

薬剤耐性赤痢研究会 1967 年度報告

会長：江崎唯人

会員：平石浩・橋本一・星野重二・加藤貞治
 勝正孝・木村貞夫・三橋進・内藤伝兵衛
 中谷林太郎・落合国太郎・斎藤誠・坂崎利一
 篠川至・杉山茂彦・鈴木義雄・丹治汪
 戸谷徹造・鶴飼新一郎・山本琢三・善養寺浩

(昭和 43 年 7 月 1 日受付)

緒言

抗生剤耐性赤痢菌は昭和 32 年以來着実に増加の一途を辿り、昭和 39 年にはついに分離菌の 50% をこえるに至った¹⁾。しかもそれらの殆んどは常用抗生剤 tetracycline(TC), chloramphenicol(CP), streptomycin(SM), およびサルファ剤(SA)に耐性の 4 剤耐性菌であった。従がつて赤痢症の治療には、これら常用抗生剤に代る新しい抗生剤が kanamycin(KM) を始めとして種々使用されるに至った。しかし TC や CP の例の如く、これらにも早晚耐性菌が出現することが考えられ、それら新薬への耐性菌の出現過程および増加の様相が追跡されなければならない必要が起つた。薬剤耐性赤痢研究会はかかる要請の下に組織され、10 の 6 大都市立市民病院、4 の衛生研究所において分離された赤痢菌の耐性検査、特に 9 種の新薬に対する耐性菌の出現動向を昭和 40 年より監視しつづけて来たが、今回はその第 3 年目の実態として昭和 42 年度に集められた赤痢菌の耐性検査の結果をまとめて報告する。

実験材料並びに方法

使用菌株

検定された菌株は、散発はすべて、集団発生の場合も出来るだけ血清型および耐性型の異なるものを 1 集団 3 株までとの約束の許に送附されたものである。施設別検査株数を第 1 表に示す。検査株総数は 1,583 株で、一昨

第 1 表 施設別検査株数

施設番号	施設名	検査株数	施設番号	施設名	検査株数
1	都立駒込病院	130	10	大阪桃山病院	71
2	都立墨東病院	169	11	神戸中央市民病院	44
4	都立荏原病院	69	14	都立衛研	53
5	都立豊島病院	226	15	神奈川衛研	185
7	横浜市立万治病院	146	16	栃木衛研	101
8	名古屋東市民病院	104	17	新潟衛研	210
9	京都市立病院	75	検査株総数 計 1,583		

年、昨年の約 4,000 株にくらべ半数以下に減少している。昭和 42 年は赤痢の流行の少い年であった。検査株の血清型は各施設で検査したもので第 7 表に示した。

使用薬剤

耐性検査にはすべて力価の明らかなものを用いた。薬剤の略号および由来は第 7 表にあげた。

耐性検査

平板希釈法によつた。薬剤平板は、各薬剤の 2 段階づつの希釈液 0.2 ml を 20 ml の Heart infusion 培地(日水製薬)に混釈して調整した。接種菌はペプトン水 18 時間培養のものをペプトン水で 100 倍に希釈し、それらより 1 白金耳づつ薬剤平板上に滴下した。判定は 37°C 20 時間の培養で、対照平板と同様の発育をみた最高濃度を以つて最大発育許容濃度とした。接種菌量は 10⁴ 弱であるから 10⁻² 以下の頻度で生ずる変異菌の耐性は除外されている。

第 2 表 使用薬剤

剤薬名	略号	由来
クロラムフェニコール	CP	梅沢博士
テトラサイクリン塩酸塩	TC	〃
硫酸ジヒドロストレプトマイシン	SM	〃
スルフイソミジンナトリウム	SA	大日本製薬 KK
硫酸カナマイシン	KRM	梅沢博士
フラジオマイシン	FRM	武田薬品工業 KK
パロモマイシン	PM	梅沢博士
メタンスルホン酸コリスチンナトリウム	CL	科薬抗生物質研究所
アミノベンジルペニシリン	AB-PC	明治製薬 KK
ゲンタマイシン	GNT	塩野義製薬 KK
フラトリジン	FT	富山化学 KK
フラゾリドン	FZ	武田薬品工業 KK
ナリデキシックアシッド	NA	第一製薬 KK

ある薬剤の耐性菌と感受性菌との境界線は次の如く定めた。すなわち 100 株以上の株を用いた耐性度分布曲線で、感受性菌の分布の山が 1% 以下になる次の段階の耐性度を耐性菌の耐性度の限界となし、それ以上の耐性度を示したものは再検査して再現性をみた後耐性菌と判定した。CL, FT, FZ, SA は接種菌量の増加によつて耐性値の上昇が大きいので、これらの場合は感受性菌の分布の上限より 2 段階上を耐性菌の下限となした。

選択されたほとんどの耐性菌は、耐性限界より遙かに高い高度耐性菌である。しかし検査株数が数千に及ぶと稀に耐性限界値ぎりぎりの耐性菌が得られる。これらについてはより高い耐性菌に変異し易いものもあるが、いちおう感受性菌の例外とみて、保存しながら今後の動向をみて耐性感受性の測定を下すことにした。

実験結果

薬剤耐性株分離頻度

13 種の薬剤における耐性菌の選択濃度および得られた耐性株数を第 3 表に示す。CP, TC, SM, SA の 4 剤については 70% 以上が耐性で前年までと変りはない。これらに次いで NA 耐性株が 22 株得られ、これはここ 3 年間に 0.2%, 0.9%, 1.4% と僅かながら増加の傾向があるが明らかではない。次に AB-PC 耐性株が 14 株えられたが、この 3 年間の分離頻度の推移をみると、0.4%, 1.4%, 0.9% というように 1% を上下している。これも増加の傾向は明らかではない。次に PRM, FRM, KM 耐性株がこの 3 年間にこの年が初めての分離となつたが、これらは同一の株であり、交叉耐性を示しながら出現したものと考えられた。KM 耐性株は昭和

第 3 表 薬剤耐性株分離頻度

薬 剤	選択濃度 (μg/ml)	耐性株数 (%)
CP	12.5	1,134(71.6)
TC	12.5	1,161(73.3)
SM	6.25	1,196(75.6)
SA	25	1,450(91.6)
PRM	6.25	1(0.06)
FRM	6.25	1(0.06)
KM	6.25	1(0.06)
GNT	1.6	0
AB-PC	12.5	14(0.9)
NA	12.5	22(1.4)
CL	1.6	0
FT	1.6	0
FZ	6.25	0
検査株数		1,583

39 年にも、同じ新潟で分離されており、今後の動向が注目される。

薬剤耐性型

得られた耐性菌の耐性型をみると、第 7 表の如く、ほとんどが TC, CP, SM, SA 4 剤耐性菌であり、総分離株の 71% を占め、SA 1 剤耐性菌が 16%、薬剤感受性菌が 8% であつた。4 剤耐性菌は薬剤耐性菌の 79%、抗生剤耐性菌の 93% を占めた。4 剤耐性以外の抗生剤耐性型としては、SM, SA, TC, SM, SA が主であつた。

KM, FRM, PRM は共に aminocyclitol 系薬剤である。分離された 1 株の耐性菌は 3 薬剤のすべてに 50 μg/ml 以上に耐性であつた。この株は AB-PC にも耐性、上記 TC, CP, SM, SA 4 剤にも耐性で計 8 剤に耐性であつた。血清型は *Sh. flex.* 2b であり、自然界にそれほど多い菌ではない。

次に AB-PC 耐性赤痢菌の耐性型を第 4 表に示す。*Sh. sonnei* が 8 株、*flexneri* が 6 株で、全分離株数に比し *flexneri* よりの分離頻度の高いのが注目される。他の耐性型としては必ずしも 4 剤耐性菌が多くはなく、殊に *Sh. flex.* では 6 株中 2 株しかない。種々の組合せの耐性型がえられている。耐性度は種々であるが、4 剤耐性型を示すものはいづれも高い耐性度を持ち、50 μg/ml 以下の低いものはなかつた。

NA 耐性は AB-PC と全く異なり、全株 *Sh. sonnei* であつた。*Flexneri* 菌は NA 耐性になり難いことがわかる。耐性型では 22 株中 21 株が 4 剤耐性であつた。1 株は NA にだけ耐性で他はいづれの薬剤にも感受性であつた。これは 4 剤耐性が NA 耐性になり易いようにもみえるが、4 剤耐性菌それ自身分離頻度が多いので、

第 4 表 AB-PC 耐性赤痢菌の分離 (1967)

血清型	耐性値 (μg/ml)	他の耐性型	株数
<i>Sh. flexneri</i>	2a	200 ≤	TC, CP, SM, SA
	2a	200 ≤	SM, SA
	2a	25	TC
	2a	50	TC, SM, SA
	2a	50	SA
	2b	200	TC, CP, SM, SA, KM, FRM, PRM
			計 6
<i>Sh. sonnei</i>	100 ≤	TC, CP, SM, SA	
	400	SM, SA	
	50	SA	
			計 8
			計 14

その相関は必ずしも明らかではない。

新薬耐性菌分離の地域性

AB-PC 耐性株 14 株を分離施設別にみると、名古屋 3、駒込 1、新潟 5、豊島 4、神奈川 1 であり、NA 耐性株 22 株の分離施設は、荏原 4、墨東 2、新潟 14、豊島 2 であつた。NA 耐性株は東京、新潟に限られ、AB-PC 耐性は、東京、新潟、神奈川に名古屋が加わっているが、関西における分離はない。昨年は関西では京都だけにおいて AB-PC、NA 耐性菌ともに僅かながら分離されている。これらの結果により、地域により薬剤の使用による選択作用に差のあることが考えられた。

AB-PC、NA 耐性株の分離頻度

次に如何なる耐性型のものが AB-PC や NA 耐性になり易いかをみるために、現在までの 3 カ年の調査で得

られた AB-PC、NA 耐性株すべてについて、2 様の方法で分離頻度を算定してみた。

第 5 表には AB-PC、NA 耐性株について、4 薬剤についての耐性型を示した。NA 耐性株は 91% が他の 4 剤に耐性であり、他の耐性型ものは稀であることがわかる。AB-PC 耐性はそれに反して他の耐性型としては 4 剤耐性である株が約半数でそれほど多くない。SA 1 剤耐性がその次に多いのは全分離株における分離比を反映しているが、感受性菌には分離頻度が低い。低頻度ではあるが、種々の耐性株を示す株が必ず得られているところは NA 耐性と異なるところである。

次に 3 年間における全分離株 8,288 株を各耐性型にわけた場合、それらのそれぞれについて、AB-PC や NA 耐性株が如何なる頻度で出現し来つたかを第 6 表に現わ

第 5 表 AB-PC、NA 耐性株の分離頻度 (1965~1967)

4 薬剤耐性型	総分離株数	AB-PC 耐性株数	NA 耐性株数
TC, CP, SM, SA	5,799(70.0)	50(56.2)	61(91.0)
CP, SM, SA	77(0.9)	2(2.2)	
TC, SM, SA	64(0.8)	3(3.4)	1(1.5)
TC, CP, SA	5(0.06)	3(3.4)	
TC, SA	38(0.5)	7(7.9)	1(1.5)
SM, SA	161(1.6)	2(2.2)	
SA	1,420(17.1)	19(21.4)	1(1.5)
TC	23(0.3)	1(2.2)	2(3.0)
sensitive	701(8.5)	2(2.2)	2(3.0)
計	8,288(100)	89(100)	67(100)

(%)

第 6 表 AB-PC、NA 耐性株の分離頻度 1965~1967

4 剤耐性型	検査株数	AB-PC 耐性株数	NA 耐性株数
TC, CP, SM, SA	5,799	50(0.86)	61(1.05)
CP, SM, SA	77	2(2.6)	<1(<1.3)
TC, SM, SA	64	3(4.7)	1(1.56)
TC, CP, SA	5	3(60.0)	<1(<20)
TC, SA	38	7(18.4)	1(2.63)
SM, SA	161	2(1.24)	<1(<0.62)
SA	1,420	19(1.34)	1(0.07)
TC	23	1(4.35)	1(4.35)
sensitive	701	2(0.29)	2(0.29)
計	8,288(100)	89(1.07)	67(0.81)

(%)

第 7 表 分離株の血清型と耐性型

耐性型 \ 血清型	A 群	B 群	D 群	B 群内訳												計		
				1a	1b	2a	2b	3a	3b	3c	4	5	6	X	Y			
TC, CP, SM, SA		149(36.7) [13.3]	973(82.9) [86.5]			4	58	14	30	4		17			1	17	4	1,122(71)
SA		172(42.4) [68]	80(6.7) [32]		3	11	99	6	15	2	5	4				7	20	252(16)
TC, SM, SA		14(3.5) [42.4]	19(1.6) [57.6]				10					1	1			2		33(2.1)
SM, SA		14(3.5) [45.1]	17(1.5) [54.9]				5	3			2	1				2	1	31(2.0)
CP, SM, SA		5(1.2)	5(0.4)						4							1		10(0.6)
TC, CP, SA		2(0.5)	0			2												2(0.1)
TC		2(0.5)	2(0.2)					1				1						4(0.3)
感受性	1 [0.8]	48(11.8) [37.2]	80(6.7) [62.0]		2		8	4	15	3		7			1	2	6	129(8.2)

耐性型は TC, CP, SM, SA 4 剤についてのみ記した。括弧内数字は百分率で、() 内は各血清型における百分率、[] 内は各耐性型における A, B, D 群の百分率である。

した。これで見ると、4剤耐性菌にNA耐性が現われる頻度は決して多くはない。しかし感受性菌やSA1剤耐性菌に現われる頻度は非常に少なく、NA耐性株は抗生剤耐性に伴って現われ易いことがわかった。

AB-PC耐性の分離頻度では感受性菌からの分離は非常に稀であり、TC, SA, TC, TC, SM, SAから分離され易く、CP, SM, SAでやや少なく、TC, CP, SM, SA耐性菌は感受性菌についてAB-PC耐性菌分離頻度の低い耐性型であった。AB-PC耐性がTC耐性と何らかの連関があるのではないかと考えさせられる。

血清型と耐性型との関係

1967年分離のNA耐性株が全株*Sh. sonnei*であり、逆にAB-PC耐性株に*Sh. flexneri*が多いことは、耐性型と血清型の密接な関係を考えさせる。そこで薬剤耐性菌の分離され易いTC, CP, SM, SAに対してえられた種類の耐性型が血清型と如何に関係しているか第7表にまとめた。

全分離株の3/4が*sonnei*菌であるが、これはただTC, CP, SM, SA耐性が*sonnei*菌に多いことのみを反映している。他の耐性型でみれば、必ずしも*Sh. flex.*よりも*sonnei*菌が多いわけではなく、SA1剤耐性菌では*flexneri*菌のほうが*sonnei*菌よりも2倍ほど多い。その他の耐性型では*sonnei*, *flexneri*間で分離頻度に大差はない。*Sh. flexneri*ではTC, CP, SM, SA4剤耐性菌が必ずしも最も多い分離頻度を示さず、かえってSA1剤耐性菌が多い。このように耐性型の違いによって血清型が異なることはNAやAB-PCなど新しい薬剤耐性菌が生じる場合にも顕著である。赤痢菌の耐性発現機構を論ずる場合には常に*Sh. flexneri*を別けて考えねばならない。

考 察

1967年は赤痢菌の分離頻度が前年より激減し、また新しい耐性菌の出現増加の傾向もなかつたが、KM, FRM, PRM等 Aminocyclitol系薬剤の3剤のすべてに耐性の*Sh. flexneri* 2bの出現は特筆すべきものがあつた。しかし分離株数は僅か1株であるので、これは昨年だけの現象かもしれない。分離箇所は新潟で、ここでは1964年にもKM耐性赤痢菌を分離しているから^{2,3)}、新潟では同一感染源があるのか、KM耐性菌が出現し易い環境があるのかと考えられる。KM耐性腸内細菌は寺脇らにより、尿路感染の患者より*Cloaca*, *Proteus*において分離され^{4,5)}、橋本らはKMの使用経験のある結核患者からKM, FRM, PRM耐性大腸菌を5株分離している⁶⁾。これらのKM耐性はいづれも細胞接触によつて他の腸内細菌に伝達可能な、いわゆるR因子による耐性であつた。KM耐性のR因子は1962年初めてLEBEKにより

西独において分離されているが⁷⁾日本ではまだ分離頻度の低い耐性型である。この稀な耐性遺伝子がR因子として分離される頻度が多いことは未だ理由が不明である。今回分離されたKM耐性菌は更にAB-PCにも耐性であり、これも含め8剤耐性のすべてが伝達性があることが確認されているが(別報)、耐性遺伝子の発現過程についてKM耐性菌の今後の動向は興味ある課題である。

AB-PC耐性が*flexneri*菌に多いことは、これもR因子と関係があることが考えられ、田中、永井らによる報告がある⁸⁾。NA耐性がすべて伝達性がなく、ほとんど*Sh. sonnei*からのみ分離されることが1967年も特徴的であつたが、いつか伝達性を獲得し、*Sh. flexneri*菌より分離されるようになるかもしれない。原田らによれば伝達性なき薬剤耐性を運びうる細胞質性の伝達因子(T因子)が*Shigella*にもかなり存在し、*sonnei*菌よりも*flexneri*菌からのほうが分離頻度が高いという⁹⁾。このことはR因子による耐性が*flexneri*に多いことと符合し、耐性菌の出現増加に果すT因子の役割の大きさを考えさせられるが、それらの総合的な考察は今後の課題である。

結 論

1) 1967年に14の施設で分離され、菌型を決定された赤痢菌につき、13の薬剤につき耐性型を検定し、菌型との関連をみた。

2) TC, CM, SM, SAの4剤に対しては71%以上が耐性であり、ほとんどが(TC, CM, SM, SA)4剤耐性菌として分離された。4剤耐性菌のうち*sonnei*菌が87%を占め、*flexneri*菌は13%であつた。次に多い耐性型はSA1剤耐性菌であり、16%の頻度で分離された。これは*Sh. flex.*のほうが多く68%で、*Sh. sonnei*は32%であつた。薬剤感受性菌は8.2%であり、*sonnei*菌のほうが61.2%で*flex.*よりも多かつた。

3) これら4剤以外ではKM, FRM, PRM等 Aminocyclitol系薬剤に交叉耐性を示す*Sh. flex.* 2bが分離された。これは上記4剤の他AB-PCにも耐性の8剤耐性であつた。

4) この株も含めAB-PC耐性株は14株(0.9%)分離された。*flexneri* 2a 5株, 2b 1株, *sonnei* 8株であつた。AB-PC耐性は*flexneri*菌に分離頻度が多い。

5) NA耐性はすべて*sonnei*菌として22株(1.4%)分離された。そのうち21株はTC, CP, SM, SA4剤にも耐性であつた。

6) ここ3か年に分離されたAB-PC, NA耐性菌を耐性型でわけてみると、NA耐性菌は感受性菌またはSA1剤耐性菌に分離され離く、抗生剤耐性菌に多かつた。AB-PC耐性菌は感受性菌に少く、次いで4剤耐性菌に

少く、TC を含む 1, 2, 3 剤耐性菌に分離され易いことがわかった。

文 献

- 1) MITSUHASHI, S. Transmissible drug-resistance factor R. Gunma J. Med. Sci. 14, 169~209, 1965
- 2) 木村貞夫, 水野孝重, 秋葉朝一郎, 篠川 至, 池村謙吾: カナマイシン耐性の伝達, 医学と生物学 68: 61~64, 1964
- 3) 同人: カナマイシン耐性腸内細菌の分布, 会誌 69: 77~80, 1964
- 4) 寺脇良郎, 高安久雄: 尿路感染患者から分離されたカナマイシンを含む 5 剤耐性 *Cloaca* に関する研究, 日本細菌学雑誌 21: 183, 1966
- 5) 寺脇良郎, 高安久雄: 尿路感染症から分離された多剤耐性 *Proteus* 菌の耐性伝達に対する温度の影響について.
- 6) 橋本 一: 耐性赤痢菌の遺伝, 第 17 回日本医学会総会学術講演集, 2: 63~68, 1967
- 7) LEBEK, G.: Über die Entstehung mehrfachresistenter Salmonellen. Ein experimenteller Beitrag. Zentr. Bakteriolog. Parasiten K. Abt. I Orig. 188: 494~505, 1963
- 8) 永井 裕, 田中徳満, 橋本 一, 三橋 進: 1966 年分離赤痢菌の R 因子型について, 第 14 回日本化学療法学会東日本支部総会口演 (札幌)
- 9) 亀田三男, 鈴木ミツエ, 重原 進, 中島 隆, 原田賢治, 三橋 進, 日本細菌学雑誌, 22: 545~546, 1967

DRUG-RESISTANCE OF *SHIGELLA* STRAINS ISOLATED IN 1967

Research Committee of the Resistance of *Shigella* Strains

(Chief: T. EZAKI)

The following results were obtained from the surveys of *Shigella* strains, isolated in 1967 from clinical sources at geographically scattered hospitals in Japan. 1) Among 1,583 strains examined, 91.8% were found to be drug-resistant and 75.9% were antibiotic resistant. Among 1,454 drug-resistant strains, 1,122 (77%) were resistant to all of the 4 drugs; chloramphenicol (CP), tetracycline (TC), streptomycin (SM) and sulfanilamide (SA). 2) Fourteen (0.9%) and 22 (1.4%) strains resistant to aminobenzyl-penicillin (AB-PC) and nalidixic acid (NA), respectively, were isolated in this survey. All of the 22 NA-resistant strains were isolated from *Sh. sonnei*, whereas 8 among 14 AB-PC-resistant strains were from *Sh. sonnei* and the remaining 6 strains were isolated from *Sh. flexneri*. Yearly increase in isolation frequency of AB-PC or NA-resistant strains is not significant. 3) A strain of *Sh. flexneri* 2 b, resistant to kanamycin (KM), fradiomycin (FRM) and paromomycin (PRM), was isolated, whereas the strain resistant to any of these drugs, had not been isolated in the surveys conducted in both 1965 and 1966. 4) The strain resistant to colistin, gentamicin, furatoridin of furazolidon was not isolated so far.