

福岡大学病院における臨床分離菌に対するアミノ配糖体剤の感受性分布

—最小発育阻止濃度と1濃度ディスク感受性との相関—

滝井昌英・重岡秀信・乙成孝俊

福岡大学医学部第2内科

村上紀之

福岡大学病院中央検査部

(昭和59年4月13日受付)

福岡大学病院中央検査部で検出した臨床分離菌 214 株について、アミノ配糖体系抗生剤のゲンタマイシン (GM)、トブラマイシン (TOB)、ジベカシン (DKB)、ミクロノマイシン (MCR)、アミカシン (AMK) 5 剤に対する感受性分布を調査し、あわせて前 4 剤について、最小発育阻止濃度 (MIC) と 1 濃度ディスク阻止円径との相関について検討した。

Escherichia coli, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* 属, *Enterobacter* 属, *Serratia marcescens* に対して 5 剤は良好な感受性を有し、耐性菌はごく少数であった。しかし、*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* に対して GM, TOB, DKB, MCR 4 剤の感受性株はそれぞれ 60, 50% にすぎなかった。AMK に対する耐性菌は認めなかった。

GM, TOB, DKB, MCR について、MIC 値とディスク阻止円径間には有意の相関をもつ一次回帰式が得られたが、1 濃度ディスクの 4 段階判定法 (卅, 卅, +, -) では、卅, + と判定される群に MIC 値との相関が乏しかった。そこで MIC で $3.13 \mu\text{g/ml}$ 以下を感受性菌、 $12.5 \mu\text{g/ml}$ 以上を耐性菌とみなし³⁾、阻止円径との相関をみたところ、GM, DKB で 22 mm 以上、TOB, MCR で 20 mm 以上を感受性、前者で 12 mm 以下、後者で 10 mm 以下を耐性と判定した場合に感度、特異度ともに優れていた。

福大病院中検では、臨床分離菌の感受性試験を原則として 1 濃度ディスク (昭和) を用い、指示されたごとく、卅, 卅, +, - の 4 段階で判定している。

今回、本院における各種臨床分離菌に対するアミノ配糖体剤の感受性分布と、ディスク感受性判定法の妥当性を評価する目的で、臨床分離菌株 214 株に対するゲンタマイシン (GM)、トブラマイシン (TOB)、ジベカシン (DKB)、ミクロノマイシン (MCR)、アミカシン (AMK) の MIC 値分布と前 4 剤について、ディスク阻止円径と MIC 値の相関を検討した結果を報告する。

I. 材料と方法

1. 臨床分離菌

昭和 57 年 4 月より 2 か月間に福大病院中検にて分離した病巣由来の *Staphylococcus aureus* 31 株, *Escherichia coli* 29 株, *Klebsiella pneumoniae* 31 株, *Proteus* 属 31 株 (*P. mirabilis* 19 株, *P. vulgaris* 5 株, *P. morgani* 7 株), *Enterobacter* 属 21 株 (*E. aerogenes* 8 株, *E. cloacae* 21 株), *Serratia marcescens* 31 株, *Pseudomonas aeruginosa* 32 株の 214 株を供試菌とした。細菌

は分離後速かに -80°C に凍結保存した。

細菌の同定は、*S. aureus* はコアグラゼ産生、グラム陰性桿菌 (GNR) は API-20 E によった。

2. MIC およびディスク感受性測定

GM, TOB, DKB, MCR, AMK の 5 種の薬剤を選択した。MIC 測定は日本化学療法学会標準法¹⁾に準じた。すなわち、感受性プロス (栄研) で 1 夜培養した菌液を *S. aureus* では 100 倍, GNR では 1,000 倍に希釈し、マイクロプランターを用いて、抗生剤を含有した Mueller-Hinton 寒天培地 (栄研) に接種した。希釈菌液はほぼ 10^8 cells/ml に相当することをあらかじめ確認した。

ディスク感受性試験は、GM, TOB, DKB, MCR では 1 濃度ディスク (昭和), AMK は 3 濃度ディスク (栄研) を使用した。菌液の作製および接種方法は次のように行なった。細菌コロニーを 1 白金耳採取し、McFarland 1 の濁度に相当する浮遊液を作製 (約 $2 \times 10^8 \text{ cells/ml}$) し、この 200 倍希釈液の 0.1 ml を Mueller-Hinton 寒天培地上に滴下し、滅菌綿棒で均一に塗布した。

Fig. 1 Sensitivity distributions of aminoglycosides against clinical isolates

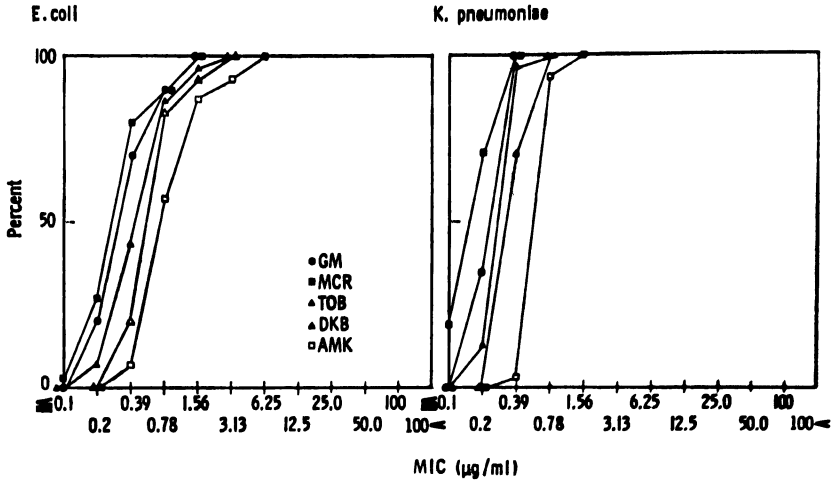
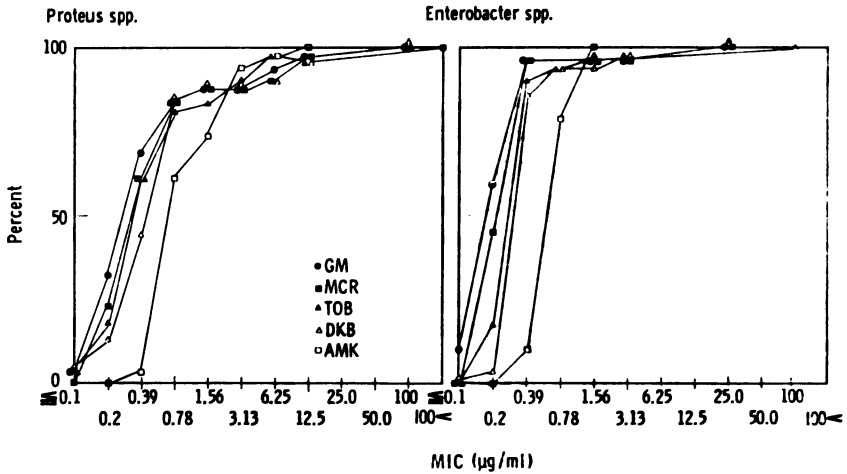


Fig. 2 Sensitivity distributions of aminoglycosides against clinical isolates



判定は両者とも 37°C, 24 時間培養後に行なった。
 なお感受性, 耐性の 限界は, 成書^{2,3)}を 参考とし,
 GM, TOB, DKB, MCR では MIC 3.13 µg/ml 以下,
 AMK では 12.5 µg/ml 以下を 感受性菌, 前者で 12.5
 µg/ml 以上, 後 者で 50 µg/ml 以上を 耐性菌と みなし
 た。

II. 結 果

1. 最 小 発 育 阻 止 濃 度

E. coli, *K. pneumoniae* に対する アミノ配糖体剤 5 剤
 の 累 積 MIC を Fig. 1 に 示す。全 株 が *E. coli* で 6.25
 µg/ml, *K. pneumoniae* で 1.56 µg/ml 以下に あり, 5 剤
 と も 良 好 な 感 受 性 を 示 し た が, うち MCR が や や 優 れ,
 AMK が や や 劣 っ て いた。

Proteus, *Enterobacter* では Fig. 2 の ように, GM,

TOB, DKB, MCR に対 し 各 々 1 株 の 高 度 耐 性 菌 を
 認 め た が, 4 剤 と も 80% MIC は *Proteus* で 0.78 µg/ml,
Enterobacter で 0.39 µg/ml と 似 か よ っ た 良 好 な 感
 受 性 を 示 し た。一 方, AMK の MIC 値 は *Proteus* で
 12.5 µg/ml 以下, *Enterobacter* で 1.56 µg/ml 以下 あり
 耐 性 菌 は 認 め な っ た。

S. marcescens は *Proteus*, *Enterobacter* と 同 じ 傾 向 で
 あ っ た が, GM, MCR の 感 受 性 が 優 れ て お り, 80% MIC
 は GM, MCR で 0.78 µg/ml, TOB 3.13 µg/ml, DKB
 6.25 µg/ml で あ っ た。AMK は 全 株 12.5 µg/ml 以
 下 に あり, 耐 性 菌 は 認 め な っ た (Fig. 3)。

P. aeruginosa 対 する GM, TOB, DKB, MCR の
 感 受 性 は ほ ぼ 同 等 で 3.13 µg/ml 以 下 の 感 受 性 菌 は 4 剤
 と も 66% に ず ぎ な っ た。AMK は 6.25 µg/ml 以 下

Fig. 3 Sensitivity distributions of aminoglycosides against clinical isolates

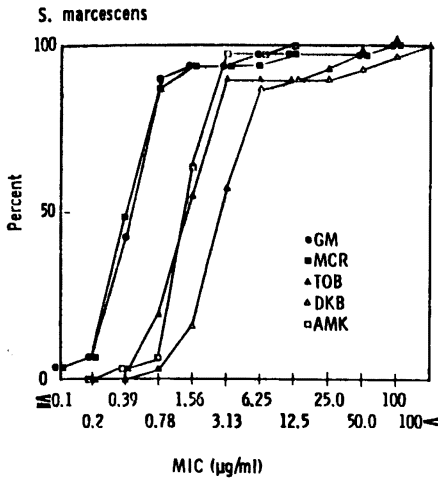
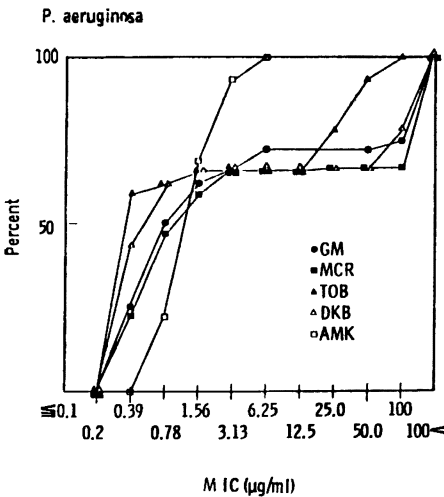


Fig. 4 Sensitivity distributions of aminoglycosides against clinical isolates



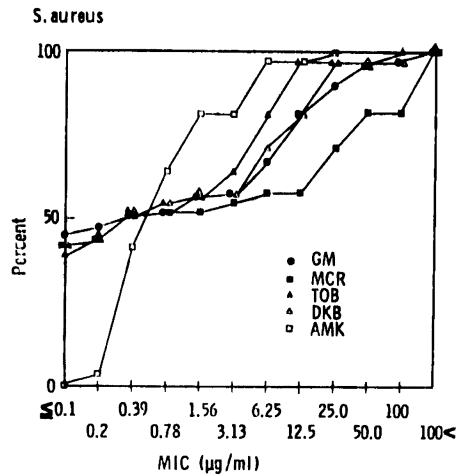
に全株があり良好な感受性を示した (Fig. 4)。

S. aureus は最近 GM 耐性菌の増加が目目されているが、Fig. 5 に示すごとく本院においてもその傾向が著明で、3.13 µg/ml 以下の感受性菌は、GM 58%、TOB 64.5%、DKB 58%、MCR 55% にすぎなかった。AMK は 25 µg/ml の 1 株を除き他は 6.25 µg/ml 以下と良好な感受性を示した。

2. ディスク阻止円径と MIC 値との相関

Fig. 6, 7, 8, 9 にそれぞれ GM, TOB, DKB, MCR のディスク阻止円径と MIC との相関を示す。図の横軸下段に各ディスクの指示された判定法を示している。両者間には、GM : $\log_2 \text{MIC} = 6.3 - 0.28 \cdot \text{diameter}$ ($r = -0.79$)、TOB : $\log_2 \text{MIC} = 4.65 - 0.21 \cdot \text{diameter}$ ($r =$

Fig. 5 Sensitivity distributions of aminoglycosides against clinical isolates



-0.67), DKB : $\log_2 \text{MIC} = 6.03 - 0.25 \cdot \text{diameter}$ ($r = -0.82$)、MCR : $\log_2 \text{MIC} = 5.28 - 0.24 \cdot \text{diameter}$ ($r = -0.68$) の一次回帰式が得られ、その相関係数は -0.67 より -0.82 で、いずれも $P < 0.001$ とよい相関が得られた。

3. ディスク感受性の 3 段階判定法

Fig. 6, 7, 8, 9 に示すように、従来の 4 段階判定法では、卍およびーと判定される群は 4 剤とも MIC よりみだ感受性群、耐性群とよく一致するが、卍、+ と判定される群に MIC との相関が乏しい。

そこで、4 剤に対する MIC が 3.13 µg/ml 以下を感受性菌、12.5 µg/ml 以上を耐性菌とみなし、図の最下段に示すように感受性群 (+)、中間群 (±)、耐性群 (-) と 3 段階で判定し、感受性群は GM, DKB で阻止円径 22 mm 以上、TOB, MCR で 20 mm 以上、耐性群は GM, DKB で 12 mm 以下、TOB, MCR で 10 mm 以下とした。各図中点線で囲まれた部分が左よりそれぞれ耐性群、中間群、感受性群に相当する。

この判定法について、それぞれ感度、特異度を検討したところ、Table 1 に示すように、TOB, MCR 耐性と判定される群を除き、感度、特異度は 90% 以上と高かった。

III. 考 察

院内感染菌の抗生剤に対する感受性パターンは各施設間に、また年次別に変動があり^{4,5)}、各施設ごとに定期的な追跡が望ましい。

今回、われわれは福大病院内で検出された主要菌種について、5 種のアミノ配糖体剤に対する感受性分布と、あわせて 1 濃度ディスク法による感受性判定の妥当性を

Fig. 6 Correlation between zonal responses to a disk and paired MICs (GM)

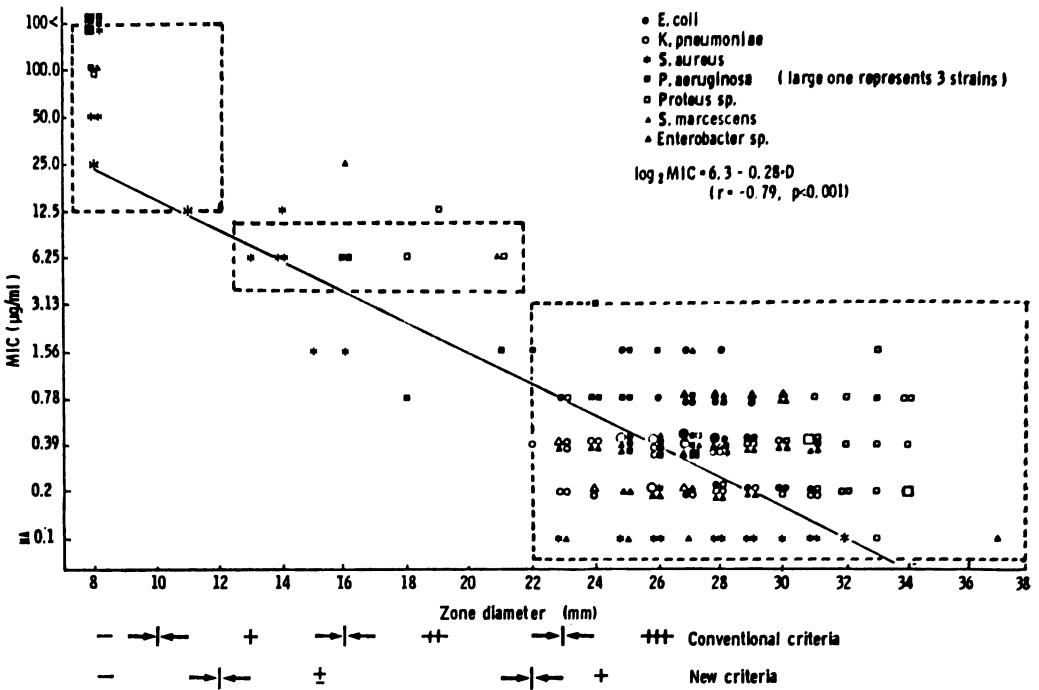


Fig. 7 Correlation between zonal responses to a disk and paired MICs (TOB)

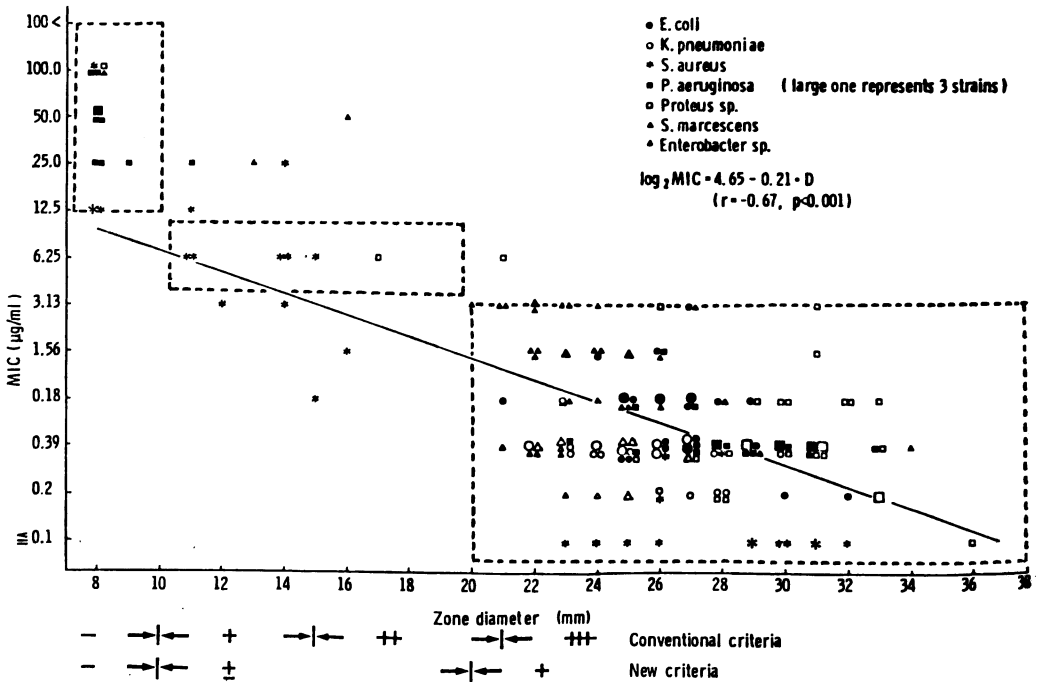


Fig. 8 Correlation between zonal responses to a disk and paired MICs (DKB)

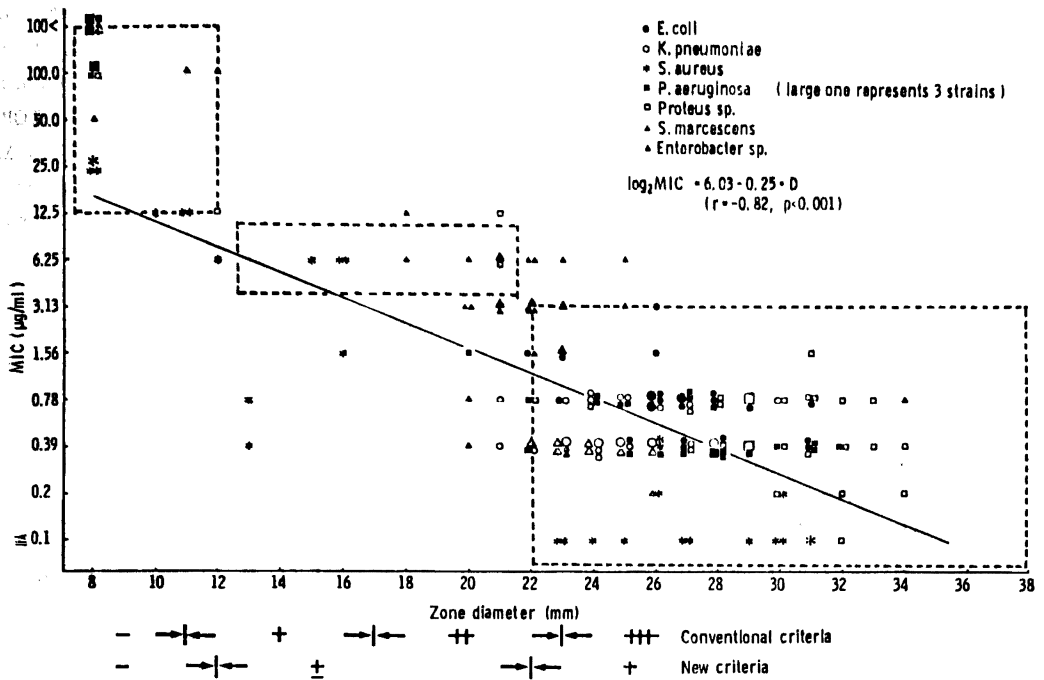


Fig. 9 Correlation between zonal responses to a disk and paired MICs (MCR)

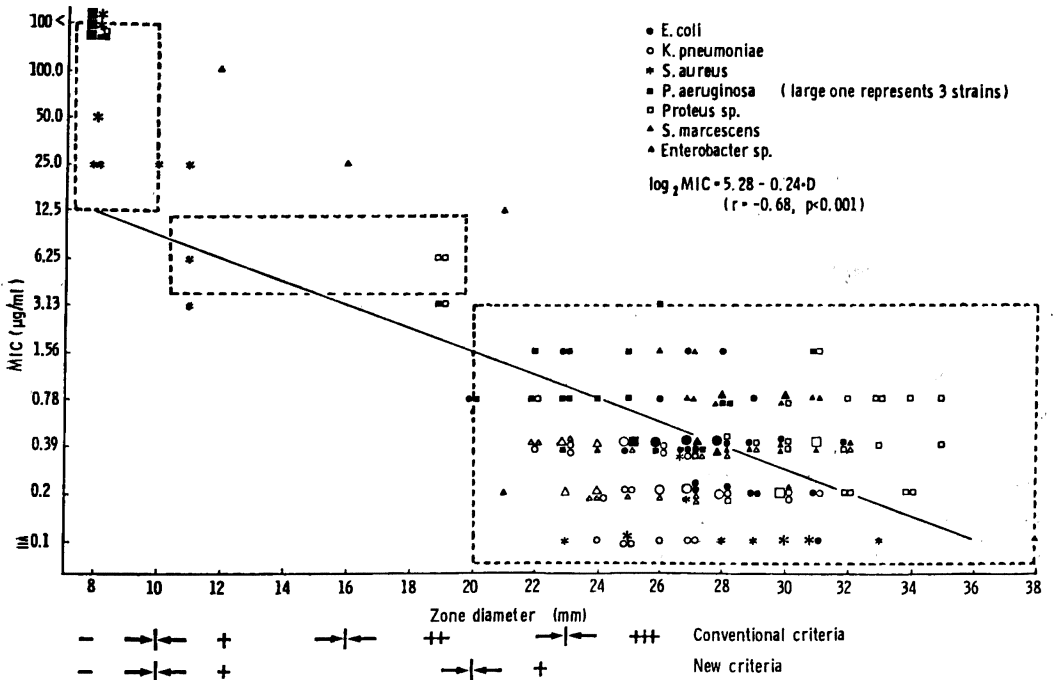


Table 1 New criteria of single disk sensitivity tests together with their sensitivity and specificity

Susceptibility		Zone diameter (mm)	Sensitivity ¹⁾ (%)	Specificity ²⁾ (%)
GM	+	≥22	97.8	100
	-	≤12	95.2	100
TOB	+	≥20	98.9	96.5
	-	≤10	80.9	100
DKB	+	≥22	92.4	90.2
	-	≤12	92.9	100
MCR	+	≥20	98.4	96.8
	-	≤10	85.7	100

1) Sensitivity: True positive/True positive+False positive×100

2) Specificity: True negative/True negative+False negative×100

MIC との関係より検討した。

アミノ配糖体剤とくに GM に対する耐性菌の増加は *P. aeruginosa*, *S. marcescens* などの GNR や, *S. aureus* などで注目されている。福大病院においても小児科病棟における *S. aureus* の GM 耐性菌の増加が報告されている⁹⁾。

今回の調査では、短期間の臨床分離菌株における結果であるが、*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus* 属, *Enterobacter* 属, *S. marcescens* などの主要な GNR に対する 5 種類のアミノ配糖体剤の感受性は良好に保たれており、他の報告のような、*S. marcescens* の耐性化傾向^{7,8)} は認めなかった。しかし、*P. aeruginosa*, *S. aureus* の 2 菌株では GM, TOB, DKB, MCR の 4 剤に対する感受性株は、それぞれ約 60, 50% にすぎなかった。一方、AMK は検討した全菌株に対し良好な感受性を示し、耐性菌は認めなかった。

福大病院中検では、臨床分離菌の感受性試験に 1 濃度ディスクを使用し、阻止円径より指示されたように、卍, 卅, +, - の 4 段階で感受性を判定している。中検の協力のもとに GM, TOB, DKB, MCR の 4 剤 (AMK は 1 濃度ディスクが市販されていないため除外) について、MIC 測定と同時にディスク阻止円径を測定し、両者の相関を検討した。MIC が 3.13 μg/ml 以下を感受性菌、12.5 μg/ml 以上を耐性菌とした場合、4 剤は阻止円径で卍, + と判定される群に、MIC を基準として有意の分離が認められなかった。

そこでわれわれは、ディスク法の成績について 3 段階判定を試みた。これによると 4 剤とも感受性群 (+) には従来の卍のすべて、卅の一部が含まれ、耐性群 (-)

は従来の基準よりややきびしくなっている。

この基準に従って、感度、特異度を検討したところ、TOB, MCR の耐性群の感度が 80.9%, 85.7% とやや低値を示した以外は、感度、特異度も 90% 以上であった。とくにこの判定法では特異度が高く、ディスク法にて感受性と判定された菌株は GM で 100%, TOB で 96.5%, DKB で 90.2%, MCR で 96.8% が MIC 3.13 μg/ml 以下であり、耐性と判定された場合には、すべてが 4 剤に対する MIC が 12.5 μg/ml 以上であることを意味する。この判定法は、MIC との関連もよく充分一般臨床に適用可能と考えられる。

<謝辞> 荒川規矩男教授の御校閲を深謝します。

(本論文の要旨は第 30 回日本化学療法学会西日本支部総会において発表した)

文 献

- 1) 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 2) BARRY, A. L. & C. THORNSBERRY: Susceptibility testing: Diffusion test procedures. in LENNETTE, E. H., et al: Manual of clinical microbiology. Amer. Soc. Microbiol., Washington D. C., 436~474, 1980
- 3) NORRBY, S. R.: Antibiotic treatment: Relationship between pharmacokinetics, bacterial sensitivity, and dose schedules. in BEARN, A. G.: Antibiotics in the management of infections: Outlook for the 1980s., Raven Press, New York, 61~78, 1982
- 4) 竹森敏一, 横田英子, 高安教子, 筒井俊司, 沢江義郎: 九大病院における病原菌の現状(第 1 報)。臨床と研究 50: 494~499, 1973
- 5) 前田文彦, 藤木哲郎, 村上紀之, 福江貞子, 井上真理, 黒田吉男: 臨床検査部細菌部門からみた臨床分離菌とその意義—第 1 報: 1975 年度臨床分離菌をめぐって—検査と臨床との間隙一。臨床と研究 55: 3900~3908, 1978
- 6) 大島久明, 入江勝一: Gentamicin 耐性黄色ブドウ球菌の臨床的問題点とその対応について。小児科臨床 36: 2814~2820, 1983
- 7) 上田 泰, はか 16 名: *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
- 8) 林 泉, 岡本宏明, 大泉耕太郎, 佐々木昌子, 渡辺 彰, 青沼清一, 大沼菊夫, 今野 淳, 川名 林治: 碧城共立病院に発生したセラチア院内感染について。感染症誌 56: 101~110, 1982

SENSITIVITY DISTRIBUTIONS OF AMINOGLYCOSIDES
AGAINST CLINICAL ISOLATES AT FUKUOKA
UNIVERSITY HOSPITAL

—CORRELATION BETWEEN MINIMAL INHIBITORY CONCENTRATIONS
AND INHIBITION ZONE DIAMETERS OF SINGLE DISK—

TAKII MASAHIDE, HIDENOBU SHIGEOKA and TAKATOSHI OTONARI
The Second Department of Internal Medicine, Fukuoka University
School of Medicine.

NORIYUKI MURAKAMI
The Department of Central Laboratory, Fukuoka University Hospital

Distribution of minimal inhibitory concentrations (MICs) of aminoglycosides was studied against 214 strains of clinical isolates, including *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* species, *Enterobacter* species, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*.

Disk sensitivity tests were carried out simultaneously for 4 kinds of aminoglycosides including gentamicin (GM), tobramycin (TOB), dibekacin (DKB) and micromycin (MCR), by single disk method.

All drugs tested showed good susceptibility against *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus* species, *Enterobacter* species and *S. marcescens*. On the other hand, susceptible strains of *P. aeruginosa* and *S. aureus* against GM, TOB, DKB and MCR remained only 60 and 50 percent, respectively. No resistant strain against AMK was found.

Good correlations between agar dilution MICs and inhibition zone diameters of single disk were obtained in each drugs, such as $\log_2 \text{MIC} = 6.3 - 0.28 \text{ diameter}(D)$, $r = -0.79$ for GM, $\log_2 \text{MIC} = 4.65 - 0.21 D$, $r = -0.67$ for TOB, $\log_2 \text{MIC} = 6.03 - 0.25 D$, $r = -0.82$ for DKB, and $\log_2 \text{MIC} = 5.28 - 0.24 D$, $r = -0.68$, for MCR.

Poor correlation between MICs and disk inhibition zones was obtained among moderately susceptible and intermediate group, when disk sensitivity test was evaluated as susceptible, moderately susceptible, intermediate and resistant, according to the indication by manufacturer.

From the data obtained, we devised another criteria of single disk sensitivity tests as follows; 22 mm or greater regarded as susceptible and 12 mm or less as resistant for GM and DKB, 20 mm or greater as susceptible and 10 mm or less as resistant for TOB and MCR.

These criteria showed excellent sensitivity and specificity.