

(東女医大誌 第50巻 第4号)
頁 303~ 316 昭和55年4月)

〔原 著〕

Coagulase 陰性ブドウ球菌に関する研究
—臨床分離株の生物学的性状と抗生物質
感受性との関係を中心として—

東京女子医科大学第2内科 (主任：鎮目和夫教授)
東京女子医科大学臨床中央検査科 (指導：清水喜八郎教授)

熊 田 徹 平
クマダ テツ ベイ

(受付 昭和55年1月16日)

Studies on Clinical Isolates of Coagulase-Negative Staphylococcus:
—especially the Correlation between Biological Characters
and Susceptibility to Antibiotics—

Tepei KUMADA, M.D.

Department of Internal Medicine (Director: Prof. Kazuo SHIZUME)

Tokyo Women's Medical College

Department of Central Clinical Laboratory (Prof. Kihachiro SHIMIZU)

Tokyo Women's Medical College

The clinical significance of coagulase-negative staphylococci which are isolated from patients is not sufficiently known. Recently infections caused by these bacteria are increasing throughout the world and difficulties in treatment are of concern.

Until 1965, coagulase production and DNase production had been well correlated, almost all coagulase-negative strains were DNase-negative, and there were very few DNase-positive strains. However, the frequency of DNase-positive strains has recently been increasing.

The author studied 236 strains of coagulase-negative staphylococcus isolated in three hospitals (Tokyo Women's Medical College second Hospital, Tokyo University, School of Medicine Hospital and Komagome Hospital). They were examined on their classification by biotype, DNase production, and susceptibility to novobiocin and lysostaphin. The susceptibility to nine other commonly-used antibiotics,

略語表

DNase: Deoxyribonuclease

Oxidase: Cytochrome oxidase

VP 反応: Voges-Proskauer

MIC: Minimum inhibitory concentration

important in treatment, was also studied.

Results:

- 1) There were 55 coagulase-negative DNase-positive strains, and the frequency has been increasing recent ten years.
- 2) In coagulase-negative staphylococci, there were many other strains of various biological characters except in typical staphylococci epidermidis.
- 3) There were many cloxacillin-resistant strains, more than half being moderately resistant to cefazolin.
- 4) There were almost no correlation between biological characters, such as DNase production, and the frequency of antibiotics-resistant strains.

The author suggests that these would be changes of biological characters and antibiotic susceptibility of recently-isolated coagulase-negative staphylococci, and encourages the continuous studies on clinical significance and nosocomial infections of these strains.

I. 緒 言

近年 Coagulase 陰性ブドウ球菌の各種臨床材料からの分離頻度の増加が注目されている。Coagulase 陰性ブドウ球菌は、従来非病原菌と考えられ、一般的には臨床上比較的軽視されてきた。Coagulase 陰性 DNase 陽性ブドウ球菌は、1965年頃は本邦における分離頻度はきわめて希なものであり¹⁾。マウスに対し毒力が強いことが報告され、その当時より注意は向けられていた。最近になり、敗血症をはじめとして各種感染症の原因菌として Coagulase 陰性ブドウ球菌の分離頻度が増加し、その病原性が注目されてきた。とくに Coagulase 陰性 DNase 陽性株が近年増加していることに注目し、Coagulase 陰性 DNase 陽性株を中心として、Coagulase 陰性ブドウ球菌についての検討を行ない、若干の知見を得たのでその成績を報告する。

以下本研究において Coagulase 陰性ブドウ球菌としたものは、食塩耐性グラム陽性球菌で、嫌氣的培養にてブドウ糖を分解し、Catalase 反応陽性、Oxidase 反応陰性、Coagulase 試験陰性の菌株である。

II. 実験方法

1) 実験菌株

使用した菌株は1976年から1977年にかけて東京女子医科大学付属第2病院(以下女医大と略す)・東京大学医

学部付属病院(以下東大)・都立駒込病院(以下駒込)の3施設で、臨床材料より分離された上記基準を満たす菌株で、総計236株である。内訳は、女医大分離108株、東大分離105株、駒込分離23株である。なお1患者1株として重複株は除外した。

2) 検査方法

菌株の保存には Nutrient Agar 斜面培地 (Difco) を用い、以下の項目につき検討した。

食塩耐性検査: ブドウ球菌用培地 No. 110 (栄研) を使用、37°Cで36~48時間以内に発育することを確認した。

嫌氣的培養時ブドウ糖分解能: 0.5%ブドウ糖加 OF 培地 (Difco) を使用、嫌氣的条件下に37°C 4日間培養を行ない判定した。

Catalase 反応: スライドグラスにのせた菌に3% H₂O₂ (冷蔵庫保存、使用時10倍希釈) を1滴滴下し、2~3分以内に気泡が生じたものを陽性とした。

Oxidase 反応: チトクロームディスク (日水) を使用、白金耳にて菌を塗抹、30秒以内に青紫色を呈しないものを陰性とした。

Coagulase 産生能: Coagulase 用ウサギ血清 (栄研) を使用、試験管法により検討した。観察は3~24時間に行ない、陰性のもは生食5倍希釈の血清で再確認をした。

DNase 産生能: DNase 寒天培地 (栄研) を使用、集落周囲の透明帯により判定した。対照には Staph. aureus 209P を用いた。

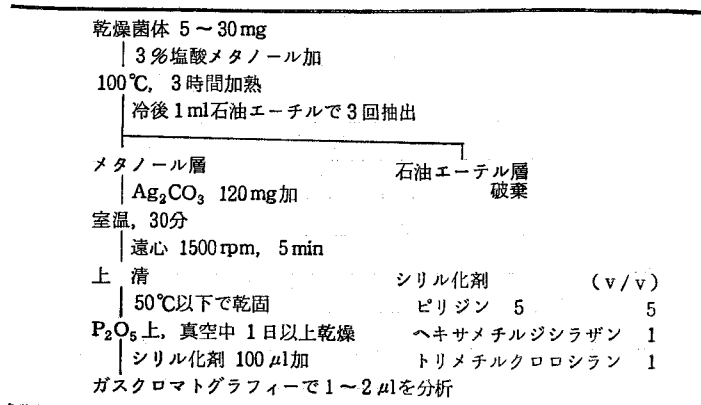


図1 Ribitol 分析方法

表1 Staph. epidermidis の Biotype 分類
(Baird-Parker)

Characters	Biotype			
	1	2	3	4
Phosphatase	+	+	-	-
Acid from (anaerobically)				
Lactose	+	d	-	d
Maltose	+	-	d	d
Mannitol	-	-	-	+
VP	+	-	+	+

+: 90%以上の株が陽性
 d: 一部(90%以下)が陽性一部が陰性
 -: 90%以上の株が陰性

Phosphatase 産生能: PP 寒天培地(栄研)を使用, 30°C 3日間の培養で判定した。

VP 反応: VP 半流動培地(栄研)を使用, 37°C 4日間培養した後, 判定した。

各種糖よりの酸産生能: OF 培地(Difco)を使用. Mannitol・Maltose・Lactose の各糖液と混和し, 好気性・嫌気性両条件にて37°C 4日間の培養にて判定した。

Biotype の分類: Baird-Parker の分類²⁾に従い, 表1の如く1型~4型および型別不能(以下 Un 型と略す)とに分類した。

Ribitol 定性: 図1の如く Ribitol を抽出し, 石塚・山川らの方法³⁾に従いガスクロマトグラフィーにより検出した。対照として Staph. aureus 209P および臨床分離の Coagulase 陽性ブドウ球菌4株を使用した。

Nucleoside-phosphotransferase 産生能: Klein ら⁴⁾および茂田ら⁵⁾の方法に従い, Nucleoside-phosphotransferase

(以下 NPTase と略す)により, Guanosine から合成された Guanosine-5'-monophosphate の検出を行ない, 薄層クロマトグラフィーにて展開した後, 濃塩酸蒸気浴・紫外線照射にて蛍光により判定した。対照として Coagulase 陽性ブドウ球菌9株を使用した。

抗生物質感受性測定: 日本化学療法学会標準法に従い, 最小発育阻止濃度(以下 MIC と略す)を測定した。検討した抗生物質は Novobiocin (以下 NB と略す), Lysostaphin, および Penicillin G (以下 PCG も略す), Cloxacillin (以下 MCIPC), Ampicillin (以下 ABPC), Cefazolin (以下 CEZ), Erythromycin (以下 EM), Tetracyclin (以下 TC), Chloramphenicol (以下 CP), Kanamycin (以下 KM), Dibekacin (以下 DKB) である。接種菌量は 10⁸/ml で, 各抗生物質とも 100 μg/ml からの倍数希釈による平板希釈法にて行なった。

III. 実験結果

1. 臨床材料別, Biotype 別分離頻度および DNase 産生能について

検討を行なった236株の臨床材料別分離頻度は表2に示すとおりで, 尿が73株(30.9%)と最も多く, 膿の42株(17.8%), 耳漏の29株(12.3%)の順であった。病院別にみると, 女医大株では尿が51株(47.2%)と多かつたのに対し, 東大株では耳漏が20.0%, 尿が18.1%, 膿が17.1%であった。

Biotype 別頻度では, 1型71株(30.0%), 2型1株, 3型28株(11.9%), 4型43株(18.2%)で, Un 型は93株(39.4%)であった。病院別に

表2—Coagulase 陰性 Staphylococcus の臨床材料別および Biotype 別分離成績
—DNase 産生能との関係—

		痰	膿	尿	血液, 穿刺液	耳漏	その他	計
総 計 236株	Biotype 1	2	15	13 (3)	3	10	28 (1)	71 (4)
	2			1				1
	3	1	7 (1)	5 (2)		7 (3)	9 (3)	28 (9)
	4	1	4 (3)	18 (5)		5 (4)	15 (2)	43 (14)
	Un	4 (1)	16 (4)	36 (9)	2	7 (5)	28 (9)	93 (28)
	計	7 (1)	42 (8)	73 (19)	5	29 (12)	80 (15)	236 (55)
	1)	3.0%	17.8%	30.9%	2.1%	12.3%	33.9%	100%
	2)	(14.3%)	(19.0%)	(26.0%)	(0%)	(41.4%)	(18.8%)	(23.3%)
女 医 大	Biotype 1	2	2	8		1		13
	2			1				1
	3		6	3 (1)		2 (1)	5	16 (2)
	4	1		11 (1)		1 (1)	9	22 (2)
	Un	4	6 (1)	28 (6)	1	2 (2)	15 (5)	56 (15)
	計	7 (1)	14 (1)	51 (8)	1	6 (4)	29 (5)	108 (19)
	1)	6.5%	13.0%	47.2%	0.8%	5.6%	26.9%	100%
	2)	(14.3%)	(7.7%)	(15.9%)		(66.7%)	(17.2%)	(17.6%)
東 大	Biotype 1		11	5 (3)	2	9	27 (1)	54 (4)
	2							
	3		1 (1)	1 (1)		4 (2)	3 (2)	9 (6)
	4		3 (2)	5 (3)		4 (3)	6 (2)	18 (10)
	Un		3 (2)	8 (3)	1	4 (3)	8 (3)	24 (11)
	計		18 (5)	19 (10)	3	21 (8)	44 (8)	105 (31)
	1)		17.1%	18.1%	2.9%	20.0%	41.9%	100%
	2)		(27.8%)	(52.6%)		(33.1%)	(18.2%)	(29.5%)
駒 込	Biotype 1		2		1		1	4
	2							
	3			1		1	1 (1)	3 (1)
	4		1 (1)	2 (1)				3 (2)
	Un		7 (1)			1	5 (1)	13 (2)
	計		10 (2)	3 (1)	1	2	7 (2)	23 (5)
	1)		43.5%	13.0%			30.4%	100%
	2)							(27.5%)

(): DNase 陽性株数, 1) %: 臨床材料別分離頻度,
2) (%): DNase 陽性率

表3 Mannitol 分解能と DNase 産生能との関係

		Mannitol 陽性	Mannitol 陰性	計
総 計 236株	Biotype 1		70 (4)	70 (4)
	2		1	1
	3		28 (9)	28 (9)
	4	43 (14)		43 (14)
	Un	26 (12)	68 (16)	92 (28)
	計	69 (26)	167 (29)	236 (55)
		1)	29.2%	70.8%
	2)	(37.9%)	(17.4%)	(23.3%)
女 医 大	計	39 (7)	69 (12)	108 (19)
	1)	36.1%	63.8%	
	2)	(17.9%)	(17.4%)	(17.6%)
東 大	計	26 (16)	79 (15)	105 (31)
	1)	24.8%	75.2%	
	2)	(61.5%)	(19.0%)	(29.5%)
駒 込	計	4 (3)	19 (2)	23 (5)
	1)	17.4%	82.6%	
	2)	(75.0%)	(10.5%)	(27.7%)

() : DNase 陽性株数, 1) % : Mannitol 分解能別頻度
2) (%) : DNase 陽性率

みると、東大株で1型が54株 (51.4%) と過半数に認められたのに対し、女医大株では1型は12.0%と少なく、Un型が56株 (51.8%) であつた。臨床材料別では特に有意差は認められなかつた。

DNase 産生能については、表2において DNase 陽性株を () 内の数字で示してあるが、DNase 陽性株は236株中55株 (23.3%) であつた。病院別では、東大株では105株中31株 (29.5%)、駒込株では23株中5株 (27.7%) であつたが、女医大株では108株中19株 (17.6%) であつた。Biotype と

の関係では、1型では5.6%と DNase 陽性株は少なかつたが、3型では32.1%、4型では32.5%が陽性であつた。特に東大株の3型、4型で著明であつた。Un型は30.1%が DNase 陽性であつたが、東大株の他に女医大株でも26.8%に認められた。臨床材料別にみると、耳漏で41.4%、尿で26.0%が DNase 陽性であつた。東大株では尿が19株中10株 (52.6%)、女医大株では耳漏で6株中4株が陽性であつた。

2. Mannitol 分解能と DNase 産生能との関係

Mannitol 分解能と DNase 産生能との関係をみたのが表3である。Mannitol 陽性株は69株 (29.2%) であり、その DNase 陽性率は37.9%で Mannitol 陰性株の17.4%に比べ高率であつた。病院別にみると、東大株で Mannitol 陽性26株中16株 (61.5%) が DNase 陽性であり、Mannitol 陰性株との間に差を認めた。駒込株も同様の傾向を示したが、女医大株では Mannitol 陽性・陰性の間に差を認めなかつた。

3. Novobiocin 感受性

NB に対する MIC を測定した結果が表4、5である。MIC 2.0 μ g/ml 以上を 'NB 耐性'、2.0 μ g/ml 未満を 'NB 感性' とした。217株について測定を行ない、NB 耐性51株 (23.5%)、NB 感性166株 (76.5%) であつた。臨床材料別では、尿で66株中17株 (25.8%)、耳漏で31株中6株 (19.4%) が NB 耐性であつた。Biotype 別では4型で38株中18株 (47.4%) が NB 耐性であつた。DNase 陽性株は NB 感性株では166株中40株 (20.4%)、NB 耐性株では51株中7株 (13.7%) に認められた。

表4 臨床材料別にみた Novobiocin 感受性成績
—DNase 産生能との関係—

	痰	膿	尿	血液 穿刺液	耳漏	その他	計
NB 耐性	1 (1)	5 (1)	17 (1)	1	6 (3)	21 (1)	51 (7)
NB 感性	6	34 (5)	49 (14)	3	25 (10)	49 (11)	166 (40)
計	7 (1)	39 (6)	66 (15)	4	31 (13)	70 (12)	217 (47)

() : DNase 陽性株数

表5 Biotype 別にみた Novobiocin 感受性成績
—DNase 産生能との関係—

	Biotype 1	2	3	4	Un	計
NB 耐性	14		5 (1)	18 (3)	14 (3)	51 (7)
NB 感性	48 (2)		19 (5)	20 (8)	78 (25)	166 (40)
計	62 (2)		24 (6)	38 (11)	92 (28)	217 (47)

(): DNase陽性株数

表6 Biotype 別にみた Lysostaphin 感受性成績
—DNase 産生能との関係—

MIC	Lysostaphin ($\mu\text{g/ml}$)				計
	≥ 100	50	25	$12.5 \geq$	
Biotype 1	32 (1)			33 (1)	65 (2)
2	1				1
3	17 (4)			10 (4)	27 (8)
4	28 (11)	1 (1)	1	12 (1)	42 (13)
Un	40 (10)	1	2 (1)	50 (17)	93 (28)
計	118 (25)	2 (1)	3 (1)	105 (23)	228 (51)
1)	51.8%	0.9%	1.3%	46.1%	
2)	(21.8%)			(21.9%)	(22.4%)

(): DNase陽性株数, 1) %: Lysostaphin感受性別頻度
2) (%): DNase陽性率

表7 Ribitol 定性と DNase 産生能および Novobiocin感受性との関係
(Coagulase 陰性 21株)

		Ribitol 陽性	Ribitol 陰性
Coagulase 陰性	DNase 陽性	0	6 (2)
	DNase 陰性	9 (5)	6 (1)
Coagulase 陽性	DNase 陽性	5	0

(): NB耐性株数

4. Lysostaphin 感受性

Lysostaphin に対する MIC を228株について測定した成績が表6である。MIC が $12.5\mu\text{g/ml}$ 以下の株が105株(46.1%), $100\mu\text{g/ml}$ 以上の株が118株(51.8%)であった。DNase 産生能との関係ではこの2群の間に差はなかった。

5. Ribitol 定性

上記236株より無作為に選んだ21株について検

討した成績が表7である。Ribitol 陽性 DNase 陰性の株が9株, Ribitol 陰性 DNase 陽性が6株, Ribitol 陰性 DNase 陰性が6株であり, 対照とした Coagulase 陽性の5株はすべて Ribitol 陽性 DNase 陽性であった。NB 感受性との関係では, Ribitol 陽性9株のうち NB 耐性は5株であった。

6. NPTase 産生能

無作為に選んだ105株につき NPTase 産生能を測定した成績が表8, 9である。NTPase 陽性株は13株(12.4%)に認められたが, すべて東大株

表8 NPTase 産生能と DNase 産生能および Novobiocin 感受性との関係
(Coagulase 陰性 105株)

		NPTase 陽性	NPTase 陰性
Coagulase 陰性	DNase 陽性	0	18 (3) (17.1%)
	DNase 陰性	13 (3) (12.4%)	74 (26) (70.5%)
Coagulase 陽性	DNase 陽性	9	0

(): NB耐性株数, (%) : 分離頻度

表9 NPTase 産生能・DNase 産生能と Biotype との関係

	Biotype					計
	1	2	3	4	Un	
NPTase 陰性 DNase 陰性	19	0	4	25	26	74
NPTase 陰性 DNase 陽性	1	0	3	8	6	18
NPTase 陽性 DNase 陰性	11	0	0	0	2	13
計	31	0	7	33	34	105

表10 臨床分離 Coagulase 陰性 192株の各種抗生物質感受性成績

MIC ($\mu\text{g/ml}$)	PCG	MCIPC	ABPC	CEZ	EM	TC	CP	KM	DKB
≥ 100	58	40	51		94	75	73	82	
50	30	7	14		2	31	42	6	3
25	8	5	12	10	2	11	14	3	
12.5	18	11	18	13	1	2	15	8	8
6.3	15	3	17	8	2		38	6	4
3.2	12	13	20	20		5	9	15	4
1.6	5	14	10	10	2	6	1	22	16
0.8	6	33	14	12	22	15		28	12
0.4	12	48	13	29	34	13		21	15
$0.2 \geq$	28	18	23	90	33	34		1	130

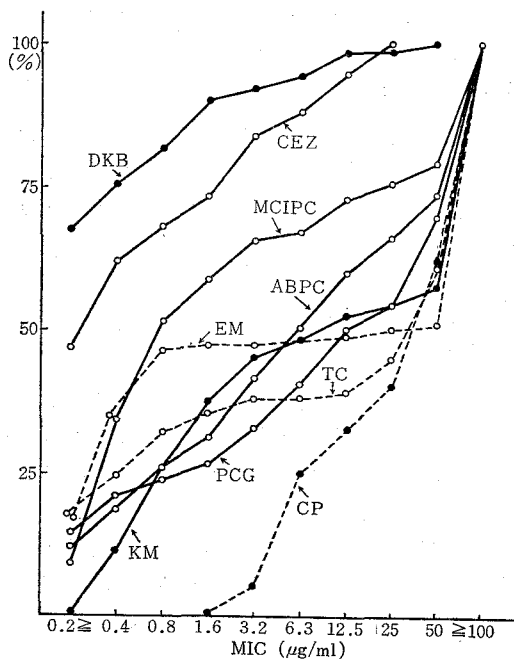


図2 Coagulase 陰性ブドウ球菌 192株の各種抗生物質感受性分布

であり、女医大株には認められなかつた。DNase 産生能との関係では、NPTase 陽性株はすべて DNase 陰性で、NPTase 陰性 DNase 陽性は18株、NPTase 陰性 DNase 陰性は74株であつた。対照とした Coagulase 陽性9株はすべて NPTase 陽性 DNase 陽性であつた。Biotype との関係では、

表11 MIC 感受性 CEZ と感受性との相関

MIC ($\mu\text{g/ml}$)	MCIPC			
	0.8 \geq	1.6~3.2	6.3~25	≥ 50
≥ 50				
25~6.3			3	28
3.2~1.6	2	2	9	17
0.8 \geq	97	25	7	2

NPTase 陰性 DNase 陰性の群では1型と4型を認めたが、NPTase 陰性 DNase 陽性の群では4型が多く、一方、NPTase 陽性 DNase 陰性の群では1型が13株中11株に認められた。

vii) 抗生物質感受性

無作為に選択した192株の前記9種類の抗生物質に対する MIC を測定した成績が表10・図2である。CP に対しては115株 (59.9%) が $50\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示し、ほとんどの株が $6.3\mu\text{g/ml}$ 以上であつた。EM では $100\mu\text{g/ml}$ 以上の群と $0.8\mu\text{g/ml}$ 以下の群、TC では $25\mu\text{g/ml}$ 以上の群と $0.8\mu\text{g/ml}$ 以下の群、KM では $100\mu\text{g/ml}$ 以上の群と $3.2\mu\text{g/ml}$ 以下の群といずれも2群にわかれた。DKB では130株 (67.7%) が $0.2\mu\text{g/ml}$ 以下の MIC を示したが、 $50\mu\text{g/ml}$ の株が3株認められた。CEZ では $50\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示した株はなく、119株 (62.0%) が $0.4\mu\text{g/ml}$ 以下であつた。Penicillin 系抗生剤では PCG で58株、ABPC で51株が $100\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示した

表12 DNase 産生能と各種抗生物質感受性との関係

	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	PCG	MCIPC	ABPC	CEZ	EM	TC	CP	KM	DKB
DNase 陰性 150株	100~6.3	107 (71.3%)	56 (37.3%)	91 (60.7%)	25 (16.7%)	87 (58.0%)	100 (66.7%)	145 (96.7%)	84 (56.0%)	13 (8.7%)
	3.2~1.6	13 (8.6%)	24 (16.0%)	25 (16.7%)	25 (16.7%)	2 (1.3%)	10 (6.7%)	5 (3.3%)	28 (18.7%)	10 (6.7%)
	0.8~0.2	30 (20.0%)	70 (46.7%)	34 (22.7%)	100 (66.7%)	61 (40.7%)	40 (26.7%)	0	38 (25.3%)	127 (84.7%)
DNase 陽性 42株	100~6.3	22 (52.4%)	10 (23.8%)	21 (50.0%)	6 (14.3%)	14 (33.3%)	19 (45.2%)	37 (88.1%)	21 (50.0%)	2 (4.8%)
	3.2~1.6	4 (9.5%)	3 (7.1%)	5 (11.9%)	5 (11.9%)	0	1 (2.4%)	5 (11.9%)	9 (21.4%)	10 (23.8%)
	0.8~0.2	16 (38.1%)	29 (69.0%)	16 (38.1%)	31 (73.8%)	28 (66.7%)	22 (52.4%)	0	12 (28.6%)	30 (71.4%)

(%) : DNase 産生能別MIC分布%

が、耐性ブドウ球菌用抗生物質である MCIPC に対しても40株 (20.8%) が100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の高度耐性を示した。この40株は女医大分離14株、東大分離26株であった。MCIPC 感受性と CEZ 感受性の相関をみたのが表11であるが、CEZ に対し25~6.3 $\mu\text{g/ml}$ の MIC を示した31株のうち28株 (90.3%) が MCIPC に対して100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の高度耐性を示した。

抗生物質感受性と DNase 産生能との関係をみたのが表12である。各抗生物質とも DNase 陰性株は DNase 陽性株に比べて6.3 $\mu\text{g/ml}$ 以上の中等度以上の耐性を示す株の頻度がやや高い傾向が認められた。Biotype 別に抗生物質感受性をみた成績が表13であるが、各抗生物質とも Biotype 1型において6.3 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示した株の頻度が他の型に比べやや高い傾向が認められた。

抗生物質感受性と NB 感受性との関係をみたのが表14である。NB 感性株と NB 耐性株の間にはとくに差は認められなかつた。表15は Ribitol を測定した Coagulase 陰性20株についての抗生物質感受性成績であるが、Ribitol 陽性・陰性による差は認められなかつた。また成績は省略したが、抗生物質感受性と Lysostaphin 感受性および NPTase 産生能との関係についても検討したが、有意の関係は認められなかつた。

IV. 考 按

ブドウ球菌は各種動物の間にも広く分布し⁶⁾、臨床的にもよく分離される菌種であるが、病原性

については黄色ブドウ球菌が問題とされてきた。Coagulase 陰性ブドウ球菌は非病原性とされ、表皮ブドウ球菌として一括されていた。従来、敗血症や尿路感染症を中心とする臨床例の報告があつたが^{7)~11)}、臨床的にはあまり注意は向けられていなかつた。近年その感染症例の増加が報告されるようになり、尿路感染症や膿瘍^{12)~15)}をはじめとして、特に近年心臓手術後の敗血症例の報告があり^{16)~19)}、本菌による菌血症の多いことが注目されている。臨床上の黄色ブドウ球菌との病原性の違いに関して、Smith ら²⁰⁾は表皮ブドウ球菌の感染では全身反応が強いことを報告し、Gemmel ら²¹⁾はマウスに対する感染実験から黄色ブドウ球菌は腎に膿瘍を形成し、局所的反応を示す傾向が強いが、表皮ブドウ球菌では肝に膿瘍を形たし、全身的反応を示すことを報告しており、Coagulase 陰性ブドウ球菌は菌血症をきたしやすいことが示唆されていた。すでに岩田ら^{22)~24)}は Coagulase 陰性 DNase 陽性株のマウス致死毒力の強いことを報告しており、また村上²⁵⁾は DNase 活性の強い Coagulase 陰性株で局所膿瘍形成傾向が強いことを報告している。

Coagulase 陰性ブドウ球菌が臨床的に問題になりつつある現在、とくに DNase 産生能を中心として各種生物学的性状についての検討を行なつた。

病原性との関係で注目された DNase 産生ブドウ球菌の検出頻度については、1965年当時

表13 Biotype 別にみた各種抗生物質感受性

192株

	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Biotype				
		1	2	3	4	Un
PCG	100~6.3	45 (77.6%)	1	11 (52.4%)	24 (60.0%)	48 (66.7%)
	3.2~1.6	6 (10.3%)		2 (9.5%)	4 (10.0%)	5 (6.9%)
	0.8~0.2	7 (12.1%)		8 (38.1%)	12 (30.0%)	19 (26.4%)
MCIPC	100~6.3	27 (46.6%)	1	6 (28.6%)	12 (30.0%)	20 (27.8%)
	3.2~1.6	3 (5.2%)		4 (19.0%)	12 (30.0%)	8 (11.1%)
	0.8~0.2	28 (48.3%)		11 (52.4%)	16 (40.0%)	44 (61.1%)
ABPC	100~6.3	37 (63.8%)		11 (52.4%)	23 (57.5%)	42 (58.3%)
	3.2~1.6	13 (22.4%)	1	2 (9.5%)	3 (7.5%)	11 (15.2%)
	0.8~0.2	8 (13.8%)		8 (38.1%)	14 (35.0%)	19 (26.4%)
CEZ	100~6.3	10 (17.2%)		1 (4.8%)	12 (30.0%)	8 (11.1%)
	3.2~1.6	16 (27.6%)		3 (14.3%)	0	11 (15.2%)
	0.8~0.2	32 (55.2%)	1	17 (81.0%)	28 (70.0%)	53 (73.6%)
EM	100~6.3	36 (62.1%)	1	7 (33.3%)	21 (52.5%)	35 (48.6%)
	3.2~1.6	2 (3.4%)		0	0	0
	0.8~0.2	20 (34.5%)		14 (66.7%)	19 (47.5%)	37 (51.4%)
TC	100~6.3	44 (75.9%)	1	11 (52.4%)	22 (55.0%)	40 (55.6%)
	3.2~1.6	3 (5.2%)		2 (9.5%)	1 (2.5%)	5 (6.9%)
	0.8~0.2	11 (19.0%)		8 (38.1%)	17 (42.5%)	27 (37.5%)
CP	100~6.3	57 (98.3%)	1	19 (90.5%)	36 (90.0%)	69 (95.8%)
	3.2~1.6	1 (1.7%)		2 (9.5%)	4 (10.0%)	3 (4.2%)
	0.8~0.2	0		0	0	0
KM	100~6.3	40 (69.0%)		8 (38.1%)	17 (42.5%)	40 (55.6%)
	3.2~1.6	5 (8.6%)		7 (33.3%)	10 (25.0%)	14 (19.4%)
	0.8~0.2	13 (22.4%)	1	6 (28.6%)	13 (32.5%)	18 (25.0%)
DKB	100~6.3	9 (15.5%)		3 (14.3%)	0	3 (4.2%)
	3.2~0.6	5 (8.6%)		2 (9.5%)	3 (7.5%)	10 (13.9%)
	0.8~1.2	44 (75.9%)	1	16 (76.2%)	37 (92.5%)	59 (81.9%)

(%): Biotype別 MIC分布%

表14 Novobiocin 感性・耐性別にみた各種抗生物質感受性
(NB 感性: MIC 2.0 > $\mu\text{g/ml}$, NB 耐性: MIC ≥ 2.0 $\mu\text{g/ml}$)

Coagulase 陰性 190株

	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	PCG	MCIPC	ABPC	CEZ	EM	TC	CP	KM	DKB
NB 感性株 132株	100~6.3	94 (71.2%)	43 (32.6%)	81 (61.4%)	19 (14.4%)	68 (51.5%)	83 (62.9%)	125 (94.7%)	81 (61.4%)	12 (9.1%)
	3.2~1.6	9 (6.8%)	9 (6.8%)	20 (15.2%)	23 (17.4%)	1 (0.8%)	7 (5.3%)	7 (5.3%)	19 (14.4%)	12 (9.1%)
	0.8~0.2	29 (22.0%)	80 (60.6%)	31 (23.5%)	90 (68.2%)	63 (47.7%)	42 (31.8%)	0	32 (24.2%)	108 (81.8%)
NB 耐性株 48株	100~6.3	29 (60.4%)	18 (37.5%)	25 (52.1%)	10 (20.8%)	25 (52.1%)	32 (66.7%)	46 (95.8%)	18 (37.5%)	3 (6.3%)
	3.2~1.6	7 (14.6%)	18 (37.5%)	8 (16.7%)	6 (12.5%)	0	3 (6.3%)	2 (4.2%)	16 (33.3%)	7 (14.6%)
	0.8~0.2	12 (25.0%)	12 (25.0%)	15 (31.3%)	32 (66.7%)	23 (47.9%)	13 (27.1%)	0	14 (29.2%)	38 (79.2%)

(%): NB感受性別 MIC分布%

表15 Ribitol 測定株の各種抗生物質感受性

Ribitol 測定20株

No.		MIC ($\mu\text{g/ml}$)								
		PCG	MCIPC	ABPC	CEZ	EM	TC	CP	KM	DKB
1	Ribitol 腸 性 DNase 陰 性	100	100	100	25	100	100	100	12.5	0.4
2		100	100	100	25	100	100	100	100	0.2
3		6.3	0.4	6.3	0.4	0.2	50	100	25	0.8
4		100	100	100	12.5	100	0.2	100	100	0.2
5		50	100	25	3.2	100	100	6.3	50	12.5
6		0.8	3.2	0.8	0.2	0.4	0.8	100	1.6	0.2
7		0.8	3.2	0.4	0.2	0.8	0.8	6.3	1.6	0.2
8		0.4	3.2	0.4	0.4	0.4	0.8	6.3	0.8	0.2
9	Ribitol 陰 性 DNase 陰 性	100	100	100	12.5	100	50	50	100	0.2
10		3.2	0.4	1.6	0.2	0.2	0.8	6.3	0.8	0.2
11		100	3.2	100	0.8	100	100	100	100	3.2
12		100	1.6	100	0.8	100	100	100	100	0.8
13		50	1.6	25	0.2	0.4	25	50	3.2	1.6
14		25	1.6	12.5	0.2	0.4	100	100	0.4	0.2
15	Ribitol 陰 性 DNase 陽 性	50	100	50	6.3	100	100	100	100	1.6
16		100	100	100	25	100	50	25	100	0.2
17		100	1.6	100	1.6	0.2	0.2	6.3	0.8	0.2
18		100	100	100	25	0.2	100	100	0.4	0.2
19		100	25	100	3.2	100	100	100	100	3.2
20		50	0.8	12.5	0.2	0.2	0.2	3.2	1.6	0.2
対照 1	Ribitol 陽 性 DNase 陽 性	3.2	0.4	1.6	0.2	50	1.6	3.2	100	0.2
2		0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	6.3	0.4	0.2
3		6.3	0.4	6.3	0.2	0.4	0.8	12.5	12.5	1.6
4		0.4	0.4	0.8	0.2	0.4	0.8	12.5	6.3	1.6

Coagulase 陰性169株中1株のみが DNase 陽性であつたものが、近年著明に増加している成績が得られたことに注目したい。この増加した要因については現在のところ全く手掛りが得られていないが、病院間で分離頻度に差がみられることなどから、今後疫学的検討のためにも全国レベルでの検討を必要とするものである。当初 DNase 陽性株の増加は抗生物質耐性度が高いことによるものと考えていたが、本研究の成績の如く DNase 陰性株に比べ、むしろ薬剤耐性の程度が低かつたことは予想と異なつた最も大きな点であつた。

Baird-Parker による Biotype²⁾ による型別は Coagulase 陰性ブドウ球菌の院内における動向を知るために必要な手段であり、本研究の成績では、東大株で1型が、女医大株で Un 型が多く、また DNase 陽性株は4型に多く認められた。また、Mannitol 分解能と DNase 産生能の関係をみてみたが、東大株では Mannitol 陽性株に DNase 陽性株が多くみられたが、女医大株では差が認められず、今後さらに検討を要する点であろう。この分類と抗生物質感受性との関係では、1型で薬剤耐性の程度がやや高い傾向は認められたが、今後は Biotype よりも Bacteriophage による検討が必要であると思われる²⁷⁾。

Bergey's Manual の8版では、*Staph. aureus* と *Staph. epidermidis*・*Staph. saprophyticus* とを各種生物学的性状により分類しているが、本研究においても各種生物学的性状について調べてみた。

NB 感受性は *Staph. saprophyticus* の同定上の大切な検査法であるが、NB 耐性菌と NB 感性菌の各種臨床材料別頻度では、尿由来株に NB 耐性株が多いことが報告されているが^{28)~31)}、本成績では女医大株に同様の傾向はみられたが、東大株では認められなかつた。DNase 産生能、Biotype との関係についても検討したが、とくに一定の傾向は認められなかつた。

Lysostaphin は黄色ブドウ球菌に対して強い抗菌力を示す溶菌物質であり、Coagulase 陰性株の一部のものに感性、一部のものに耐性であり、

ブドウ球菌の分類に用いられるが³²⁾、本成績では Lysostaphin 感受性と DNase 産生能・病院別頻度などとの関係については一定の傾向は認められなかつた。

従来、黄色ブドウ球菌と他のブドウ球菌との分類上きわめて重要な性状とされていた細菌細胞壁の Ribitol 含有の有無については、Coagulase 陰性株の一部にも認められ、*Staph. saprophyticus* の同定上必要なものである³³⁾³⁴⁾。著者らの Coagulase 陰性21株についての成績は、本邦では多数株検討成績としては唯一のものであるが、DNase 産生能・NB 感受性との関係についてみると、黄色ブドウ球菌と典型的な表皮ブドウ球菌との中間的性状を示す株が存在した。

NPTase 産生能も黄色ブドウ球菌では陽性にみられる性状であるが、本研究で Coagulase 陰性ブドウ球菌について測定し、DNase 産生能との関係をみてみたが、Ribitol の場合と同様、中間的な性状を示す株が認められた。

以上述べてきたように、黄色ブドウ球菌と従来の表皮ブドウ球菌との間には、様々な中間的性状をもつ菌株が多く認められる点が注目される。これらの株に対し、*Staph. intermedius* を提唱する報告⁶⁾、あるいは Kloos らのごとく9種類に Coagulase 陰性を分類する報告^{35)~39)}もあるが、臨床との関連は必ずしも明確でなく、この点について今後の検討が望まれるものである。

これらの成績から少なくとも現時点では、Coagulase 陰性ブドウ球菌の抗生物質感受性の動向は、DNase 産生能別や Biotype 別にすることなく、Coagulase 陰性株と一括して薬剤感受性成績を示し、臨床のための資料として供してよいと考えられる。

各種抗生物質感受性成績のなかでとくに注目すべきことは、Coagulase 陰性ブドウ球菌では、耐性ブドウ球菌用 Penicillin である Cloxacillin に対して100 μ g/ml 以上の MIC を示す高度耐性株がかなりみられ、それらの株が Cefazolin に対して中等度耐性を示したことである。その耐性機構の解明も今後の重要な問題として提起されるもの

と思われるが、それとともに本耐性菌は清水らの報告⁴⁰⁾のごとく入院患者に多くみられる点で、院内感染との関係から今後注意しなくてはならない。

今後、臨床問題となることは Cloxacillin 耐性 Cephalosporin 中等度耐性菌による感染症の治療である。現時点では、Aminoglycoside 剤²⁰⁾⁴¹⁾・Vancomycin⁴²⁾ の使用が推奨されているが、後者は本邦では市販されておらず、とくに Cloxacillin 耐性株の Cephamycin 系薬剤に対する感受性分布についての検討が今後の課題と思われる。

以上、近年分離された Coagulase 陰性ブドウ球菌に対して DNase 産生能、Biotype, NB 感受性、Lysostaphin 感受性など分類同定に関する検討を行ない、DNase 陽性株の増加などいくつかの問題が提起された。臨床に関連する問題として提起されたのは、抗生物質感受性に関する問題であろう。生物学的性状と薬剤耐性頻度との関係では、DNase 産生能・Biotype 別においてわずかに差がみられたが、臨床的意義は明確ではなかつた。仮に $6.3\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示す株を耐性菌とするならば、Cloxacillin 耐性34.4%、Cefazolin 耐性16.1%、Dibkacin 耐性7.8%、Kanamycin 耐性54.9%、Chloramphenicol 耐性95.0%とかなり高い耐性頻度を示しており、とくに菌血症例の多いことを考えれば治療上注意すべき重要なことと考える。病原的意義・院内感染の面から今後とも検討を続行するつもりである。

V. 結 論

Coagulase 陰性ブドウ球菌による感染症が増加し、治療面で問題となつてきているが、その臨床的意義は不明な点が少なくない。そこで臨床分離の Coagulase 陰性ブドウ球菌について、DNase 産生能をはじめとする生物学的性状、および各種抗生物質に対する感受性分布につき検討を試みて、次の結果を得た。

- 1) Coagulase 陰性 DNase 陽性株は236株中55株にみられ、著明に増加していた。
- 2) Coagulase 陰性ブドウ球菌のうち、典型的な表皮ブドウ球菌の他に、かなり様々な生物学的

性状を示す菌株が多くみられた。

- 3) Cloxacillin 耐性菌がぎわめて多く、その半数以上が Cefazolin に中等度耐性である点が注目された。

- 4) 前述の DNase 産生能その他の生物学的性状と耐性菌頻度との間には、とくに関係は認められず、DNase 陽性株の増加の原因に関する手掛りは得られなかつた。

今後本菌による感染症は増加する傾向にあり、病原的意義・院内感染の面から継続的検討がさらに重要になるとと思われる。

稿を終るにあたり、ご校閲を頂いた鎮目和夫教授に深謝致します。またご指導を頂いた清水喜八郎教授に感謝致します。実験にご協力頂いた東大中央検査部奥住捷子氏に感謝致します。

本論文の要旨は、第25回日本化学療法学会総会（1977年、岐阜）、第26回日本化学療法学会総会（1978年、東京）、第26回日本化学療法学会東日本支部総会（1979、東京）において発表した。

文 献

- 1) 岩田和夫：ブドウ球菌核酸分解酵素試験用 DNA 培地（栄研）について。モダンメヂア 12 342~346 (1966)
- 2) Baird-Parker, A.C.: Part 14. Genus II. Staphylococcus. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th Edit. Williams and Wilkins, Baltimore (1974)
- 3) Ishizuka, I., N. Ueta and T. Yamakawa: Gaschromatographic studies of microbial components. II. Carbohydrate and fatty acid constitution of the family micrococaceae. Jap J Exp Med 36 73~83 (1966)
- 4) Klein, M.M. and D.J. Blazevic: Nucleic acid enzyme studies of nonfermentative gram-negative bacteria using thin-layer chromatography. Appl Microbiol 23 276~280 (1972)
- 5) 茂田土郎・橋本一夫：グルコース非発酵性グラム陰性桿菌のヌクレオシドフォスフォトランスフェラーゼ活性について。緑膿菌研究会：第7回緑膿菌研究会講演記録 東京 122~124頁 (1973)
- 6) Hájek, V. and E. Marsálek: Evaluation of Classificatory Criteria for Staphylococci. Zbl Bakt Hyg I. Abt. (Suppl. 5) 11~21 (1976)
- 7) Graham, D.C.: Staphylococcus albus-

- potential pathogen. *Canad Med Ass J* **93** 38~39 (1965)
- 8) **Wilson, T.S. and R.D. Stuart:** Staphylococcus albus in wound infection and in septicemia. *Canad Med Ass J* **93** 8~16 (1965)
 - 9) 三方一沢・西尾泰生: 亜急性細菌性心内膜炎(遷延性心内膜炎)治療の検討. *総合医学* **13** 1043~1054 (1956)
 - 10) 武田元・山作房之輔・薄田芳丸・木下康民: 菌血症疾患に関する研究. 1. 表皮ブドウ球菌菌血症の5例. *感染症学雑誌* **46** 417~425 (1972)
 - 11) **Keys, T.F. and W.L. Hewitt:** Endocarditis due to micrococci and staphylococcus epidermidis. *Arch Int Med* **132** 216~220 (1973)
 - 12) **Jakubicz, P. and J. Borowski:** Staphylococcus epidermidis and micrococci as an etiological agent in urinary tract infection. *Zbl Bakt Hyg I. Abt.* (Suppl. 5) 141~143 (1976)
 - 13) **John, J.F., P.K. Gramling and N.M. O'Dell:** Species identification of coagulase-negative staphylococci from urinary tract isolates. *J Clin Microbiol* **8** 435~437 (1978)
 - 14) **Polaczek-Kornecka, B., Z. Dziadur-Goldsztajn and A. Komorowski:** Coagulase-negative staphylococci in clinical surgery. *Zbl Bakt Hyg I. Abt.* (Suppl. 5) 145~147 (1976)
 - 15) **Mahajan, V.M.:** Classification of staphylococci isolated from ocular tissues. *J Clin Path* **32** 396~398 (1972)
 - 16) **Speller, D.C.E. and R.G. Mitchell:** Coagulase-negative staphylococci causing endocarditis after cardiac surgery. *J Clin Path* **26** 517~522 (1973)
 - 17) **Dobrin, R.S., N. Day, A. Michael, R.L. Vernier, A.J. Fish and P.G. Quie:** Studies of the immune response and renal injury associated with chronic coagulase-negative staphylococcal bacteremia. *Zbl Bakt Hyg I. Abt.* (Suppl. 5) 137~139 (1976)
 - 18) **Lathrop, G.D., R.M. Brockett and L.E. Blouse:** Epidemiologic surveillance for staphylococcus epidermidis infections related to cardiopulmonary bypass. *Zbl Bakt Hyg I. Abt. Orig. A* **241** 108~118 (1978)
 - 19) **Williams, D.N., P.K. Peterson, J. Verhoef, M. Laverdiere and L.D. Sabath:** Endocarditis caused by coagulase-negative staphylococci. *Infection* **7** 5~9 (1979)
 - 20) **Smith, H.B.H. and H. Farkas-Himsley:** The relationship of pathogenic coagulase-negative staphylococci to staphylococcus aureus. *Canad J Microbiol* **15** 879~890 (1969)
 - 21) **Gemmell, C.G., M. Thelestam and T. Wadström:** Toxinogenicity of coagulase-negative staphylococci. *Zbl Bakt Hyg I. Abt.* (Suppl. 5) 133~136 (1976)
 - 22) 岩田和夫・江田 享: 腹腔内接種によりマウスに強い毒力を示す特殊ブドウ球菌に関する研究. 第1報 形態学的ならびに生物学的性状. *日細誌* **23** 165~170 (1968)
 - 23) 岩田和夫・江田 享: 腹腔内接種によりマウスに強い毒力を示す特殊ブドウ球菌に関する研究. 第2報 毒力. *日細誌* **23** 348~353 (1968)
 - 24) 岩田和夫・江田 享: 腹腔内接種によりマウスに強い毒力を示す特殊ブドウ球菌に関する研究. 第3報 毒力の解析. *日細誌* **23** 392~400 (1968)
 - 25) 村上正博: 患者由来表皮ブドウ球菌に関する研究. 第1報 生物学的性状ならびに病原性について. *日細誌* **25** 591~597 (1970)
 - 26) 岩田和夫・江田 享・木村貞夫・青山 巖: ブドウ球菌の菌体外酵素に関する研究. 第1報 核酸分解酵素による病原ブドウ球菌の同定. *日細誌* **22** 577~582 (1967)
 - 27) **Males, B.M., W.A. Rogers and J.T. Parisi:** Virulence factors of biotypes of staphylococcus epidermidis from clinical sources. *J Clin Microbiol* **1** 256~261 (1975)
 - 28) **Nord, C.E., S. Holta-Öie, Å. Ljungh and T. Wadström:** Characterization of coagulase-negative staphylococcal species from human infections. *Zbl Bakt Hyg I. Abt.* (Suppl. 5) 105~111 (1976)
 - 29) **Mårdh, P.-A., B. Hovelius, K. Hovelius and P.O. Nilsson:** Coagulase-negative, novobiosin-resistant staphylococci on the skin of animals and man, on meat and in milk. *Acta Vet Scand* **19** 243~253 (1978)
 - 30) **Wallmark, G., I. Arremark and B. Telander:** Staphylococcus saprophyticus: A frequent cause of acute urinary tract infection among female outpatients. *J Inf Dis* **138** 791~797 (1978)
 - 31) **Shrestha, T.L. and J.H. Darrell:** Urinary infection with coagulase-negative staphylococcus in a teaching hospital. *J Clin Path* **32** 299~302 (1979)
 - 32) **Heddaeus, H., P.B. Heczko and G. Pulverer:** Evaluation of the lysostaphin-susceptibility test for the classification of staphylococci. *J Med Microbiol* **12** 9~15 (1979)

- 33) **Oeding, P.** and **A. Digranes:** Staphylococcus saprophyticus: Classification and infections. *Zbl Bakt Hyg I. Abt.* (Suppl. 5) 113~117 (1976)
- 34) **Oeding, P.** and **A. Diigranes:** Classification of coagulase-negative staphylococci in the diagnostic laboratory. *Acta Path Microbiol Scand Sect B* **85** 136~142 (1977)
- 35) **Kloos, W.E., T.G. Tornabene** and **K.H. Schleifer:** Isolation and characterization of micrococci from human skin, including two new species: *Micrococcus lylae* and *micrococcus kristinae*. *Int J Syst Bacteriol* **24** 79~101 (1974)
- 36) **Schleifer, K.H.** and **W.E. Kloos:** Isolation and classification of staphylococci from human skin. I. Amended descriptions of staphylococcus epidermidis and staphylococcus saprophyticus and descriptions of three new species: *Staphylococcus cohnii*, *staphylococcus haemolyticus* and *staphylococcus xylosus*. *Int J Syst Bacteriol* **25** 50~61 (1975)
- 37) **Kloos, W.E.** and **K.H. Schleifer:** Isolation and characterization of staphylococci from human skin. II. Descriptions of four new species: *Staphylococcus warnerii*, *staphylococcus capitis*, *staphylococcus hominis* and *staphylococcus simulans*. *Int J Syst Bacteriol* **25** 62~79 (1975)
- 38) **Kloos, W.E.** and **K.H. Schleifer:** Simplified scheme for routine identification of human staphylococcus species. *J Clin Microbiol* **1** 82~88 (1975)
- 39) **Kloos, W.E.** and **M.S. Musselwhite:** Distribution and persistence of staphylococcus and micrococcus species and other aerobic bacteria on human skin. *Appl Microbiol* **30** 381~395 (1975)
- 40) 清水喜八郎・熊田徹平・奥住捷子・佐久一枝：
表皮ブドウ球菌の薬剤耐性と現況。最新医学
32 1468~1473 (1977)
- 41) **Laverdiere, M., P.K. Peterson, J. Verhoef, D.N. Williams** and **L.D. Sabath:** In vitro activity of cephalosporins against methicillin-resistant, coagulase-negative staphylococci. *J Inf Dis* **137** 245~250 (1978)
- 42) **Siebert, W.T., N. Moreland** and **T.W. Williams:** Synergy of vancomycin plus cefazolin or cephalothin against methicillin-resistant staphylococcus epidermidis. *J Inf Dis* **139** 452~457 (1979)