

当院で分離された主な耐性菌の MIC (minimum inhibitory concentration) による感受性率

静岡赤十字病院 検査部

杉山 八寿子 大棟 久美江 岡部 ゆかり

要旨：2002年4月より微量液体希釈法による、minimum inhibitory concentration(MIC)測定が開始された。これに伴い細菌検査システムも導入され、疫学調査が容易に行えるようになった。今回、高頻度に分離される細菌の MIC による感受性率を検討した。当システムには、耐性菌判定用ロジックが組み込まれており、従来目視で行っていた判定に比べ、正確度が増した。この結果、腸球菌のバンコマイシン (VCM) に対する MIC の高値化、肺炎球菌のペニシリン耐性化等が確認された。また新しい耐性菌として、 β -lactamase non-penicillin ampicillin-resistant Hemophilus spp. (BLNAR)の分離も確認できるようになった。今回提示した MIC 累積百分率は、各抗菌剤による耐性菌のチェックや感染症に有効な抗菌剤の選択情報として有用と思われた。

Key words：MIC (minimum inhibitory concentration), 耐性菌, 薬剤感受性

I. 緒 言

病院内で検出される病原微生物の中で、耐性菌の出現は重篤な感染症、院内感染等さまざまな問題を引き起こす要因である。また治療に使用する抗生剤の選択には、施設間差もあり、それによって生じた分離菌の minimum inhibitory concentration (MIC) に多少の違いが見られる。そこで今回、分離菌の耐性傾向を中心に検討を行ったので報告する。

II. 対象及び方法

1. 対象：2002年4月より9月までに、細菌検査室に提出された全ての検体から分離された、ブドウ球菌群 1549 株、腸球菌群 392 株、肺炎球菌 91 株、緑膿菌 490 株、Hemophilus influenzae 66 菌株について MIC 値による感受性率を調べた。
2. 測定方法：ドライプレートによる微量液体希釈法で測定し、米国臨床検査標準委員会 (NCCLS) で提示されたブレイクポイントで判定し、MIC 値とした¹⁾。
3. 集計方法：同一患者からの同一検体より分離された菌株は 1 株としてカウントし、累積百分率による感受性率を表示した (表 1~5)。

III. 成 績

1. ブドウ球菌群の MIC 累積百分率 (表 1)：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA)、メチシリン感性黄色ブドウ球菌 (MSSA)、メチシリン耐性コアグラゼ陰性ブドウ球菌 (MRCNS)、コアグラゼ陰性ブドウ球菌 (CNS) に分類して示した。ブドウ球菌 1549 株中 MRSA は 495 株、MSSA は 310 株、MRCNS は 544 株、CNS は 200 株で、当院で分離されたブドウ球菌の 67% はメチシリン耐性菌であった。MRSA は MSSA に比べ、全ての薬剤に感性率が低く耐性であった (表 1-1, 2)³⁾。その中で、MRSA 用抗菌剤 ABK は MIC 4 μ g/ml で 96% 感性を示したが、4% は耐性菌株が出現していた。一方、VCM には耐性菌は分離されていないが、中間域に数株確認された (表 1-1)。

MRCNS では AMK の MIC 16 μ g/ml で 82%、MINO は 4 μ g/ml で 85% に感性を示し、同じメチシリン耐性でも MRSA と異なった耐性傾向が認められた (表 1-3)¹⁾。CNS ではペニシリン系薬剤を除いた全ての抗菌剤に感性を示した (表 1-4)。

2. 腸球菌群 (enterococci) の MIC 累積百分率 (表 2)：バンコマイシン耐性腸球菌 vancomycin resistant enterococci (VRE) の対象菌とされる E. faecalis, E. faecium について表 2 に示した。検出比

表 1 ブドウ球菌群におけるMIC累積百分率 (%)

1:MRSA

MIC $\mu\text{g/ml}$	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	菌株数
MPIPC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	495
GM	0	5.05	44.65	46.06	48.08	50.5	50.5	50.5	50.5	50.5	50.5	495
AMK	0	0	2.63	3.23	16.57	51.72	54.75	95.96	95.96	95.96	95.96	495
ISP	0	0	3.11	8.67	17.78	43.22	43.22	43.22	43.22	43.22	43.22	450
ABK	0.00	0.00	71.11	93.74	95.96	96.97	96.97	96.97	96.97	96.97	96.97	495
CAM	0.81	0.81	4.04	4.44	4.65	4.65	4.65	4.65	4.65	4.65	4.65	495
CLDM	11.31	11.92	11.92	17.12	17.12	17.12	17.12	17.12	17.12	17.12	17.12	495
MINO	0	0	14.55	17.98	21.41	29.70	29.70	29.70	29.70	29.70	29.70	495
VCM	0	0	3.64	92.93	99.8	100	100	100	100	100	100	495
TEIC	0	0	0	0	0	0	0	99.56	99.78	99.78	99.78	450
LVFX	0	7.33	8	26.44	47.78	47.78	47.78	47.78	47.78	47.78	47.78	450

3:MRCONS

MIC $\mu\text{g/ml}$	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	菌株数
MPIPC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	544
GM	0	0	8.20	39.65	41.41	45.51	50.78	50.78	50.78	50.78	544
AMK	0	0	0	39.06	40.92	60.94	80.47	81.84	95.48	95.48	512
ISP	0	0.00	0	40.93	52.79	69.53	88.64	88.64	88.64	88.64	544
CAM	0	1.76	1.95	27.54	28.32	30.68	30.68	30.68	30.68	30.68	544
CLDM	3.13	51.47	52.84	52.84	54.01	54.01	54.01	54.01	54.01	54.01	544
MINO	0	0	0	66.21	82.03	84.57	89.76	89.76	89.76	89.76	544
TEIC	0	0	0	0	0	0	90.47	100	100	100	544
LVFX	0	0	25.81	30.00	33.26	63.95	63.95	63.95	63.95	63.95	544

2:MSSA

MIC $\mu\text{g/ml}$	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	菌株数
PCG	1.68	0	74.52	93.55	93.55	100	100	100	100	100	100	100	310
MPIPC	0	19.68	32.58	32.58	32.58	32.58	32.58	32.58	32.58	32.58	32.58	32.58	310
ABPC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	310
PIPC	0	0	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	1.61	310
CEZ	0	0	0.32	5.48	10.65	98.39	98.71	99.35	99.35	99.35	99.35	99.35	310
CTM	0	0	2.58	9.68	98.06	98.39	99.03	99.03	99.03	99.03	99.03	99.03	310
GPR	0	0	0.32	8.39	10.65	98.39	99.03	99.35	99.35	99.35	99.35	99.35	310
FMOX	0	0	0	0	0	98.19	99.64	100	100	100	100	100	276
IPM	0	0	0	0	98.19	100	100	100	100	100	100	100	276
PAPM	0	10.65	10.65	10.65	99.68	99.68	99.68	99.68	99.68	99.68	99.68	99.68	310
MEPM	0	0	0	0	96.74	98.19	98.91	100	100	100	100	100	276
GM	0	0	0	9.03	87.42	87.74	88.06	88.06	88.06	88.06	88.06	88.06	310
AMK	0	0	0	24.52	30.65	91.94	98.39	98.39	98.69	98.69	98.69	98.69	310
ISP	0	0	0	0	21.01	73.19	94.57	97.93	97.93	97.93	97.93	97.93	276
CAM	0	6.77	8.39	82.90	84.84	86.13	86.13	86.13	86.13	86.13	86.13	86.13	310
CLDM	0	2.58	95.81	96.77	97.18	97.74	97.74	97.74	97.74	97.74	97.74	97.74	310
MINO	0	0	0	0	86.77	98.71	98.71	98.71	98.71	98.71	98.71	98.71	310
TEIC	0	0	0	0	0	0	100	100	100	100	100	100	276
LVFX	0	0	0	89.49	91.67	92.03	92.03	92.03	92.03	92.03	92.03	92.03	276
S/C	0	0	0	0	0	0	98.91	99.64	99.64	99.64	99.64	99.64	276

4:CNS

MIC $\mu\text{g/ml}$	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	菌株数
PCG	0.47	35.68	35.68	35.68	35.68	35.68	35.68	35.68	35.68	35.68	35.68	35.68	200
MPIPC	0	0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	200
ABPC	0	33.5	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	200
PIPC	0	0	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	200
CEZ	0	0	0.5	5.5	6.5	97	98	98	98	98	98	98	200
CTM	0	0	1.5	6	8	98.5	99	99	99.5	99.5	99.5	99.5	200
CPR	0	0	0	3	7	99	99	99	99.5	99.5	99.5	99.5	200
FMOX	0	0	0	0	0	96.7	98.91	98.91	98.91	98.91	98.91	98.91	184
IPM	0	0	0	0	98.91	99.46	99.46	99.46	99.46	99.46	99.46	99.46	184
PAPM	0	6	6.5	6.5	99	99	99.5	99.5	99.5	99.5	99.5	99.5	200
MEPM	0	0	0	0	98.37	98.91	98.91	98.91	98.91	98.91	98.91	98.91	184
GM	0	0	0	6.5	85	85.5	88	91.5	91.5	91.5	91.5	91.5	200
AMK	0	0	0	0	85	87.5	97.5	99.5	99.5	99.5	99.5	99.5	200
ISP	0	0	0	0	88.04	94.02	100	100	100	100	100	100	184
CAM	0	0	6	6	76.5	77	77	77	77	77	77	77	200
CLDM	0	1.5	94	94	94.5	96	96	96	96	96	96	96	200
MINO	0	0	0	0	88.5	97.5	99	99.5	99.5	99.5	99.5	99.5	200
TEIC	0	0	0	0	0	0	0	98.37	99.46	99.46	99.46	99.46	184
LVFX	0	0	0	0	85.87	89.67	90.22	92.93	92.93	92.93	92.93	92.93	184
S/C	0	0	0	0	0	0	98.37	98.91	98.91	98.91	98.91	98.91	184

□ S感性

■ I中間域

■ R耐性

率は438菌株中、faecalisは308株、faeciumは84株であった^{2,3,5)}。この内faecalisはMINO(8μg/mlの感性率54%)のみに耐性傾向が見られ、他の抗菌剤には感性を示していた(表2-1)¹⁾。一方faeciumはTEICを除いた抗菌剤に耐性を示した(表2-2)。

3. 肺炎球菌(*Streptococcus pneumoniae*)のMIC累百分率(表3):肺炎球菌はペニシリンGに対するMIC値から3つに分類される。即ち、0.06μg/ml以下のペニシリン感性肺炎球菌(PSSP)と0.12~2.0μg/mlのペニシリン中等度耐性肺炎球菌(PISP)及び2.0μg/ml以上のペニシリン耐性肺炎球菌(PRSP)である。肺炎球菌91菌株中PISPは40株、PRSPは19株であった(表3-2, 3)。特に肺炎球菌に抗菌力があるとされているCTXで比較すると、5μg/mlの感性率はPSSPで100%、PISPで87%、PRSPでは35%と、明らかにセフェム系の抗菌力が低下していた(表3)^{1,4)}。

4. 緑膿菌のMIC累積百分率(表4):緑膿菌においては、MIC 4μg/mlにおけるIPMの感性率が、74%と明らかに耐性菌の出現が認められる。一方緑膿菌の第I選択剤とされるCAZでは8μg/mlで

91%に感性が認められた⁴⁾。また今回、IPM、AMK、LVFX全てに耐性を示す多剤耐性緑膿菌は分離されなかった。

5. *H.influenzae*のMIC累積百分率(表5):*H.influenzae*では、ABPCの1μg/mlにおける感性率が61%と耐性化が進んでいることが認められた。またβラクタマーゼ試験(ペニシリナーゼ産生能試験)を全菌株に行ったところ、ペニシリナーゼ非産生でありながらABPCに耐性を示す、新たな耐性機構を有するβ-lactamase non-penicillin ampicillin-resistant *Hemophilus* spp.(BLNAR)が10菌株分離された。

IV. 考 案

抗菌薬の感受性測定は、治療効果を決定する上で極めて重要な要素である。この測定には従来、ディスク拡散法が一般的であったが、近年では微量希釈法が普及し、精密性、再現性にすぐれた方法で行われ、新たな耐性菌の発見につながっている。今回我々は、ブドウ球菌群、腸球菌群、肺炎球菌、緑膿菌及び*H.influenzae*の感性率について述べた。これらをまとめると次のことが推測された。

表2 腸球菌群におけるMIC累積百分率(%)

1:E.faecalis

MIC μg/ml	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	菌株数
PCG	0	0.33	2.61	55.56	94.14	99.35					308
ABPC	0	1.62	65.05	96.12	98.06	98.71					309
PIPC	0	0	4.53	6.47	87.70	98.71					309
IPM	0	0	77.85	96.64	99.66	99.66					298
PAPM	0.32	1.94	71.52	93.53	98.06	98.71					309
MEPM	0	0	2.01	23.15	72.82	84.23					298
MINO	0	0	23.95	25.89	27.83	54.37					309
VCM	0	0.32	1.95	93.83	100	100	100				308
TEIC	0	0	0	0	0	99.66	99.66				297
LVFX	0	3.37	52.86	72.05	75.08						298

2:E.faecium

MIC μg/ml	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	菌株数
PCG	0	0	2.41	2.41	9.64	12.05					84
ABPC	0	0	4.76	8.33	11.9	11.9					84
PIPC	0	0	0	0	2.38	5.95					84
IPM	0	0	4.82	8.43	12.05	12.05					83
PAPM	0	0	5.95	7.14	10.71	13.1					84
MEPM	0	0	0	1.20	3.61	6.02					83
MINO	0	0	10.71	10.71	10.71	29.76					84
VCM	0	0	1.19	96.43	100	100	100				84
TEIC	0	0	0	0	0	98.8	98.8				84
LVFX	0	0	2.41	6.02	12.05						83

□ S感性 ■ I中間域 ■ R耐性

表3 肺炎球菌におけるMIC累積百分率 (%)

1:PSSP

MIC μ g/ml	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	菌株数
PCG	100	100	100	100	100						32
ABPC	0	81.25	100	100	100	100	100				32
PIPC	0	0	96.88	96.88	100	100	100				32
CEZ	0	0	96.88	100	100						32
CTM	0	0	68.75	87.50	100						32
CTX	0	0	100	100	100						32
CPR	0	0	100	100	100						32
CZOP	0	0	100	100	100						26
CFDN	0	0	75	100	100						32
CFPN	0	0	100	100	100						26
FMOX	0	0	84.62	100	100						26
IPM	0	96.15	96.15	100							32
PAPM	0	100	100	100							26
MEPM	92.31	100	100	100							32
CAM	0	0	56.25	62.50	62.50	68.75	71.88				32
MINO	0	0	0	50	50	62.50	75				32
LVFX	0	0	0	15.38	69.23	96.15	96.15				26

2:PISP

MIC μ g/ml	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	菌株数
PCG	0	37.5	60	65	100						40
ABPC	0	22.50	47.50	60	75	92.50	100				40
PIPC	0	0	40	40	70	92.50	95				40
CEZ	0	0	19.44	44.44	66.44						40
CTM	0	0	16.22	29.73	64.88						40
CTX	0	0	48.72	87.18	94.87						40
CPR	0	0	61.54	89.74	97.44						40
CZOP	0	0	58	80	100						26
CFDN	0	0	31.25	71.88	87.5						40
CFPN	0	0	60	96	96						26
FMOX	0	0	31.82	54.55	77.27						26
IPM	0	84.62	84.62	96.15							26
PAPM	0	90	90	95.00							40
MEPM	52	76	88	100							26
CAM	0	0	17.50	30	30	45	45				40
MINO	0	0	0	7.50	7.50	30	45				40
LVFX	0	0	0	11.54	73.08	88.46	88.46				26

3:PRSP

MIC μ g/ml	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	菌株数
PCG	0	0	0	0	0						19
ABPC	0	0	0	0	26.32	47.37	78.95				19
PIPC	0	0	0	0	31.58	73.68	100				19
CEZ	0	0	0	0	0						19
CTM	0	0	0	0	20						19
CTX	0	0	0	35.29	58.89						19
CPR	0	0	0	47.37	89.47						19
CZOP	0	0	0	23.08	69.23						15
CFDN	0	0	0	0	0						19
CFPN	0	0	6.67	7.69	36.46						15
FMOX	0	0	0	0	0						15
IPM	0	73.33	73.33	93.33							15
PAPM	0	78.95	84.74	100							19
MEPM	0	26.67	73.33	100							15
CAM	0	0	5.26	5.26	10.53	10.53					19
MINO	0	0	0	0	5.26	15.79	57.89				19
LVFX	0	0	0	0	80	100	100				15

□ S感性 ■ I中間域 ■ R耐性

表4 緑膿菌におけるMIC累積百分率 (%)

MIC μ g/ml	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	菌株数
PIPC	0.82	0.82	0.82	1.84	43.47	69.18	83.27	89.39	94.49		490
CAZ	0	0	0	0	82.43	90.79	93.93				478
CPR	0.20	0.20	1.02	1.43	52.24	73.67	87.96				490
CZOP	0	0	0	0	79.08	90.17	95.19				478
IPM	0	0	60.88	68.62	74.06	85.77					478
PAPM	0.20	0.20	17.55	28.37	54.29	75.31					490
MEPM	0	0	62.13	70.08	82.43	89.96					478
GM	0	0	25.92	77.35	93.47	95.51					490
AMK	0	0	10.82	46.53	82.86	94.29	95.51	96.12			490
ISP	0	0	7.53	32.01	74.48	94.14					478
MINO	0	0	2.45	3.88	6.12	8.37					490
LVFX	0	19.87	57.11	74.69	84.52						478
S/C	0	0	0	0	54.60	76.15	89.96	97.91			478

□ S感性 ■ I中間域 ■ R耐性

表5 H.influenzaeにおけるMIC累積百分率 (%)

MIC $\mu\text{g/ml}$	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	菌株数
ABPC	0	12.12	30.3	46.97	60.6	81.81						66
PIPC	0	0	90.91	91.91	95.45	95.5						66
CTM	0	0	16.07	39.92	64.28	76.79						56
CTX	0	0	67.69	93.85	98.46	100						65
CAZ	0	0	66.67	84.62	97.44	100						39
CPR	0	0	58.46	70.77	95.38	100						65
CZOP	0	0	77.78	81.48	92.6	100						27
CFDN	0	0	42.11	80.7	91.22	100						57
CFPN	0	0	62.8	81.4	95.35	100						43
FMOX	0	0	26.47	55.88	79.41	100						34
IPM	0	35.56	35.6	86.67	91.1	91.1	97.78					45
PAPM	0	39.39	56.06	89.39	98.48	98.5	100					66
MEPM	68.18	84.09	97.73	100								44
CAM	0	0	10.61	10.6	10.6	15.5	27.27	83.33	96.97			66
MINO	0	0	0	63.64	66.67	96.97	100					66
LVFX	0	0	0	97.78	97.8	100						45
S/A	0	0	42.86	64.29	83							42
S/C	0	0	0	91.1	95.56	95.56						45

□ S感性 ■ I中間域 ■ R耐性

1. ニューキノロン系薬剤は本来グラム陰性桿菌用抗菌剤であるがMRSAに感性を示すことから、グラム陽性菌への臨床適応が可能となっている。しかし、我々の知見結果ではMIC 2 $\mu\text{g/ml}$ での感性率がMSSAで92%、MRSAで26%であった。この結果から耐性菌の増加を防ぐためにも、予防投与等の使用は避けるべきだと考えられる⁶⁾。

2. MRSAに対するVCMのMIC値が高値に移行する現象が見られた場合には抗菌剤投与方法に何らかの検討が必要と思われる。

3. 腸球菌のVCMに対するMIC値の高値化が認められた。他施設での報告では1 $\mu\text{g/ml}$ 程度と報告されているが、当院では2 $\mu\text{g/ml}$ のMICを示した²⁾。これはMRSA用抗菌剤としてVCMが多用されているためであろうと推測する。

4. 多剤耐性緑膿菌は、カルバペネム系薬剤の多用によって生じているといわれている。当院でもIPM耐性菌株が16%認められている。今後の動向に注意したい。

V. 結 語

今回集計したMICの累積百分率は、日常遭遇する感染症に有効に活用されることが望まれる。MIC測定の最大の問題点は迅速性に欠ける点である。これをカバーする意味で、効率よく治療できる抗菌剤を選択するための統計データを、臨床に提供したいと考える。また抗菌剤の選択には、耐性菌を増やさ

ないための選択と、宿主(患者)側問題から感染症を治療する目的とが必ずしも一致しないこともある。しかし、くり返し感染症を引き起こさせないためにも、初期段階の広域スペクトル抗菌剤により、一定菌種を選択的に増やす抗菌剤投与は避けるべきだと思われる。今後も感染症の早期治療に役立つ情報を提供し、臨床支援に努めたいと考える。

文 献

- 1) 菅野治重. 薬剤感受性検査法の手引き—耐性菌の検出と日常検査に採用すべき抗菌剤—(細谷善親). 東京: メディカルアシスト; 1999. P. 4-17.
- 2) 小栗豊子, 中村文字. バンコマイシン耐性 Enterococcus(VRE). Clin Microbiol 1999; 126(2): 139-146.
- 3) 松田重治. β -ラクタマーゼ阻害剤の耐性菌(耐性機構疫学). Clin Microbiol 1999; 126(6): 817-825.
- 4) 渡辺彰. 「各種感染症, 病態に対する最適な抗菌剤療法」市中肺炎. Clin Microbiol 2001; 128(5): 455-460.
- 5) 小沢良之, 橋本友利子. バンコマイシン耐性腸球菌(VRE). Clin Microbiol 1999; 126(2): 111-119.
- 6) 青木泰子. 医療現場における問題点. Clin Microbiol 2001; 128(1): 87-91.

Rate Sensibility for MIC in Chiefly Bacterial Detections at Shizuoka Red Cross hospital.

Yasuko Sugiyama, kumie Ohmune, Yukari Okabe
Department of Clinical Laboratory, Shizuoka Red Cross hospital

Abstract : We have stated minimum inhibitory concentration (MIC) measurements for micro dilution method since April, 2002. which was used for easy evolution of the epidemiology by the introduction of a microbiological examination.

Now, we studied the sensibility for MIC which in isolation from a frequency. On the system was included the logic for judgement to drag resistant bacteria and as a results was raised to exactness which compared with research macrofinding method. At this time we report as to the rate of the sensibility, using them. As a result, MIC for VCM of enterococci raised numerically and penicillin resistant of Streptococcus Pneumoniae have been confirmed. And as a new resistant bacterium, we could recognize the isolation of the β -lactamase non-penicillin ampicillin-resistant Hemophilus spp(BLNAR). Cumulative percentage of MIC that we showed this time was considered to be useful to check on resistant bacterium by using each antimicrobial agents and also useful as information choosing effective antimicrobial agents against infection.

Key word : MIC (minimum inhibitory concentration) resistant bacteria,
drug sensivity.



連絡先：杉山八寿子；静岡赤十字病院 検査部
〒420-0853 静岡市追手町8-2 TEL (054)254-4311 (内線2316)