

【原著・基礎】

 β -lactam antibiotic-induced vancomycin resistant MRSA に対する各種抗菌薬の抗菌力

前橋 一紀・田端麻紀子・谷 眞理子・清水 正樹・加藤 佳久・疋田 宗生

明治製菓株式会社感染症研究所

(平成16年10月15日受付・平成16年11月24日受理)

抗 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) 薬である arbekacin(ABK), vancomycin(VCM) および teicoplanin (TEIC) に対して, VCM と β ラクタム系薬で拮抗現象を示す MRSA 株 (β -lactam antibiotic-induced VCM-resistant MRSA: BIVR) ならびにその性質を示さない MRSA (non-BIVR) 株の感受性を比較検討した。VCM を $4 \mu\text{g}/\text{mL}$ 含有する市販の Mu3 培地を用いて VCM と ceftizoxime(CZX) との拮抗の有無により, 臨床分離 MRSA 121 株を BIVR 16 株と non-BIVR 105 株に区分した。BIVR と non-BIVR に対する ABK の MIC₅₀ は共に $0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ で, MIC₉₀ はそれぞれ 2 および $4 \mu\text{g}/\text{mL}$ であった。また, 低濃度 (0.06 あるいは $1 \mu\text{g}/\text{mL}$) の CZX との併用により, ABK の抗菌活性は低下しなかった。一方, VCM の BIVR に対する MIC₅₀ および MIC₉₀ は共に non-BIVR に比べて 2 倍高い値を示し, また CZX との併用により BIVR に対する VCM の MIC₅₀ および MIC₉₀ がそれぞれ non-BIVR より 4 倍高い値を示した。TEIC では VCM とは異なり低濃度の CZX との併用による抗菌活性の低下はみられなかったが, BIVR に対する単剤の MIC₅₀ および MIC₉₀ は non-BIVR よりそれぞれ 8 および 4 倍高い値を示した。次に, TEIC の MIC と BIVR の検出率との関連を調べたところ, TEIC の MIC が高い株ほど BIVR 検出率が上昇し, non-BIVR の TEIC 低感受性サブpopulation から BIVR が検出された。

以上のことから, ABK の抗菌活性は BIVR あるいは non-BIVR の違いによる影響をほとんど受けなかった。一方, VCM では低濃度の CZX との併用により, また TEIC 単剤でそれぞれ BIVR の感受性が non-BIVR より低下した。

Key words: MRSA, arbekacin, vancomycin, teicoplanin, β -lactam antibiotic-induced vancomycin resistant MRSA

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) 感染症の治療薬として本邦では arbekacin (ABK), vancomycin (VCM) および teicoplanin (TEIC) が承認され, 臨床使用されている。臨床では MRSA とグラム陰性菌による混合感染の頻度が多いことから, これらの抗 MRSA 薬とグラム陰性菌に対する活性が高い β ラクタム系薬との併用の機会が多い^{1,2)}。一般的に VCM は β ラクタム系薬との併用で多くの MRSA に対して相加・相乗効果を示す^{3,4)}ことが知られているが, 近年, Hanaki らにより β ラクタム系薬によって VCM 耐性が誘導されるような β -lactam antibiotic-induced VCM-resistant MRSA (BIVR) 株の存在が報告され⁵⁾, それらが増加傾向にあることが指摘されている⁶⁾。BIVR に関しては分離率^{7,8)}や β ラクタム系薬とグリコペプチド系薬との併用効果⁹⁾についての報告はあるが, 抗 MRSA 薬 3 剤に対する BIVR および non-BIVR (BIVR の性質を示さない MRSA) 間における感受性の差異を検討した報告はほとんどない。今回, われわれは Mu3 培地で ceftizoxime (CZX) との拮抗を指標としたスクリーニング⁷⁾によって, MRSA を BIVR と non-BIVR に分類し, ABK, VCM および TEIC に対する感受性の差異を比較検討した。さらに, non-BIVR 株のサブpopulation の中に BIVR の性

状を示すものが存在するか否かについても検討を加えた。

I. 材料と方法

1. 使用菌株

抗 MRSA 薬 TDM 研究会 (TDM 研究会)¹⁰⁾に参加した医療機関で分離された MRSA 121 株, および当研究所で保管されている臨床分離株で TEIC の MIC が $4 \sim 8 \mu\text{g}/\text{mL}$ である MRSA 22 株を用いた。

2. 使用薬剤

ABK (明治製菓), VCM (Sigma), TEIC (藤沢薬品工業) および CZX (藤沢薬品工業) のそれぞれ力価の明らかなものを用いた。

3. BIVR の検出

市販の Mu3 寒天培地⁷⁾ (VCM $4 \mu\text{g}/\text{mL}$ 含有, 日本ベクトン・ディッキンソン) を用いて BIVR の検出を行った。すなわち, 被験菌株を cation adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB, Mueller Hinton II Broth, BBL) に接種し, 35℃ で一夜培養した後, 1.0 McFarland 標準液相当に希釈した。この菌液を Mu3 寒天培地に滅菌綿棒にて均等に塗抹し, 0.1, 1 および $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ の CZX を $50 \mu\text{L}$ 滴下したペーパーディスク (直径 8 mm, 厚型, 東洋濾紙) を置

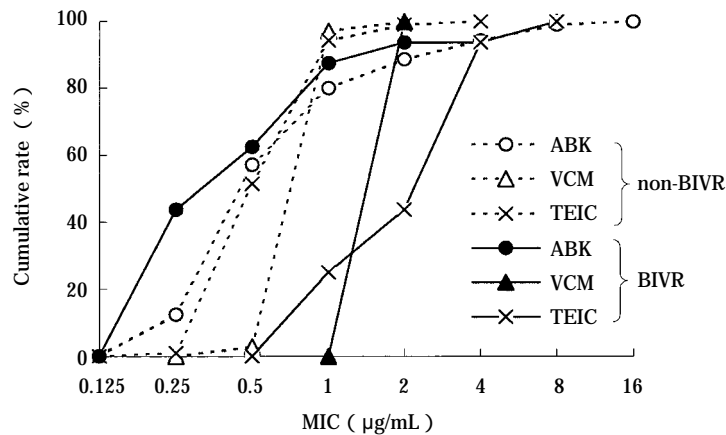


Fig. 1. Susceptibility distribution of 16 strains of β -lactam antibiotic-induced vancomycin-resistant MRSA (BIVR) and 105 strains of non-BIVR to arbekacin (ABK), vancomycin (VCM) and teicoplanin (TEIC)

き, 35 で 24 および 48 時間培養後に判定した。被験菌株のうち, ペーパーディスクの周囲あるいは阻止円の周囲にリング状の発育がみられる株および培地全面に発育がみられるものを BIVR 株とし, それ以外の株を non-BIVR 株とした。ただし, 全面発育した株については, VCM に対する感受性を測定し, VCM-intermediate *S. aureus* (VISA) の基準 (VCM の MIC が 8 ~ 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$)¹⁾ を満たさないことを確認した。

4. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

日本化学療法学会の最小発育阻止濃度測定法¹²⁾に準じた寒天平板希釈法で MIC を測定した。ただし, 薬剤の濃度を 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を基準とする希釈系列とし, 培養温度は 35 とした。菌株の前培養には CAMHB 培地を用い, MIC 測定には Mueller-Hinton agar (MHA, Difco) を用いた。別に, TDM 研究会由来の株のうち, BIVR 16 株と無作為に選択した non-BIVR 26 株に 0.06 および 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の CZX を併用した時の ABK, VCM および TEIC に対する MIC を測定した。

5. ポピュレーション解析

TEIC の最終濃度が 0.125 ~ 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲になるように, 2 倍希釈系列の 10 倍濃度原液のおおの 1.5 mL を 13.5 mL の MHA と混合した平板および薬剤を含有しない平板を作製した。TDM 研究会由来の MRSA 8 株 (BIVR 3 株: CR0413, CR0258, CR7392; non-BIVR 5 株: CR1882, CR7666, CR5791, CR1268, CR2211) をそれぞれ CAMHB に植菌し, 35 で一夜培養したものを新鮮 CAMHB で 20 倍希釈した後, 約 4 時間振盪培養した。この菌液を滅菌生理食塩液で 10 倍段階希釈し, 希釈した菌液を各 MHA 平板上に 100 μL ずつ塗抹した。35 で 48 時間培養した後, 発育したコロニー数から生菌数を算出した。また, TEIC 含有培地に発育したコロニーの一部について BIVR の検出および薬剤感受性の測定を行った。

II. 結 果

1. BIVR および non-BIVR の感受性分布

TDM 研究会由来の 121 株のうち 16 株 (13.2%) が BIVR と判定され, 培地全面に発育した菌株はみられなかった。これらの株と non-BIVR 105 株の ABK, VCM および TEIC に対する感受性分布を Fig. 1 に示す。ABK の BIVR に対する MIC₅₀ および MIC₉₀ はそれぞれ 0.5 および 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で, non-BIVR に対しては 0.5 および 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。また, VCM の BIVR に対する MIC₅₀ および MIC₉₀ は共に 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で, non-BIVR に対しては共に 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり, BIVR の感受性は non-BIVR より 2 倍低下した。さらに, TEIC の BIVR に対する MIC₅₀ および MIC₉₀ は共に 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で, non-BIVR に対してはそれぞれ 0.5 および 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり, BIVR の TEIC 感受性は non-BIVR より 4 ~ 8 倍低下した。

2. BIVR および non-BIVR の CZX 併用での感受性分布

BIVR 16 株および non-BIVR 26 株に 0.06 および 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の CZX を併用した時の ABK, VCM および TEIC に対する感受性分布を Fig. 2 A および B に示す。すべての試験菌株に対する CZX の MIC は, 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上であった。ABK の BIVR および non-BIVR に対する MIC₉₀ は CZX 併用で変化しないか, または 1/2 に低下し, 拮抗はみられなかった。TEIC でも BIVR に対して CZX の併用の有無によらず MIC₉₀ は 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり, non-BIVR に対しては CZX の併用で MIC₉₀ が変化しないか, または 1/2 に低下した。一方, CZX 併用により non-BIVR に対する VCM の MIC₉₀ は変化しなかったが, BIVR に対する MIC₉₀ は 2 から 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ へ上昇し, 拮抗がみられた。

3. 薬剤感受性と BIVR 検出率との関係

TDM 研究会由来の 121 株に対する各薬剤の MIC 別の BIVR 検出率を Table 1 に示す。ABK においては BIVR

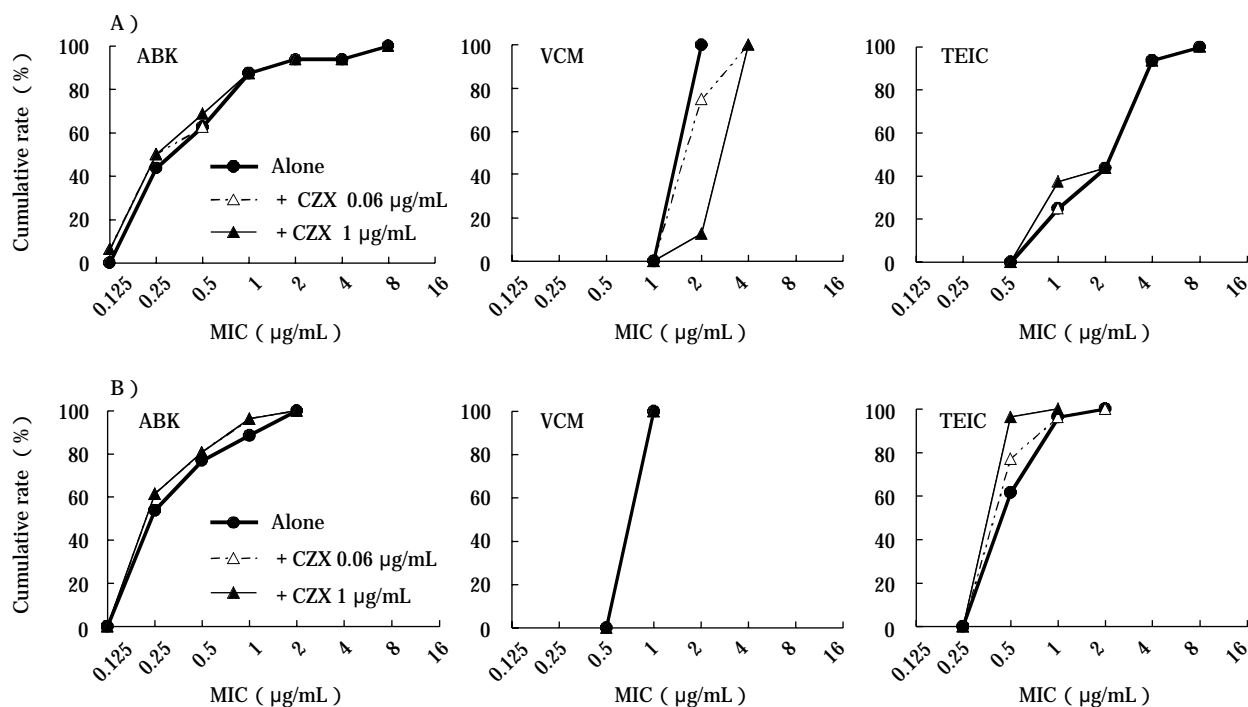


Fig. 2. Susceptibility distribution of 16 strains of β -lactam antibiotic-induced vancomycin-resistant MRSA (BIVR) (A) and 26 strains of non-BIVR (B) to arbekacin (ABK), vancomycin (VCM) and teicoplanin (TEIC) in combination with ceftizoxime (CZX).

検出率と薬剤感受性に関連はみられなかった。VCM では MIC が $1 \mu\text{g/mL}$ 以下の株は non-BIVR であったが、 $2 \mu\text{g/mL}$ の株は 16/19 株が BIVR であった。また、TEIC では MIC が $0.5 \mu\text{g/mL}$ 以下の株はすべて non-BIVR であったが、 $4 \mu\text{g/mL}$ の株では 88.9% が BIVR となり、その検出率は TEIC の MIC が高い株ほど高かった。次に、TDM 研究会由来の MRSA とは別に当研究所保存の臨床分離株の中から TEIC の MIC が $4 \mu\text{g/mL}$ を示す 8 株と $8 \mu\text{g/mL}$ の 14 株を選択し、BIVR を検出したところ、それぞれ 50%、93% が BIVR と判定され、TEIC 感受性と BIVR 検出率に関連性が認められた。

4. TEIC に対するポピュレーション解析とそのサブポピュレーションからの BIVR の検出

TDM 研究会由来の BIVR 3 株および non-BIVR 5 株について TEIC に対するポピュレーション解析を行った結果、BIVR のサブポピュレーションは non-BIVR よりも低感受性側にシフトしたが、いずれもヘロタイプの薬剤感受性パターンを示した (Fig. 3)。また、non-BIVR 株のポピュレーション解析時に各濃度の TEIC 含有培地に発育したコロニーの一部について BIVR の性質の有無を確認した。各濃度の TEIC 含有平板における試験実施株数と BIVR 検出株数は、 $1 \mu\text{g/mL}$ では 22 株中 5 (このうち、全面に発育した株数: 4) 株 (23%)、 $2 \mu\text{g/mL}$ では 24 株中 12 (同 6) 株 (50%)、 $4 \mu\text{g/mL}$ では 20 株中 13 (同 7) 株 (65%) で、 $8 \mu\text{g/mL}$ 含有平板で発育した 1 株 (100%) は BIVR であり、non-BIVR 全 5 株においてサブ

ポピュレーションの中に BIVR の性質を示すものが認められた。この non-BIVR 由来で BIVR の性質を示す株のうち 1 株を除く 30 株では TEIC の MIC が 2~8 倍上昇した (試験に用いた non-BIVR 株の TEIC MIC はいずれも $1 \mu\text{g/mL}$)。また、全面発育した株に対する VCM の MIC はいずれも $4 \mu\text{g/mL}$ 以下であり、VISA の基準を満たすものはなかった。

III. 考 察

1997 年に VCM の MIC が $8 \mu\text{g/mL}$ の MRSA が報告され¹¹⁾、VISA と呼ばれている。同時に、VCM の MIC が $4 \mu\text{g/mL}$ 以下と感受性であるが VCM に対してヘロタイプのポピュレーションを示し、VISA を含むサブポピュレーションをもつ hetero-VISA が報告された¹¹⁾。*S. aureus* Mu3 を含む hetero-VISA 株が VCM と β ラクタム系薬との併用で拮抗を示したことから、この性質を利用して Mu3 培地を用いた hetero-VISA 簡易検出法が開発された¹³⁾。これまでいくつかのグループからこの方法で hetero-VISA の分離が報告されているが^{14,15)}、一方でその定義や検出法などについての問題点が指摘されている^{7,16,17)}。花木らは hetero-VISA の定義は VCM 単剤に対する挙動を示したものであり、拮抗を示す MRSA は hetero-VISA の定義とは異なる性質を有していると考え、これらの株を hetero-VISA と区別するために BIVR とした^{6,7)}。

今回、BIVR と non-BIVR で抗 MRSA 薬に対する感受性の差異を検討したところ、VCM および TEIC に対して

Table 1. Relationship between susceptibility of β -lactam antibiotic-induced vancomycin-resistant MRSA (BIVR) strains and detection rate of BIVR to arbekacin, vancomycin and teicoplanin

Drug	Detection rate of BIVR (%) at the following MIC ($\mu\text{g/mL}$)						
	0.25	0.5	1	2	4	8	16
Arbekacin	35.0 (7/20) ^a	6.0 (3/50)	14.3 (4/28)	10.0 (1/10)	0 (0/6)	16.7 (1/6)	0 (0/1)
Vancomycin		0 (0/3)	0 (0/99)	84.2 (16/19)			
Teicoplanin	0 (0/1)	0 (0/53)	8.2 (4/49)	37.5 (3/8)	88.9 (8/9)	100 (1/1)	

^a No. of BIVR strains/No. of total strains

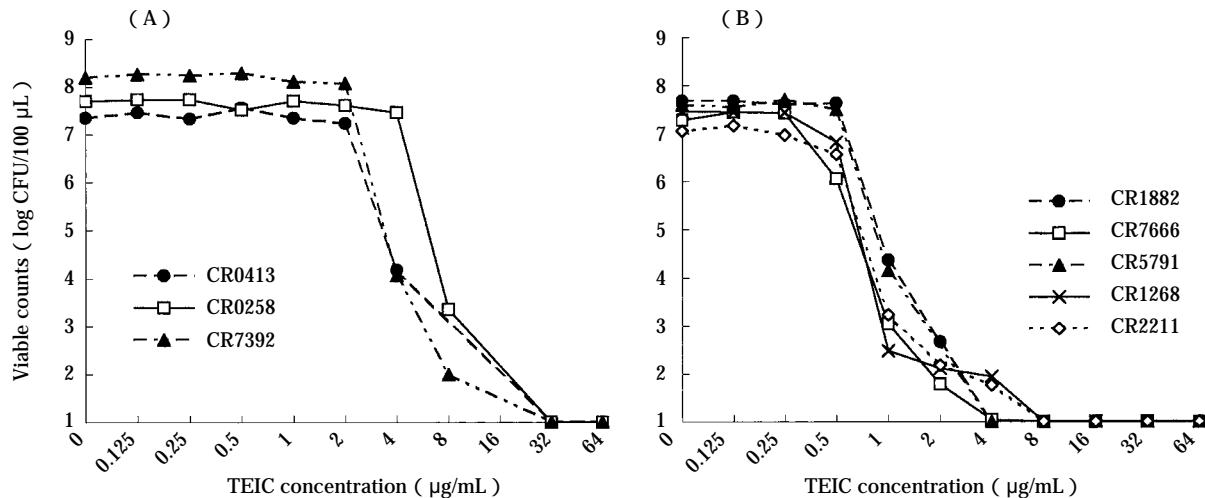


Fig. 3. Population analysis of β -lactam antibiotic-induced vancomycin-resistant MRSA (BIVR) (A) and non-BIVR (B) against teicoplanin (TEIC)

BIVRの感受性はnon-BIVRより低かった。この原因として、VCMを $4\mu\text{g/mL}$ 含有する培地でBIVRを検出するために、VCMと同じグリコペプチド系薬であるTEICに対して感受性の低い菌を選択した可能性が考えられる。また、BIVRとnon-BIVRの感受性の差がVCMよりTEICにおいてより大きかったのは、MRSAがTEICに対してVCMより幅広い感受性分布を示すことに関連があるものと推察される。一方、アミノグリコシド系薬であるABKではBIVRとnon-BIVRでの感受性がほとんど変わらないか、むしろBIVRの感受性が高かった。ABKはタンパク質合成阻害作用により抗菌活性を發揮し、細胞壁合成阻害作用をもつグリコペプチド系薬とは標的部位が異なることから、BIVRとnon-BIVRでの差異がABKに対する感受性にほとんど影響を与えないものと考えられる。

BIVRでのVCMと β ラクタム系薬との拮抗現象は β ラクタム系薬濃度が低い場合にみられ⁹⁾、拮抗を示す至適濃度の存在が報告されている⁶⁾。今回はVCMとの拮抗現象をみる目的で、CZX濃度をMICの1/128以下の

低濃度に設定した。低濃度のCZXを併用したところ、VCMではBIVRでのみ感受性が低下し、Mu3培地での拮抗現象がMIC測定条件下で再現された。一方、ABKおよびTEICではBIVRあるいはnon-BIVRの違いによらず、いずれの濃度においてもCZXとの拮抗現象はみられなかった。通常、ABKと β ラクタム系薬との併用では相加・相乗効果¹⁸⁾がTEICと β ラクタム系薬との併用では相乗効果がみられることが報告されているが¹⁹⁾、今回はCZX濃度を低く設定したため、併用による感受性変化が少なかったものと考えられる。

BIVRの検出に用いられているMu3培地に含まれるVCM濃度($4\mu\text{g/mL}$)は、VCMの低い組織移行性から臨床効果の低下が危惧される濃度、および大部分のMRSAに対するVCMのMICが $4\mu\text{g/mL}$ 以下であること、を考慮して花木らにより設定された⁷⁾。また、このVCM濃度を高く設定すればVCMと β ラクタム系薬で拮抗現象を示す株の検出率は低くなり、低く設定すれば検出率は増大することが報告されている⁷⁾。このことはVCMと β ラクタム系薬で拮抗現象を示すMRSAのうち、 β ラ

クタム系薬との併用で VCM 4 μ g/mL 含有寒天平板に発育できるようになる株に限って BIVR と呼称していると理解できる。今回、TEIC の MIC が高い株ほど BIVR の検出率が高かったのは、TEIC 低感受性株は VCM に対する感受性も低く、 β ラクタム系薬との併用で VCM 4 μ g/mL 含有寒天平板に容易に発育できたためと考えられる。このように、BIVR とはある基準によって選択された特定の性質を示す MRSA といえることから、BIVR 検出培地中の VCM 濃度については、臨床効果との関連を考慮しながら設定すべき課題であると捉えられている⁷⁾。一方で、BIVR の臨床的意義についても議論されているところであるが、VCM と IPM による治療中に MRSA が BIVR の性質を獲得し、治療に困難をきたした症例報告²⁰⁾があることから、BIVR は VCM による治療に際し、non-BIVR より問題を含んでいることは否定できない。ところで、今回、non-BIVR においても TEIC 低感受性のサブポピュレーションの中に BIVR が検出されたことは、TEIC 感受性低下と BIVR 検出率の増加との関連を示唆するものと考えられる。また、TEIC²¹⁾あるいは VCM²²⁾での治療中に分離菌が TEIC 低感受性になったとの報告もあることから、BIVR の検出のみならず、今後の TEIC 感受性動向にも注意が必要と考えられる。

BIVR の臨床的な意義に関しては今後の進展を待たねばならないが、作用機序による薬剤の使い分けなど耐性菌増加防止を含めた抗 MRSA 薬の適正な使用法が確立されることが望まれる。

謝 辞

本稿を終えるにあたり 菌株の提供にご協力いただいた抗 MRSA 薬 TDM 研究会の諸先生方に深謝いたします。

文 献

- 1) 清水喜八郎, 折津 愈, 菅野治重, 他: MRSA 感染症に対するバンコマイシンの使用経験。Jpn J Antibiot 49: 782 ~ 799, 1996
- 2) 公文裕巳: 耐性菌に対する併用療法の考え方。耐性菌感染症の理論と実際(平松啓一 編), p. 222 ~ 226, 医薬ジャーナル社, 大阪, 1998
- 3) 出口浩一, 横田のぞみ, 古田昌美, 他: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌を対象とした成績。Jpn J Antibiot 46: 939 ~ 945, 1993
- 4) 長谷川裕美, 江成唯子, 柴田雄介, 他: MRSA に対する vancomycin と β -lactam 剤の *in vitro* 併用効果併用投与方法について。Chemother 41: 465 ~ 476, 1993
- 5) Hanaki H, Yamaguchi Y, Nomura S, et al: Method of detecting β -lactam antibiotic induced vancomycin resistant MRSA (BIVR)。Int J Antimicrob Agents 23: 1 ~ 5, 2004
- 6) 花木秀明, 山口禎夫, 砂川慶介: 注目される MRSA (BIVR) 株と抗 MRSA 治療薬の使用法。治療 84: 2459 ~ 2464, 2002
- 7) 花木秀明, 山口禎夫: β ラクタム薬誘導性バンコマイシン耐性 MRSA 株の疫学調査。感染症誌 77: 499 ~ 504, 2003

- 8) 山口禎夫, 花木秀明, 茨田一成, 他: バンコマイシンと β lactam 薬が拮抗する MRSA の疫学調査。感染症誌 77: 661 ~ 666, 2003
- 9) 永沢善三, 草場耕二, 高柳 恵, 他: β -lactam antibiotic-induced vancomycin resistant メチシリン耐性黄色ブドウ球菌株の検出方法と抗菌薬の併用効果。日化療会誌 51: 631 ~ 637, 2003
- 10) 清水喜八郎, 相川直樹, 谷川原祐介, 他: 本邦における抗 MRSA 薬 arbekacin を中心とした使用実態。日化療会誌 51: 717 ~ 730, 2003
- 11) Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, et al: Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. Lancet 350: 1670 ~ 1673, 1997
- 12) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再訂正について。Chemother 29: 76 ~ 79, 1981
- 13) 花木秀明, 稲葉陽子, 佐々木和美, 他: バンコマイシンヘテロ耐性黄色ブドウ球菌の検出方法。Jpn J Antibiot 51: 521 ~ 530, 1998
- 14) 中町祐司, 木下承皓, 熊谷俊一: 1990 年代臨床分離 MRSA 株における hetero vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (ヘテロ VRSA) の検出。感染症誌 74: 653 ~ 657, 2000
- 15) 岩川こずゑ: バンコマイシンヘテロ耐性黄色ブドウ球菌の検出法の比較検討。医学検査 49: 1571 ~ 1575, 2000
- 16) Ike Y, Arakawa Y, Ma X, et al: Nationwide survey shows that methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains heterogeneously and intermediately resistant to vancomycin are not disseminated throughout Japanese hospitals. J Clin Microbiol 39: 4445 ~ 4451, 2001
- 17) Liu C, Henry F C: *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin: epidemiology, clinical significance, and critical assessment of diagnostic methods. Antimicrob Agents Chemother 47: 3040 ~ 3045, 2003
- 18) 出口浩一, 横田のぞみ, 古田昌美, 他: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* に対する各種抗生物質と arbekacin の抗菌併用効果。Jpn J Antibiot 47: 693 ~ 700, 1994
- 19) 大塚喜人, 吉部貴子, 瀧岡美穂, 他: MRSA に対する テイコブラニンと β ラクタム系抗菌薬の併用効果。Jpn J Antibiot 53: 643 ~ 651, 2000
- 20) Haraga I, Nomura S, Fukamachi S, et al: Emergence of vancomycin resistance during therapy against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a burn patient importance of low-level resistance to vancomycin. Int J Infect Dis 6: 302 ~ 308, 2002
- 21) Kaatz G W, Seo S M, Dorman N J, et al: Emergence of teicoplanin resistance during therapy of *Staphylococcus aureus* endocarditis. J Infect Dis 162: 103 ~ 108, 1990
- 22) 高山陽子, 吉田一成, 山口禎夫, 他: Vancomycin が奏功しなかった methicillin resistant *Staphylococcus aureus* による感染性心内膜炎の細菌学的検討。感染症誌 75: 473 ~ 479, 2001

***In vitro* activity of antibacterial agents against
 β -lactam antibiotic-induced vancomycin resistant MRSA**

Kazunori Maebashi, Makiko Tabata, Mariko Tani, Masaki Shimizu,
Yoshihisa Kato and Muneo Hikida

Infectious Disease Research Laboratories, Meiji Seika Kaisha, Ltd.,
760 Morooka-cho, Kohoku-ku, Yokohama, Kanagawa, Japan

We compared the sensitivity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) to drugs such as arbekacin (ABK), vancomycin (VCM) and teicoplanin (TEIC) in β -lactam antibiotic-induced VCM-resistant MRSA (BIVR) and non-BIVR strains. MRSA clinical isolates (121 strains) were classified into 16 strains of BIVR and 105 strains of non-BIVR due to the existence of antagonism between ceftizoxime (CZX) and VCM in an Mu3 medium. There was a slight difference between the susceptibility of BIVR and non-BIVR to ABK. The antibacterial activity of ABK was also not affected in combination with low-concentrations of CZX (0.06 or 1 μ g/mL). On the other hand, the minimum inhibitory concentrations, MIC₅₀ and MIC₉₀, of VCM against BIVR strains were both twice higher than against non-BIVR strains, and were also 4 times higher than against non-BIVR strains in combination with CZX. Although the antibacterial activity of TEIC against BIVR strains did not change in the presence of CZX, the MIC₅₀ and MIC₉₀ of TEIC alone were 8 and 4 times higher than against non-BIVR strains, respectively. Next, the relationship between the MIC of TEIC and detection frequency of BIVR strains was investigated. As a result, the higher the MIC of TEIC, the more frequently BIVR strains were found. Furthermore, BIVR strains were isolated from non-BIVR sub-populations with diminished susceptibility to TEIC.

In conclusion, the antibacterial activity of ABK was not changed by the difference between BIVR and non-BIVR strains. On the other hand, VCM showed antagonistic effects in combination with CZX at low concentrations against BIVR strains. TEIC alone was less effective against BIVR strains, although TEIC did not reveal any antagonistic effect against BIVR strains in combination with CZX.