

## MRSA ISOLATED FROM OTORRHEA OF OUTPATIENTS

Hiroyuki Kakoi<sup>1</sup>, Hiroshi Nishino<sup>1</sup>, Ken Kitamura<sup>1</sup>, Mamoru Morita<sup>1</sup>,  
Mutsumu Hayashi<sup>2</sup>, Kenji Okonogi<sup>3</sup>

1. Department of Otolaryngology, Jichi Medical School
2. Division of Clinical Laboratory, Jichi Medical School
3. Research and Development Division, Biology Laboratorys,  
Takeda Chemical Industries, LTD

One hundred and ninety-four strains were isolated from otorrhea of outpatients from September 1991 to June 1992. *Staphylococcus aureus* was most frequently isolated (68 strains, 35.1%), followed by *Pseudomonas aeruginosa* (31 strains, 16.0%). The most frequent disease which *S.aureus* had been isolated from was chronic suppurative otitis media (39 cases).

Sixty-eight strains of *S.aureus* were classified into two types, Methicillin-susceptible *S.aureus* (MSSA) and Methicillin-resistant *S.aureus* (MRSA) by the Ceftizoxime (CZX) disc method. The number of MSSA was 55 strains (80.9%) and that of MRSA was 13 strains (19.1%).

We examined the presence of the *mec-A* gene in all of *S.aureus* strains by the Southern blotting technique using PCR. In one of 55 strains of MSSA diagnosed by the CZX disc method, we could detect a *mec-A* gene. We detected *mec-A* genes

in all of MRSA strains. Some of MRSA with less resistance to CZX are classified as MSSA by CZX disc method. Thus the detection of a *mec-A* gene is necessary to differentiate MRSA from MSSA.

The MICs of various antibiotics to MSSA were examined. The values of MIC<sub>80</sub> of each agent were 16.0 μg/ml with piperacillin (PIPC), 0.25 with cefazolin (CEZ), 4.0 with cefaclor (CCL), 1.0 with cefotiam (CTM), 4.0 with cefmetazole (CMZ), 0.25 with cefuzonam (CZON), 0.25 with flomoxef (FMOX), 2.0 with arbekacin (ABK), 0.25 with minocycline (MINO), 0.25 with imipenem (IPM), 1.0 with vancomycin (VCM) and 1.0 with ofloxacin (OFLX). The MICs to CZX susceptible MRSA were 16.0 μg/ml with PIPC, 2.0 with CEZ, 16.0 with CCL, 2.0 with CTM, 4.0 with CMZ, 2.0 with CZON, 4.0 with FMOX, 1.0 with ABK, less than 0.25 with MINO, less than 0.25 with IPM, 1.0 with VCM and 1.0 with OFLX.

## 外来患者における耳漏中MRSAの検討

梶 博幸<sup>1)</sup> 西野 宏<sup>1)</sup> 喜多村 健<sup>1)</sup> 森田 守<sup>1)</sup>  
林 和<sup>2)</sup> 小此木 二<sup>3)</sup>

1. 自治医大耳鼻咽喉科学教室
2. 自治医大臨床病理部
3. 武田薬品生物研究所

はじめに

耳鼻咽喉科領域感染症の起炎菌の1つとしてMRSAは、ポピュラーなものとなってきた。そもそも、MRSAは1961年にDMPPC耐性を示す黄色ブドウ球菌としてイギリスで発見され、同年アメリカでも発見されたものである。日本では1960~70年代は狭域合成PCと第1世代セフェム系抗生物質の全盛期でMRSAの流行は抑えられていた。しかし、1980年以降、グラム陰性桿菌による感染症に対して第2世代・第3世代のセフェム系抗生物質が汎用されるに至ってMRSAは増加してきた。

今回、著者らは外来患者の耳漏特に黄色ブドウ球菌について細菌学的検討を加えたので報告する。

対象

1991年9月から1992年6月までの9カ月間に自治医大病院耳鼻咽喉科外来にて耳漏の細菌検査を施行し、原因菌が同定された194検体を用いた。

方法

滅菌綿棒(Transwab<sup>®</sup>)で耳漏を採取し、自治医大病院臨床病理部細菌検査室にて菌の同定、薬剤感受性試験を施行した。黄色ブドウ球菌に対しては、CZXディスク法で、メチシリン感受性ブドウ球菌(Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*, MSSA)とメチシリン耐性ブドウ球菌(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)に分類し、武田薬品生物研究室でPCR法を用いたSouthern blotting法によってmecA遺伝子を検索した。また一部のMSSAについては各種薬剤のMICを測定した。測定は自治医大病

院臨床病理部細菌検査室と三菱油化ビーシーエルにて行い、菌量は10<sup>6</sup>個/mlとし、piperacillin (PIPC), cefazolin (CEZ), cefaclor (CCL), cefotiam (CTM), cefmetazole (CMZ), cefuzoname (CZON), flomoxef (FMOX), arbekacin (ABK), minocycline (MINO), imipenem (IPM), vancomycin (VCM), ofloxacin (OLFX)の12剤について測定した。

結果

1. 検出菌

	number	
<i>Staphylococcus aureus</i>	68	35.1%
MSSA	54	
MRSA	14	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31	16.0
<i>Aspergillus sp.</i>	11	5.7
<i>A. niger</i>	4	
<i>A. terreus</i>	3	
others	4	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9	4.7
<i>Haemophilus influenzae</i>	8	4.1
type 2	4	
type 3	2	
type 5	1	
type 7	1	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	7	3.6
Non-fermentating		
gram-negative rods	5	2.6
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	5	2.6
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	4	2.1
<i>Providencia stuartii</i>	4	2.1
Coryneform bacteria	4	2.1
<i>Staphylococcus capitis</i>	3	1.5
Others	35	18.0
<b>Total</b>	<b>194</b>	

Table 1 Microorganisms isolated from Otorrhea of Outpatients (1991.9~1992.6)

194の検体からその起炎菌と思われるものを同定した (Table 1). 黄色ブドウ球菌が68株 (35.1%) と最も多く、次いで、緑膿菌31株 (16.0%) であった. 他には Candida 属は2株, プロテウス属 (*Proteus mirabilis*) は1株のみであった.

2. 黄色ブドウ球菌が分離された耳漏の原因疾患

慢性化膿性中耳炎が39例, 中耳手術術後状態の急性増悪10例, 真珠腫性中耳炎8例の順であった (Table 2).

	number
Chronic Suppurative Otitis Media	39 cases
Post-operative Condition	10
Cholesteatoma	8
Acute Suppurative Otitis Media	5
Acute Otitis Externa	4
Chronic myringitis	2
<b>total</b>	<b>68</b>

Table 2 Causes of Otorrhea isolating *S. aureus*

3. CZX ディスク法による MSSA, MRSA の分類

黄色ブドウ球菌68株のうちCZX ディスク法で MSSA と分類されたものが55株 (80.1%), MRSA と分類されたものが13株 (19.9%) であった.

4. mecA 遺伝子の検出

CZX ディスク法で MSSA と分類された55株のうち1株において mecA 遺伝子を検出した. MRSA と分離されたものでは全てに mecA 遺伝子を検出した (Table 3).

5. MSSA に対する薬剤の MIC

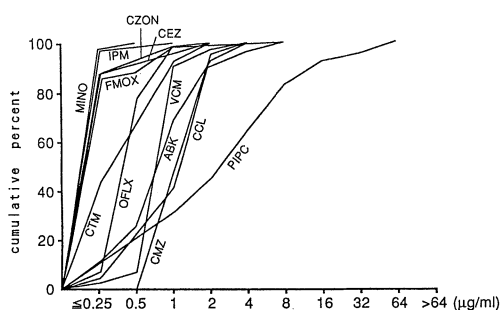
各々の薬剤のMIC80をみると, PIPC 16.0 CEZ 0.25, CCL 4.0, CTM 1.0, CMZ 4.0, CZON 0.25, FMOX 0.25, ABK 2.0, MINO 0.25, IPM 0.25, VCM 1.0, OFLX 1.0 (μg/ml,) となった (Fig. 1).

6. CZX 感受性 MRSA に対する薬剤の MIC

	CZX(R)	CZX(S)
mecA(+)	13	14 (MRSA)
mecA(-)	54	54 (MSSA)
	13	55

By CZX disk method, 55 strains out of 68 strains were classified into MSSA. In one strain of 55 strains classified into MSSA by CZX disk method, we could detect a mecA gene with use of PCR method. This strain was a MRSA which was susceptible to CZX.

Table 3 Relationship between MecA Gene and Susceptibility to CZX (R) resistant (S) susceptible



Drug	MIC	≤0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	>64	total
PIPC		5		9	6	9	8	4	1	2		44
CEZ		39	3	2								44
CCL		2	16	22	3	1						44
CTM		19	22	3								44
CMZ			21	21	2							44
CZON		39	4	1								44
FMOX		38	1	4	1							44
ABK		5	6	19	11	3						44
MINO		43	1									44
IPM		43		1								44
VCM		1	2	37	3	1						44
OFLX		3	31	9			1					44

Fig. 1 Distribution of MICs of Antibiotics against MSSA.

自治医大病院臨床病理部細菌検査室の結果と三菱油化ビーシーエルの結果をTable 4に示す. PIPC, CCL に対しては感受性は高くなかったが, OFLX に対しては高い感受性を示していた.

	Jichi Hosp.	Mitsubishi BCL
PIPC	1 6 $\mu\text{g}/\text{ml}$	2 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$
CEZ	2	3. 13
CCL	1 6	
CTM	2	3. 13
CMZ	4	
CZON	2	6. 25
FMOX	4	6. 25
ABK	1	
MINO	$\leq 0. 25$	
IPM	$\leq 0. 25$	
VCM	1	
OFLX	1	

Table 4 Distribution of MICs of Antibiotics against CZX Susceptible MRSA Concentration of bacteria  $10^6/\text{ml}$

考 察

分離菌の種類と株数については、外来耳漏患者全ての耳漏を調べた訳ではないので傾向を出すのは不可能であると思われる。急性中耳炎の起炎菌としては一搬に肺炎球菌、インフルエンザ菌、黄色ブドウ球菌が多くみられるが、今回の結果からもその傾向が推察される。また、慢性中耳炎の三大起炎菌とされている、黄色ブドウ球菌、緑膿菌、プロテウス属においては、先の2つはやはり高頻度に検出されているが、広野ら<sup>1)</sup>が報告しているように、Proteus属は減少しているようである。真菌症においても、アスペルギルス属が多くなっている。

MRSAにおいてもDMPPC感受性株が存在することが知られている<sup>2)</sup>。そのような菌はDMPPC, MIPIC, CZXを用いた薬剤感

受性試験による分類ではMSSAと分類されてしまうことになる。このような不顕性とか潜在性MRSAとよばれる黄色ブドウ球菌においては、抗生剤の不適切な使用で高度耐性MRSAへの変化の手助けをしてしまうことがあり得る。したがって、黄色ブドウ球菌による感染症では薬剤感受性試験のみでなく、mecA遺伝子の検索が必要であるが、臨床の現場では容易にいかないと思われる。今回の検討ではCZXディスク法でMSSAと分離された黄色ブドウ球菌55株の中の1株にmecA遺伝子を検出した。

一般に外来における表在性感染症ではMRSAによって重篤な状態に陥ることは、ほとんどないと思われるが、免疫力の低下した患者や、まだ十分な免疫力を獲得していない新生児特に未熟児においては、起炎菌がMSSAと判定されたとしても抗生剤の使用においては慎重に対処すべきであり、治療効果が十分得られないときはMRSAの可能性も考えて、mecA遺伝子を検索してみることも必要と思われる。

外来患者におけるMSSA感染症に対する経口抗菌剤としては、MINO, OFLX, CTMが高いMICを有しており、有効ではないかと思われる。

文 献

- 1) 広野喜信 他：慢性中耳炎の検出菌と各種薬剤の最小発育阻止濃度。日本耳鼻咽喉科感染症研究会誌。8：77-80, 1990.
- 2) 平松啓一 他：メチシリン耐性の遺伝的多様性。化学療法領域。7：48-54, 1991.

---

質 疑 応 答

質問 関谷 透（山口大耳鼻科）

mec-A 遺伝子の検索率について：従来の報告にみるデータとの異同。そしてお考えの一端を。

応答 梶 博幸（自治医大）

今回はCZXディスク法でMSSAと判定された55株中1株（1.9%）にmec-A遺伝子を検出したが、平松らはDMPPC法でMSSAと判定された50株中7株（14%）にmec-A遺伝子を検出している。検出率については母集団が少ないので明確な数値は言えないが、MSSAと判定されたものの中にもmec-A遺伝子を有するMRSAが存在することを頭の中に入れておく必要があるということです。