

多施設における尿路感染症由来の *Pseudomonas aeruginosa* の血清型の分布

Serovar レベルでの菌交代

山田 規恵・磯野美登利・渡辺 邦友・上野 一恵

岐阜大学医学部嫌気性菌実験施設

(昭和 56 年 10 月 5 日受付)

昭和 54 年 12 月より 56 年 1 月に行なわれた泌尿器科領域における化学療法剤薬効評価のための二重盲検試験 4 群 (CMX vs. CEZ, LMOX vs. SBPC, CTX vs. CEZ, および AM-715 vs. PPA) 由来の *Pseudomonas aeruginosa* 301 株の血清型別を行なった。

G 型 (14.6%), B 型 (13.3%), E 型 (11.6%) および F 型 (10.6%) が多く分離され, その他 I 型, A 型, H 型, M 型, C 型, K 型, D 型も分離された。また型別不能が全体の 29.8% に認められた。これら血清型の分布は, 投薬前後の分離株の間で, 単一菌感染由来と複数菌感染由来の間で, また 4 群の二重盲検試験由来別で, 特に異ならなかった。しかし参加施設別にみると, 血清型の偏りが認められた。

投薬の前後ともに *P. aeruginosa* が分離された 77 例中, 分離前後の *P. aeruginosa* の血清型が異なったものが 17 例に認められた。これらの多くの症例において, 投薬前後の分離株の薬剤感受性にも変化が認められた。

Pseudomonas aeruginosa は尿路感染菌のほぼ 10% 内外を占め, 特に留置カテーテル使用例や尿流障害例において治療上問題になっている。また, *P. aeruginosa* は, 多くの化学療法剤に自然耐性であり, 各種化学療法剤投与後に菌交代現象あるいは菌交代症として現われることが多く, 化学療法剤投与後に出現する菌の中の 20~30% を占めている³⁾。

著者らは泌尿器科領域で新しい化学療法剤の評価の一環として, ほぼ全国的な規模で実施された 4 回 (1 群: CMX vs. CEZ, 2 群: LMOX vs. SBPC, 3 群: CTX vs. CEZ, 4 群: AM-715 vs. PPA) の well-contro-

lled study における各種尿路感染症から尿路感染菌として分離した *P. aeruginosa* の血清型を調査し, 興味ある成績を得たので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 対象症例

昭和 54 年 12 月から昭和 56 年 1 月までに行なわれた尿路感染症における well-controlled study の症例の中から *P. aeruginosa* が分離された 218 症例を対象とした。218 症例における *P. aeruginosa* の分離状況は, Table 1 に示したように, 化学療法前, 後ともに分離された症例 77 例, 投与前にのみ分離され, 投与後消失し

Table 1 No. of cases and strains used

Isolation of <i>P. aeruginosa</i>		No. of cases	No. of strains isolated		
Before chemotherapy	After chemotherapy		Before chemotherapy	After chemotherapy	Total
+	+	77	78	81	159
+	-	53	54		54
-	+	39		39	39
NT	+	9		9	9
+	NT	40	40		40
Total		218			301

+ : culture positive

- : culture negative

NT : not tested

た症例 53 例, 投与により出現した症例 39 例, その他 49 例である。

well-controlled study に使用された薬剤は, 1 群が Cefmenoxime (CMX) と Cefazolin (CEZ), 2 群が Latamoxef (LMOX) と Sulbenicillin (SBPC), 3 群が Cefotaxime (CTX) と Cefazolin (CEZ), 4 群が AM-715 と Pipemidic acid (PPA) である。

2. 使用菌株

これらの各種尿路感染症 218 症例から分離同定された *P. aeruginosa* 301 株を用いた。301 株中, 薬剤投与前に分離された株が 172 株, 投与後に分離された株が 129 株であった。

3. 同定

P. aeruginosa は, 改良ドリガルスキー培地 (ニッスイ) 上の 24 時間培養の集落でチトクローム・オキシダーゼ試験用ろ紙 (ニッスイ) でオキシダーゼ陽性となったものを Oxi-Ferm Tube (Roche) を用いて同定した。Oxi-Ferm Tube で同定できない時は, これに下記のように補助テストを追加した。

補助テストは以下に行なった。①42°C での発育の有無: Tryptic soy 寒天斜面培地に塗抹し, 42°C で 24 時間培養後の発育の有無を判定した。②ゼラチン液化: 寒天平板培地上の 24 時間培養菌を使用摘要に従って小試験管で濃厚菌液とし, ゼラチン片 (キータブレット, Key Scientific Product Co. アスカ純薬取扱い) を投入し, 37°C 24 時間培養後にゼラチン膜の脱落の有無を判定した。③セトリマイド感受性試験: NAC 寒天培地 (ニッスイ) での発育の有無で判定した。

4. 血清型別試験

血清型別は, Tryptic Soy Agar (Difco) で 37°C 24 時間培養後の集落を用い, 緑膿菌診断用免疫血清 (東芝化学株) を使用して行なった。血清型別法には, 初代分離培養後 4 代継代までの培養菌株を用い生菌で行なった。判定は, 東芝生物化学研究所の標準法に従って, スライドグラスに抗血清の 1 滴を滴下, これに 37°C 24 時間培養した平板上の集落の少量を加えてよく混和し 1 分以内で明らかに凝集の認められるものを (+) とし, それ以外は型別不能 (W) と判定した。この方法は, 東芝生物化学研究所の寺田博士の指示に従ったものである。なお加熱死菌による凝集反応は行なわなかった。

II. 実験成績

(1) 尿路感染症から分離した *P. aeruginosa* の血清型

Table 2 に化学療法前に分離された 172 株と化学療法後に分離された 129 株, 合計 301 株の *P. aeruginosa* の血清型を示した。薬剤投与前の分離株では B 型, G 型が

Table 2 Distribution of serovar of *P. aeruginosa*

Serovar	No. of strains isolated		Total strain (%)
	Before chemotherapy	After chemotherapy	
A	11	4	15 (5.0)
B	25	15	40 (13.3)
C	2	3	5 (1.7)
D	1	0	1 (0.3)
E	19	16	35 (11.6)
F	19	13	32 (10.6)
G	25	19	44 (14.6)
H	9	4	13 (4.3)
I	7	11	18 (6.0)
J	0	0	0
K	1	2	3 (1.0)
L	0	0	0
M	2	4	6 (2.0)
Untypable	51	38	89 (29.6)
Total	172	129	301 (100)

それぞれ 25 株, E 型, F 型がそれぞれ 19 株, H 型 9 株, I 型 7 株および型別不能 51 株などであった。投薬後の分離株では G 型 19 株, B 型 15 株, E 型 16 株, F 型 13 株, I 型 11 株および型別不能 38 株などであった。

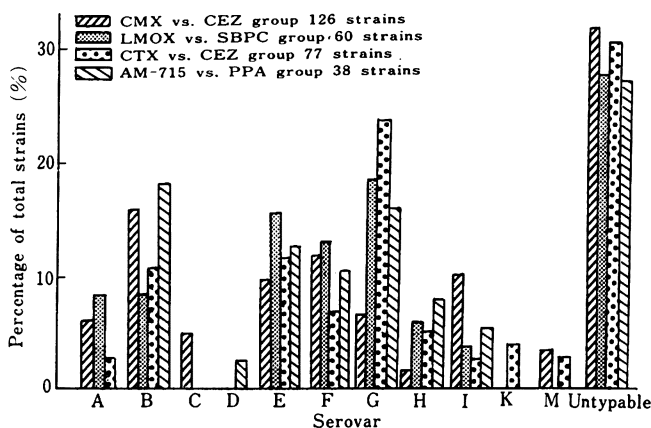
各種血清型菌の出現頻度は, 薬剤投与前後ともに B 型, E 型, F 型, G 型が高かった。なお, 投薬前後ともに *P. aeruginosa* が分離された症例, および投薬後に初めて *P. aeruginosa* が出現した症例ともにほぼ同様な血清型分布を示し, 両者に顕著な差は認められなかった。また, これらの血清型菌の出現頻度は, Fig. 1 のように 4 群の well-controlled study のいずれの群においても著明な差異は認められなかった。

(2) *P. aeruginosa* の血清型別と複合感染との関係成績は Table 3 のようであった。出現頻度の高い血清型菌のうち, F 型と G 型は単独菌感染よりも複合感染の症例から多く分離される傾向を認めた。特に F 型では, 単独菌感染症例よりも約 3 倍多く分離された。その他の血清型菌の分離率は単独菌感染と複合感染でほぼ同じであった。

複合感染の場合は, いずれの血清型菌においても, 球菌とともに混合して分離される場合が多く, 次いでセラチア属, エンテロバクター属, プロテウス属, 糖非発酵桿菌群との組み合わせが顕著であった。

(3) *P. aeruginosa* の血清型と検出した施設との関連

well-controlled study に参加した施設中, 4 群 (AM-715 vs. PPA) 以外の薬剤治療に参加した 49 施設のうち

Fig. 1 Distribution of serovar of *P. aeruginosa* isolated from UTITable 3 Serovar distribution of *P. aeruginosa* isolated from single and polymicrobial urinary tract infections

Serovar	Single infection	Polymicrobial infection
A	9	6
B	17	16
C	3	2
E	14	16
F	6	22
G	15	23
H	5	5
I	8	8
K	1	2
M	4	2
Untypable	39	40
Total	121	142

で *P. aeruginosa* の検出が3症例以上あった28施設について検出した *P. aeruginosa* の施設別の血清型分布を Table 4 に示した。28施設中、14施設で血清型がほぼ特定の菌型に集中する傾向が認められた。

(4) 化学療法前後での血清型別の変化と薬剤感受性
化学療法の前後ともに、*P. aeruginosa* が分離された77症例中、60症例では化学療法の前後に分離された *P. aeruginosa* の血清型には変化は認められなかった。

しかし、17症例では血清型に変化が認められ、このうち薬剤感受性を測定した16症例について薬剤投与前後に検出された *P. aeruginosa* の血清型とその薬剤感受性の関係を Table 5 に示した。薬剤の投与前後で血清型が変化した症例は、投与前の菌株では型別が可能であったが、投与後の菌株では型別が不能となった症例が8例、投与後の菌株で、型別が可能になった症例が3例、

投与前後で別の血清型菌が分離された症例が1例、投与後に新しい血清型の *P. aeruginosa* が加わった症例が2例、投与後に投与前とは全く異った2つの血清型菌が分離された症例が2例であった。血清型が変化した症例から検出した *P. aeruginosa* の薬剤感受性の成績には、いずれも変動が認められた。

III. 考 按

P. aeruginosa は血清型、フェージ型、ピオシン型などによっても分類されていて、これらの菌型分類を用いて疫学調査が行なわれている。すでに上田¹⁾は少数菌ではあるが、尿路感染症由来の *P. aeruginosa* 26株の血清型別を行ない、A, E, G, I の4型が多く、全体の80%をこれらが占めていたこと、またこれらの菌型が病院内環境汚染菌であったことなどを報告している。

また、松本²⁾も各種材料(尿、膿、喀痰、糞便、その他)から分離した *P. aeruginosa* 266株の血清型別を行ない、その成績を報告している。その中の尿由来の *P. aeruginosa* 127株では、E, G, A, および Ox-11型(松本らが定めた新しい血清型)が多く、Ox-11型は信州大学の泌尿器科でのみ分離されたという^{2,5)}。

著者らは、最近2年間にほぼ全国的な規模で実施された泌尿器科領域での4群の well-controlled study (CMX vs. CEZ, LMOX vs. SBPC, CTX vs. CEZ, AM-715 vs. PPA) において細菌学的検索を担当する機会をえたのでそれらの尿路感染症由来菌のうち *P. aeruginosa* 301株の血清型別を行ない、臨床細菌学的な検討を加えた。

尿路感染症由来の *P. aeruginosa* 血清型は、G, B, E, F, I, A, H の7型が多く、M, C, K, D がごく少数認められた。また型別不能が301株中89株(29.8%)に認められた。即ち G, E, A 型が多いことで上田、松本らの成

Table 4 Serovar and hospital

Hospital	Serovar											Total strain	
	A	B	C	E	F	G	H	I	K	M	Untypable		
1		1										6	7
2				3		1							4
3						1 (1)	2						4
4		1				2		2				1	6
5						(2)						4	6
6	1	2		1	2	12				1		7	26
7		4				2						1	7
8	1			1	1		2	3				2	10
9				1	5	1							7
10		1		3				(1)	1				6
11	1			1						1		2	5
12				9		2			2	1		8	22
13					2	2						2	6
14		9		2		2				1		10	24
15		4							1			1	6
16	2	1			1	2			2			2	10
17	1	2	5									2	10
18	1	5		1	10					3		3	23
19								2				2	4
20	1				3	3	6					6	19
21					1	2		5					8
22	3											1	4
23	1			3	1								5
24				1		1						2	4
25				3				1				2	6
26		1		(1)								1	3
27					3			1					4
28	1					2						1	4

Table 5 Changes of serovar of *P. aeruginosa* before and after chemotherapy

Serovar	Hospital	Before chemotherapy				After chemotherapy			
		LMOX	SBPC	CMX	CTX	LMOX	SBPC	CMX	CTX
G→W※	6				25†				200
A→W	6				100				200
H→W	8				25				200
G→W	6				25				200
B→W	14			50				100	
B→W	15			25				25	
A→B	18			25				200	
H→W	20			25				100	
E→W	29	12.5	>1,600			25	>1,600		
W→E	30				200				50
W→E	12			100				400	
W→E	12				12.5				100
B→B, M	14			100				25, 25	
F→F, G	20			50				50, 200	
W→M, F	18			200				800, 100	
M→W, B	18			200				200, 50	

※ W:Untypable, † 25 : 25 μg/ml の MIC 値を示す。

績とよく似かよっていた^{1,2,5)}。

血清型の分布は、薬剤投与前に分離された株と、薬剤投与後に分離された株の間で差は認められず、また CMX と CEZ, LMOX と SBPC, CTX と CEZ, AM-715 と PPA のいずれの群から分離された菌株の間でも差は認められなかった。

単独菌感染症由来株と複数菌感染症由来株の血清型では、F型が後者からよく分離される傾向をみたが、施設別の成績をみるかぎり特に意味のある成績とは認められない。即ち最もよく分離される *P. aeruginosa* の血清型は施設によりまちまちであり、これらのことから上田らの報告のように¹⁾、この感染症の発症に特定の菌型の関与のないことが明らかである。

化学療法の前後の尿から、いずれも *P. aeruginosa* が分離され、尿路感染症評価基準^{6,7)}では細菌学的効果不変と判定された症例 77 例を詳細に検討すると、17 症例 (22%) には化学療法前後の *P. aeruginosa* 分離株の血清型になんらかの変化が認められたことは興味深い。即ち 17 例中 8 例は G, A, H, B, E 型から型別不能への変化であり、3 例は型別不能から E 型への変化、1 例は A 型から B 型への変化であったが、これら 12 例中、ほとんどの症例では血清型の変化とともに薬剤に対する MIC 値にも変化が認められた。

上記症例以外にも抗生剤投与により、新しい血清型の *P. aeruginosa* が加わったり、全く異なる 2 種の血清型の *P. aeruginosa* が出現して抗生剤に対する MIC 値に差異が認められた症例がみられた。これらの事実、治療中における菌の耐性獲得ではなく、異なった血清型菌による菌交代現象を示唆するものとして興味深い。

IV. ま と め

最近 2 年間に行なわれた泌尿器科領域の 4 種の well-controlled study (CMX vs. CEZ, LMOX vs. SBPC, CTX vs. CEZ, AM-715 vs. PPA) において分離した *P. aeruginosa* 301 株の血清型別を行なった。

尿路感染症由来の *P. aeruginosa* 301 株の血清型別は

G 型 44 株 (14.6%), B 型 40 株 (13.3%), E 型 35 株 (11.6%), F 型 32 株 (10.6%) の 4 型で全体の 50% 以上を占め、型別不能株が 89 株 (29.6%) に認められた。

これらの血清型の分布は、化学療法前後の分離株や単独菌感染症例、複数菌感染症例からの分離株、4 回の well-controlled study からの分離株の間では特に異ならなかったが、施設別分離株の血清型分布には差が認められた。

P. aeruginosa が化学療法の前後にわたって分離された 77 症例中、17 症例において分離菌の血清型になんらかの変化を認めた。

また血清型の変化とともに、化学療法剤に対する感受性値の変化が認められた。

稿を終るに臨み、UTI の well-controlled study の機会を与えて下さり、種々御助言、御指導賜った神戸大学石神襄次教授と岐阜大学西浦常雄教授に感謝いたします。

文 献

- 1) 松本文夫, 大森雅久, 柴 孝也: 緑膿菌性尿路感染症。臨床と細菌 4: 57~60, 1977
- 2) 松本頼樹: 緑膿菌の血清型別。臨床と細菌 4: 25~31, 1977
- 3) 本間 遜, 小酒井 望, 滝上 正編: 緑膿菌とその感染症。第 5 章 尿路感染症 B 泌尿器科領域 (西浦常雄), 455~464 頁, 文光堂, 1975
- 4) 日本化学療法学会 MIC 小委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法 (改訂)。Chemotherapy 23: 1~2, 1975
- 5) MATSUMOTO, H.; T. TAZAKI & T. KATO: Serological and pyocine types of *Pseudomonas aeruginosa* from various sources. Jap. J. Microb. 12: 111~119, 1968
- 6) 大越正秋, 河村信夫 (UTI 研究会): UTI 薬効評価基準 (第 2 版)。Chemotherapy 28: 321~341, 1980
- 7) UTI 研究会 (代表大越正秋): UTI 薬効評価基準 (第 2 版) 補遺。Chemotherapy 28: 1352~1358, 1980

DISTRIBUTION OF SEROVAR OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*
ISOLATED FROM URINARY TRACT INFECTIONS ON
DOUBLE BLIND TESTS OF ANTIMICROBIAL AGENTS

NORIE YAMADA, MIDORI ISONO, KUNITOMO WATANABE and KAZUE UENO
Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University School of Medicine

Serovar of 301 strains of *Pseudomonas aeruginosa* from urinary tract infections in 4 groups of double blind test (well-controlled studies) were determined, with the diagnostic antisera of *P. aeruginosa* (Toshiba Chemical Co.).

The following results were obtained:

1. Serovar G (14.6%), B (13.3%), E (11.6%) and F (10.6%) were frequent isolates and these four serovar occupied more than 50% of total isolates. 29.6% of total isolates were non-typable.

The distribution of serovar was not significantly different upon several aspects, e.g. between isolates before and after chemotherapy, between isolates from simple infections and polymicrobial infections, and among 4 different groups of double blind tests (CMX vs. CEZ, LMOX vs. SBPC, CTX vs. CEZ and AM-715 vs. PPA). But this distribution was different among the hospitals participated in the double blind tests.

2. In 17 of 77 cases in which *P. aeruginosa* was isolated before and after chemotherapy, serovar of both isolates was differed. In many cases, the antimicrobial susceptibility pattern of both isolates was also different.