

第9回日本化学療法学会東日本支部長賞受賞論文概要

タイトル：Sulfamethoxazole-Trimethoprim 負荷による *S. aureus* の SCVs 出現に関する検討

著者名：佐藤 匠, 河村真人, 古川恵美子, 藤村 茂

筆頭著者所属：東北医科薬科大学薬学部臨床感染症学教室

発表年月日：2017年11月1日（第64回日本化学療法学会東日本支部総会）

掲載雑誌名・巻号：Journal of Global Antimicrobial Resistance 2018, In press

【背景・目的】Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) を含む *S. aureus* 感染症に対する sulfamethoxazole-trimethoprim (ST 合剤) の投与期間はしばしば長期化し、その治療に失敗することがある¹⁾²⁾。これは ST 合剤に対する耐性化が関係している可能性がある。しかしながら、日本や欧米で行われた各種サーベイランスの結果では、ST 合剤耐性 *S. aureus* はほとんど分離されていない。一方で、ST 合剤を長期に投与された患者から、ときに *S. aureus* の ST 合剤耐性 small colony variants (SCVs) が分離される³⁾⁴⁾ ことがあるが、これらは臨床検査で汎用される Mueller-Hinton 培地に発育しにくいといった特徴を有する⁵⁾。そのため従来の細菌検査では、こういった耐性株を見逃している可能性がある。そこで今回、我々は ST 合剤耐性 SCVs のためのスクリーニング法を開発した。

【方法】東北6県の14施設で臨床分離された *S. aureus* 40株 (MSSA 20株および MRSA 20株) に対する ST 合剤の MIC および MPC を測定し、mutant selection window (MSW) を決定した。この MSW 生残株における ST 合剤感受性を Etest にて決定した。また、ST 合剤耐性株において、thymidine 取り込みに関与している *nupC* 遺伝子の mRNA 発現量を、real time RT-PCR 法にて親株と相対比較した。ST 合剤耐性 SCVs のためのスクリーニング条件として、培地中の ST 合剤および thymidine の濃度、加えて培養時間を検討した。スクリーニング法の感度および特異度は MSW における SCVs 検出株 32株 および非検出株 9株 (標準株含む) を使用して決定された。

【結果】MRSA の臨床分離株に対する ST 合剤の MIC range は 0.05 - 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。同様に、MSSA では 0.025 - 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。MPC range は MRSA および MSSA ともに 0.4 - >12.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。また、臨床分離株 40株中の 32株 (80%) において MSW 生残株のなかに SCVs が検出された。これらの SCVs は、Etest によって ST 合剤耐性 (MIC : >32 $\mu\text{g}/\text{mL}$) が確認され、*nupC* 遺伝子の mRNA 発現量が親株の約4倍に増加していた。一方で、SCVs に対して従来の微量液体希釈法で MIC を決定したところ全て感受性を示した。ST 合剤耐性 SCVs をスクリーニングするために最適な ST 合剤および thymidine の濃度は、それぞれ 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ および 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり、至適培養時間は 48時間だった。この条件における感度および特異度は、それぞれ 100% および 88.9% だった。

【考察】臨床分離株の 80% が ST 合剤耐性 SCVs を含むヘテロ耐性株であることが示されたが、これらを従来の検査法で検出することはできなかった。ST 合剤耐性 SCVs における耐性機序は thymidine の取り込み増加であるが、Mueller-Hinton 培地は thymidine をほとんど含有しないため、こういった耐性株を検出できなかったと考えられた。今回開発されたスクリーニング法は、患者検体から直接 ST 合剤耐性 SCVs をスクリーニングすることができる。*S. aureus* 感染症に対する ST 合剤投与前および治療効果が得られない場合にスクリーニングすることによって、ST 合剤の不適切な使用を減らすことができると考えられる。

参考文献

- 1) Cunha BA: Minocycline, often forgotten but preferred to trimethoprim-sulfamethoxazole or doxycycline for the treatment of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft-tissue infections. Int J Antimicrob Agents. 2013; 42: 497-9.
- 2) Paul M, Bishara J, Yahav D, Goldberg E, Neuberger A, Ghanem-Zoubi N, et al: Trimethoprim-sulfamethoxazole versus vancomycin for severe infections caused by methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: randomised controlled trial. BMJ. 2015; 350: h2219.

- 3) Besier S, Smaczny C, von Mallinckrodt C, Krahl A, Ackermann H, Brade V, et al: Prevalence and clinical significance of *Staphylococcus aureus* small-colony variants in cystic fibrosis lung disease. J Clin Microbiol. 2007; 45: 168-72.
- 4) Besier S, Zander J, Siegel E, Saum SH, Hunfeld KP, Ehrhart A, et al: Thymidine-dependent *Staphylococcus aureus* small-colony variants: human pathogens that are relevant not only in cases of cystic fibrosis lung disease. J Clin Microbiol. 2008; 46: 3829-32.
- 5) Proctor RA, von Eiff C, Kahl BC, Becker K, McNamara P, Herrmann M, et al: Small colony variants: a pathogenic form of bacteria that facilitates persistent and recurrent infections. Nat Rev Microbiol. 2006; 4: 295-305.