

ディスク感受性試験におけるセフェム系抗生剤の選択

藤田信一・吉田知孝・尾角信男・松原藤雄

金沢大学医学部附属病院検査部

(昭和 59 年 1 月 12 日受付)

日常検査に使用されるべき感受性ディスクを選択するために、419 株の腸内細菌を対象に 12 種類のセフェム系薬剤 (cephalothin, cephaloridine, cephalixin, cefazolin, cefoxitin, cefmetazole, cefuroxime, cefotiam, cefoperazone, latamoxef, cefotaxime, ceftizoxime) の感受性をディスク法および寒天平板希釈法により検討した。抗菌活性の違いから、ディスク感受性試験のためにセフェム系薬剤は 5 種類に分類された。第 1 は cephalothin, cephaloridine, cephalixin, cefazolin, 第 2 は cefoxitin, cefmetazole, 第 3 は cefuroxime, cefotiam のグループである。第 4 (cefoperazone, latamoxef) と第 5 (cefotaxime, ceftizoxime) は腸内細菌に対してより広い抗菌スペクトルを有するグループである。

それぞれのグループのなかで最も抗菌活性の弱い薬剤が代表ディスクとして選択された。すなわち cephalothin, cefoxitin, cefuroxime, cefoperazone である。これらのディスクで感性和判定された菌株は同一のグループに属する他の抗生剤にも感性和判定された。第 5 のグループでは cefotaxime と ceftizoxime の感受性結果に差は認められなかったことから、両者のいずれかのディスクが選択されればよいと思われた。

感受性試験をディスク法で行なう場合、いかなる薬剤のディスクについて実施するかに関しては、すでに欧米において菌種別に基本セットが公表されている。本邦においても小酒井¹⁾、小林²⁾により選択薬剤が示されているものの、すべての代表薬剤が欧米のそれと一致しているわけではない。この理由として、我が国においては欧米と異なるディスクや判定方法が採用されていること、ディスク選択の根拠が異なっているためと思われる。

最近 BARRY³⁾ は、セフェム系抗生剤では cephalothin (CET), cefoxitin (CFX), cefuroxime (CXM) を代表ディスクとすることを提案している。しかし、CET, CFX, CXM などに耐性の *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia* にも有効な薬剤が多数開発されたことから、これらの耐性菌に抗菌活性を有する薬剤をスクリーニングするための感受性試験が必要⁴⁾となっている。今回はセフェム系感受性ディスクの選択に関して腸内細菌を中心に検討したので、その結果を報告する。

I. 材料および方法

対象とした菌株は 1981 年 10 月より 1983 年 1 月までに各種の臨床材料から分離され、無作為に選ばれた *E. coli* 102 株, *Klebsiella* 67 株 (*K. pneumoniae* 57 株, *K. oxytoca* 10 株), *Proteus mirabilis* 31 株, インドール陽性 *Proteus* 65 株 (*P. morgani* 37 株, *P. vulgaris* 17 株, *P. rettgeri* 11 株), *Enterobacter* 65 株 (*E. clo-*

acae 50 株, *E. aerogenes* 15 株), *Citrobacter* 23 株 (*C. freundii* 22 株, *C. diversus* 1 株), *Serratia marcescens* 66 株の計 419 株である。

感受性試験は最小発育阻止濃度 (MIC) の測定と 1 濃度ディスク法により行なった。MIC の測定は日本化学療法標準法により接種菌量を約 10^8 cells/ml に調整した。抗生剤は CET, cephaloridine (CER), cephalixin (CEX), cefazolin (CEZ), CFX, cefmetazole (CMZ), cefuroxime (CXM), cefotiam (CTM), cefoperazone (CPZ), latamoxef (LMOX), cefotaxime (CTX), ceftizoxime (CZX) の計 12 剤を使用した。ディスク法は感受性測定用ブイヨン培地 (ニッスイ) にて 18~20 時間培養した MIC 測定用の菌液を滅菌生理食塩水で希釈し、滅菌綿棒にて感受性測定用寒天培地 (ニッスイ) に接種して行なった。この場合、寒天平板 1cm^2 当り $10^4\sim 10^6$ 個になるように菌量を希釈した。また開封されて冷蔵庫保存されたディスクについて、毎月 1 回計 5 回ゼラチンディスクで保存された *E. coli* NIHJ 株と *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 株を対照に感受性試験を行なった。

II. 結果

標準菌株の MIC 値とディスク感受性の結果を Table 1 に示した。阻止円の変動幅は *E. coli* NIHJ 株に対して大きな阻止帯を形成した CPZ と CZX ディスクで 10

Table 1 The values of inhibition zone diameters and minimal inhibitory concentrations obtained by 5 times repeated

Strain	Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition zone diameter(mm)			
			Mean	Max.	Min.	Range
<i>E.coli</i> NIHJ	CET	6.25	18.8	20	17	3
	CER	3.13	24.4	27	23	4
	CEX	6.25	20.2	23	18	5
	CEZ	1.56	26.2	28	25	3
	CFX	3.13~ 6.25	27.4	29	26	3
	CMZ	0.78~ 1.56	29.8	31	29	2
	CXM	6.25	20.0	23	18	5
	CTM	0.1~ 0.2	32.4	35	30	5
	CPZ	0.1~ 0.2	34.2	40	30	10
	LMOX	0.1	34.4	36	33	3
	CTX	0.1	34.6	37	33	4
CZX	0.05	38.2	42	32	10	
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	CPZ	3.13~ 6.25	26.4	28	25	3
	LMOX	6.25~12.5	20.2	22	19	3
	CTX	6.25~12.5	21.8	22	21	1
	CZX	12.5 ~25	17.8	21	16	5

Table 2 Antimicrobial susceptibility of 419 isolates of Enterobacteriaceae against 12 cephem antibiotics

Strain (No. of strains)	% susceptible (MIC \leq 12.5 $\mu\text{g/ml}$) to											
	CET	CER	CEX	CEZ	CFX	CMZ	CXM	CTM	CPZ	LMOX	CTX	CZX
<i>E. coli</i> (102)	75	77	92	93	95	97	95	99	99	100	100	100
<i>Klebsiella</i> (67)	74	74	86	81	83	91	83	97	90	100	100	100
<i>P. mirabilis</i> (31)	87	87	84	87	97	97	90	94	100	100	100	100
Indole-positive <i>Proteus</i> (65)	0	0	0	2	85	82	23	55	82	100	98	95
<i>Enterobacter</i> (65)	0	0	4	6	0	6	31	65	83	92	78	77
<i>Citrobacter</i> (23)	9	9	13	22	9	13	43	57	61	91	65	65
<i>Serratia</i> (66)	0	0	0	0	0	29	0	19	46	76	94	94

mm であったものの、その他のディスクと *P. aeruginosa* 株に対しては 5 mm 以下であった。

MIC 値とディスク法との関係では、抗生剤濃度 3.13 $\mu\text{g/ml}$ で発育が阻止された菌株の 74~99% はディスク法で (卍) と判定され、100 $\mu\text{g/ml}$ 以上で阻止された菌株の 79~100% は (一) と判定された。一方、(卍) と判定された菌株の 2~52%, 32~91%, 5~47% がそれぞれ抗生剤濃度 3.13 $\mu\text{g/ml}$, 6.25~12.5 $\mu\text{g/ml}$, 25~50 $\mu\text{g/ml}$ で発育が阻止された。また、(+) と判定された菌株の 0~58%, 26~80%, 5~20% がそれぞれ抗生剤濃度 6.25~12.5 $\mu\text{g/ml}$, 25~50 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上で発育が阻止された。

セフェム系抗生剤に対する感性菌 (MIC \leq 12.5 $\mu\text{g/ml}$)

ml) の分離状況を Table 2 に示した。*E. coli*, *Klebsiella*, *P. mirabilis* では 74% 以上の菌株が検討した 12 剤に感性であった。これらの 3 菌種に加えてインドール陽性 *Proteus* の 82% 以上の菌株が CFX, CMZ, LMOX, CTX, CZX に感性と判定された。*Enterobacter* における CTM 感性菌は 65%, CPZ, LMOX, CTX, CZX に対しては 77% 以上の菌株が抗生剤濃度 12.5 $\mu\text{g/ml}$ で発育が阻止された。*Citrobacter* の CTM, CPZ, CTX, CZX に感性の菌株は 57~65% であり、CPZ 感性 *Serratia* は 46%, LMOX 感性 *Serratia* は 76% であった。CXM 感性のインドール陽性 *Proteus*, *Enterobacter*, *Citrobacter* はそれぞれ 23%, 31%, 43% であった。

MIC 値とディスク法による結果が不一致と判定され

た頻度を菌種別に Table 3, 4, 5 に示した。これらの表で耐性菌がディスク法で感性和判定された場合を major discrepancy として記載した。すなわち、すでに述べた MIC 値とディスク判定の結果から、ディスク法における1段階の差は誤差範囲内と考え、抗生剤濃度 25~50 $\mu\text{g/ml}$ で発育が阻止された菌株がディスク法で (卅), または 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上で阻止された菌株が (卅) ないし (卅) と判定された場合である。一方 minor discrepancy とは、6.25~12.5 $\mu\text{g/ml}$ で発育が阻止された菌株がディスク法で (-), または 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 以下で阻止された菌株が (-) ないし (+) と判定された場合である。各々のディスクにおけるこれらの不一致は CET, CFX, CXM, LMOX, CTX で1株 (0.2%), CTM と CPZ でそれぞれ3株 (0.7%)であった。*E. coli* と *Klebsiella* に対する CET, CER, CEX, CEZ の major discrepancy は CET ディスクで 0~1.8% と最も少なかった

(Table 3)。*P. mirabilis* に対してはいずれのディスクにおいても MIC 値とディスク法との間に不一致は認められなかった。*E. coli*, *Klebsiella*, *P. mirabilis* に対する CFX ディスクと CMZ の MIC 値との major discrepancy は 0.5% であるのに対して CMZ ディスクと CFX の MIC 値では 4% であった。インドール陽性 *Proteus* における major discrepancy は CTM ないし CXM の MIC 値と CFX ディスクとの間で 22~25%, CMZ ディスクとの間で 25% であった。また CTM ディスクと CFX ないし CMZ の MIC 値との間には 8%, CPZ ディスクと CFX, CMZ, CXM, CTM の各 MIC 値との間にも 8~25% の major discrepancy が認められた (Table 4)。

Enterobacter, *Citrobacter* に対する CTM の MIC 値と CXM ディスクとの間では major discrepancy は認められなかったが、CPZ, LMOX, CTX, CZX の各

Table 3 Relative accuracies of disk diffusion tests with four cephalosporines

30 μg disk tests vs. MICs	% of discrepancies with following strains					
	<i>E. coli</i>		<i>Klebsiella</i>		<i>P. mirabilis</i>	
	Minor	Major	Minor	Major	Minor	Major
Cephalothin disk						
vs. CET MIC	0	0	0	0	0	0
vs. CER MIC	4	1	0	3	0	0
vs. CEX MIC	4	0	3	0	0	0
vs. CEZ MIC	12	1	1	0	0	0
vs. CFX MIC	12	1	9	0	10	0
vs. CXM MIC	12	0	6	0	3	0
Cephaloridine disk						
vs. CET MIC	0	4	0	3	0	0
vs. CER MIC	0	0	0	0	0	0
vs. CEX MIC	5	1	6	1	0	0
vs. CEZ MIC	8	0	3	0	0	0
vs. CFX MIC	17	1	10	4	13	0
vs. CXM MIC	12	0	4	0	0	0
Cephalexin disk						
vs. CET MIC	0	6	0	6	3	0
vs. CER MIC	3	7	0	7	0	0
vs. CEX MIC	0	0	0	1	0	0
vs. CEZ MIC	5	1	1	3	0	0
vs. CFX MIC	2	0	4	1	13	0
vs. CXM MIC	2	0	1	1	0	0
Cefazolin disk						
vs. CET MIC	0	3	0	7	0	0
vs. CER MIC	1	0	0	7	0	0
vs. CEX MIC	2	0	3	4	0	0
vs. CEZ MIC	0	0	1	1	0	0
vs. CFX MIC	4	0	9	4	10	0
vs. CXM MIC	0	0	1	0	0	0

Table 5 Relative accuracies of disk diffusion tests with cefuroxime, cefotiam, cefoperazone, latamoxef, cefotaxime, and ceftizoxime

30µg disk tests vs. MICs	% of discrepancies with following strains					
	<i>Enterobacter</i>		<i>Citrobacter</i>		<i>Serratia</i>	
	Minor	Major	Minor	Major	Minor	Major
Cefuroxime disk						
vs. CXM MIC	0	0	0	0	0	0
vs. CTM MIC	15	0	9	0	14	0
vs. CPZ MIC	31	0	13	0	27	0
vs. LMOX MIC	37	0	39	0	83	0
vs. CTX MIC	26	0	17	0	91	0
vs. CZX MIC	26	0	17	0	91	0
Cefotiam disk						
vs. CXM MIC	0	29	0	13	0	12
vs. CTM MIC	0	0	0	4	0	2
vs. CPZ MIC	12	0	0	0	24	0
vs. LMOX MIC	23	0	26	0	52	0
vs. CTX MIC	11	0	0	0	73	0
vs. CZX MIC	9	0	0	0	73	0
Cefoperazone disk						
vs. CXM MIC	0	22	0	17	0	45
vs. CTM MIC	0	17	0	4	0	36
vs. CPZ MIC	0	2	0	0	0	0
vs. LMOX MIC	6	0	17	0	15	2
vs. CTX MIC	0	2	0	0	36	0
vs. CZX MIC	0	0	0	0	41	0
Latamoxef disk						
vs. CXM MIC	0	37	0	43	0	77
vs. CTM MIC	0	34	0	35	0	58
vs. CPZ MIC	0	3	0	30	2	30
vs. LMOX MIC	0	2	0	0	0	0
vs. CTX MIC	0	12	0	26	15	0
vs. CZX MIC	0	9	0	26	20	2
Cefotaxime disk						
vs. CXM MIC	0	12	0	13	0	91
vs. CTM MIC	0	11	0	9	0	77
vs. CPZ MIC	0	2	0	4	0	45
vs. LMOX MIC	6	0	13	0	0	14
vs. CTX MIC	0	2	0	0	0	0
vs. CZX MIC	0	0	0	0	0	0
Ceftizoxime disk						
vs. CXM MIC	0	17	0	13	0	91
vs. CTM MIC	0	14	0	4	0	77
vs. CPZ MIC	0	2	0	0	0	48
vs. LMOX MIC	6	2	26	0	0	23
vs. CTX MIC	0	2	0	0	0	0
vs. CZX MIC	0	0	0	0	0	0

概念が成立しにくい状況にあると思われる。

代表ディスクの条件^{1,5,6)}としてはそのディスクを用いて感性和判定された場合には、同じグループに属する他の薬剤に対しても感性的であること、臨床で使用されて

いる薬剤であること、感受性試験が必要な薬剤であること、ディスクが安定であることである。すでに述べたように、1濃度ディスクは(-), (+), (H), (H)の4段階判定であり、それぞれ MIC 値で 50 µg/ml 以上

15~50 $\mu\text{g/ml}$, 3~15 $\mu\text{g/ml}$, 3 $\mu\text{g/ml}$ 以下となるように作製されている。

今回は MIC 値が 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上を (-), 25~50 $\mu\text{g/ml}$ を (+), 6.25~12.5 $\mu\text{g/ml}$ を (++) , 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 以下を (+++) として MIC 値とディスク感受性結果を比較した。なお感性和耐性の境界 MIC 値は、それぞれ欧米¹⁾の 10 $\mu\text{g/ml}$ 以下, 32 $\mu\text{g/ml}$ 以上という見解に従い、MIC 値が 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以下の菌株を感性菌, 50 $\mu\text{g/ml}$ 以上の菌株を耐性菌として扱った。またディスク判定における1段階の差は測定誤差範囲内と考えられたことから、代表ディスク選択の基準には MIC 測定から耐性と考えられる菌株を、ディスク法により2段階以上の差で感性和判定される頻度 (major discrepancy) の最も少ないディスクとすることにした。なお抗菌スペクトルの異なる薬剤群では、それぞれのグループから代表ディスクを選ぶことにした。

セフェム系薬剤は抗菌力と抗菌スペクトルの違いから第1世代, 第2世代, 第3世代に分類⁷⁾される。しかし代表ディスク選択にあたっては、発育阻止力が異なる薬剤であってもディスク法における判定に差がなければ同一のグループと考えることができる。このグループ分類に一定の基準が存在するわけではない。今回は分離頻度の高い菌種ごとに抗菌力を比較し、major discrepancy または minor discrepancy で 20% 以上をグループ分けの目安とした。その結果以下に述べる5つのグループに分けられた。第1のグループはいわゆる第1世代の薬剤からなり、第2はインドール陽性 *Proteus* にも抗菌力を有する CFX, CMZ, 第3は *Serratia* を除く腸内細菌に抗菌力を有する CXM, CTM のグループ, 第4 (CPZ, LMOX) と第5 (CTX, CZX) は *Serratia* にも抗菌スペクトルが拡大されたグループである。

欧米^{1,5)}では CET, CFX, CMD が選択されるべき薬剤として記載されている。CET ディスクは CET, CER, CEX, CEZ, cephacetrile, cefradine, cefaclor, cephalirin の感受性を代表している。今回の検討でも CET, CER, CEX, CEZ のいずれかに耐性である *E. coli* や *Klebsiella* を感性和誤って判定する頻度は CET ディスクが最も少なかった。また CMZ の感受性は CFX で代表させることができたが、CMZ ディスクで CFX の感受性を推定することは避けるべきと思われた。最近 BARRY⁴⁾は CXM, CMD のなかでは CXM を代表ディスクとして推奨している。我々の検討でも CXM に感性和判定された菌株は、CTM や第3世代の薬剤にも感性和であった。

CXM や CTM よりも抗菌スペクトルが広い第3世代の薬剤では、CPZ ディスクがまず選択されるべきと思

われた。この理由として、CPZ ディスクで感性和判定された菌株は LMOX, CTX, CZX にも感性和であること、CFX ディスクや CXM ディスクで感性和判定された *E. coli*, *Klebsiella*, インドール陽性 *Proteus* のなかに CPZ 耐性菌が 0~8% 分離されているためである。CPZ ディスクと LMOX の MIC 値との間には、*Serratia* と *Citrobacter* に対して minor discrepancy が 15~17% 認められたものの、major discrepancy は *Serratia* に対して 2% 認められたにすぎなかった。この結果は CPZ ディスクで LMOX の感受性を推定してもさしつかえないことを示している。一方、CPZ 感性 *Serratia* が 46% にすぎなかったことから、*Serratia* に抗菌力を有する薬剤を選択するための感受性試験が必要となる。*Serratia* に対しては CTX ないし CZX の抗菌力が最も強く、これらの抗生剤に感性的の *Serratia* は 94% であった。一般に CZX は CTX よりも抗菌力がやや強い⁸⁾とされている。しかしディスク法による判定では、両者に差は全く認められなかったことから、CTX または CZX のいずれかのディスクが選択されればよいと思われた。

上述の5種類のディスクを選択することにより、腸内細菌に対するすべてのセフェム系薬剤の感受性が推定可能と考えられる。一方すでに述べたように、代表ディスクに選択された薬剤は臨床側で使用されていることが必要である。したがって CFX や CXM が使用されていない病院では、それぞれ CMZ や CTM のディスクが使用されることもありうる。いずれにしてもディスク選択にあたっては、選択の根拠を明確にしたうえで、臨床側の了解を得ることが重要と思われる。

文 献

- 1) LENNETTE, E. H.; A. BALOWS, W. J. HANSLER & J. P. TRUANT: Manual of clinical microbiology. 3rd Ed., Amer. Soc. Microbiol., 41. Laboratory tests in chemotherapy: General considerations (SHERRIS J. C. & J. A. WASHINGTON II) pp. 446~452, 1980
- 2) 小酒井 望: 感受性検査の臨床的意義。臨床と研究 59: 3186~3189, 1982
- 3) 小林章男: 感受性検査と薬剤の選択。臨床病理 27: 385~389, 1979
- 4) BARRY, A. L.; C. THORNBERRY, R. N. JONES, P. C. FUCHS, T. L. GAVAN & E. H. GERLACH: Reassessment of the class concept of disk susceptibility testing. Cephalothin disks versus minimal inhibitory concentrations with eleven cephalosporins. Am. J. Clin. Path. 70: 909~913, 1978
- 5) LENNETTE, E. H.; A. BALOWS, W. J. HANSLER & J. P. TRUANT: Manual of clinical microbiology. 3rd Ed., Amer. Soc. Microbiol., 44. Suscepti-

- bility testing : Diffusion test procedures (BARRY A. L. & C. THORNBERRY) pp. 463~474, 1980
- 6) 金沢 裕 : 感受性ディスク法の基礎と臨床 (一濃度法を中心として)。メディアサークル 22 : 197~199, 1977
- 7) 松本慶蔵, 宇塚良夫 : セフェム系抗生物質のすすむ方向。内科 49 : 683~687, 1982
- 8) KAMIMURA, T.; Y. MATSUMOTO, N. OKADA, Y. MINE, M. NISHIDA, S. GOTO & S. KUWARA : Ceftizoxime (FK 749), a new parenteral cephalosporins : *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities. *Antimicrob. Agents Chemother.* 16 : 540~548, 1979

A STUDY ON SELECTION OF CEPHEMS FOR DISK SUSCEPTIBILITY TEST

SHIN-ICHI FUJITA, TOMOTAKA YOSHIDA, NOBUO OKADO
and FUJITSUGU MATSUBARA

Central Clinical Laboratory, Kanazawa University Hospital

To select antimicrobial disks to be routinely used for testing, the antimicrobial susceptibility of twelve cepheids (cephalothin, cephaloridine, cephalexin, cefazolin, cefoxitin, cefmetazole, cefuroxime, cefotiam, cefoperazone, latamoxef, cefotaxime and ceftizoxime) against 419 strains of Enterobacteriaceae was examined by disk diffusion and agar dilution techniques. These cepheids were divided by the difference in antimicrobial activity into 5 subgroups for the purpose of disk susceptibility test. Subgroup 1 consisted of CET, CER, CEX, and CEZ, subgroup 2 CFX and CMZ, and subgroup 3 CXM and CTM. Subgroup 4 (CPZ and LMOX) and subgroup 5 (CTX and CZX) had a broader spectrum of activity against Enterobacteriaceae than other cepheids.

The drug of the lowest activity within each subgroup was selected as a representative so that all isolates found to be susceptible to the representative could be regarded to be also susceptible to other drugs of the same subgroup. Cephalothin, cefoxitin, cefuroxime and cefoperazone were considered to be the preferable representatives. The absence of a major difference in the disk susceptibility test results between CTX and CZX seemed to indicate that either CTX or CZX disk may be used for prediction of the susceptibility to these drugs.