増加し、現在全国の病院にMRSA蔓延している⁵⁾。一方欧州ではすでに1961年にMRSAの分離が報告されているが¹⁰⁾、このMRSA出現と抗菌薬との因果関係については不明点が残されたままである。

MRSAは第三世代セフェム系抗菌薬をはじめ多くの抗菌薬に耐性であるため、1980年代の感染症患者に有効な治療薬は、minocyclineやニューキノロン系抗菌薬に限られていた。しかし、これら抗菌薬にも耐性を示すMRSAが増加し、現状ではABK、VCM、TEICなど3薬剤が唯一有効薬として使用されている。たとえば最近承認されたTEICは*S. aureus*を含む*Staphylococcus*属、*Enterococcus faecalis*、*Streptococcus pyogenes*などのグラム陽性菌に対し強い抗菌力を示し、1990年頃分離されたMRSAに対する*in vitro*抗菌力はABKおよびVCMと同等であると報告されている^{11,12)}。

今回検討した1997年分離菌株に対するTEICの抗菌力は、ABKおよびVCMと同等であって、これら3抗

菌薬の抗菌力(MIC₅₀、MIC₉₀)は、1990年頃の分離菌株とほぼ同等であることが明らかとなった。しかし、1990年分離株では見られなかった大きなMIC値(MIC; >3 µg/ml)を示す株がABKで3株、TEICで11株認められた事実と、平松らのVCM低感受性MRSAの検出報告を考慮すると⁸⁾、今後のMRSAに対するこれら抗菌薬の抗菌力の変動には注意を払う必要がある。

短時間殺菌作用において、ABKは被験菌に対し強い殺菌作用を示したが、グリコペプチド系であるVCMやTEICの殺菌作用は、ABKより明らかに弱かった。西野らもTEICの殺菌作用は強くないことを報告している¹³⁾。

以上の*in vitro*成績が臨床に反映されるためには、これら抗菌薬の体内動態が重要となってくる。本実験においても、VCMおよびTEICは、MRSAに対して強い抗菌力を示すものの、短時間殺菌作用が弱く、確実な殺菌作用を発揮するためには長い時間を必要とする成績であった。VCM 0.5 g点滴使用時のC_{max}、Tβ_{1/2}およびAUCは、それぞれ23.0 µg/ml、4.29 h、85 µg·h/mlであり¹⁴⁾、TEIC 4 mg/kg点滴使用時のC_{max}、Tβ_{1/2}およびAUCは、それぞれ34.4 µg/ml、46.1 h、309 µg·h/mlであるが¹⁵⁾、この通常使用量での血中濃度推移はあきらかにTime above MICが長いと理解できるので、作用の面から考えると理にかなっているものと考えられる。しかし、両薬で良好な臨床効果を得るためにはTrough値を高く(10 µg/ml)設定する必要があり、またその副作用はTrough値と関連することから、血中濃度のモニタリングが必要である¹⁶⁾。一方、ABK 100 mg点滴使用時のC_{max}、Tβ_{1/2}、AUCはそれぞれ7.71 µg/ml、1.93 h、20.6 µg·h/mlであり、VCMおよびTEICのパラメーターより小さな値である。ABKは本研究でも認められたように強い殺菌作用を示すのでこの使用量は妥当と考えられる。しかし、松野らは、臨床において高い治療効果を得るためには、1日1回200 mgを60分間で点滴使用し、血中濃度を9~12 µg/mlにする必要ありと報告している¹⁷⁾。

抗菌薬の大量、長期間使用は耐性菌の出現を誘発する可能性が高いことは周知のことであり、最近VCM低感

受性 MRSA の出現により治療に苦慮したという報告がある¹⁸⁾。MRSA は VCM より TEIC において耐性変異株が出現しやすいとの報告⁶⁾や、VCM 耐性 *Enterococcus* 属 (VRE) の出現・増加が問題となり、その耐性機序も明らかにされている¹⁹⁾。VRE については vanA 耐性菌は VCM および TEIC に耐性であり、vanB 耐性菌は vanA 耐性菌同様両薬に耐性を示す菌株と VCM にのみ耐性を獲得している菌株が併存する。またこれら耐性は伝達性プラスミドに支配されているが、軽度耐性である vanC 耐性菌は伝達性がないと報告もある¹⁹⁾。この伝達性 VCM 耐性プラスミドが MRSA や MSSA に伝播する可能性がないとはいえないので、今後も MRSA に対するこれら抗 MRSA 抗菌薬の抗菌力を全国規模でサーベイランスすることは重要であると考えている。

文 献

- 1) 島田 馨, 安達桂子, 田中喜久子他: セフェムを含む多剤耐性黄色ブドウ球菌の分離状況と 41 抗菌薬に対する感受性。Chemotherapy 31: 835~841, 1983
- 2) 松本慶蔵, 工藤和治, 宇塚良夫, 他: 本邦における最近の病原性の明確な黄色ブドウ球菌, 第 1 報, β -lactam 剤感受性について。Chemotherapy 32: 344~353, 1984
- 3) 松本慶蔵, 工藤和治, 宇塚良夫, 他: 本邦における最近の病原性の明確な黄色ブドウ球菌, 第 2 報, β -lactam 剤以外の抗生物質感受性及び多剤耐性菌の現況と治療への考察。Chemotherapy 32: 517~526, 1984
- 4) 松本慶蔵, 工藤和治, 宇塚良夫, 他: 本邦における最近の病原性の明確な黄色ブドウ球菌, 第 3 報, コアグラゼ型の分類における検体別, 地方別, 施設別検討及び薬剤感受性成績。Chemotherapy 32: 527~533, 1984
- 5) 穴戸春美: MRSA 感染症。化学療法の領域, 13 (S-1): 1~22, 1997
- 6) Harnett N, Brown S, Krishnan C: Emergence of quinolone resistance among clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Ontario, Canada. Antimicrob. Agents Chemother. 35: 1911~1913, 1991
- 7) Shlaes D M, Shlaes D H: Teicoplanin selects for *Staphylococcus aureus* that is resistant to vancomycin. Clin. Infect. Dis. 20: 1071~1072, 1995
- 8) Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, et al.: Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. Lancet 350: 1670~1673, 1997
- 9) 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。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 10) Jevons M P: Celbenin-resistant staphylococci. Br. Med. J. 1: 124~125, 1961
- 11) 井上松久, 長曾部紀子, 野々山勝人: グラム陽性球菌に対する Teicoplanin の抗菌力とその基礎的検討。Chemotherapy 41 (S-2): 47~55, 1993
- 12) 松本文夫, 桜井 馨, 今井健郎, 他: Teicoplanin の基礎的・臨床的検討。Chemotherapy 41 (S-2): 178~183, 1993
- 13) 西野武志, 藤井博昭, 永平和宏, 他: Teicoplanin の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力。Chemotherapy, 41 (S-2), 62~77, 1993
- 14) 中島光好, 片桐 謙, 尾熊隆嘉: 塩酸バンコマイシン点滴静注時の臨床第 I 相試験。Chemotherapy, 40: 210~224, 1992
- 15) 中島光好, 金丸光隆, 澤居米市, 他: Teicoplanin の臨床第 I 相試験および histamin 遊離に関する検討。Chemotherapy 41: 88~102, 1993
- 16) 松本文夫, 森田雅之, 佐野堅一, 他: ポリペプチド系-バンコマイシン, テイコプラニン。化学療法の領域, 11 (S-1): 232~237, 1995
- 17) 松野恒夫: アルベカシンの効果的投与法。DMW 日本語翻訳版 19: 1092~1094, 1997
- 18) Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, et al.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. J Antimicrob Chemother 40: 135~136, 1997
- 19) Courvalin P: Resistance of enterococci to glycopeptides. Antimicrob Agents Chemother 34: 2291~2296, 1990

Comparison of *in vitro* antibacterial activity of arbekacin, vancomycin and teicoplanin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Takayuki Takahashi¹⁾, Fumio Matsumoto²⁾ and Shuichi Miyazaki³⁾

¹⁾Clinical Laboratory and ²⁾Department of Internal Medicine, Kanagawa Prefecture Midwives and Nurses Training School Hospital, 1-6-5 Shiomidai, Isogo-ku, Yokohama-city, Japan

³⁾Department of Microbiology, Toho University, School of Medicine

The *in vitro* antibacterial activities of arbekacin (ABK), vancomycin (VCM) and teicoplanin (TEIC) against 161 recently isolated strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) were investigated and the following results obtained. The MIC peaks for ABK, VCM and TEIC were 0.39 $\mu\text{g/ml}$, 0.78 $\mu\text{g/ml}$ and 0.78 $\mu\text{g/ml}$, respectively. VCM inhibited the growth of all the bacteria tested at 1.56 $\mu\text{g/ml}$, while ABK and TEIC inhibited growth at 6.25 $\mu\text{g/ml}$. The MIC₉₀ of VCM was 0.78 $\mu\text{g/ml}$, while those of the other two agents against MRSA were almost the same. On the correlation diagram of MIC of ABK and VCM, ABK was superior to VCM 59% of the time, while VCM was superior to ABK 18% of the time. For ABK and TEIC, ABK was superior to TEIC 61% of the time, while TEIC was superior to ABK 12% of the time. For VCM and TEIC, VCM was superior to TEIC 40% of the time, while TEIC was superior to VCM 20% of the time. ABK was stronger than other the two drugs in a comparison of the short-term bactericidal actions of the drugs. ABK decreased the viable counts by about 2.5 log and 5 log 6 h after the addition of 2 MIC and 4 MIC, respectively. VCM decreased the viable count by about 3 log 8 h after the addition of 2 MIC or 4 MIC. TEIC only decreased the count by about 1.5 log 8 h after addition.