

## *Serratia marcescens* のアミノグリコシド耐性と伝達性プラスミドの研究

川原 薫・木村 貞夫

帝京大学医学部細菌学教室

(昭和 56 年 7 月 9 日受付)

臨床分離 *S. marcescens* 196 株について、アミノグリコシド系抗生物質 11 種に対する感受性を検討し、伝達性 R プラスミド (以下 R) の検出を行なった。196 株中、尿由来株が最も多く R の検出率も最も高率であった。薬剤別の耐性株の分離率および R の検出率は、RSM, BT では耐性株が 80~90% と極めて高率に分離されたが、R は 15~20% と低検出率であった。KM, TOB, DKB 耐性株の分離率は約 50~60% であったが、R の検出率は KM のみ 44% と高く TOB, DKB では 14~17% であった。GM, AMK, LVDM, PRM, NM 耐性株の分離率はいずれも 20~30% と低率であり、R の検出率は AMK では 2% と極めて低かったが、他はいずれも 40~60% であった。*S. marcescens* 分離株の耐性型では R によらない RSM-BT 2 剤耐性型が最も多かったが、67 株 (34%) は 7 剤以上に同時に耐性を示し、これらの株からは R が高頻度に検出された。これらの R の耐性型より *S. marcescens* 分離株のアミノグリコシド抗生物質修飾酵素を推定すると APH-(3') をもつと考えられる株が多かったが、1 種の酵素のみで耐性型を説明できる株は少なかった。

*S. marcescens* は従来、非病原菌としてあつかわれてきたが、近年、抗生物質の多用とともに、呼吸器感染症および尿路感染症の原因菌として注目をあびている<sup>1-2)</sup>。本菌は従来、セファロスポリン系抗生物質には感受性が低く、アミノグリコシド系抗生物質に対する感受性が高いといわれていた<sup>3,4-5)</sup>。しかし最近では、アミノグリコシド系抗生物質に対する耐性菌は増加する傾向にあることが報告されている<sup>6-8)</sup>。われわれは、1975 年以来 *S. marcescens* の臨床分離株について抗生物質感受性を検討するとともに R の検出を行ない、その不和合性 (Inc.) 型別を検討してきた<sup>9-13)</sup>。本報ではアミノグリコシド系抗生物質感受性ならびに R の検出について、1978~1979 年分離の、*S. marcescens* を用いて得られた知見を報告する。

### I. 材料と方法

被検菌株：1978 年 10 月より、1979 年 9 月までに、東京医科歯科大学附属病院 (48 株)、横浜市立大学医学部附属病院 (62 株)、済生会宇都宮病院 (51 株)、帝京大学医学部附属病院 (35 株) において分離された *S. marcescens* 計 196 株を用いた。

使用抗生物質：Kanamycin (以下 KM)；明治製菓、Neomycin B (NM)；P-L Biochemicals Inc., Ribostamycin (RSM)；明治製菓、Butirosin A (BT)；三共、Paromomycin (PRM)；協和醸酵工業、Sisomicin (SI SO)；エセックス日本、Lividomycin (LVDM)；興和、

Tobramycin (TOB)；塩野義製薬、Amikacin (AMK)；萬有製薬、Dibekacin (DKB)；明治製菓、Gentamicin (GM)；塩野義製薬、Rifampicin (RFP)；Sigma Chemical Co.

薬剤感受性試験：ペプトン水 1 夜培養菌液を用いて普通寒天培地 (栄研) による寒天平板希釈法により耐性レベルを測定し、その耐性限界値を最大発育許容濃度 (MAC) とした。*S. marcescens* 分離株の各抗生物質に対する耐性の判定基準は下記のとおりである。

MAC 25  $\mu$ g/ml；KM, TOB, DKB, LVDM, BT,

NM, RSM, PRM, SISO

MAC 12.5  $\mu$ g/ml；GM, AMK

接合伝達実験：被検 *S. marcescens* 臨床分離株を供与菌、*E. coli* K 12 W 3104 rif (*gal, rif,  $\lambda$ , F<sup>-</sup>*) を受容菌として用いた。penassay broth 37°C 1 夜培養菌液を供与菌 0.1 ml 受容菌 0.9 ml の割合で混合し、新鮮 penassay broth 4 ml を加え 27°C および 37°C で 3 時間培養した。混合培養液の原液および 100 倍希釈液 0.1 ml を選択培地に塗抹し 37°C 18 時間培養を行なった。選択平板の各薬剤濃度は下記のとおりである。

KM 25+RFP 100	GM 12.5+RFP 100
AMK 12.5+RFP 100	TOB 12.5+RFP 100
DKB 12.5+RFP 100	NM 12.5+RFP 100
LVDM 12.5+RFP 100	BT 12.5+RFP 100
PRM 12.5+RFP 100	RSM 12.5+RFP 100

Fig. 1 Number of *Serratia marcescens* and R plasmids by sources

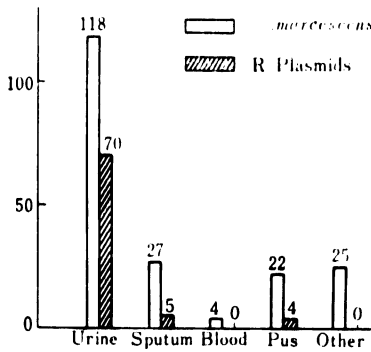
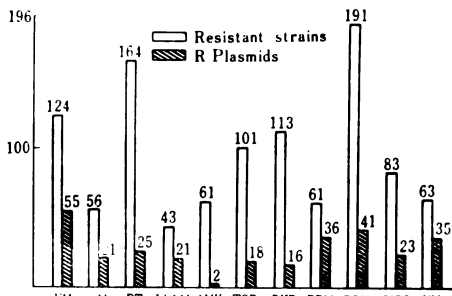


Fig. 2 Number of resistant strains and R plasmids to 11 aminoglycosides



A\* 63.2 28.5 83.6 21.9 31.1 51.5 57.6 31.1 97.4 42.3 32.1  
 B\* 44.3 37.5 15.2 48.8 3.2 17.8 14.1 59.0 21.4 27.7 55.5  
 A\* ; Percent detection of resistant strains to each antibiotic among clinical strains of *S.marcescens*.  
 B\* ; Percent isolation of conjugative R Plasmids from resistant strains of *S.marcescens*

SISO 6.25 + RFP 100 (単位 ;  $\mu\text{g/ml}$ )

Transconjugant の耐性 : 各選択平板上の colony を penassay broth 中で 37°C 24 時間培養後、寒天平板希釈法によって MAC を測定した。Transconjugant の耐性の判定基準は下記のとおりである。

MAC 25  $\mu\text{g/ml}$  ; KM, BT, LVDM, NM, PRM, RSM

MAC 12.5  $\mu\text{g/ml}$  ; GM, AMK, TOB, DKB

MAC 6.25  $\mu\text{g/ml}$  ; SISO

II. 成績

*S. marcescens* 臨床分離株の由来別の耐性株数および R の検出率を Fig. 1 に示す。R の検出率は、全体では、196 株中 79 株 (40.3%) であったが、尿由来株では 118 株中 70 株 (59.3%) と他の材料由来の株に比べ高率であった。また喀痰由来株からの R の検出率は 18.5% で

Table 1 No. of resistant strains to 11 aminoglycosides by hospital

Hospital Drugs	Hospital			
	D	S	Te	Y
KM	31 (64.5)	22 (43.1)	23 (65.7)	48 (77.4)
GM	12 (25.0)	6 (11.8)	18 (51.4)	20 (32.3)
BT	47 (97.9)	48 (94.1)	34 (97.1)	35 (56.5)
LVDM	1 (2.1)	10 (19.6)	21 (60.0)	11 (17.7)
AMK	2 (4.2)	11 (21.6)	16 (45.7)	32 (51.6)
TOB	26 (54.2)	18 (35.3)	23 (65.7)	34 (54.8)
DKB	29 (60.4)	25 (49.0)	23 (65.7)	36 (58.1)
PRM	1 (2.1)	9 (17.6)	22 (62.9)	29 (46.8)
RSM	47 (97.9)	49 (96.1)	34 (97.1)	61 (98.4)
SISO	11 (22.9)	16 (31.4)	19 (54.3)	37 (59.7)
NM	0 (0.0)	12 (23.5)	22 (62.9)	29 (46.8)
Total	48	51	35	62

あった。

Fig. 2 に、アミノグリコシド系抗生物質 11 種について、耐性株数と R の検出数、および各々の百分率を示す。RSM, BT は耐性株の分離率がそれぞれ 97.4%、83.6% と極めて高いが、これらの耐性株よりの R の検出率はそれぞれ 21.4%、15.2% と比較的低かった。KM, TOB, DKB 耐性株はいずれも約 50~60% であり、R の検出率は KM では 44.3% と高いが、TOB, DKB ではそれぞれ 17.8%、14.1% と低率であった。GM, LVDM, AMK, PRM, NM 耐性株は約 20~30% であった。R の検出率は GM, LVDM, PRM, NM では 40~60% であり、KM における検出率に類似した値であった。AMK は例外であり、R の検出率は 2% と極めて低率であった。SISO 耐性株の分離率は 42.3% であり、R の検出率は 27.7% であった。

次に、施設別の耐性株数および百分率を Table 1 に示す。臨床的に日常使用される薬剤のうち KM, GM, DKB に対する耐性株は S 病院では少なかった。Te 病院は他病院に比べると全般的に耐性株が多かった。また AMK 耐性株の分離率は病院間でバラツキが認められた。

Table 2 に、*S. marcescens* 分離株の耐性型と、その株数を示す。被検 11 薬剤すべてに耐性の株は 18 株 (34%) であった。7 剤以上に耐性を示す株は合計 67 株

Table 2 Resistance pattern of *S. marcescens*

Resistance pattern	Number of strains
KM, GM, BT, LVDM, AMK, TOB, DKB, NM, PRM, RSM, SISO	18
KM, GM, BT, LVDM, TOB, DKB, NM, PRM, RSM, SISO	10
KM, GM, BT, AMK, TOB, DKB, NM, PRM, RSM, SISO	3
KM, BT, LVDM, TOB, DKB, NM, PRM, RSM, SISO	6
KM, BT, AMK, TOB, DKB, NM, PRM, RSM, SISO	11
KM, BT, AMK, TOB, DKB, RSM, SISO	8
KM, GM, BT, TOB, DKB, RSM, SISO	8
KM, BT, TOB, DKB, RSM	15
KM, BT, DKB, RSM	3
BT, DKB, RSM	4
BT, RSM	45
KM, RSM	8
RSM	12
Other	37

Table 3 Resistance patterns of R plasmids by hospital

S-hospital		D-hospital	
KM GM LVDM TOB DKB NM PRM RSM	2	KM TOB DKB RSM	1
KM LVDM TOB DKB NM PRM RSM	2	KM GM RSM	1
KM AMK TOB DKB NM PRM RSM	1	KM GM SISO	7
KM BT AMK TOB DKB RSM	1	KM TOB DKB	2
KM LVDM NM PRM RSM	2	KM RSM	4
LVDM NM PRM RSM	2	SISO	1
KM GM SISO	1	Y-hospital	
NM	1	KM GM BT TOB DKB SISO	2
RSM	1	KM BT LVDM NM PRM RSM	6
SISO	1	KM GM TOB DKB SISO	2
Te-hospital		KM BT NM PRM RSM	15
KM GM LVDM TOB DKB NM PRM RSM SISO	3	KM BT LVDM	1
KM GM LVDM NM PRM RSM SISO	1	KM	1
KM TOB DKB PRM RSM SISO	1		
KM GM TOB DKB PRM	1		
LVDM NM PRM RSM SISO	2		

(34.2%)であり全体のほぼ 1/3 をしめていた。また、BT-RSM 2 剤耐性型を示す株は 45 株 (23.0%) と最も多く分離された。

検出された R の耐性型を、施設別に Table 3 に示す。これらの R の耐性型より *S. marcescens* 分離株中の アミノグリコシド修飾酵素を推定すると<sup>15)</sup> APH-(3') が多かったが、1 種の酵素では説明不能な耐性型を持つ株も多かった。

### III. 考 察

本邦における *S. marcescens* の臨床分離株は、今回のわれわれの成績と同様に尿由来株が多く、喀痰由来株がそれについており<sup>9)</sup>、DAVIES らの成績<sup>14)</sup> に比べ血液由

来性が少ない (Fig. 1)。これについては、今後外国株の例数を集めて検討したい。また尿由来株において R の保有率が高く喀痰由来株において低いことは両者の感染経路の相異を示していると考えられる。すなわち尿路感染は腸管からの排泄物経由の感染であり、呼吸器感染は環境由来の菌によるものであろう。次に被検 11 種の抗生物質のうち KM, TOB, DKB 耐性株の分離率はいずれも 50~60% であったが、R の検出率は KM のみ 44% と高く、TOB, DKB では比較的低率であった。これは後二者の使用頻度がまだ KM ほど高くないことによると思われる。また GM 耐性株の分離率は約 30% であったが、R の検出率は約 40% と高く、これは GM 耐

性株がRによって増加することを示唆しており、今後の推移に注目する必要がある。AMK 耐性株からのR検出率は極めて低かった。この点については、大腸菌を受容菌として用いた場合に AMK 耐性の発現が低下することなどの技術的な問題も一因であろうが、AMK 耐性がR以外の要因によることも考えられ、今後検討されるべき課題であろう。アミノグリコシド系抗生物質多剤耐性株から分離されたRの耐性型より修飾酵素を推定すると、1種の酵素では説明できない耐性型を持つ株が多かった。したがって *S. marcescens* は、アミノグリコシド系抗生物質に対して、Rに支配される2種以上の修飾酵素およびR以外の耐性要因により多剤耐性化していると考えるのが合理的であろうと思われる。

謝辞：菌株を分与していただいた東京医科歯科大学附属病院、横浜市立大学医学部附属病院、済生会宇都宮病院、帝京大学医学部附属病院の各中央検査室の方々へ厚く感謝いたします。

また Butirosin A (三共)、Sisomicin (エセックス日本)、Lividomycin (興和) を分与下さいました各社に謝意を表します。

最後に、帝京大学医学部細菌学教室の池田達夫、木村光子、中田和江、加藤理恵子、各氏の御援助に深謝いたします。

#### 文 献

- 1) 清水喜八郎： *Serratia* 感染症。感染症学雑誌 49：77~79, 1975
- 2) SCHABERG, D. R.; R. H. ALFORD, R. ANDERSON, J. J. FARMER III, M. A. MELLY & W. SCHAFNER: An Outbreak of Nosocomial Infection Due to Multiply Resistant *Serratia marcescens*: Evidence of Interhospital Spread. J. Infectious Diseases. 134: 181~188, 1976
- 3) 清水昌寿, 石神襄次, 三橋 進: 臨床材料から分離された *Serratia marcescens* の抗生物質感受性。Chemotherapy 26: 753~756, 1978
- 4) COOKSKY, R. C.; E. R. BANNISTER & W. E. FARRAR, Jr: Antibiotic Resistance Patterns of Clinical Isolates of *Serratia marcescens*. Antimicrob. Agents Chemother. 7: 396~399, 1975
- 5) WILFERT, J. N.; F. F. BARRETT, W. H. EWING, M. FINLAND & E. H. KASS: *Serratia marces-*

- cens*: Biochemical, Serological, and Epidemiological Characteristics and Antibiotic Susceptibility of Strains Isolated at Boston City Hospital. Appl. Microbiol. 19: 345~352, 1970
- 6) 上田 泰, 清水喜八郎, 五島理智子, 他 (10施設): *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
  - 7) 吉川治哉, 丸尾国造, 田中 寛: ゲンタマイシン耐性菌におけるアミカシン感受性についての検討。Chemotherapy 27: 59~63, 1979
  - 8) 上田 泰, 清水喜八郎, 五島理智子, 他 (10施設): *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。Chemotherapy 28: 1~8, 1980
  - 9) KIMURA, S.; T. IKEDA, T. EDA, M. KIMURA & Y. MITSUI: Antibiotic Resistance and R plasmids in *Serratia marcescens* Isolated from Humans in Japan (1975~1977). Abstracts of the 12th International Congress of Microbiology. Munich. p. 97, 1978
  - 10) 木村貞夫, 木村光子, 池田達夫: 昭和 51~52 年分離セラチアの薬剤感受性およびRプラスミドの分離。日本細菌学雑誌 33: 182, 1978
  - 11) 木村貞夫, 江田 亨, 池田達夫, 川原 薫, 木村光子, 中田和江, 神田弥生, 浜島 肇, 笹津備規, 河野 恵: *S. marcescens* の抗生物質感受性とRプラスミドの分離。日本細菌学雑誌 34: 311, 1979
  - 12) 池田達夫, 江田 亨, 木村貞夫: *Serratia marcescens* 由来 GM 耐性Rプラスミドの性質。帝京医学雑誌 2: 67~73, 1979
  - 13) MITSUHASHI, S.; L. ROSIVAL & V. KRČMÉRY: Antibiotic Resistance, Transposition and other Mechanisms. Antibiotic Resistance and R plasmids in *Serratia marcescens* Isolated from Clinical Specimens in Japan. (Eda, T., Ikeda, T., Kimura, M., Kawahara, K., Kanda, Y., and Kimura, S.) pp. 285~291, 1980
  - 14) DAVIES, J. T.; E. FOLTZ & W. S. BLAKEMORE: *Serratia marcescens*, A Pathogen of Increasing Clinical Importance. JAMA 214: 2190~2192, 1970
  - 15) 近藤信一: アミノ配糖体の耐性機構。日本細菌学雑誌 35: 46, 1980

## RESISTANCE TO AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS AND CONJUGATIVE R PLASMIDS IN *SERRATIA MARCESCENS*

KAORU KAWAHARA and SADAŌ KIMURA

Department of Bacteriology, Teikyo University School of Medicine

The susceptibility to 11 aminoglycoside antibiotics of 196 clinical isolates of *Serratia marcescens* was determined and the presence of conjugative R plasmids among the resistant strains was examined. The resistant strains and R plasmids from those strains were detected most frequently in urinary specimens. The percent detection of resistant strains and R plasmids to each antibiotic were as follows.

The resistant strains to ribostamycin and butirosin A were detected at very high frequencies (80~90%), but detection rate of R plasmids was low (15~20%).

The percent detection of resistance to kanamycin A, tobramycin and dibekacin was about 50~60% and that of R plasmids was 14~17% except kanamycin A (44%). Frequency of resistant strains to gentamicin, amikacin and the other three antibiotics (lividomycin A, paromomycin, neomycin B) was moderately low (20~30%) and R plasmids transferring gentamicin resistance were detected in relatively high percentage (40%), however, it was noticed that a small number of strains (2%) carried amikacin resistant plasmids. The resistant strains to sisomicin were isolated at 42% and R plasmids were detected at 28%. It was observed that 67 strains (34%) were multiple resistant for seven or more antibiotics and R plasmids were isolated from these strains at high frequency. It was presumed from resistance pattern of R plasmids that there were many resistant strains involving aminoglycoside phosphotransferase APH (3'). However, it was impossible in many occasions to explain the mechanisms of multiple resistance by a single enzyme.