

グラム陰性桿菌の薬剤耐性の研究 第3報

病巣由来菌の同定とその薬剤耐性 (1967年)

グラム陰性桿菌感染症研究会

班長：石山俊次

班員：藤井良知・北本治・河盛勇造・桑原章吾
真柄正直・真下啓明・三国政吉・三橋進
中村正夫・大久保滉・大越正秋・柴田清人
白羽弥右衛門・上田泰・吉利和

(ABC順)

(昭和43年11月1日受付)

前報¹⁻²⁾において病巣由来のグラム陰性桿菌(GNB)群が極めて多種類の菌種によつて構成され、その薬剤耐性は複雑な多剤耐性化の傾向がみられることを細菌遺伝学的に考察しつつ報告してきた。今回は本研究会における継続調査の一環として、1967年における病巣由来GNBの同定結果と薬剤耐性化の動向について記述する。

材料および方法

供試したGNBはすべて人の病巣から由来した879株で、東大分院小児科(49)、日大外科(181)、東大医科研(189)、日本医大産婦人科(6)、新潟大眼科(7)、国立東一病院(155)、慶大泌尿器科(49)、関西医大臨床病理(24)、名古屋市大第一外科(76)、大阪市大外科(32)、慈恵医大内科(45)、東大内科(24)および群大微生物

(42)等においてそれぞれ疾病起因菌として分離されたものである。分離菌879株中9株は保存または輸送中の事故で精査の対象から除かれ、870株が検討された。

分離菌の同定法：前報¹⁻²⁾のように精査した。

薬剤および略号：前報¹⁻²⁾のように15種の薬剤とその略号を用いた。

薬剤耐性検査法：前報¹⁻²⁾記載の方法にしたがい、各菌種の耐性限界は表1に示した。

結果

分離菌群の同定成績：分離菌870株の同定成績は図1に示したとおり、*E. coli* (43.2%)、*E. freundii* (1.0%)、*Klebsiella* (9.4%)、*Aerobacter* (2.2%)、*Proteus* (14.9%)、*Pseudomonas* (28.4%)、*Serratia* (0.5%)、

表1 各菌種に対する各薬剤の耐性限界値(μg/ml)

薬剤	<i>E. coli</i>	<i>E. freundii</i>	<i>Aerobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Proteus</i>			<i>Pseudo- monas</i>	
					<i>mirabilis and vulgaris</i>	<i>morganii</i>	<i>rettgeri</i>		
S A	100	400	400	400	200	200	200	100	
C P	25	12.5	12.5	12.5	25	25	25		
T C	12.5	12.5	6.3	12.5	50	50	25		
S M	12.5	25	12.5	12.5	12.5	12.5	25		
K M	25	6.3	6.3	12.5	12.5	12.5	12.5		
FRM	6.3	12.5	6.3	12.5	12.5	12.5	6.3		
AB-PC	25	200	200	200	25	25	25		
CET	50	50	12.5	50	25	25	25		
CER	25	12.5	12.5	25	25	25	25		
CLS	1.7	6.7	6.7	1.7	3.3	3.3	3.3		3.3
CLM	3.3	6.7	13.3	3.3	6.7	6.7	6.7		13.3
F T	0.8	6.3	6.3	6.3	1.6	3.1	1.6		
N A	25	12.5	25	12.5	12.5	6.3	12.5		
G M	6.3	6.3	6.3	3.1	6.3	6.3	12.5		
P M B	5	5	5	2.5	5	5	5		

図1 病巣由来グラム陰性桿菌の同定成績 (1967年)

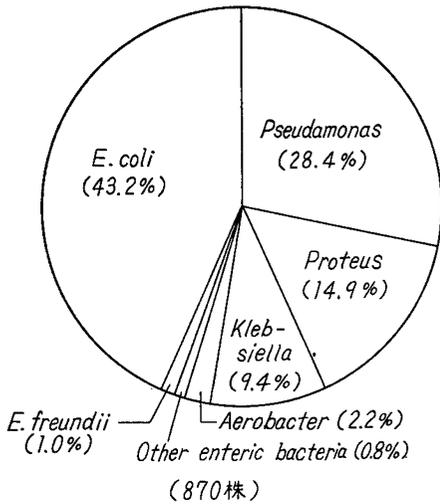
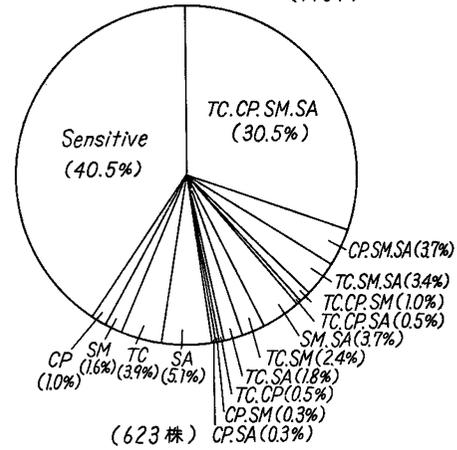


図2 腸内細菌における4剤(TC,CM,SM,SA)耐性型 (1967)



Salmonella (0.1%), *Arizona* (0.1%) および *Hafnia* (0.1%) 等に決定された。 *Klebsiella* 菌群はほとんど *K. pneumoniae* (97.6%) によって占められ、他は *K. ozaenae* (2.4%) であつた。 *Aerobacter* 菌群は *A. aerogenes* (78.9%) が多く、 *A. cloacae* (21.1%) が少なかつた。 *Proteus* 菌群は *P. mirabilis* (57.7%) が約半数以上を占め、他は *P. rettgeri* (20.0%), *P. vulgaris* (13.8%), *P. morganii* (6.2%) および *P. inconstans* (2.3%) の順序で検出された。

薬剤耐性検査成績：前報²⁾でも述べたように化学療法および耐性菌出現の歴史的背景を考慮し、検査成績はこれまで多く用いられた4剤 (TC, CP, SM, SA) とその他の薬剤 (KM, FRM, GM, AB-PC, CET, CER, CLS, CLM, PM-B, NA および FT) とに大別して記述してゆくことにする。

上記4剤に対する耐性について、腸内細菌科の分離菌

群 (623 株) は4剤中いずれかの薬剤に耐性を示す菌株が59.6% 検出された。これらの菌株の耐性型は極めて多彩で、4剤のすべての組み合わせ型が検出された。耐性菌群は4剤耐性型 (51.2%)、3剤耐性型 (14.3%)、2剤耐性型 (15.1%) および1剤耐性型 (19.4%) で構成され、4剤耐性型が最も多く検出された (図2)。

各種分離菌別にみられる耐性菌検出状況は前述のそれとはほぼ一致するが、*E. coli* (68.1%), *Klebsiella* (57.3%), *Aerobacter* (47.4%), *Proteus* (40.4%), *E. freundii* (22.2%) およびその他 (71.4%) の割合で、いずれも4剤耐性型が最も多く検出され、R因子の分布と一致した³⁾。なお前報²⁾ (1966年) に比較して *Aerobacter* と *E. freundii* の耐性菌検出率が著明に低下しているかのように見えるが、分離菌数が極めて減少しているので論議できない。

PC 1 剤耐性菌は比較的まれであることが知られているが、今回は *E. coli* (1株), *Klebsiella* (4株), *Proteus*

表2 前記4剤以外の薬剤耐性菌の分布

(1967)

GNB Strain	調査菌株	薬剤耐性菌の分離頻度 (%)										
		KM	FRM	GM	AB-PC	CER	CET	CLS	CLM	PBM	NA	FT
<i>E. coli</i>	376	3.2	2.9	0	7.7	1.6	2.3	1.3	1.1	1.1	3.7	10.4
<i>E. freundii</i>	9	22.2	11.1	0	22.2	66.7	22.2	11.1	11.1	11.1	11.1	11.1
<i>Klebsiella</i>	82	0	0	0	96.3	2.4	2.4	3.7	3.7	3.7	17.1	0
<i>Aerobacter</i>	19	26.3	21.1	0	21.1	94.7	94.7	31.6	31.6	31.6	26.3	10.5
<i>Proteus</i>	130	19.2	23.1	0.8	34.6	39.2	39.2	96.2	96.2	96.2	25.4	84.6
その他	7	28.6	28.6	0	42.9	57.1	57.1	71.4	71.4	71.4	14.3	28.6
計	623	7.4	7.7	0.2	26.0	14.0	13.8	23.3	23.1	23.1	10.9	24.7

表3 4剤 (CP, TC, SM, SA) 耐性とその他の薬剤耐性の関係

(1967)

常用4剤 (TC, CP, SM, SA) 耐性型	調査 株数	付加された新薬耐性 (%)										
		KM	FRM	GM	AB-PC	CER	CET	CLS	CLM	PMB	NA	FT
4剤(30.5%)	190	34 (73.9)	32 (66.7)	0	67 (41.3)	28 (32.2)	28 (32.6)	25 (17.2)	25 (17.4)	25 (17.4)	34 (49.3)	32 (20.8)
3, 2, 1剤(29.2%)	181	10 (21.7)	13 (21.7)	1 (100)	32 (19.8)	20 (23.0)	22 (25.6)	41 (28.3)	40 (27.8)	40 (27.8)	25 (36.2)	55 (35.7)
感受性(40.5%)	252	2 (4.4)	3 (6.3)	0	63 (38.9)	39 (44.8)	36 (41.8)	79 (54.5)	79 (54.8)	79 (54.8)	10 (14.5)	67 (43.5)
計	623	46	48	1	162	87	86	145	144	144	69	154

カッコ内数字はその耐性パターンでの分離頻度を示す

(1株)に検出された。

次に、上記4剤以外の薬剤耐性についてのべる(表2)。KM耐性菌は *E. coli* (3.2%), *E. freundii* (22.2%), *Aerobacter* (26.3%), *Proteus* (19.2%) およびその他(28.6%)に検出されたが、*Klebsiella* から今回は検出されなかつた。FRM耐性はKM耐性とほとんど併行した。GMには分離菌群のほとんどが感受性で、*Proteus*の1株が耐性を示した。AB-PC耐性菌は *E. coli* (7.7%)に少く他の菌種に多かつた。*Klebsiella* はAB-PCに対して自然耐性²⁾であるが、表2に示した4株の耐性菌は200 µg/ml以上の高度耐性菌で、いずれもその耐性はR因子上にある耐性遺伝子による発現であつた。またこれに反して、本属の分離菌群に極めて感受性(1.6~3.2 µg/ml)の菌株が約5%含まれていることもわかつた。CER耐性菌は *E. coli* (1.6%), *Klebsiella* (2.4%)に少く他の菌種に検出頻度が高い。とくに *Aerobacter* (94.7%)に多かつた。CET耐性はCERと同一傾向を示した。CLSは *E. coli* (1.3%), *E. freundii* (11.1%) および *Klebsiella* (3.7%)に少く、*Aerobacter* (31.6%) および *Proteus* (96.2%)に多い。*Proteus*のCLS感受性菌群はm-v (*P. mirabilis*-*P. vulgaris*)群にみられたが、他の菌種はすべて高度耐性であつた。CLMおよびPMBに対する耐性化の傾向は、とうぜんCLSのそれと一致した。NA耐性は *E. coli* (3.7%)に少く、*Klebsiella* (17.1%), *Aerobacter* (26.3%), *Proteus* (25.4%)には比較的多く検出された。FTは *E. coli* (10.4%), *E. freundii* (11.1%), *Aerobacter* (10.5%), *Proteus* (84.6%)等に耐性化の傾向が認められるが、その耐性値(1.6~25 µg/ml)はいまだ低かつた。

上記4剤耐性とその他の薬剤耐性の関係:前報¹⁻²⁾記載のとおり、今回検出された新薬耐性菌群もまたKM, FRM, AB-PC およびNA耐性標識が4剤(TC, CP, SM, SA)に関係する耐性菌群に4剤感受耐性菌群よりも高頻

度に発見されることがわかつた。KM耐性標識は4剤耐性菌群(17.9%), 1~3剤耐性菌群(5.5%), 感受性菌群(0.8%)の各頻度で発見され、上記4剤耐性菌に高率に検出された。FRM耐性標識はKM耐性標識の傾向とほとんど一致した。AB-PC およびNA耐性標識は4剤に関係する耐性菌群に多く見出され、感受性菌群に少い。上記4剤以外の新薬耐性標識は4剤耐性標識ととくに密接な関連は見出し難いが、上記4剤耐性菌群にNA>FT>CLS>CETの順序で新薬耐性が付加され、より複雑な多剤耐性化の進行が認められた(表3)。

む す び

1967年中に本研究会で集められたGNB 870株を精査し、次の結果を得た。

分離菌群は9属16種に分類され、腸内細菌科に属する菌株は72.6%で他は *Pseudomonas* 属(28.4%)であつた。1966年の同定成績と比較して、各種菌株の分離頻度はほぼ一致し、*E. coli*>*Pseudomonas*>*Proteus*>*Klebsiella*>*Aerobacter*>*E. freundii*>othersの順序で検出された。*Proteus*の種別でみた分離頻度は *P. morganii*が減少し、*P. rettgeri*が増加した。

腸内細菌科に属する分離菌群の薬剤耐性検査成績について、4剤(TC, CP, SM, SA)関係の耐性菌検出率は59.6%で4剤>1剤>2剤>3剤の順序で検出され、4薬剤の総ての組合わせ型が検出された。とくに4剤耐性型は51.2%でR因子の耐性型別検出頻度と併行する³⁾。上記4剤以外の薬剤に対する耐性化の傾向はまだ著明ではないが、AB-PC>FT>(コリスチン系)>(セファロsporin系)>NA>FRM>KM>GMの順序で耐性菌が検出される。とくにGMには1株のみ耐性(0.2%)で他はすべて感受性である。またFTへの耐性化はいまだ検出される耐性菌の耐性値が低い(1.6~25 µg/ml)。

新薬のKM, FRM, AB-PC およびNA耐性標識は上記4剤感受性菌よりも4剤の中の単剤または多剤耐性菌

に高頻度に検出されるが、他の薬剤耐性にはそのような関連は認められなかつた。R 因子上に座を占める耐性遺伝子と染色体上の遺伝子が重複して存在して複雑な耐性機構を保ちつつ多剤耐性化が進行しているものと考えられ、今後の動向が注目される。

文 献

1) グラム陰性桿菌感染症研究会 (班長: 石山俊次): グラム陰性桿菌の薬剤耐性の研究。1. 病巣由来菌の同定とその薬剤耐性(1965年)。Chemotherapy

15: 581~587, 1967

2) グラム陰性桿菌感染症研究会 (班長: 石山俊次): グラム陰性桿菌の薬剤耐性の研究。2. 病巣由来菌の同定とその薬剤耐性(1966年)。Chemotherapy 17: 42~46, 1969

3) MITSUHASHI, S., HASHIMOTO, H., EGAWA, R., TANAKA, T. & Y. NAGAI: Drug resistance of enteric bacteria. IX. Distribution of R factors in gram negative bacteria from clinical sources. J. Bact. 93: 1242~1245, 1967

DRUG RESISTANCE OF GRAM NEGATIVE BACTERIA OF CLINICAL SIGNIFICANCE. III

The Investigation of Gram Negative Bacteria Isolated in 1967

Research Committee of Gram Negative Bacteria

(Chif: SHUNJI ISHIYAMA, Department of Surgery, Nihon University, Tokyo)

Drug resistance and biological properties of 870 strains of gram negative bacteria (GNB) were investigated. These strains were isolated in 1967 from patients at 13 hospitals.

The GNB strains included *Escherichia coli* (43.2%), *Escherichia freundii* (1.0%), *Klebsiella* (9.4%), *Aerobacter* (2.2%), *Proteus* (14.9%), *Pseudomonas* (24.0%) and others (0.8%). With special reference to four drugs, *i. e.*, tetracycline (TC), chloramphenicol (CP), streptomycin (SM), and sulfanilamide (SA), 59.6% of the tested strains were found to be singly or multiply resistant to these drugs and 80% of such resistant strains were multiply resistant. It was also found that multiple, especially quadruple resistance of these strains was accounted for by the presence of transmissible drug-resistance factor "R" in these strains. Resistance to other drugs than the aforementioned four drugs included KM (7.4%), FRM (7.7%), GM (0.2%), AB-PC (26.0%), CER (14.0%), CET (13.8%), CLS (23.3%), CLM (23.1%), PMB (23.1%), NA (10.9%) and FT (24.7%). Relation between patterns of resistance to four (CP, TC, SM, SA) drugs and to others was investigated. It should be noted that resistance to KM and FRM was detected frequently among the quadruply (TC, CP, SM, SA) resistant strains and that resistance to CL and PMB from the sensitive strains.