

当院における MRSA 院内感染の様相

第2報：薬剤感受性について

鹿児島大学医学部小児科

西 順一郎 吉永 正夫 茂幾 明彦

松山 佳織 相星 壮吾 宮田晃一郎

鹿児島大学医学部附属病院中央検査部

宮 之 原 弘 晃

鹿児島大学医学部臨床検査部

尾 辻 省 悟

(平成3年3月8日受付)

(平成3年4月8日受理)

Key words: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA),
coagulase type, nosocomial infection,
minimum inhibitory concentration (MIC)

要 旨

1989年1年間に当院で分離された MRSA (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌) 123株について, MIC (最小発育阻止濃度) を測定し, またコアグララーゼ型別に検討を加えた。

1) VCM・MINO・RFP に感受性を持つ株が多く, MIC 50は, それぞれ1.56, 0.39, および ≤ 0.013 $\mu\text{g/ml}$ であった。

2) IPM・CLDM・CPFX には, 一部に高度の感受性を示す株が見られ, 臨床的にも有用と思われた。

3) ペニシリン系・セフェム系・アミノグリコシド系には, ほとんど感受性を示さなかった。

4) RFP に対する高度耐性株が5株認められたが, うち3株は結核病棟の患者から分離されており, 容易に耐性化しやすいことが示唆された。

5) コアグララーゼII型59株, VII型42株の薬剤感受性の違いについて検討した。CLDM に対しては, 感受性域である MIC $0.5\mu\text{g/ml}$ 以下での累積百分率が, II型で15.3%, VII型で45.2%とII型に耐性菌が多く見られ, 両型間に有意差を見た ($p<0.001$)。また EM・CPFX についても同様に, II型により耐性菌が多かった。AMK に対しては, MIC $25\mu\text{g/ml}$ 以下での累積百分率が, II型で89.7%, VII型で9.7%と, 逆にVII型に MIC が高い傾向があり, 両型間に有意差を見た ($p<0.001$)。

化学療法の選択に当っては, コアグララーゼ型などをはじめとした, 各施設における特徴をふまえる必要があると思われた。

序 文

近年依然として院内感染としての重要性を保っている MRSA について, 1989年1年間の当院における分離状況を調査し, コアグララーゼ型別に検

討を加え, 第1報として報告した。MRSA 感染症は, ひとたび発症すると難治化する傾向が強く, その発症を未然に予防することが最も重要である。しかしさまざまな院内感染対策が行われているにも関わらず, 発症を完全には予防しえず, 有効な化学療法が模索されており, 現在バンコマイ

別刷請求先: (〒890) 鹿児島市桜ヶ丘8-35-1

鹿児島大学医学部小児科 西 順一郎

シンの有用性が強調されている¹⁾。

私たちは1989年1年間に鹿児島大学医学部附属病院中央検査部細菌検査室で分離されたMRSA 123株について微量液体希釈法を用いて、各種抗生剤のMIC測定を行った。また、コアグララーゼ型別にMICの比較を試みた。

材料と方法

1989年1月から12月までに、鹿児島大学医学部附属病院中央検査部において検出したMRSAは、検体数では297検体であり、1患者につき1株とすると152株であった。152株から無作為に抽出した123株を対象とした。MRSAの判定は、Kirby-Bauer法であるセンシ・ディスク(BBL)にてオキサシリン耐性のものとした²⁾。検出した菌株の保存はハート・インフュージョン・ブイヨン培地を用いた。

コアグララーゼ型の判定には、コアグララーゼ型別血清(デンカ生研)を用いた。

MICの測定は、微量液体希釈法であるセプターテストパネル(*Staphylococcus* 用)(Becton Dickinson)とフローズンプレート(栄研)の2プレートを用いた³⁾。

1) セプターテストパネル

ウェルには規定量の各種抗生剤が7段階の倍数希釈系列(NCCLS準拠)で凍結含有されている。使用薬剤は、Cephalothin(CET), Benzylpenicillin(PCG), Ampicillin(ABPC), Oxacillin(MPIPC), Clindamycin(CLDM), Erythromycin(EM), Gentamicin(GM)他である。他の薬剤については希釈系列が4段階以下であったので省略した。

保存した被検菌をハート・インフュージョン寒天培地で2日間培養後、血液寒天培地で純培養し、McFarland 0.5とほぼ同濃度の菌液を作り、最終濃度約 1.8×10^5 CFU/mlになるよう自動分注器で接種した。接種後は、37℃、20時間培養後にMICを判定した。

2) 栄研製フローズンプレート

ウェルには Ca^{2+} 、 Mg^{2+} を添加したミュラーヒントンブイヨン培地に、各種抗生剤を12段階の倍数希釈系列(日本化学療法学会標準法準拠)で含

有してある。使用薬剤は、Cefmetazole(CMZ), Cefuzonam(CZON), Amikacin(AMK), Minocycline(MINO), Imipenem(IPM), Ciprofloxacin(CPFX), Vancomycin(VCM), Rifampicin(RFP)の計8種である。

被検菌を同様に純培養し、約 3.0×10^7 CFU/mlの接種菌液を作り、イノキュレーターで最終菌濃度約 4.5×10^5 CFU/mlになるよう接種した。接種後は37℃、20時間培養後に同様に判定した。なおこのプレートでは、2株少ない121株で測定した。

各薬剤に対する感受性の判定は、NCCLS基準(M7-A-S2)に準拠し、NCCLS基準にないものは菅野の基準⁴⁾を参考にした。

結果

1) 各種抗生物質に対する感受性とMIC

Fig. 1にセプターテストパネルで測定した7薬剤のMIC分布を、Fig. 2に栄研フローズンプレートで測定した8薬剤のMIC分布を示す。網掛けは、感受性域を示す。Fig. 3, Fig. 4にそれぞれのMIC累積百分率を示した。

ペニシリン系ではPCG, ABPCがMIC 50, 80ともに、 $16 \mu\text{g/ml}$ 以上で、感受性菌は見られなかった。MPIPCもMIC 50, 80ともに $8 \mu\text{g/ml}$ 以上であり、すべて $4 \mu\text{g/ml}$ 以上の耐性菌であった。

セフェム系では、CETのMIC 80が $32 \mu\text{g/ml}$ 以上、感受性菌の頻度が16.3%、CMZはMIC 80が $50 \mu\text{g/ml}$ 、感受性菌は8.3%、CZONはMIC 80が $100 \mu\text{g/ml}$ 以上、感受性菌が27.3%であり、ペニシリン系に比べて感受性菌が若干見られた。

他の β -ラクタム剤としては、IPMに対して、

Fig. 1 Distribution of MICs of MRSA to 7 antibiotics

Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$)												susceptible ratio	MIC 50	MIC 80
	<0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	32<					
CET				4	3	4	9	7	10	86			16.3	32<	32<
PCG		1			3	3	4	17	95				0	16<	16<
ABPC					2		2	3	18	98			0	16<	16<
MPIPC							2	2	119				0	8<	8<
CLDM	20	7	6	2	1	3	4	80					26.8	8<	8<
EM		1	16	3	4	4	6	89					13.8	8<	8<
GM			1	4	2			2	9	104			6.5	16<	16<
Susceptible zone													MRSA 123 strains		

Fig. 5 Difference in susceptibility between type II and type VII MRSA to CLDM

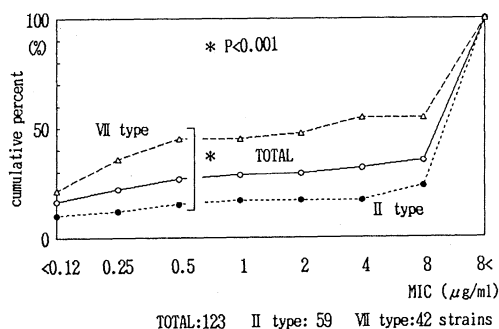
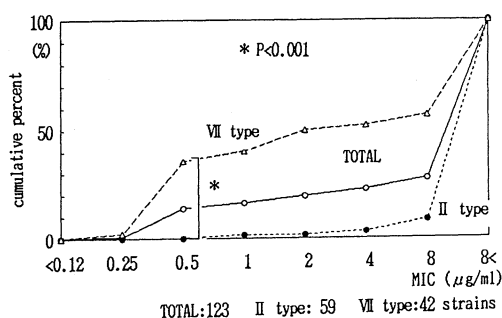


Fig. 6 Difference in susceptibility between type II and type VII MRSA to EM



受性域である MIC 0.5 μ g/ml 以下での累積百分率は、総計で26.8%, II型が15.3%, VII型が45.2%と両型間に有意差が見られ($p < 0.001$), II型に耐性菌が多く見られた。

EM について, Fig. 6 に示した。同様に MIC 0.5 μ g/ml 以下での累積百分率は、総計で13.8%, II型が0%, VII型が35.7%と両型間に有意差が見られ($p < 0.001$), II型に耐性菌が多く見られた。

CPFX について, Fig. 7 に示した。感受性域である MIC 3.13 μ g/ml 以下での累積百分率は、総計で59.5%, II型が27.6%, VII型が95.1%と両型間に有意差が見られ($p < 0.001$), II型に耐性菌が多く見られた。

AMK について, Fig. 8 に示した。感受性の有無では両型に差はないが, MIC 25 μ g/ml 以下での累積百分率は、総計で61.2%, II型が89.7%, VII型が9.7%と両型間に有意差($p < 0.001$)が見られ、逆にVII型に MIC が高い傾向が見られた。

Fig. 7 Difference in susceptibility between type II and type VII MRSA to CPFX

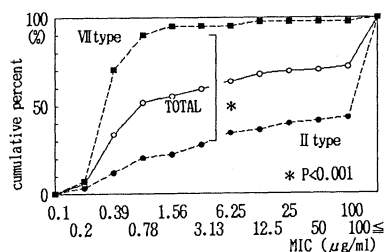
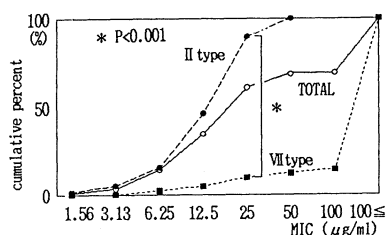


Fig. 8 Difference in susceptibility between type II and type VII MRSA to AMK



考 察

MRSA について MIC 測定は各施設で行われており、諸報告がみられる^{3)5)~9)}。当院においても、比較的感受性のあった抗生剤として、VCM・MINO・RFP が挙げられ、ほぼ他施設と同様な結果が得られた。

VCM に対する MIC は0.78から1.56 μ g/ml にほぼ集中しており株による較差が少なく、耐性菌は認められなかった。今後注射剤としての適応が待たれるところである¹⁾。

MINO に対する MIC 50は0.39 μ g/ml とかなり有効であると言えるが、感受性を示す菌は70.2%と少なめであった。これは感受性域の設定で大きく違ってくるが、少なくとも MIC が6.25 μ g/ml 以上の耐性菌が4株見られ、臨床において注意を要すると思われる。

RFP に対しては95.9%が MIC 0.013 μ g/ml 以下の高度感受性を示し、強い抗菌力をもつが、現在結核菌にしか適応は認められていない。また松本らも報告している通り⁸⁾、高度耐性株がわずかに存在し、当院でも5株が認められた。そのうちの3株が結核病棟の患者から分離されていること

は、RFPを頻用することで耐性が容易に進むことを示唆している。

ペニシリン系は、全く感受性をもたず、セフェム系もわずかに弱い感受性を持つのみで臨床的には問題にならないと思われる。

なお MIPIC にはすべて MIC 4 μ g/ml 以上の耐性を示したが、菅野らの MRSA の判定基準²⁾にあるように、2%NaCl の培地への添加か 30–32°C の培養温度を用いるべきであったが、今回は行わなかった。

IPM・CLDM・CPFX には、一部に良好な感受性を示す菌も見られ臨床的にも有用と思われた。アミノグリコシド系は GM・AMK ともにほとんど感受性を示さず無効であった。

コアグラゼ型別に感受性の違いが見られたので検討したが、今までにはファージ型別の薬剤耐性型を紺野らが報告したのを始め¹⁰⁾、コアグラゼ型の II 型と IV 型の薬剤感受性の違いを竹末らが報告している⁶⁾⁷⁾。それによると、Methicillin に対しては II 型に、より耐性化した菌が多く見られ、逆に MINO や Ofloxacin には II 型が若干良好な感受性を示したと言う。

私たちが行った II 型と VII 型の薬剤感受性の差をみると、CLDM・EM・CPFX について II 型に耐性菌が多く、VII 型には感受性菌が多くみられ、著明な有意差を認めた。VII 型の浸淫している施設においてはこれらの薬剤が十分臨床の場で使用できると思われる。

AMK には、これと逆の傾向がみられ有意差を見たが、他の薬剤では有意差を認めなかった。

MRSA 感染症は、その予防に全力をあげるべきではあるが、ひとたび病原性を持って発症したら、すみやかな分離と MIC 測定が不可欠である。しかしあらかじめ、病院、病棟に浸淫している主要な MRSA の特徴、そのひとつとしてのコアグラゼ型などを把握しておき、感受性が確定する

までの化学療法の一助とすべきであろうと考えられた。

本稿の要旨は第 64 回日本感染症学会 (1990 年, 松山) および第 22 回日本小児感染症学会 (1990 年, 東京) において発表した。

文 献

- 1) 岡岡 一：小児のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) 感染症とその治療—みなしご薬 (Therapeutic orphan) としてのバンコマイシン—。日児誌, 93: 2159–2161, 1989.
- 2) 菅野治重：細菌検査における MRSA の判定基準。最新医学, 44: 2510–2514, 1989.
- 3) 出口浩一, 横田のぞみ, 古口昌美, 中根 豊, 深山成美, 西村由紀子, 小田清次：新鮮分離黄色ブドウ球菌に対する, 15 抗菌剤の MIC 分布—微量液体希釈法を用いた成績—。Chemotherapy, 37: 717–722, 1989.
- 4) 菅野治重：Suggested guidance for interpretation of MICs. In, 細菌感受性試験 MIC-2000 用フローゼンプレート“栄研”F1 および F2。栄研化学株。
- 5) 川上 浩, 山田義則, 重田英夫, 河崎純忠：当センター ICU における Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) の検出調査とその臨床細菌学的検討。感染症誌, 62: 695–701, 1988.
- 6) 竹末芳生, 横山 隆, 児玉 節, 藤本三喜夫, 瀬分 均, 村上義昭：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) におけるコアグラゼ型別と薬剤感受性に関する検討。日外会誌, 90: 5–11, 1989.
- 7) 竹末芳生, 横山 隆, 児玉 節, 藤本三喜夫, 瀬分 均, 村上義昭, 今村祐司：院内感染としてのメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の検討。Chemotherapy, 37: 137–142, 1989.
- 8) 松本慶蔵, 高橋 淳, 穴戸春美, 渡辺貴和雄, 力富直人, 鈴木 寛, 吉田俊昭：本邦における病原性の明確な黄色ブドウ球菌—4 年間の薬剤感受性と coagulase 型別の変化—。Chemotherapy, 37: 549–561, 1989.
- 9) 本田一陽, 大槻容子, 石森 章：耐性ブドウ球菌感染症と抗生剤感受性に関する検討。感染症誌, 62: 39–48, 1988.
- 10) 紺野昌俊, 生方公子, 山下直子, 松下真理, 川上小夜子, 増田真理子, 野之口律子：薬剤耐性型とファージ型から見たメチシリン耐性黄色ブドウ球菌について。感染症誌, 59: 1029–1040, 1985.

Nosocomial Infections due to Methicillin-Resistant *S. aureus*
(MRSA) at the Kagoshima University Hospital
(2) Susceptibility to Antibiotics

Junichiro NISHI, Masao YOSHINAGA, Akihiko MOGI, Kaori MATSUYAMA,
Sogo AIHOSHI & Koichiro MIYATA

Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Kagoshima University
Hiroaki MIYANOHARA

Department of Clinical Laboratory, Kagoshima University Hospital
Shogo OTSUJI

Department of Clinical Laboratory, Faculty of Medicine, Kagoshima University

Susceptibility to antibiotics of 123 MRSA strains isolated at the Kagoshima University Hospital in 1989 was examined. The results were as follows:

1) Susceptibility of MRSA strains was excellent to VCM, MINO, and RFP, followed by IMP, CLDM, and CPFX. However, most strains were resistant to PCG, MIPIC, ABPC, CET, CMZ, CZON, GM, and AMK.

2) Five strains highly resistant to RFP were isolated. Three of these strains were isolated on the ward for tuberculosis. This suggests easy development of resistance to RFP by MRSA.

3) Differences in susceptibility to antibiotics between coagulase type II and type VII strains were examined. The cumulative percentage of type II strains susceptible to CLDM (MICs < 0.5 µg/ml) was 15.3%, and that of type VII was 45.2%. Strains resistant to CLDM were more frequently isolated among type II than among type VII strains ($p < 0.001$). A similar relationship between strains and antibiotics was also found with EM and CPEX. On the other hand, the cumulative percentage of type II strains susceptible to AMK (MICs < 25 µg/ml) was 89.7%, and that of type VII was 9.7%. Strains resistant to AMK were more frequently isolated among type VII than among type II strains ($p < 0.001$).