

原 著

加齢による手指付着 Coagulase Negative Staphylococci の性状変化

美祢弘子 二宮健司

川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床栄養学科

(平成9年11月19日受理)

Changes in Properties of Coagulase Negative Staphylococci Adhering to the Fingers by Aging

Hiroko MINE and Kenji NINOMIYA

*Department of Clinical Nutrition
Faculty of Medical Professions
Kawasaki University of Medical Welfare
Kurashiki, 701-01, Japan
(Accepted Nov. 19, 1997)*

Key words : *Staphylococcus epidermidis*, coagulase negative staphylococci, aging, antibiotics, susceptibility

Abstract

Sixty strains of coagulase negative staphylococci (CNS) were isolated from 20 healthy young people in their twenties and 40 CNS strains were obtained from 15 healthy old people in their fifties. The species of the isolated CNS were determined by using Api Staph. Forty one strains out of the 60 CNS strains derived from the younger group (68.3%) and 21 strains out of the 40 CNS strains derived from the older group (52.5%) were identified as *Staphylococcus epidermidis*. Species of CNS strains other than *S. epidermidis* originating from both group were also studied and the differences are discussed.

The susceptibility of the isolated strains to 10 antibiotics was measured by the agar plate dilution method. It was clearly shown that all the CNS strains were more susceptible to 4 antibiotics, namely penicillin G, Ampicillin, Novobiocin, and Tetracycline. Also, the CNS strains other than *S. epidermidis* which were isolated from the younger group were found to be more susceptible to these 4 antibiotics when compared with the older

group. Susceptibilities of 6 cepheids that is Cephalothin, Cephatiam, Cefazolin, Cephpiramide, Cephotaxime and Cefuroxime to those two groups of strains showed no significant difference between two ages.

Susceptibilities of *S. epidermidis* derived from two different ages were almost same with all of the 10 antibiotics tested.

要 約

20代の健康人20名から60株, 50代の健康人15名から40株の coagulase negative staphylococci (CNS) を分離した。Api Staph を用いて菌種同定をおこなったところ, 20代由来の CNS60株中の41株 (68.3%) および50代由来の CNS40株中の21株 (52.5%) が *Staphylococcus epidermidis* であった。*S. epidermidis* 以外の CNS についても菌種同定をおこない, 由来年代による相違について考察した。これら分離株を用いて10種類の抗生物質に対する感受性を寒天平板希釈法により調べた。この結果 CNS 全部および *S. epidermidis* 以外の CNS において, Penicillin G, Ampicillin, Novobiocin, Tetracycline の4種類の抗生物質に対する感受性が, 20代由来株の方が50代由来株よりも有意に高かった。しかし, Cephazolin, Cephalothin, Cephotiame, Cephotaxime, Cephpiramide および Cefroxime の6種類のセフェム系抗生物質に対する感受性は菌株の由来年代による差は見られなかった。

また *S. epidermidis* について比較した場合には使用した10種類の抗生物質のすべてに対して菌株由来年代による感受性の差は示されなかった。

緒 言

人の手指には数多くの常在菌や通過菌が混在しており¹⁾, 特に常在菌は宿主と微妙なバランスを保ちながら共存共栄している。このため, 宿主におこった何らかの変化は常在菌の性状に影響を与えると考えられる。今回われわれは宿主側の要因として加齢を, 代表的な手指常在菌として coagulase negative staphylococci を, さらに常在菌の性状として抗生物質に対する感受性を選びこれらの関連性について検討した。

従来 *Staphylococcus* 属は coagulase を産生し, 強い病原性を示す *Staphylococcus aureus* と coagulase を産生せず非病原性の *Staphylococcus epidermidis* とに大別されてきた²⁾。しかし近年 *S. epidermidis* は生化学的および生物学的性状の相違に基づいて18菌種に細分され, coagulase negative staphylococci (CNS) としてまとめられるようになった³⁾。

CNSは医療機器への接着を介する日和見感染の起因菌としても重要であり⁴⁾, 菌種による病原性の強弱や生存部位の相違が注目されている⁵⁾。

実験方法

1. ヒト手指付着 CNS の採取

20代の健康人20名および50代の健康人15名の右手人差し指を Brain Heart Infusion Agar 平板培地 (BHIA) に擦り付けて培養し, 付着微生物の colony を得た。肉眼的観察により colony 性状が小型, 白色, S型であるものを選び, さらにグラム染色後顕微鏡観察により, グラム陽性のブドウの房状を示す球菌を *Staphylococcus* 属と判定した⁶⁾。*Staphylococcus* 属は試験管法による coagulase test を行い, ウサギプラズマが凝固しなかったものを⁷⁾ CNS として選択した。coagulase test の positive control として *S. aureus* RIMD209P 株を使用した。

2. CNS の菌種同定

分離した CNS の菌種同定は Api Staph (日本ビオメリユーバイオテック) を用いて行った⁸⁾。Api Staph で同定できなかったものはさらに β -glucosidase test, β -galactosidase test, turanose test, Novobiocin 抵抗性 test⁹⁾ を行って菌種の同定を行った。

3. 抗生物質に対する感受性検査法

抗生物質に対する感受性は、センシディスク（ベクトンディッキンソン社、直径6mm）を使用し、改良した寒天平板拡散法¹⁰⁾により測定した。直径90mmのBHIA平板培地1枚あたり3枚のセンシディスクを置き、35℃で24時間培養した。培養後センシディスク周辺に形成された透明な阻止円の直径を測定し（単位はmm、小数点以下四捨五入）、被検菌の感受性とした。今回の実験では阻止円中にミュタントの colony が存在する場合には阻止円が形成されなかったものと同様、すなわち感受性は6（センシディスクの直径）とみなした。

実験には以下に示す10種類のセンシディスクを使用した（ ）内は略号を示す。

PenicillinG (PCG), Ampicillin (ABPC), Tetracycline (TC), Novobiocin (NB), Cefazolin (CEZ), Cephalothin (CET), Cephotoxime (CTX), Cephotiam (CTM), Cephpiramide (CPM), Cefuroxime (CXM).

実験結果と考察

1. 由来年代による分離菌種の相違

20代の被検者20名より肉眼的に白色、小型、S型性状を示す66株の colony を選んだ。これらをグラム染色後、顕微鏡観察を行った結果66株中60株がグラム陽性ブドウ球菌、すなわち *Staphylococcus* 属であると判定された。さらに coagulase test を行い60株のすべてが CNS と同定された。同様に50代の被検者15名より肉眼的性状により44株の colony を選び、このうちの40株が *Staphylococcus* 属と判定された。coagulase test により40株のすべてが CNS と同定された。このようにして選ばれた20代の被検者由来の60株および50代の被検者由来の40株の CNS について Api Staph を用いて菌種を同定した。この結果20代由来では CNS60株中41株（68.3%）が *S. epidermidis* と同定（同定確立90%以上）¹¹⁾された。これに対し50代由来では CNS40株中21株（52.5%）が *S. epidermidis* であった。20代由来の方が50代由来よりも CNS 中で *S. epidermidis* が占める率が高いことが示された。臨床材料から分離した CNS では（被検

者の年齢は不明）*S. epidermidis* の占める割合が50%前後であることが報告されている¹²⁾¹³⁾。

S. epidermidis 以外の CNS の同定菌種は表1に示した。20代由来および50代由来ともに7菌種づつ同定された。20代由来では *S. capitis* が19株中5株と最も多かったが50代由来では19株中3株あった *S. saprophyticus* は同定されなかった。一方50代由来では *S. warneri* が19株中6株と最も多く、20代由来で19株中4株あった *S. caprae* は50代由来では1株も同定されなかった。しかしながら今回健常者より分離同定された8菌種はすべて臨床材料由来のものでもよく見られる菌種であり¹⁴⁾¹⁵⁾特に相違は見られなかった。

2. 由来年代による菌株の抗生物質に対する感受性の相違

まず20代由来の60株および50代由来の40株の CNS について10種類の抗生物質に対する感受性の比較を行った（表2）。この結果、PCG, ABPC, NB, TCの4種類の抗生物質に対しては20代由来の CNS における感受性が50代由来におけるよりも高い傾向にあった（t検定、危険率10%）。これに対し CEZ, CTM, CET, CTX, CXM, CPM の6種類のセフェム系抗生物質に対する感受性は由来年代による差が見られなかった。そこで CNS を *S. epidermidis* と *S. epidermidis* 以外の CNS に分けて、同様に由来年代による感受性の比較を行った。この結果、CNS 全体で見られた PCG, ABPC, NB, および TC にお

表1 由来年代による分離菌種の相違

菌種	由来	20代由来 19株	50代由来 19株
<i>S. capitis</i>		5株	3株
<i>S. caprae</i>		4株	0株
<i>S. warneri</i>		3株	6株
<i>S. hominis</i>		3株	3株
<i>S. haemolyticus</i>		2株	1株
<i>S. sciuri</i>		1株	3株
<i>S. xylosus</i>		1株	1株
<i>S. saprophyticus</i>		0株	2株

いて20代由来株の方が高い感受性を示す傾向が *S. epidermidis* 以外の CNS においてより明確に示された (t 値がより大きくなった, 危険率 10% で有意) (表 3). *S. epidermidis* では20代由来と50代由来で感受性値に有意な差は見られなかった (t 値0.7以下) (表 4).

臨床材料由来 CNS の抗生物質に対する感受性については多くの報告¹³⁾¹⁴⁾があり菌種により感受性に大きな差違が存在することが報告されている¹⁵⁾. また多くの菌種が PCG や ABPC, NC, NB など古くから臨床的に用いられてきた薬剤に対し高い耐性化の傾向を示すことも報告されているが, これらのデータには被検者の年齢による区別がされていない. 今回われわれが健康人から CNS を分離して抗生物質に対する感受性を比較したところ, 古くから長い年月使用されてきた抗生物質に対しては若年者 (20代由来) のものが老年者 (50代由来) よりも高い感受性を示した. また比較的新しく開発されたセフェム系に対しては耐性率も低く, 両年齢による差はほとんど見られなかった.

本研究の遂行にあたり, 川崎医療福祉大学・総合研究「加齢と老齢」の助成を受けたことを感謝いたします.

表 3 *S. epidermidis* の CNS の菌株由来年代による薬剤感受性の比較

薬種 \ 由来	20代由来 19株	50代由来 19株	
PCG	22.47±15.95	13.74±11.98	※
ABPC	19.53±14.02	11.58± 9.38	※
NB	29.63± 8.30	22.63±12.97	※
TC	25.84±11.17	19.97±10.00	※
CEZ	27.58±10.92	24.16±12.30	
CET	32.26± 8.74	28.63±11.29	
CTX	26.53± 5.91	24.79± 9.70	
CTM	27.58± 6.94	25.16± 9.33	
CPM	24.63± 8.46	21.84± 9.79	
CXM	26.11±10.58	27.32±11.46	

表中の数字は阻止円の直径より求めた感受性度の平均値と標準偏差値である.

※p<0.10

表 2 CNS の菌株由来年代による薬剤感受性の比較

薬種 \ 由来	20代由来 60株	50代由来 40株	
PCG	19.44±14.64	14.60±12.16	※
ABPC	16.18±12.83	11.03± 9.58	※
NB	30.09± 8.80	25.74±11.87	※
TC	25.36±10.43	21.97±11.00	※
CEZ	27.62± 9.30	26.22±10.42	
CTM	25.18± 8.50	25.93± 8.46	
CET	29.95± 9.56	29.24± 9.80	
CTX	26.15± 7.64	26.21± 8.47	
CXM	29.47± 8.79	29.22± 9.87	
CPM	22.79± 8.12	22.96± 8.56	

表中の数字は阻止円の直径より求めた感受性度の平均値と標準偏差値である.

※p<0.10

表 4 *S. epidermidis* の菌株由来年代による薬剤感受性の比較

薬種 \ 由来	20代由来 41株	50代由来 21株
PCG	18.20±14.13	16.43±13.87
ABPC	14.76±12.26	12.43±11.99
NB	25.51±10.05	25.62±11.21
TC	30.80± 8.56	29.14± 9.84
CEZ	28.10± 8.12	28.86± 7.20
CET	29.40± 9.48	30.76± 7.13
CTX	26.41± 8.00	28.38± 5.59
CTM	24.49± 8.78	27.48± 6.61
CPM	22.32± 7.68	24.67± 6.57
CXM	31.54± 6.52	31.90± 6.38

表中の数字は阻止円の直径より求めた感受性度の平均値と標準偏差値である.

文 献

- 1) 上野一恵(1978)皮膚系常在菌叢. 小沢 敦, 波岡茂夫, 坂崎利一, 松本文夫, 玉熊正悦編, 臨床細菌講義篇, 初版, 講談社サイエンティフィック, 東京, pp 71-84.
- 2) Baird-Parker A C (1965) The classification of staphylococci from world-wide sources. *Journal of general Microbiology*, **38**, 363-387.
- 3) Parisi J T (1985) Staphylococci and the epidemiological typing of *Staphylococcus epidermidis*. *Microbiological Review*, **49**, 126-139.
- 4) Neumeister B, Kastner S, Conrad S, Klotz G and P. Bartmann (1995) Characterization of coagulase-negative Staphylococci causing nosocomial infections in preterm infants. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Disease*, **14**, 856-863.
- 5) 遠藤隆一, 下郷晶子, 石坪美香, 前田みゆき, 三品正俊 (1993) コアグララーゼ陰性ブドウ球菌 (CNS) の菌種同定と薬剤感受性. *メディヤサークル*, **38**, 279-286.
- 6) 美称弘子 (1996) 手指付着 *Staphylococcus epidermidis* の薬剤耐性について. *川崎医療福祉学会誌*, **6**, 147-153.
- 7) Cowan S T (1974) グラム陽性菌の性状. Cowan S. T 編, 坂崎利一訳, 医学細菌同定の手引き, 第2版, 近代出版, 東京, pp 62-104.
- 8) Gemmell G C (1982) Identification of coagulase-negative staphylococci with the API STAPH system. *Journal of Clinical Microbiology*, **16**, 874-877.
- 9) 藪内英子 (1987) 新しい分類学に伴走する細菌同定法. 日本細菌学教育委員会編, 細菌学技術叢書 8, 初版, 菜根出版, 東京, pp 14-29.
- 10) 浅見邦明 (1984) 感受性ディスク法に関する検討. *衛生検査*, **33**, 15-23.
- 11) Brun Y (1978) Micromethod for biochemical identification of coagulase negative Staphylococci. *Journal of Clinical Microbiology*, **8**, 503-508.
- 12) 田中美智男, 浦 敏郎 (1996) コアグララーゼ陰性ブドウ球菌に関する研究. 臨床情報, 菌株情報から見た CNS 感染症分析. *メディヤサークル*, **41**, 430-439.
- 13) 上杉文子, 小栗豊子, 猪狩 敦 (1996) 尿より分離されたコアグララーゼ陰性ブドウ球菌についての検討第1報 検出状況. *感染症学雑誌*, **70**, 180-186.
- 14) 上杉文子, 小栗豊子, 猪狩 敦 (1996) 尿より分離されたコアグララーゼ陰性ブドウ球菌についての検討第2報 検出状況. *感染症学雑誌*, **70**, 187-196.
- 15) 小林寛伊 (1988) コアグララーゼ陰性ブドウ球菌感染症の現状. *化学療法の領域*, **4**, 2303-2309.