

Ampicillin 耐性腸球菌の分離状況と薬剤感受性

島田 馨¹⁾³⁾・安達 桂子²⁾・田中喜久子³⁾・上条 仁子³⁾・佐々木宗男³⁾
島山 勲²⁾・稲松 孝思¹⁾・浦山 京子¹⁾・岡 慎 一¹⁾

東京都養育院付属病院内科¹⁾
同 細菌検査室²⁾

(昭和 59 年 3 月 2 日受付)

1983 年 3 月～10 月に分離された腸球菌 581 株を species に分類すると、*S. faecalis* 492 株、*S. faecium* 50 株、*S. avium* 22 株、分類不能 15 株であり、検体によって菌種の分離状況が異なっていた。この 581 株のうち 32 株が ABPC 耐性株で、このうち *S. faecium* が 29 株であった。1982 年以降に分離保存された ABPC 耐性の *S. faecium* 46 株と *S. avium* 4 株に対する 12 種類の抗生物質の MIC を平板希釈法で測定した。ABPC, DMPPC, PIPC, PCG, CEZ, CZX の β ラクタム剤にはいずれも耐性を示し、GM, AMK のアミノ配糖体の MIC₉₀ は 25～50 μ g/ml であった。LCM, EM は一部に耐性株がみられたものの、ともに MIC₉₀ は 1.6 μ g/ml で良好な感受性を示した。CP の MIC は 6.3 μ g/ml 前後に集中し、MINO は 12.5～100 μ g/ml に MIC が分布して感受性が低かった。

腸球菌は他の連鎖球菌より抗生物質の感受性が悪いが、ABPC には感受性が良く、ABPC 高度耐性株はほとんどみられていなかった^{1,2)}。しかし 1981 年より当病院で、ABPC 高度耐性の腸球菌が分離されるようになった。PC 耐性を示す腸球菌は *S. faecium* と *S. avium* との報告³⁾があるので、1983 年 3 月以後に分離された腸球菌を species レベルまで同定し、菌種 (species) による検体別分離頻度や ABPC 耐性率の差を検討し、1982 年以降保存していた ABPC 耐性の腸球菌 50 株に対する 12 薬剤の MIC を測定した。

I. 方 法

1983 年 3 月～10 月に当病院で検体より純培養状に、もしくは優位菌として分離された腸球菌を FACKLAM⁴⁾の方法に則って species レベルまで同定し、その由来した検体と ABPC 耐性菌の出現状況を検討した。ABPC 耐性菌は変法ミュラー・ヒントン培地 (感受性培地: 日本) と三濃度ディスク (栄研) を用いた感受性検査で、ABPC ディスクに (-)～(+) を示した株である。なお同一人の同種検体から反覆分離された同一菌種株は、薬剤感受性パターンが等しければ同一株として集計し、重複を避けるように努めた。

ABPC 耐性株で MIC の測定に供したのは、1982 年以降 1983 年 6 月まで当院で分離され、-80°C に保存されていた 50 株 (*S. faecium* 46 株、*S. avium* 4 株) である。この *S. faecium* 46 株の由来は尿: 29、婦人科分泌

物: 3、膿: 2、胆汁、肺組織、喀痰、腹水各 1、antibiotic-associated diarrhea の下痢便: 8 であり、*S. avium* 4 株の由来は膿: 3、喀痰: 1 であった。MIC の測定は日本化学療法学会標準法の寒天平板希釈法 (ミュラー・ヒントン培地: Difco) で、10⁶/ml の菌液接種で測定した。さらに ABPC と GM の併用効果の有無を、同じく寒天平板希釈法の checker board 法で検討した。また ABPC 耐性腸球菌の β ラクタメース産生の有無を chromogenic cephalosporin 法⁵⁾ で検討した。

II. 成 績

1. 検体別の分離状況と ABPC 耐性菌

1983 年 3 月から 10 月の間の分離状況と ABPC 耐性菌を Table 1 に示す。この期間に 581 株の腸球菌が分離されているが、species まで分類できなかったのは 15 株 (2.6%) であった。最も多い菌種は *S. faecalis* で全体の 85% を占め、次いで *S. faecium* の 8.6%、*S. avium* の 3.8% である。検体でみると尿、喀痰、膿、胆汁の順であるが、喀痰から分離される腸球菌はほとんどが *S. faecalis* であって *S. faecium* は 1 株も分離されなかった。また膿も同様に *S. faecalis* が優位の腸球菌であって、*S. faecium* はほとんど分離されていない。しかし胆汁では 14 株の腸球菌のうち 5 株が *S. faecium* で 6 株の *S. faecalis* と同程度の分離率を示すなど、検体による菌種の差が著明であった。

ABPC 耐性腸球菌は 32 株で全分離株の 5.5% にすぎ

Table 1 Speciation and ampicillin resistance of *enterococcus* isolated from clinical specimens from March 1983 through October 1983

	Urine	Sputum	Pus	Bile	Others	Total
<i>S. faecalis</i>	388 (1)	48 (0)	27 (0)	6 (1)	25 (0)	494 (2)
<i>S. faecium</i>	36 (26)	0	1 (0)	5 (0)	8 (3)	50 (29)
<i>S. avium</i>	14 (0)	4 (0)	3 (1)	1 (0)	0	22 (1)
Unidentified	6 (0)	2 (0)	5 (0)	2 (0)	0	15 (0)

Numbers in parenthesis indicate the strains resistant to ampicillin.

Table 2 Susceptibility of 46 strains of ampicillin resistant *S. faecium* to 12 antibiotics

	≤0.1	0.2	0.4	0.8	1.6	3.1	6.3	12.5	25	50	100	>100
ABPC									1	2	37	6
PCG										1		45
PIPC												46
DMPPC												46
CEZ												46
CZX												46
MINO	1							3	38	3	1	
CP						3	41	2				
EM	2			26	11	1						6
LCM			36		2	1						7
GM							2	29	14	1		
AMK							2	33	8	2		1

なかったが、耐性菌のほとんどが *S. faecium* の、それも尿由来株であった。

2. ABPC 耐性菌の薬剤感受性

ABPC ディスクに耐性を示した *S. faecium* 46 株に対する 12 種の抗生物質の MIC を Table 2 に示す。PIPC, DMPPC, CEZ, CZX では全株が, PCG では 45 株が $\geq 100 \mu\text{g/ml}$ の MIC 値を示し, ABPC では 43 株が $\geq 100 \mu\text{g/ml}$ の MIC であった。この 6 剤の β ラクタム系抗生物質で最も低い MIC をみても, ABPC 25 $\mu\text{g/ml}$ が 1 株ある程度にすぎず, いずれも耐性と考えられた。また MINO も 1 株が $\leq 0.1 \mu\text{g/ml}$ の低い MIC を示しただけで, 残りの 45 株は 12.5~100 $\mu\text{g/ml}$ に分布し, GM では MIC₉₀ が 25 $\mu\text{g/ml}$, AMK では 50 $\mu\text{g/ml}$ とアミノ配糖体にも感受性が低かった。一方 EM には 6 株, LCM には 7 株が $>100 \mu\text{g/ml}$ の高度耐性であったものの, 残りの株は $\leq 3.2 \mu\text{g/ml}$ で両薬剤の発育阻止をうけ, MIC₉₀ は EM, LCM とともに

Table 3 Susceptibility of 4 strains of ampicillin resistant *S. avium* to 12 antibiotics

Antibiotics	Range of MIC ($\mu\text{g/ml}$)
ABPC	12.5~100
PCG	1.6~50
PIPC	25~>100
DMPPC	50~>100
CEZ	12.5~>100
CZX	100~>100
MINO	6.3~12.5
CP	3.2~6.3
EM	≤ 0.1 ~>100
LCM	6.3~>100
GM	12.5~50
AMK	50~>100

Table 4 Combined effect of ampicillin and gentamicin on ampicillin resistant enterococci

F.I.C. index	≤0.5 (synergism)	>0.5~<2.0 (addition)	≥2.0 (antagonism)
<i>S. faecium</i> (46)	23	22	1
<i>S. avium</i> (4)	0	1	3

The number of parenthesis indicates the strains tested.

1.6 $\mu\text{g/ml}$ であった。CP は 6.3 $\mu\text{g/ml}$ に MIC が集中しており, 高度耐性株や高度感受性株はみられなかった。

S. avium の ABPC 耐性株は 4 株と少ないが, EM に $\leq 0.1 \mu\text{g/ml}$ の低い MIC の株が 1 株みられたものの, 全般として被検 12 薬剤に中等度から高度耐性を示していた (Table 3)。

3. ABPC と GM の併用効果

checker board 法の結果から F.I.C. index を求め, ≤ 0.5 を相乗, $>0.5 \sim <2.0$ を相加, ≥ 2.0 を拮抗とすると, *S. faecium* 46 株では 23 株に相乗作用, 22 株に相加作用, 1 株に拮抗作用がみられ, *S. avium* 4 株では 1 株に相加作用, 3 株に拮抗作用がみられた (Table 4)。

4. β -ラクタメース産生能

ABPC 耐性の *S. faecium* 46 株, *S. avium* 4 株の chromogenic cephalosporin による β ラクタメースの検討はすべて陰性であった。

III. 考 察

今回の検討では, 被検株の 97% が species まで同定可能であった。TOALE ら⁶⁾ の Boston City Hospital で

1968~69年にわたって分離された腸球菌382株の臨床細菌学的検討をみると、当時と現在では腸球菌の分類や同定法が若干異なっているものの、腸球菌の94%が*S. faecalis* (*S. faecalis*のvariantを含む)で、*S. faecium*は5%にすぎず、また検体による分離菌種の差異もおおよそ我々の成績と一致している。しかしABPCは>100 µg/mlの高度耐性株は*S. faecalis* var. *liquefaciens* 1株みられただけで、*S. faecium*は3.1 µg/mlで約2/3の株が、12.5 µg/mlで全株発育を阻止されている。したがって今回は*S. faecium*の約60%がABPC耐性株であった点が特徴的であった。

このABPC耐性*S. faecium*はLCM, EMに一部耐性株がみられているが、この両薬剤の1.6 µg/mlの濃度で80%以上の株が発育阻止をうけ、15年前TOALEら⁶⁾が分離したABPC感受性株よりLCM, EM感受性が優れている。

腸球菌は基本的な病原性が低いため、尿培養で腸球菌が他の菌と一緒に検出された場合、直ちに治療の対象となるか否か問題の多いところである。かかる意味からすればABPC耐性*S. faecium*は主として尿路由来であり、第1世代セフェムにも耐性を獲得した多剤耐性黄色ブドウ菌⁷⁾の出現に比べて、臨床的な重要性は少ないかもしれない。しかし先に報告⁸⁾したようにABPC耐性の*S. faecium*や*S. avium*による敗血症が1982年に当病院で3例経験されており、もし、かかる耐性菌による感染性心内膜炎が発生すれば、治療に難渋することは必至である。これらABPC耐性*S. faecium*にcarbapenem剤も抗菌力が弱い⁹⁾。最近、腸球菌にも抗菌力をもつセフェム系β-ラクタム剤HR-810¹⁰⁾の開発が報ぜられているが、ABPC耐性の腸球菌にどの程度抗菌力があるか興味ある点である。

ABPCとGMの併用で*S. avium*の4株中3株に拮抗現象がみられたが、検討株数が少ないためこれが一般的な傾向か否か結論づけることはできない。*S. faecium*に対するPCGとアミノ配糖体の併用効果を検討したMOELLERINGら¹¹⁾は、PCGと各種アミノ配糖体の併用で、GMとの組合せに相乗作用が認められたものの、KM, TOB, SISO, NTLとの併用では相乗効果はなく、これは*S. faecium*がKM, TOB, SISO, NTLの6'のNH₂をアセチル化する不活化酵素を産生するためとされている¹²⁾。ABPC耐性*S. faecium*ではABPCとGMの併用で半数に相乗効果、半数に相加効果がみられたが、fractional MICはABPCが25 µg/ml, GMが1.6~6.3 µg/mlに低下する程度で、ABPC耐性*S. faecium*が心内膜炎の起炎菌となった場合、ABPCとGMの併用でも臨床効果は期待し難いと考えられた。

S. faecium, *S. avium*のABPC耐性機序はβラクタマーゼによるものではなく、耐性菌のPBPの薬剤結合の低下が観察¹³⁾されているが、耐性機序の詳細の解明は今後に残されている。*S. faecium*, *S. avium*は更に細かな型別が困難なため、病院内伝播の疫学的検討は行なわなかった。しかし検討した12種の抗生物質のMIC値を被検株ごとに比較すると一定のパターンはなく、少数のABPC耐性*S. faecium*株が院内流行をおこしているとは考え難かった。

文 献

- 1) 小栗豊子, 小酒井 望: 各種臨床材料からの腸球菌の検出状態と抗生物質感受性。Jap. J. Antibiot. 25: 246~250, 1972
- 2) 松岡喜美子, 松田忠司, 栗田真紀, 渡部康子, 虎頭 廉, 小豆澤瑞夫: *Streptococcus faecalis*の各種抗生剤に対するMICとMBCについて(抄)。Chemotherapy 31: 1152~1153, 1983
- 3) 川上小夜子, 鈴木則子, 篠原 寿, 平野光明, 堀内はつみ, 金子良江, 丸山英行, 渡辺由美子, 安田和人, 紺野昌俊: 1981年に当病院で分離された連鎖球菌属の薬剤感受性の動向(抄)。臨床病理 30(補冊): 55, 1982
- 4) STARR, M. P.; H. STOLP, H. G. TRÜPER, A. BALOWS & H. G. SCHLEGEL: The Prokaryotes. Vol. 2, The Family Streptococcaceae (FAC-KLAM, R. R. & WILKINSON, H. W.), pp. 1572~1597, Springer-Verlag, 1981
- 5) O'CALLAGHAN, C. H.; A. MORRIS, S. M. KIRBY & A. H. SHINGLER: Novel method for detection of β-lactamase by using a chromogenic cephalosporin substrate. Antimicrob. Agents Chemother. 1: 283~288, 1972
- 6) TOALE, P.; A. McDONALD, C. WILCOX & M. FINLAND: Susceptibility of group D *Streptococcus* (*Enterococcus*) to 21 antibiotics *in vitro*, with special reference to species differences. Am. J. Med. Sci. 258: 416~430, 1969
- 7) 島田 馨, 安達桂子, 田中喜久子, 上条仁子, 佐々木宗男, 畠山 勤, 稻松孝思, 浦山京子: セフェムを含む多剤耐性黄色ブドウ球菌の分離状況と41抗生剤に対する感受性。Chemotherapy 31: 835~841, 1983
- 8) 島田 馨, 安達桂子, 田中喜久子, 佐々木宗男, 畠山 勤, 上条仁子, 稻松孝思, 浦山京子, 岡 慎一: 腸球菌敗血症に関する研究—第1報 血液培養から分離された腸球菌49株の speciation と薬剤感受性。Chemotherapy 32: 435~438, 1984
- 9) 島田 馨, ほか: 未発表データ
- 10) SEEGER, K.; J. F. CHANTOT, W. DÜRCKHEIMER, R. KIRRSTETTER, N. KLESEL, R. LATTRELL, M. LIMBERT, E. SCHRINNER, G. SEIBERT & I. WINKLER: HR 810, a new cephalosporin with a broad spectrum, activity *in vitro*. (Abstr.). Program and Abstracts of the Twenty-Third

- Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. p.144, ASM, 1983
- 11) MOELLERING, R. C. JR.; O. R. KORZENIOWSKI, M. A. SANDE & C. B. WENNERSTEN: Species-specific resistance to antimicrobial synergism in *Streptococcus faecium* and *Streptococcus faecalis*. J. Infect. Dis. 140 : 203~208, 1979
- 12) WENNERSTEN, C. B. & R. C. JR. MOELLERING : Mechanism of resistance to penicillin-aminoglycoside synergism in *S. faecium*. Curr. Chemother. 1 : 710, 1980
- 13) 生方公子, 紺野昌俊 : *Streptococcus faecium* * 及び *Streptococcus avium* におけるペニシリン耐性について (抄)。Chemotherapy 31 : 1153, 1983

ISOLATION AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITIES OF AMPICILLIN-RESISTANT ENTEROCOCCI

KAORU SHIMADA¹⁾²⁾, KEIKO ADACHI²⁾, KIKUKO TANAKA²⁾,
HITOKO KAMIJO²⁾, MUNEO SASAKI²⁾, TSUTOMU HATAKEYAMA²⁾,
TAKASHI INAMATSU¹⁾, KYOKO URAYAMA¹⁾, and SHINICHI OKA¹⁾
Department of Medicine¹⁾ and Clinical Microbiology
Laboratory²⁾, Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital

Speciation of 581 strains of enterococci isolated from March 1983 through October 1983 revealed that these isolates include *S. faecalis*(494), *S. faecium*(50), *S. avium*(22) and strains difficult to identify to species (15). Thirty-two(*S. faecium* ;29, *S. faecalis* ;2, *S. avium* ;1) out of the 581 enterococcal strains were resistant to ampicillin. Twenty-seven out of these 32 resistant strains were recovered from urine. *In vitro* tests for sensitivity to 12 antibiotics were performed with 46 ampicillin resistant strains of *S. faecium* and 4 strains of *S. avium* by agar dilution technique. All strains were resistant to penicillin G, ampicillin, piperacillin, methicillin, cefazolin and ceftizoxime. Lincomycin and erythromycin showed bimodal MIC distribution, with MIC₉₀ of 1.6 µg/ml. MIC₉₀ of gentamicin and amikacin was 25 µg/ml and 50 µg/ml, respectively. Chloramphenicol inhibits most of the resistant strains at a concentration of 6.3 µg/ml. Minocycline was less active than chloramphenicol.