

臨床材料から分離された *Serratia marcescens* の抗生物質感受性

清水昌寿・石神襄次*・三橋 進

群馬大学医学部微生物学教室

* 神戸大学医学部泌尿器科学教室

(昭和 53 年 6 月 20 日受付)

Serratia marcescens (以下 *S. marcescens*) は、土壌等の自然界に広く分布している腸内細菌科に属する菌であり、従来、非病原菌とされてきたが、近年尿路感染症^{1,2)}や呼吸器感染症³⁾などの臨床材料(尿、喀痰)から、高率に分離されるようになり注目を集めている。

今回、私どもは臨床分離の *S. marcescens* について種々の抗生物質に対する感受性を測定し、耐性菌から R 因子の検出を試みたので、その成績を報告する。

実験材料および方法

1. 使用菌株

神戸大学医学部泌尿器科学教室で分離された臨床分離の *S. marcescens* 84 株(1974 年度分離)を使用した。また各種抗生物質の耐性限界値(MAC)を決定するために、当教室保存の *S. marcescens* から任意に 100 株を選び使用した。

2. 使用薬剤

Streptomycin(SM), Kanamycin(KM), Gentamicin(GM), Dibekacin(DKB), Tetracycline(TC), Chl-oramphenicol(CP), Ampicillin(ABPC), Cephaloridine(CER), Sulfonamide(SA), Nalidixic acid(NA)の10種を用いた。

3. 感受性測定法

被験菌をペプトン水(ペプトン 10g, 塩化ナトリウム 5g, 水 1L, pH 7.2)に 18 時間培養し、平板希釈法によった。菌液はペプトン水にて 10^6 cells/ml に希釈し、マイクロプランターを用いて接種した。測定用培地には Heart Infusion Agar(栄研)を用い、対照と同じ程度の発育を許す最高濃度をもって最大発育許容濃度(MAC)とした。SA の感受性測定には合成培地(磷酸ニナトリウム 8g, 磷酸一カリウム 2g, クエン酸ナトリウム 0.4g, 硫酸マグネシウム 0.1g, 硫酸アンモニウム 1.0g, カザミノ酸 2g, トリプトファン 10mg, ニコチン酸 2mg, ビタミン B₁ 10mg, グルコース 2g, 寒天 12g, 水 1L, pH 7.2)を用いた。

4. R 因子の検出法

受容菌は *E. coli* χ 1037 (*met*⁻, rifampicin 耐性)を使用し、R 因子の伝達条件および検出は次のとおりであ

る。供与菌と受容菌を Brain Heart Infusion broth(Difco)で対数増殖期まで培養し、各々の培養液を等量混合した後、37°C で 1 夜培養した。この培養液を rifampicin (100 μ g/ml) と TC (1.6 μ g/ml), CM (3.2 μ g/ml), SM (0.4 μ g/ml), KM (1.6 μ g/ml), ABPC (6.3 μ g/ml) の各薬剤とを組み合わせた選択平板に接種し、37°C, 1 夜培養後に、生育した集落を伝達株とした。

実験結果

1. 各種抗生物質に対する *S. marcescens* 84 株の薬剤耐性

10 種の抗生物質に対する *S. marcescens* 84 株の耐性菌分離頻度を Table 1 に示した。本実験で用いられた耐性限界値は当教室保存株の中から任意に選択した 100 株の MAC 分布曲線から決定されたものであり、TC (3.2 μ g/ml), CM (6.3 μ g/ml), SM (0.8 μ g/ml), SA (6.3 μ g/ml), KM (3.2 μ g/ml), GM (0.8 μ g/ml), DKB (6.3 μ g/ml), ABPC (12.5 μ g/ml), CER (25 μ g/ml), NA (12.5 μ g/ml) である。

CER と ABPC に対しては共に 90% 以上の株が耐性化しており、これらの耐性株において、CER に対しては 34 株 (41%) が 800 μ g/ml 以上、ABPC に対しては 53 株 (68%) が 200 μ g/ml 以上の高度耐性を示した。SA, TC でも耐性株が多く、それぞれ 84 株 (100%), 62 株

Table 1 Isolation frequency of drug resistance in *Serratia marcescens*

Drug	Resistant strains (%)
SA	100
CER	99
ABPC	93
TC	74
SM	39
NA	33
KM	24
CP	20
DKB	7
GM	5

Table 2 Resistance patterns of *Serratia marcescens* to TC, CP, SM and SA

Resistance pattern		Number of strains	Isolation frequency (%)
Quadruple	TC. CP. SM. SA	12	14.3
Triple	TC. SM. SA	17	25.0
	TC. CP. SA	4	
Double	TC. SA	27	39.3
	SM. SA	5	
	CP. SA	1	
Single	SA	18	21.4

(74%) が耐性であった。Aminoglycoside 系薬剤に対しては一般に感受性が高く、GM, DKB ではそれぞれ4株(5%), 6株(7%)が、またKMは20株(24%)が耐性であり、GMが最も効果的な薬剤であった。

2. 薬剤耐性型

Table 2 は TC, CP, SM, SA に対する耐性型を示したものである。

2剤耐性が最も多く33株(39.3%)で、(TC. SA)耐性が27株(32%)、(SM. SA)耐性が5株(6%)、(CP. SA)耐性が1株(1%)であり、全耐性型の中で(TC. SA)耐性が最も多かった。3剤耐性は21株(25.0%)で、(TC. SM. SA)が17株(20%)であった。またSA単剤耐性は18株(21.4%)、(TC. CP. SM. SA)4剤耐性が12株(14.3%)で、感受性菌は0株であった。

3. R因子の検出

Table 3 は *S. marcescens* の耐性菌を供与菌として、*E. coli* X 1037 へのR因子の接合伝達を検討した成績を示している。本実験は TC, CM, SM, SA, KM, APC につ

いてだけ検討した。

GN 7586 は、6剤耐性が全て伝達されたが、他の株では供与菌の耐性型と伝達されたR因子の耐性型は一致しなかった。GM 7588 株からは (CM. SM. SA. KM) と、(ABPC) との2種のR因子が検出された。TC 耐性の伝達は上記の GM 7586 株にみられただけで、TC 耐性菌74株中のたかだか1%であった。TC. SA. APC の3剤耐性菌25株中、Table 3 に示した5株だけがR因子を保有していたが、いずれの株からも ABPC 単剤のR因子が検出された。

考 察

臨床分離の *S. marcescens* 84 株について Aminoglycoside 系抗生物質4種、β-ラクタム系抗生物質2種、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、サルファ剤、ナリジキ酸の計10薬剤の感受性を寒天平板稀釈法にて測定し、耐性株については *E. coli* を受容菌とする接合伝達系でR因子の検出を試みた。

β-ラクタム系抗生物質 (ABPC. CER)、サルファ剤に対しては90%以上の頻度で耐性菌が分離され、テトラサイクリンに対しても74%が耐性株であった。今回検討した *S. marcescens* 84 株がゲンタミシンおよびディベカシンに感受性を示したことから、本菌による感染症の治療には、現在のところ第1選択剤としてゲンタミシンを中心とした aminoglycoside 系抗生物質が有効と考えられる。COOKSEY ら⁴⁾は、*S. marcescens* が ABPC, TC, Cephalothin に対して自然耐性 (innate resistance) あることを報告しているが、私どもの結果からも、ABPC, TC, CER に対する耐性菌の分離頻度が非常に高いことが示された。ONO ら⁵⁾は、臨床分離 *S. marcescens* の

Table 3 Conjugal transfer of drug resistance

Strains	Resistance pattern	Drug resistance transferred
GN 7580	(TC. CP. SM. SA. KM. ABPC)	(CP. SA. KM. ABPC)
GN 7586	(" ")	(TC. CP. SM. SA. KM. ABPC)
GN 7588	(" ")	(CP. SM. SA. KM) (ABPC)
GN 7597	(" ")	(CP. SM. SA. KM)
GN 7578	(TC. CP. SM. SA. ABPC)	(CP. SA. ABPC)
GN 7654	(TC. SM. SA. KM. ABPC)	(SM. SA. KM)
GN 7590	(" ")	(ABPC)
GN 7536	(TC. SM. SA. ABPC)	(SM. SA)
GN 7583	(TC. SA. KM. ABPC)	(KM. ABPC)
GN 7573	(TC. SA. ABPC)	(ABPC)
GN 7575	(" ")	(")
GN 7605	(" ")	(")
GN 7639	(" ")	(")
GN 7641	(" ")	(")

E. coli X 1037 was used as a recipient of R factors.

β -ラクタム系抗生物質に対する耐性は染色体に支配されている誘導型 CSase と R 因子に支配されている PCase によるものであることを報告している。一方、TSANG ら⁹⁾は、*S. marcescens* の β -ラクタム系抗生物質耐性に関して、その耐性機作が β -lactamase 活性だけにより発現されているのではなことを示し、他の因子(細胞外膜のリポポリサッカライドの障壁機能、表面脂質の含量)による耐性機作の存在を示唆しており、*S. marcescens* の β -ラクタム系抗生物質耐性機作に興味をもたれる。

TC, CP, SM, SA の 4 剤に関する耐性パターンの特徴は、緑膿菌と同様に感受性菌がみられず、多剤耐性化の傾向があることである。耐性型では 2 剤耐性が最も多く、その中でも (SM, SA) 耐性菌 5% に対して (TC, SA) 耐性菌が 27% と高く、赤痢菌や大腸菌のそれとは逆のパターンを示している。この結果が *S. marcescens* に特有の現象かどうかは、さらに多数の株について検討する必要があると考えている。

E. coli χ 1037 を受容菌とする接合伝達実験により 14 株 (17%) の耐性伝達株を得た。ABPC 単剤伝達株が 6 株 (43%) を占め、その中でも (TC, SA, APC) 耐性菌から検出された R 因子は全て ABPC 単剤であった。また (TC, SA, APC) 耐性菌 5 株からも、いずれも ABPC 耐性だけが伝達され注目される。本実験に供した *S. marcescens* 84 株中 TC 耐性は 62 株 (74%) であったが、TC 耐性を伝達した株は 1 株であり、61 株 (98%) の TC 耐性は非伝達性であった。今後、これらの非伝達性 TC 耐性を支配する遺伝子の細胞内存在様式について検討を行ないたい。*S. marcescens* の R 因子を検出する場合には、受容菌の種類に注意する必要がある。ONO ら¹⁰⁾は *S. marcescens* \rightarrow *E. coli* の系より *S. marcescens* \rightarrow *S. marcescens* の系のほうが R 因子の検出率が高く、また後者の系でも受容菌の菌株により検出率が異なることから、*S. marcescens* の R 因子検出に際しては、1 種類の受容菌では不充分であることを報告している。このことから、*S. marcescens* を受容菌とする伝達系でさらに検討したい。

要 約

臨床分離の *S. marcescens* 84 株について 10 種の抗生物質に対する感受性を平板希釈法により検討し、耐性株については、*E. coli* χ 1037 を受容菌として R 因子の検出を検討し、次の結果を得た。

1. Aminoglycoside 系抗生物質、CP が感受性を示したが、GM が最も有効であることが判明した。
2. TC, CP, SM, SA の 4 剤に関する耐性型は、4 剤耐性、1 剤耐性、3 剤耐性、2 剤耐性の順に分離頻度が高くなり、(TC, SA) 耐性株が 27 株 (32%) で最も多かった。
3. R 因子の耐性型は、R (APC) が最も多く、検出された R 因子の 43% であった。
4. TC 耐性菌 62 株中、TC 耐性を伝達した株は 1 株であり、98% が非伝達性の TC 耐性菌であった。

文 献

- 1) LANCASTER, L. J. : Role of *Serratia* species in urinary tract infections. Arch. Intern. Med. 109 : 536~539, 1962
- 2) DAVIS, J. T. ; E. FOLTZ & W. S. BLAKEMORE : *Serratia marcescens*, a pathogen of increasing clinical significance. J. Amer. Med. Assoc. 214 : 2190~2192, 1970
- 3) GALE, D. & J. D. LORD : Overgrowth of *Serratia marcescens* in respiratory tract simulating hemoptysis. J. Amer. Med. Assoc. 164 : 1328~1330, 1957
- 4) COOKSEY, R. C. : E. R. BANNISTER & W. E. FARRAR, Jr. : Antibiotic resistance patterns of clinical isolates of *Serratia marcescens*. Antimicrob. Agents & Chemoth. 7 : 396~399, 1975
- 5) ONO, H. ; M. KIDA, M. YONEDA & S. MITSUHASHI : Inducible β -lactamase and R factor-mediated β -lactamase in *Serratia marcescens*. In "Microbial Drug Resistance" ed. by MITSUHASHI, S & H. HASHIMOTO, University of Tokyo Press, Tokyo, pp. 399~408, 1975
- 6) TSANG, J. C. ; G. A. SANSING & M. A. WILLER : Relation of Beta lactamase activity to antimicrobial susceptibility in *Serratia marcescens*. Antimicrob. Agents & Chemoth. 8 : 277~280, 1975

DRUG RESISTANCE OF *SERRATIA MARCESCENS* ISOLATED FROM CLINICAL SPECIMENS

SHOJI SHIMIZU and SUSUMU MITSUHASHI

Department of Microbiology, School of Medicine, Gunma University, Maebashi, Japan

JYOJI ISHIGMI

Department of Urology, University of Kobe

Drug resistance of 84 strains of *Serratia marcescens* isolated from clinical specimens during 1974~1975 was investigated against 10 drugs, *i. e.*, 2 β -lactam antibiotics, 4 aminoglycoside antibiotics, tetracycline, chloramphenicol, sulfanilamide, and nalidixic acid. Transfer of R factors was tested by conjugation. *Escherichia coli* χ 1037 (*met*⁻ rifampicin-resistant) was used as a recipient strain. The results were as follows.

1. Aminoglycoside antibiotics and chloramphenicol showed good antibacterial activity, but among these antibiotics, gentamicin showed the most excellent antibacterial activity.

2. Drug-resistance patterns of 84 strains were as follows: 14.3% was quadruple-resistant, 25.0% triple-resistant, 39.3% double-resistant and 21.4% single-resistant.

3. In the transfer experiment of resistance to *E. coli* χ 1037, 14 exconjugants were obtained. R (ABPC) factor was found to be most frequently demonstrated.

4. Among TC-resistant strains (64), one strain could transfer TC resistance to *E. coli* χ 1037.