

Clindamycin に対する *Bacteroides fragilis* group の耐性に関する研究 第2報

健康成人の糞便内の clindamycin 耐性嫌気性菌の分布

今村博務

岐阜大学医学部微生物学教室

(主任：鈴木祥一郎教授)

(昭和 54 年 3 月 2 日受付)

一般健康成人 98 名の糞便内の CLDM 耐性嫌気性菌の分布を検討した。その約 40% が CLDM 耐性嫌気性菌の保有者であった。これらの保有者の 65% が CLDM 耐性の保有者で、55% が CLDM 耐性の嫌気性グラム陽性桿菌の保有者であった。分離された CLDM 耐性の *B. fragilis* group は LCM, EM および JM にも 100  $\mu\text{g/ml}$  以上の耐性であった。しかし RFP には 1.56  $\mu\text{g/ml}$  以下の MIC であった。一方、CLDM 耐性の嫌気性グラム陽性桿菌は、LCM, EM および JM だけでなく RFP にも 100  $\mu\text{g/ml}$  以上の耐性であった。

## 序 文

著者は volunteer による実験において、clindamycin (CLDM) を短期間服用することにより、糞便内の *Bacteroides fragilis* group のほとんどすべてが CLDM に対して 100  $\mu\text{g/ml}$  以上の高度耐性菌によっておきかわることを報告した<sup>1)</sup>。またこの CLDM 耐性 *B. fragilis* group は、1 ないし 2 年後においても依然として、volunteer の糞便内の normal flora を構成している細菌群の最優位構成菌種として常在していることについても報告した。CLDM 服用によって短期間内に糞便内に出現する CLDM 耐性の *B. fragilis* group の出現機序については明らかでない。その理由のひとつに、腸管内に常在する CLDM 自然耐性の *B. fragilis* group が、薬剤服用によって選択的に増殖することが考えられる。

そこで本報では、任意に選んだ健康成人について、糞便内の CLDM 耐性嫌気性菌の分布を検討したので報告する。

## 実験材料および方法

1) 糞便からの CLDM 耐性嫌気性菌の分離および同定

食品取扱者における定期検便のため、保健所に提出された健康成人 98 名の自然排泄便を対象とした。したがって、これらの被検者の CLDM 服用歴は不明である。

分離培地は CLDM を 100  $\mu\text{g/ml}$  に含有する GAM 寒天培地(ノッスイ)を使用し、各々の糞便を濃厚に塗抹した。嫌気培養はスチールウール法 ( $\text{N}_2$  90%,  $\text{CO}_2$  10%) で、37°C, 48時間培養した。CLDM 含有 GAM 寒天培地に発育した集落は、集落性状の異なっているもの

はすべて、GAM 半流動高層培地に穿刺培養後、菌の純粋性と嫌気性の確認を行なった。嫌気性の確認された菌株は、グラム染色性、形態、各種生化学的性状<sup>2)</sup> およびガスクロマトグラフィーによるブドウ糖の終末代謝産物の分析結果などから VPI manual<sup>3)</sup> にしたがって菌種を同定した。

## 2) 薬剤感受性測定法

糞便から分離された CLDM 耐性の嫌気性菌は、GAM 寒天培地を用いた agar dilution method で各種薬剤に対する MIC を測定した<sup>4)</sup>。

使用薬剤は、いずれも力価の明らかな clindamycin (CLDM), lincomycin (LCM) [以上 Upjohn], erythromycin (EM) [塩野義製薬], josamycin (JM) [山之内製薬], rifampicin (RFP) [第一製薬] の 5 剤を用いた。

被検菌株の GAM ブイヨンにおける 24 時間嫌気培養菌を、嫌気性希釈液<sup>5)</sup>で McFarland No. 1 の半分濃度(生菌数: 約  $10^6$  コ/ml)に希釈し、多目的アパララスにて薬剤含有平板培地に接種した。菌を接種した培地はただちに嫌気培養を行なった。スチールウール法にて 24 時間嫌気培養後 MIC を測定した。

## 実験成績

1) 健康成人 98 名の糞便内の CLDM 耐性嫌気性菌  
健康成人の糞便内における CLDM 耐性の嫌気性菌は、被検者 98 名中 37 名 (38%) の高率に分離された。CLDM 耐性嫌気性菌が分離された 37 名中 16 名 (43%) からは CLDM 耐性の嫌気性グラム陰性桿菌だけが分離された。さらに 37 名中 8 名 (22%) からは CLDM 耐性

Table 1 Clindamycin resistant anaerobes in feces of healthy adults (9 subjects)

CLDM-resist. anaerobes	Number* (%)
GNR** only	16(16.3)
GNR GPR	8( 8.2)
GPR only	12(12.2)
GPC only	1( 1.0)
	37(37.7)

\* number of subjects from whom CLDM resistant anaerobes were isolated

\*\* Gram Negative Rod (GNR)

Gram Positive Rod (GPR)

Gram Positive Coccus (GPC)

Table 2 Number of CLDM-resistant anaerobic gram negative rods isolated from 24 subjects

Organism	No. of strains
<i>B. fragilis</i>	5
<i>B. distasonis</i>	5
<i>B. vulgatus</i>	7
<i>B. thetaiotaomicron</i>	7
<i>B. ovatus</i>	1
<i>B. fragilis</i> -other	1
<i>B. furcosus</i>	1
<i>Bacteroides</i> sp.	2
	29

\* number of CLDM resistant anaerobic gram negative rods

Table 3 Number of CLDM-resistant anaerobic gram positive rods isolated from 20 subjects

Organism	No. of strains*
<i>Lactobacillus</i> sp.	9
<i>Eubacterium</i> sp.	10
<i>Bifidobacterium</i> sp.	2
	21

\* number of CLDM resistant anaerobic gram positive rods

の嫌気性グラム陰性桿菌および陽性桿菌が同時に分離された。また CLDM 耐性の嫌気性グラム陽性球菌が1名から分離された (Table 1)。

CLDM 耐性の嫌気性グラム陰性桿菌のほとんどが *B. fragilis* group で、とくに *B. vulgatus* および *B. thetaiotaomicron* が多く、ついで *B. fragilis*, *B. distasonis* であった。*B. fragilis* group 以外の *Bacteroides*

では *B. furcosus* が1名、および species まで同定できない *Bacteroides* が2名から分離された (Table 2)。

嫌気性グラム陽性桿菌の CLDM 耐性株を分離した20名中、*Lactobacillus* は9名、*Eubacterium* は10名、*Bifidobacterium* は2名から分離された (Table 3)。

2) CLDM 耐性嫌気性菌の CLDM, LCM, EM, JM および RFP に対する感受性

糞便から分離された CLDM 耐性の *Bacteroides* 40% 株の CLDM, LCM, EM, JM および RFP に対する MIC を Table 4 に示した。CLDM に対して 100  $\mu$ g/ml 以上の耐性 *B. fragilis* group のすべての菌株は、LCM および EM にも 100  $\mu$ g/ml 以上の交叉耐性を示した。JM に対しては全株 50  $\mu$ g/ml 以上の MIC であった。しかし RFP に対しては、CLDM 耐性 *B. fragilis* group の全株が 1.56  $\mu$ g/ml 以下の MIC であった。

CLDM に対して 100  $\mu$ g/ml 以上の耐性グラム陽性桿菌 22 株および陽性球菌 1 株はすべて、LCM, EM および JM ばかりでなく、作用機序のまったく異なる RFP に対しても 100  $\mu$ g/ml 以上の耐性であった (Table 5)。

#### 考 察

*B. fragilis* group はヒト腸管内細菌叢を構成している細菌のなかで、もっとも菌数の多い菌種であり、かつまた嫌気性菌感染症からもっとも多く分離される。著者はすでに第1報で、CLDM の常用量 (1日 900 mg) を7日間服用したヒトの糞便から分離される *B. fragilis* group はすべて CLDM に対して 100  $\mu$ g/ml 以上の高度耐性株であることを報告した。さらに今後、*B. fragilis* group の CLDM 耐性株による感染症の増加が示唆され、CLDM の投与に充分な注意が必要であると考察した。

今回、成人における糞便内の CLDM 耐性嫌気性菌の分布を検討するため、CLDM の服用歴は不明であるが、健康と考えられる成人 98 名の糞便について、CLDM 耐性嫌気性菌の分離を試みた。約 40% が CLDM 耐性嫌気性菌の保有者で、その約 65% が CLDM 耐性 *B. fragilis* group の保有者であった。とくに臨床材料から高率に分離される *B. fragilis* および *B. thetaiotaomicron* の CLDM 耐性株が多く分離された。

*B. fragilis* group の他、*Eubacterium*, *Lactobacillus* および *Bifidobacterium* などの嫌気性グラム陽性桿菌の CLDM 耐性株も分離された。しかし嫌気性グラム陰性桿菌である *Fusobacterium* の CLDM 耐性株の保有者は 98 名中 1 例も認められなかった。

これまでに嫌気性菌のマクロライド剤や CLDM, LCM などに対する感受性に関して、多くの報告があるが、いずれも CLDM 高度耐性株はない。しかしこれらの報告は

Table 4 Susceptibility of clindamycin resistant *Bacteroides* isolated from healthy adults against 5 drugs

Organism	Drug	No. of strains susceptible to indicated conc.*								
		0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	25	50	100	>100
<i>B. fragilis</i> (10 strains)	CLDM									10
	LCM									10
	EM									10
	JM							2	3	5
	RFP	9	1							
<i>B. distasonis</i> (8 strains)	CLDM									8
	LCM									8
	EM									8
	JM							2		6
	RFP	5	1	1	1					
<i>B. vulgatus</i> (10 strains)	CLDM									10
	LCM									10
	EM									10
	JM							2		8
	RFP	10								
<i>B. thetaiotaomicron</i> (8 strains)	CLDM									8
	LCM									8
	EM									8
	JM							2		6
	RFP	2	4	1	1					
<i>Bacteroides</i> sp. (4 strains)	CLDM									4
	LCM									4
	EM									4
	JM							2	2	
	RFP	2		2						

\*  $\mu\text{g/ml}$ CLDM : clindamycin, LCM : lincomycin, EM : erythromycin,  
JM : josamycin, RFP : rifampicin

臨床材料由来の嫌気性菌を用いての成績であって、ヒト腸管内由来株に関する報告はきわめて少ない。SUTTER<sup>9)</sup>らによる臨床材料およびヒト糞便由来の *B. fragilis* についての報告があるにすぎない。それによると、*P. fragilis* 約 100 株はすべて CLDM に 62  $\mu\text{g/ml}$  以下の MIC であり、CLDM に 100  $\mu\text{g/ml}$  以上の *B. fragilis* は 1 株もない。さらに SUTTER ら<sup>9)</sup>は、*B. fragilis* ばかりでなく、臨床材料由来ではあるが、多種の嫌気性菌の薬剤感受性についても報告している。*B. fragilis* をはじめ、*Eubacterium*, *Lactobacillus* および *Bifidobacterium* いずれも CLDM に 8.0  $\mu\text{g/ml}$  以下、EM に 32  $\mu\text{g/ml}$  以下、JM に 40  $\mu\text{g/ml}$  以下の MIC である。この他、臨床材料由来の嫌気性菌の薬剤感受性試験の成績に関する多くの報告があるが、いずれも *B. fragilis*

をはじめ、*Eubacterium*, *Lactobacillus* および *Bifidobacterium* は CLDM, LCM, EM, JM および RFP に対してきわめて感受性である<sup>10),11),12),13)</sup>。このように臨床材料由来の嫌気性菌に CLDM 高度耐性株がない理由として、CLDM の使用量 (用法) の違いが考えられる。さらに外国人においても著者が今回用いた選択分離培養法によって、糞便培養を行えば CLDM 高度耐性株を分離することはできるかもしれない。

なお RFP に対しては、CLDM 耐性の *B. fragilis* group は 1.56  $\mu\text{g/ml}$  以下の MIC であったが、*Eubacterium*, *Lactobacillus* および *Bifidobacterium* などの CLDM 耐性嫌気性グラム陽性桿菌は 100  $\mu\text{g/ml}$  以上の耐性であった。CLDM と RFP とは作用機序が異なり、一般に *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Bifidoba-*

Table 5 Susceptibility of clindamycin resistant anaerobic gram positive bacteria isolated from healthy adults against 5 drugs

Organism	Drug	No. of strains susceptible to indicated conc. ( $\mu\text{g/ml}$ )			
		0.19	0.39	100	>1000
<i>Eubacterium</i> sp. (12 strains)	CLDM				12
	LCM				12
	EM				12
	JM				12
	RFP				12
<i>Lactobacillus</i> sp. (8 strains)	CLDM				8
	LCM				8
	EM				8
	JM				8
	RFP			1	7
<i>Bifidobacterium</i> sp. (2 strains)	CLDM				2
	LCM				2
	EM				2
	JM				2
	RFP				2
Anaerobic gram positive coccus (1 strain)	CLDM				1
	LCM				1
	EM				1
	JM				1
	RFP				1

*cterium* は RFP に対し感受性である<sup>14)</sup>。それが、これらの嫌気性菌だけが CLDM と RFP に交叉耐性を示したことは興味あることである。

#### 文 献

- 1) 今村博務: Clindamycin に対する *Bacteroides fragilis* の耐性獲得に関する研究, 第1報, Clindamycin 服用による糞便内の clindamycin 耐性 *Bacteroides fragilis* の出現. *Chemotherapy* 25 : 380~384, 1977
- 2) 岐阜大学医学部微生物学教室編: 臨床嫌気性細菌学. 1977
- 3) HOLDEMAN, L. V. & W. E. C. MOORE: *Anaerobe Laboratory Manual*. Blacksburg. Virginia

Polytechnic Institute & State Univ., 1972

- 4) 渡辺邦友: 嫌気性菌の薬剤感受性試験の標準化について, 第2報, 再現性について. *Chemotherapy* 22 : 1495~1501, 1974
- 5) 小酒井望, 鈴木祥一郎編: 嫌気性菌と嫌気性菌症. 医学書院, 1968
- 6) SUTTER, V. L.; Y. KWOK & S. M. FINEGOLD: Susceptibility of *Bacteroides fragilis* to six antibiotics determined by standardized antimicrobial disc susceptibility testing. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 3 : 188~193, 1973
- 7) SUTTER, V. L. & S. M. FINEGOLD: Susceptibility of anaerobic bacteria to 23 antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 10 : 736~752, 1976
- 8) 二宮敬字, 渡辺邦友, 上野一恵, 鈴木祥一郎, 毛泉, 坂 義人, 清水保夫, 磯貝和俊, 西浦常雄: Lincomycin と clindamycin の嫌気性菌に対する抗菌作用. *Jap. J. Antibiotics* 26 : 157~162, 1973
- 9) SARAH, S. L.; M. SUZANNE & R. M. SWENSON: *In vitro* susceptibilities of anaerobic bacteria to josamycin. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 9 : 859~860, 1976
- 10) JEROME, S.; K. DONALD & M. E. LEVISON: *In vitro* activity of josamycin and rosamicin against *Bacteroides fragilis* compared with clindamycin, erythromycin and metronidazole. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 10 : 188~190, 1976
- 11) RICHARD, E. R.; F. B. ROBERT, W. G. LOLA & R. G. DOUGLAS, Jr.: *In vitro* susceptibility of common clinical anaerobic and aerobic isolates against josamycin. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 10 : 253~257, 1976
- 12) DONNA, J. B.: Antibiotic susceptibility of the subspecies of *Bacteroides fragilis*. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 9 : 481~484, 1976
- 13) JOSEPH, L. S. & A. W. JOHN: Antimicrobial susceptibilities of anaerobic bacteria: Recent clinical isolates. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 6 : 311~315, 1974
- 14) 上野一恵, 二宮敬字, 清水弘之, 鈴木祥一郎: Rifampicin の嫌気性菌に対する抗菌作用. *診療* 23 : 68~69, 1970

ACQUIREMENT OF RESISTANCE TO CLINDAMYCIN IN  
*BACTEROIDES FRAGILIS* GROUP

Incidence of Isolation of Clindamycin Resistant Strains of Anaerobes  
from Feces of a Total of 98 Healthy Subjects

HIROMU IMAMURA

Department of Bacteriology, Gifu University School of Medicine

Clindamycin resistant strains of anaerobes were isolated from feces of a total of 98 healthy subjects. In 40 percent of the subjects, clindamycin resistant strains of anaerobes were isolated. Clindamycin resistant strains of *B. fragilis* group were isolated in 25 percent. All of clindamycin resistant strains of *B. fragilis* group showed resistance also to lincomycin, erythromycin and josamycin with MICs more than 100 $\mu$ g per ml, but were susceptible to rifampicin. All of clindamycin resistant strains of anaerobic gram positive bacteria showed resistance to these four antibiotics.