

Serratia marcescens に関する基礎的・臨床的研究 第2報

アミノグリコシド系抗生剤に対する感受性の検討

上 田 泰

慈恵医大内科

石 山 俊 次

日大総合医学研究所

坂 崎 利 一

予研細菌

川 名 林 治

岩手医大細菌

原 耕 平

長崎大医内科

副 島 林 造

川崎医大内科

島 田 馨

東京都養育院付属病院内科

佐 久 一 枝

駒込病院中検

紺 野 昌 俊

帝京大医小児科

西 浦 常 雄

岐阜大医泌尿器科

石 神 襄 次

神戸大医泌尿器科

近 藤 捷 嘉

岡山大医泌尿器科

柴 田 清 人

名古屋市大医外科

斎 藤 篤

慈恵医大内科

清 水 喜 八 郎

東京女子医大内科

辻 明 良

東邦大医微生物

五 島 瑛 智 子

東邦大医微生物

(昭和 54 年 7 月 24 日受付)

1977 年臨床材料から分離された *Serratia marcescens* 341 株の各種薬剤感受性をしらべ、旧分離株と比べた成績を第 1 報に報告した。その際、新しい分離株には Gentamicin, Nalidixic acid, Miloxacin などに耐性の株が増加していることが明らかになった。とくに GM 耐性株の増加が著しかったため、今回、さらに各種のアミノグリコシド系薬剤に対する感受性を検討した。その結果、抗菌力が強いのは Gentamicin, KW-1062, Sisomicin であったが、耐性株も多く認められ、Gentamicin で 41%, KW-1062 で 47.7%, Sisomicin で 50.9% が耐性を示した。

一般に尿からの分離株に耐性株が多く認められ、その中の大部分の株は色素非産生であった。

耐性パターンをみると 6 剤耐性 (Gentamicin, Amikacin, Tobramycin, Dibekacin, KW-1062, Sisomicin) が 25.8% で 1 番多く、次いで 3 剤耐性 (Amikacin, Tobramycin, Dibekacin) の 16.8%, 5 剤耐性 (Gentamicin, Tobramycin, Dibekacin, KW-1062, Sisomicin) の 11.8% の順であった。

Gentamicin 耐性株の多くは Amikacin に感性を示したが、他の 4 剤には交叉耐性が認められた。

I はじめに

近年、*Serratia* 感染症および*Serratia* の臨床材料からの検出頻度が増加している。この実態を調べる目的でセラチア研究会が発足し、1977 年から 1978 年に各種臨床材料から分離された株とそれ以前に分離された株について、9 種の抗生素に対する感受性を測定し、第 1 報¹⁾ で報告した。そのなかで、1977~1978 年分離株はそれ以前に分離された株に比べ、一般に各種抗生素とも耐性株の増加傾向が顕著で、とくに注目されたのが、Gentamicin 耐性株 (MIC が 25 µg/ml 以上を示す株) の急速な増加であった。すなわち、1970~1976 年分離株では試験菌株の 5% が耐性を示しただけであったが、1977~1978 年分離株では約 40% が耐性を示した。

本報告では Gentamicin のほかアミノグリコシド系の 5 剤 (Amikacin, Tobramycin, Dibekacin, KW-1062, Sisomicin) を加えた 6 薬剤について 1977~1978 年分離株の感受性成績から耐性株の疫学的解析を試みた。

II 実験材料および実験方法

1. 使用菌株

セラチア研究会の各機関 (岩手医大微生物、長崎大内科、川崎医大内科、駒込病院中検、岐阜大泌尿器科、神戸大泌尿器科、帝京大小兒科、都立養育院付属病院、岡山大泌尿器科、東京女医大内科) において、1977 年 6 月から 1978 年 1 月までに分離された臨床分離の *S. marcescens* 342 株を用いた。

2. 使用薬剤

Gentamicin (以下 GM)

塩野義製薬 649 µg/mg 力価)

Amikacin (以下 AMK)

万有製薬 701 µg/mg 力価)

Tobramycin (以下 TOB)

リリー 908 µg/mg 力価)

Dibekacin (以下 DKB)

明治製薬 700 µg/mg 力価)

KW-1062 (協和酵素 580 µg/mg 力価)

Sisomicin (以下 SIS)

エセックス日本 586 µg/mg 力価)

以上 6 薬剤を用いた。

3. 感受性測定法

日本化学療法学会標準法²⁾に準じて行った。すなわち、測定用培地として普通寒天培地 (栄研) を用い、接種菌量は普通ブイヨン (栄研) に 1 夜培養した菌液を約 10⁶ cells/ml に希釈し、その 1 白金耳量を平板培地上に接種した。判定は 37°C 18 時間培養後、菌の発育が完全に阻止された最小濃度を MIC (Minimal Inhibitory Concentration) とした。

4. 血清型別

坂崎の方法³⁾に準じて行った。すなわち、試験菌を普通寒天斜面で 37°C 1 夜培養した菌苔を 0.1 M PBS 液に浮遊させ、115°C 15 分間加熱処理した。冷却後、3,000 r.p.m. 30 分間遠沈し、上清を除去した後、沈殿した菌を 0.1 M PBS 液にて再浮遊したものを抗原とした。

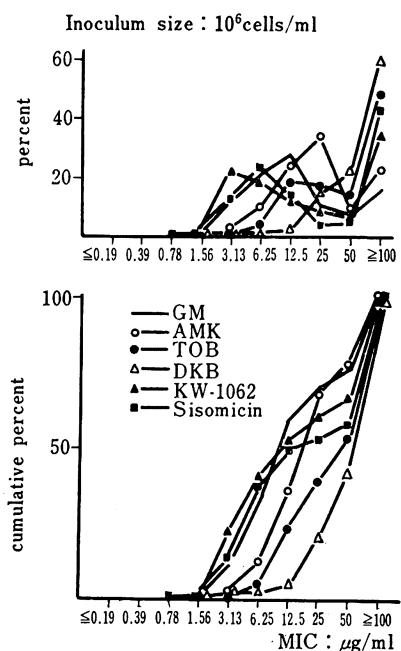
17 本の小試験管をならべ、市販のセラチア O 抗原群別用血清 (東芝化学製) の O₁~O₁₇ (O₁₅ は欠) の各血清をそれぞれ 2 滴ずつ滴下し、最終管には対照として 0.1 M PBS 液を 0.1 ml 入れた。各管に抗原液を 0.5 ml ずつ加えてよく混和し、50°C の温浴槽で 2 時間加温した後、氷室に 1 夜置き、翌日、凝集の有無を判定し、明瞭に凝集の認められた管を陽性とした。どの管でも凝集の認められない菌株については再度、寒天斜面培養を行ない再試験をした。

III 実験成績

1. 感受性分布

1) 各種抗生素に対する感受性分布

Fig. 1 Sensitivity distribution of *Serratia marcescens* to aminoglycoside
1977~1978, 342 strains



アミノグリコシド系6薬剤に対する感受性分布をFig. 1に示した。

KW-1062, Sisomicin, GM はほぼ同程度の抗菌力を示し、感受性のピークは MIC 3.13~12.5 µg/ml であるが、TOB, DKB は抗菌力が弱く、DKB では菌株の 95% は 25 µg/ml 以上の耐性株であった。

2) 臨床材料別の感受性の比較

分離材料の多かった尿分離株 (196 株)、喀痰分離株

(68 株)、膿分離株 (17 株) について、6 薬剤の感受性を比較した成績を Fig. 2 に示した。

一般に尿分離株の薬剤感受性は膿分離株、喀痰分離株と比べ低く、とくに GM, KW-1062 SIS において多くの耐性株が認められたが、喀痰分離株は各薬剤に対して感受性が良く、耐性株は少なかった。

AMK, DKB においては臨床材料による感受性の差は著明でなかった。

3) 色素産生株と非産生株の感受性の比較

Fig. 3 に示すように、色素非産生株は色素産生株に比べ、わずかに耐性側に分布し、とくに GM, KW-1062, SIS に認められた。しかし、AMK, TOB, DKB では著明な差は認められなかった。

2. 耐性株の検出率

1) 各薬剤別比較

Fig. 4 は MIC が 25 µg/ml 以上を示す耐性株を各薬剤別に比較した成績である。

耐性株がもっとも多いのは DKB で菌株の 95.6%，次いで TOB, AMK の順であった。GM はもっとも少なかったが、それでも 41.2% が耐性株であった。

2) 材料別の比較

Fig. 5 は材料別（尿分離株、膿分離株、喀痰分離株）に比較した成績である。

DKB を除く 5 薬剤は尿分離株に耐性株が多く認められ、喀痰分離株は少ない傾向が認められた。しかし、DKB は一般に耐性株が多く、材料別の差はみられなかった。

3) 施設別の比較

Fig. 6 は分離した施設別 (A~J 施設) に耐性株の検出率を比較した成績である。

Fig. 2 Comparison of sensitivity patterns by clinical specimen

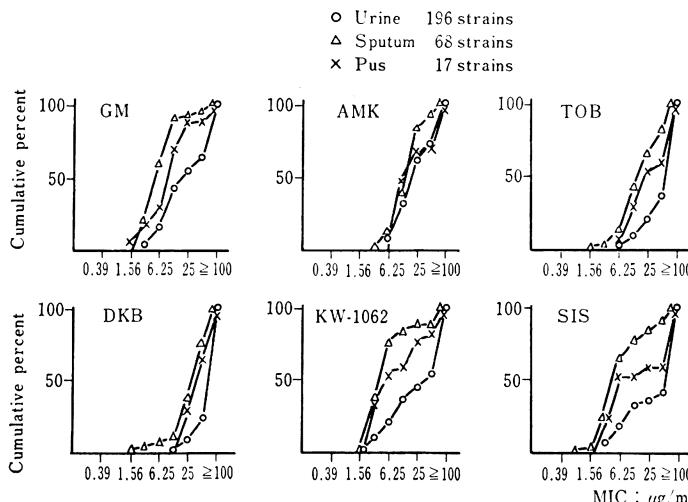


Fig. 3 Comparison of sensitivities to different antibiotics of pigment producing and non-producing strains

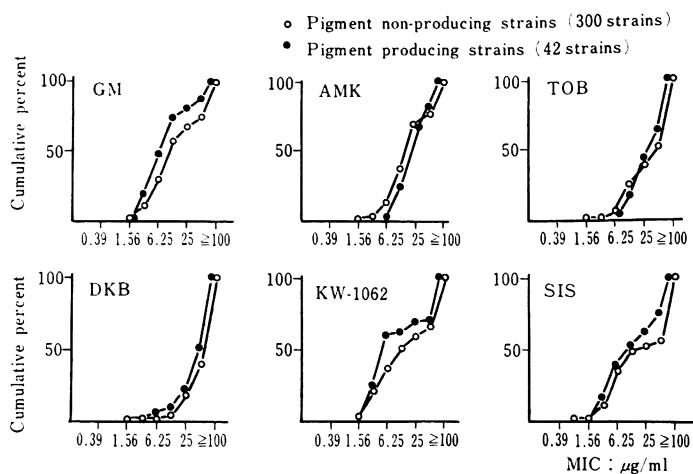


Fig. 4 Rate of detection of resistant strains to aminoglycosides

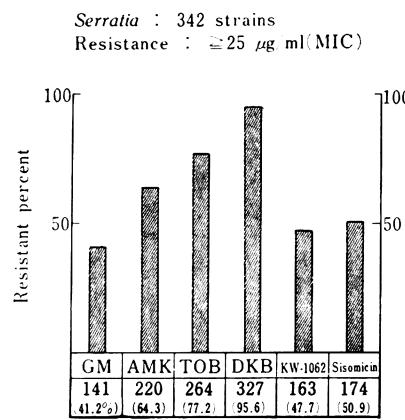
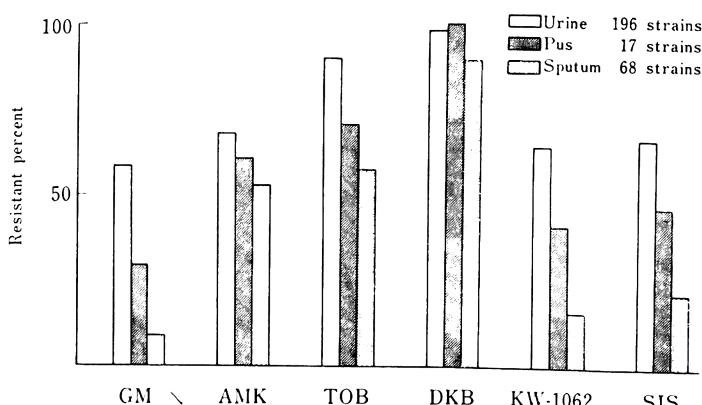


Fig. 5 Rate of detection of resistant strains by clinical specimens
Resistance : $\geq 25 \mu\text{g}/\text{ml}$ (MIC)



各施設ともほぼ同様の傾向を示し、GMはほとんどの施設で一番低い検出率を示し、次いでSISであった。C施設では菌株数は少ないが、ほとんどの株が6剤すべてに耐性を示した。

3. 耐性パターン

MICが $25 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上を示す耐性株について耐性パターンをみたのがFig. 7である。

耐性パターンのもっとも多いのはGM, AMK, TOB, DKB, KW-1062, SISの6剤耐性で25.8%, 次いでAMK, TOB, DKB 3剤耐性で16.8%, DKB単剤耐性12.8%, GM, DKB, KW-1062, SIS, TOB 5剤耐性で11.7%の順であった。また、AMK単剤耐性が1.5%に認められたが、GM単剤耐性は認められなかった。

4. GM耐性株について

1) GM耐性株およびAMK耐性株に対する薬剤感受性

Fig. 6 Rate of detection of resistant strains by institute
Resistance : $\geq 25 \mu\text{g/ml}$ (MIC)

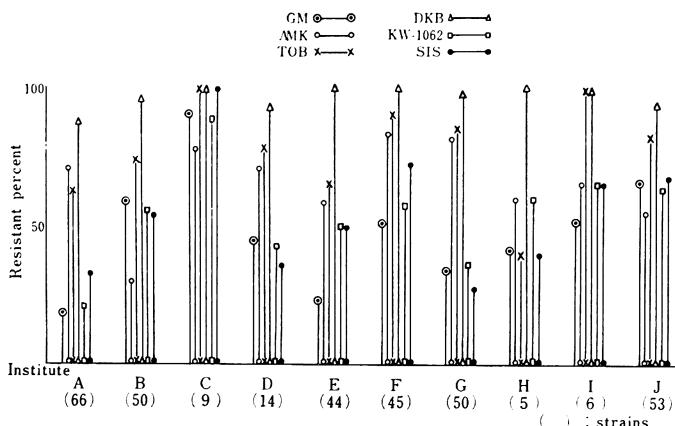


Fig. 7 Cross resistance of aminoglycosides
Serratia : 342 strains
Resistance : $\geq 25 \mu\text{g/ml}$ (MIC)

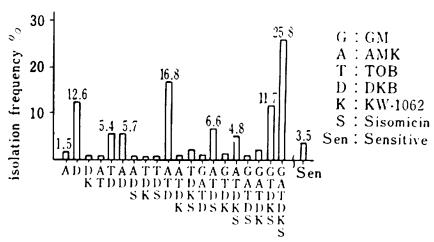


Fig. 8 Various aminoglycoside sensitivities of GM resistant and AMK resistant strains
GM resistant (141 strains) AMK resistant (220 strains)

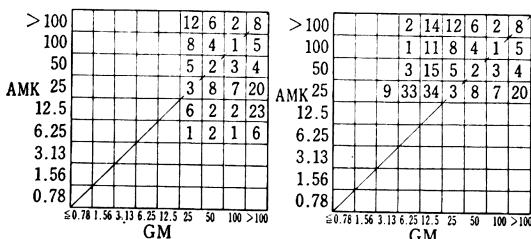
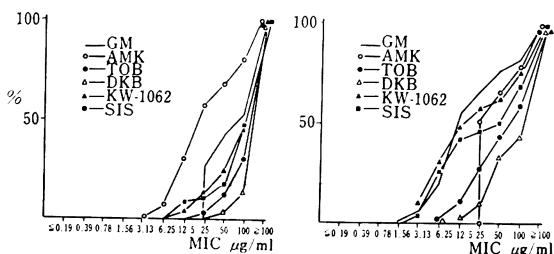


Fig. 9 Sensitivity correlogram
GM resistant strain (141 strains) AMK resistant strain (220 strains)



GM 耐性の 141 株と AMK 耐性の 220 株について、他剤の感受性をしらべたのが Fig. 8 である。

GM 耐性株に対し、AMK の抗菌力がもっとも強く、他の 5 剤はともに耐性を示した。

AMK 耐性株に対しては GM, KW-1062, SIS はほぼ同程度の抗菌力を示し、その感受性のピークは 6.25～12.5 $\mu\text{g/ml}$ であったが、TOB, DKB はともに耐性であった。

GM 耐性株および AMK 耐性株に対する GM, AMK の感受性相関をみたのが Fig. 9 である。

GM 耐性株では AMK にも交叉耐性を示す株が 98 株 (69.5%) にみられ、AMK に感性を示す株が 43 株 (30.5%) に認められた。AMK 耐性株では AMK, GM とともに耐性を示す株が 98 株 (44.5%) にみられ、GM に感性を示す株が 122 株 (55.5%) に認められた。

2) GM 耐性株の血清型について

GM 耐性株 (141 株) について、各施設における血清型をしらべた成績が Table 1 である。

最も多く分布していたのが O_7 型で、次いで O_3 型、 O_4 型の順であった。しかし、 O_7 型を示した株はすべて J

Table 1 Serotype of gentamicin resistant strains

Institute \ Type	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	141 strains (100%)
O ₁					1						1(0.7)
O ₂		1									1(0.7)
O ₃	8	2		10				1		1	22(15.6)
O ₄	13				3			2			18(12.8)
O ₅	3	2						1			6(4.3)
O ₆				1	1	1				1	4(2.8)
O ₇		1								26	26(18.4)
O ₈											1(0.7)
O ₉											
O ₁₀											
O ₁₁											
O ₁₂			4	1				4			9(6.4)
O ₁₃	2				1		1				4(2.8)
O ₁₄		2					1	1			4(2.8)
O ₁₅		3		1			1				4(2.8)
O ₁₆			1		1					2	5(3.5)
NT	3	1	1	9	9	1			8	4	36(25.5)

NT : non typable

施設からの分離株であり、血清型と耐性との関連性は認められなかった。

IV 考 察

アミノグリコシド系抗生剤のなかで、抗菌力が強いのは GM, KW-1062, SIS であったが、ともに 2 峰性の分布を示し、その感受性のピークは 3.13~12.5 μg/ml で耐性株も多く認められた。

MIC が 25 μg/ml 以上を示す株を耐性株とすると、GM は菌株の 41% が耐性を示し、KW-1062 で 47.7 %, SIS で 50.9% に認められ、DKB では 95.6% が耐性を示した。

臨床材料別（尿分離株、膿分離株、喀痰分離株）にみると、一般に尿分離株に耐性株が多く、喀痰分離株に少ない傾向がみとめられたことは第 1 報に示したが、今回、用いた薬剤のうち AMK を除いて、すべて同様の傾向を示した。一般にグラム陰性桿菌は尿分離株に耐性株が多いことが知られているが^{4,5)}、*Serratia* についてはとくにその傾向が大きいと思われた。

色素産生株と非産生株の感受性の比較で、今回、用いた株は色素産生株が (42 株)、非産生株 (300 株) よりあまりにも少ないので、その比較には多少無理があるが、GM, KW-1062, SIS において、色素非産生株に耐性株が多いことは他の報告⁶⁾にも認められている。

施設別にみると各施設ともほぼ同様の傾向を示し、GM 耐性株はほとんどの施設で、1 番低い検出率であった。

耐性パターンでは 1 番多い耐性型は 6 剤耐性 (GM, AMK, TOB, DKB, KW-1062, SIS) で 25.8% にみられ、次いで多いのは AMK, TOB, DKB の 3 剤耐性で 16.8%, GM, TOB, DKB, KW-1062, SIS の 5 剤耐性の 11.7% の順であり、多剤耐性化していることが注目される。

耐性株の 1 番少ない GM 耐性株について感受性を比較したところ、AMK だけが感性側に分布していたが、KW-1062, SIS および他の薬剤はともに耐性を示し、交叉耐性が認められた。これらの株が AMK に感性を示したこととは AMK の構造が他のアミノグリコシド剤と異なるためと考えられた。すなわち AMK は KM-A の 2-deoxystreptamine 部分の C₁ 位が L-(−)-4-amino-2-hydrobutyric acid で置換されているため、種々のアミノグリコシド剤不活化酵素に対する AMK の抵抗性が考えられる。また AMK 耐性株では GM, KW-1062, SIS が感性側に分布し、AMK 耐性株に有効なことがうかがわれる。

GM 耐性株について、血清型との関係を検討した結果、O₁ 型が最も多く、次いで O₃ 型、O₄ 型であったが、O₁ 型は全株、同一施設から分離されたものなので、とくに血清型との関連は考えられない。耐性はやはり施設内での感染によるものと考えるほうが妥当であろう。

Serratia に対する抗菌薬としては、主としてアミノグリコシド剤が使用されているが、検討した 6 薬剤とも耐性株が多く、抗菌力の強い GM でも約 41% にみら

れ、しかも多剤耐性化していることは事実であり、また、色素非産生株の増加と薬剤耐性化傾向とは何らかの関連があることがうかがわれた。

文 献

- 1) 上田 泰, 石山俊次, 坂崎利一, 川名林治, 原 耕平, 副島林造, 島田 鑿, 佐久一枝, 紺野昌俊, 西浦常雄, 石神襄次, 近藤捷嘉, 柴田清人, 斎藤 篤, 清水喜八郎: *Serratia marcescens* に関する基礎的・臨床的研究。第1報、臨床分離株における新旧株、分離材料別および色素産生別による検出率と薬剤感受性の比較。Chemotherapy 27: 841~847, 1979
- 2) MIC測定法改定委員会: 最小発育阻止濃度(MIC)測定法改訂について。Chemotherapy 22: 1126~1128, 1974
- 3) 上田 泰, 石山俊次, 坂崎利一, 田村和満, 川名林治, 五島差智子, 原 耕平, 副島林造, 島田 鑿, 佐久一枝, 紺野昌俊, 西浦常雄, 石神襄次, 近藤捷嘉, 柴田清人, 斎藤 篤, 清水喜八郎: *Serratia marcescens* に関する研究(第1服)収集菌株の血清型別について。第26回日本化学療法学会総会抄録集, 68, 1978
- 4) 清水喜八郎, 奥住捷子, 人見照子, 長野百合子, 千葉房子, 千葉純江, 大塚正和, 坂上ノリ子: 感染症の変遷、セラチア感染症。総合臨床 23: 1694~1701, 1974
- 5) 那須 勝, 猿渡勝彦, 中富昌夫, 森 信興, 斎藤 厚, 原 耕平: 最近の臨床材料から分離された *Serratia marcescens* の化学療法剤感受性。Chemotherapy 25: 397~404, 1977

FUNDAMENTAL AND CLINICAL STUDIES ON *SERRATIA MARCESCENS*. II

Sensitivity to Aminoglycoside Antibiotics

YASUSHI UEDA

Department of Internal Medicine, The Jikei University School of Medicine

SHUNJI ISHIYAMA

General Research Laboratory, Nihon University, School of Medicine

RIICHI SAKAZAKI

National Institute of Health

RINJI KAWANA

Department of Bacteriology, School of Medicine, Iwate Medical University

KOHEI HARA

Second Department of Internal Medicine, Nagasaki University, School of Medicine

RINZO SOEJIMA

Division of Respiratory Diseases of Internal Medicine, Kawasaki Medical School

KAORU SHIMADA

Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital

KAZUE SAKU

Tokyo Metropolitan Komagome Hospital

MASATOSHI KONNO

Department of Pediatrics, School of Medicine, Teikyo University

TSUNEO NISHIURA

Department of Urology, Gifu University School of Medicine

JOJI ISHIGAMI

Department of Urology, Kobe University School of Medicine

KATSUYOSHI KONDO

Department of Urology, Okayama University Medical School

KIYOHITO SHIBATA

First Department of Surgery, Nagoya City University, School of Medicine

ATSUSHI SAITO

Department of Internal Medicine, The Jikei University School of Medicine

KIHACHIRO SHIMIZU

Department of Internal Medicine, Tokyo Women's Medical School

AKIYOSHI TSUJI and SACHIKO GOTO

Department of Microbiology, School of Medicine, Toho University

A total of 341 strains of *Serratia marcescens* isolated from clinical specimens in 1977 was examined for their sensitivities to various antibiotics. The results in comparison with those of older isolates were described in the preceding report. It was found that more of the new isolates than of the old ones were resistant to gentamicin, nalidixic acid and miloxacin. As the increase in number of GM-resistant strains was prominent, these isolates were re-examined for their sensitivities to aminoglycoside antibiotics. Strong antibacterial activities were shown with gentamicin, KW-1062 and sisomicin. There were, however, many strains that were resistant to these antibiotics; 41% of the strains tested was resistant to gentamicin, 47.7% to KW-1060, and 50.9% to sisomicin.

Many of the isolates from urine were resistant strains, most of which were nonchromogenic.

As to the resistant pattern, hexa-resistant strains (gentamicin, amikacin, tobramycin, dibekacin, KW-1062, and sisomicin) were most abundant, occupying 25.8%, followed by triple-resistant (amikacin, tobramycin, and dibekacin), occupying 16.8%, and penta-resistant (gentamicin, tobramycin, dibekacin, KW-1062, and sisomicin), occupying 11.8%.

A larger portion of gentamicin-resistant strains was sensitive to amikacin, but was cross-resistant to the other four antibiotics.