

新開発の抗生物質に対する耐性緑膿菌の β -lactamase

金 坂 明 美

順天堂大学医学部細菌学教室

(昭和 59 年 9 月 10 日受付)

Piperacillin (PIPC), cefsulodin (CFS), cefoperazone (CPZ), ceftazidime (CAZ) および azthreonom は、新開発の抗緑膿菌性 β -lactam 剤であるが、これらの臨床応用とともに、耐性菌が増加しつつあるので、耐性緑膿菌の β -lactamase 産生と、耐性の関連について検討した。

1. 144 株の臨床分離緑膿菌のうち、CAZ に 8 株 (5.6%), CFS に 23 株 (16%), azthreonom に 33 株 (22.9%), PIPC に 38 株 (26.4%) および CPZ に 51 株 (35.4%) が、12.5 μ g/ml 以上の耐性を示した。

2. CFS に 12.5 μ g/ml 以上耐性の 37 株の臨床分離緑膿菌では、CAZ に 17 株 (45.9%), azthreonom に 24 株 (64.9%), PIPC に 27 株 (73%) および CPZ に 35 株 (94.5%) が 12.5 μ g/ml 以上耐性で、14 株 (37.8%) はすべての抗生物質に耐性であった。

3. 染色体性 cephalosporinase (CEPase) は、 β -lactamase を検討した 20 株中 18 株に認められ、1 u/mg prot. 以上の酵素を産生する菌株の大部分は、すべての抗生物質に耐性であった。

4. Plasmid 性 penicillinase (PCase) は、20 株中 4 株に認められ、TEM-1 (2 株)、PSE-4 および OXA-2 と考えられ、CFS, PIPC および CPZ に耐性であった。

5. TEM-1 を産生する 1 株と、OXA-2 を産生する菌株は、高活性の染色体性 CEPase も産生しており、すべての抗生物質に耐性であった。

最近の臨床各科における細菌感染症の変化の一つに原因菌の変遷があげられる。人体細胞には存在しない細胞壁合成に必要な酵素 (murein 架橋酵素) を阻害する β -lactam 剤は、質的選択毒性をもち、殺菌性に優れているため、1960 年代前半から汎用され、初期の β -lactam 剤不感受性の緑膿菌による院内感染および日和見感染が 1960 年代後半から重要視されるようになった。

Piperacillin (PIPC), cefsulodin (CFS), cefoperazone (CPZ), ceftazidime (CAZ) および azthreonom は、1975 年以降に開発され、緑膿菌の産生する β -lactamase に比較的安定で、この菌の外膜透過性に優れた β -lactam 剤で、CAZ および azthreonom を除き既に臨床的に使用されている。しかし、これらの臨床応用とともに耐性菌が増加しつつあるので、 β -lactamase 産生の面から検討を加えた。

I. 材料と方法

1. 供試菌株

順天堂大学医学部附属病院中央臨床検査室 小栗から分与された緑膿菌の臨床分離株 (昭和 56 年 3 月~10 月に分離された 116 名 144 株。内訳: 喀痰 62 株, 尿 36

株, 耳漏 23 株, 膿汁 11 株, 咽頭 11 株, 胆汁 5 株, 動脈血, 静脈血, 髄液, 皮膚および腔各 1 株, 不明 1 株) を piperacillin (PIPC), cefsulodin (CFS), cefoperazone (CPZ), ceftazidime (CAZ) および azthreonom に対する薬剤感受性の比較に使用した。このうち CFS に 12.5 μ g/ml 以上耐性の 20 名 23 株を選択し、虎の門病院細菌検査室 野沢から分与された 1 濃度ディスク法で阻止円が 9 mm 以下 (計算値からは 60 μ g/ml 以上耐性) の緑膿菌の臨床分離株 (昭和 57 年 4 月~9 月に分離された 11 名 14 株。内訳: 喀痰 14 株) を合わせた計 31 名 37 株 (内訳: 喀痰 19 株, 尿 10 株, 耳漏, 膿汁 および膿汁各 2 株, 動脈血および静脈血各 1 株) で、前述の抗緑膿菌作用をもつ β -lactam 剤に対する薬剤感受性を比較するとともに、いずれかの抗生物質に対し 100 μ g/ml 以上耐性の 25 株については、粗酵素液を調整し、 β -lactamase 活性を測定した。このうち β -lactamase の比活性が 0.135 u/mg prot. 以上の 20 株については、粗酵素液を用いて、等電点電気泳動法による β -lactamase の定性も行った。

2. 薬剤

PIPC (富山化学工業), CFS (武田薬品), CPZ (富山

化学工業), CAZ (新日本実業) および azthreonom (日本スクイブ) を感受性試験に, ampicillin (ABPC, 萬有製薬) および cefazolin (CEZ, 藤沢薬品) を β -lactamase 活性測定に基質として使用した。蛋白量測定のための Folin-Ciocalteu phenol reagent は和光純薬工業のものを, 等電点電気泳動のキャリアーアンホライトはファルマライト (ファルマシアファインケミカル社) をそれぞれ使用した。

3. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

MIC は, 各抗生物質につき 0.39~100 $\mu\text{g/ml}$ の 2 段階希釈濃度系列とし, 日本化学療法学会で定めた寒天平板希釈法¹⁾で測定した。増菌培地, 測定培地は各々 Mueller-Hinton broth (Difco), Mueller-Hinton agar (Difco) とし, 約 10^8 cells/ml の 1 白金耳量をマイクロプランターで接種し, 37°C で一夜培養後判定した。

4. β -lactamase 活性の測定と定性

1/2 MIC 量の抗生物質を含有するマッコンキー培地 (栄研) に画線培養して得られた集落の一つを 5 ml の L-broth²⁾ 中で 37°C 一夜振盪培養し, その 4 ml を 200 ml の L-broth に接種して振盪培養を続け, 対数増殖期後期の細胞を集め, 音波破碎と超遠心により粗酵素液を調整した³⁾。これらの粗酵素液を用い, 5 mM の ABPC または CEZ を基質とした時の加水分解速度をマクロヨード法⁴⁾で測定し, ABPC と CEZ のモル当りのヨード消費恒数 2 および 1.69⁵⁾ によって V_{\max} (μ moles/min/ml=units/ml) を算出した。LOWRY 法⁶⁾で測定された蛋白量当りに換算された比活性 V_{\max} (μ moles/min/mg prot.=u/mg prot.) をそれぞれの菌株の penicillinase (PCase) 比活性および cephalosporinase (CEPase) 比活性とした。PCase または CEPase の比活性が 0.135 u/mg prot. 以上の粗酵素液について, 染色体性の CEPase か plasmid 性の PCase かは, ABPC および CEZ を基質とした時の活性比と, MATTHEW らの原法⁷⁾に準じた等電点電気泳動法⁸⁾で得られた pI 値から推定した。等電点電気泳動は, 粗酵素液の活性を 32 units/ml 以下となるよう希釈し, ファルマライトの pH を 3~10, 泳動槽の陽極を 0.04 M (DL) アスパラギン酸, 陰極を 1 M NaOH とし, TEM-2 型 PCase (pI=5.6) を標準酵素として泳動した。pI=8.0 以上の等電点を示したものは, 更にファルマライトの pH を 8~10.5 とし, 陽極を 0.25 M HEPES に変更した泳動を追加した。Plasmid 性 PCase の分類は, MATTHEW の分類⁹⁾に従った。なお PIPC, CFS, CPZ, CAZ および azthreonom すべてに耐性であった菌株 (No. 37) から得られた粗酵素液については, これらの抗生物質の 5 mM をそれぞれ基質として, マクロヨード法により加水分解能を検討した。

5. 使用された抗生物質の調査

β -lactamase 活性を測定した 21 名 25 株の緑膿菌が分離されるまでに使用された β -lactam 剤を病歴から調査した。既に緑膿菌が検出されていた例では, 初回の検出以後に使用された β -lactam 剤を対象とした。

II. 成績

1. PIPC, CFS, CPZ, CAZ および azthreonom に対する薬剤感受性

a) 臨床分離緑膿菌 144 株について, 抗緑膿菌性 β -lactam 剤に対する MIC の累積百分率を比較すると, 全体として CAZ に最も感受性を示し, 次いで CFS, azthreonom, PIPC, CPZ の順で, CAZ と CPZ および PIPC 間, azthreonom と CPZ 間に感受性分布の有意差が認められた ($P < 0.05$)。MIC 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上を耐性とする, CAZ に対しては 8 株 (5.6%), CFS に 23 株 (16%), azthreonom に 33% (22.9%), PIPC に 38 株 (26.4%) および CPZ に 51 株 (35.4%) が耐性であった (Fig. 1)。

b) CFS に 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上耐性の臨床分離緑膿菌 37 株でも, CAZ に最も感受性で, 次いで azthreonom, PIPC, CPZ の順で, CAZ および azthreonom と CPZ および CFS 間に感受性分布の有意差が認められた ($P < 0.05$)。この菌株群では, CAZ に対しては 17 株 (45.9%), azthreonom に 24 株 (64.9%), PIPC に 27 株 (73%) および CPZ に 35 株 (94.5%) が耐性であり, 更に 14 株 (37.8%) はすべての抗生物質に耐性であった (Fig. 2)。

c) CFS 耐性緑膿菌 37 株の感受性相関をみると, PIPC, CPZ および CFS に比べ, CAZ および azthreonom

Fig. 1 Cumulative percentage of 144 clinical isolates of *P. aeruginosa*

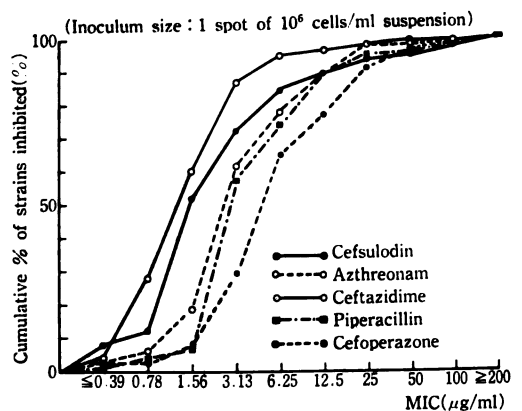


Fig. 5 Sensitivity correlogram

(37 strains of *P. aeruginosa* resistant to cefsulodin)

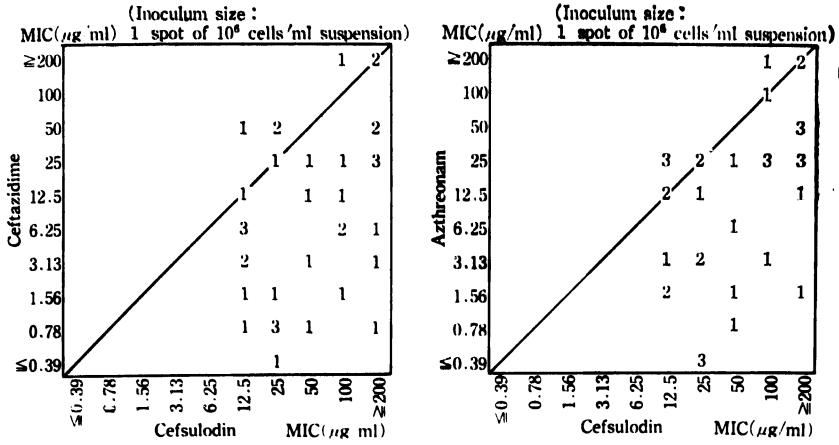


Fig. 6 Sensitivity correlogram

(37 strains of *P. aeruginosa* resistant to cefsulodin)

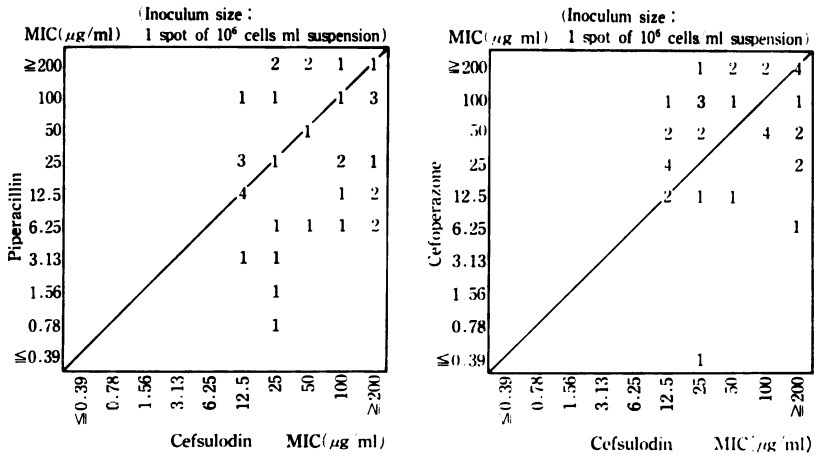
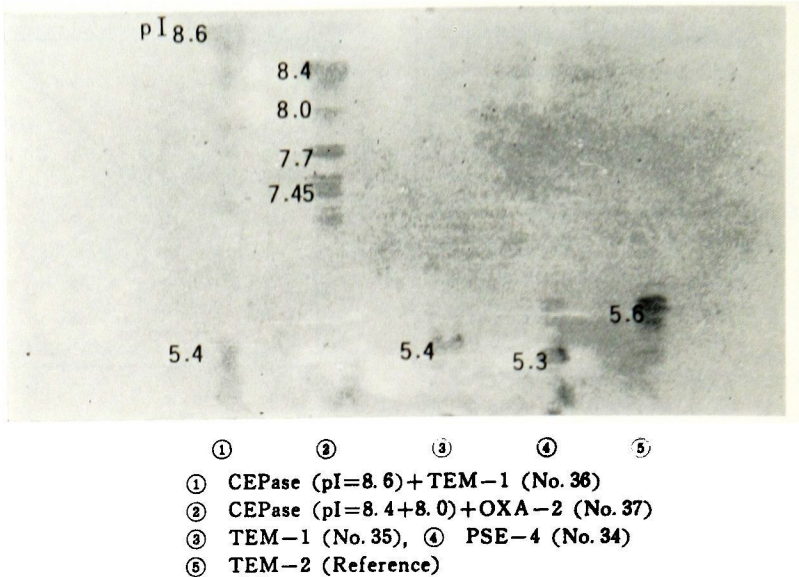


Fig. 8 Isoelectric focusing of the cell-free extracts of *P. aeruginosa* producing plasmid mediated β -lactamases

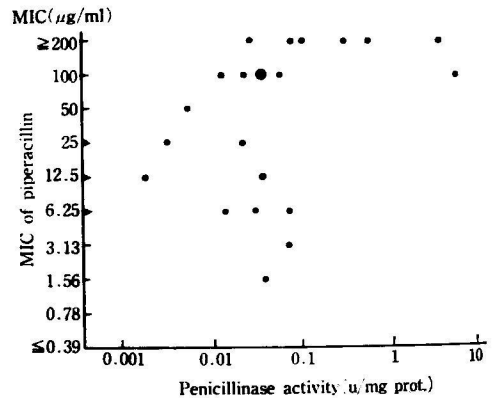


CEPase を産生していたと考えられる菌株は 18 株で、その pI 値は、8.4 が 9 株 (No. 21~29), 8.6 が 4 株 (No. 18~20, 36), 8.4+8.0 が 3 株 (No. 30, 31, 37) および 7.7 が 2 株 (No. 32, 33) であった。また、基質特異性と pI 値から plasmid 性 PCase を産生していたと考えられる菌株は 4 株で、その pI 値は、5.4 が 2 株 (No. 35, 36), 5.3 が 1 株 (No. 34) および 7.45+7.7 が 1 株 (No. 37: pI=7.7 の染色体性 CEPase とは常に 7.45 の isozyme を伴うことによって区別できる。) で各々 TEM-1, PSE-4 および OXA-2 と考えられた。TEM-1(No. 36) または OXA-2(No. 37) を産生していたと考えられる菌株は、染色体性 CEPase も同時に産生していたと考えられた (Fig. 8)。

CFS 耐性緑膿菌 37 株の β -lactamase 比活性と、CFS, PIPC, CPZ, azthreonam および CAZ に対する MIC を Table 1 に示した。染色体性 CEPase のみが検出された菌株では、各種抗生物質に対する MIC と CEPase の pI 値との間に明らかな関係はなかったが、すべての抗生物質に耐性であった 11 株中 9 株は 1 u/mg prot. 以上の CEPase を産生し、逆に 1 u/mg prot. 以上の CEPase を産生する 11 株のうち 9 株はすべての抗生物質に耐性であった。即ち、13 株中 4 株は、CEPase 比活性と、一部の抗緑膿菌性 β -lactam 剤に対する感受性との間に相関が少なかった。

Plasmid 性 PCase のみが検出された菌株 (No. 34, 35) は、CFS, PIPC および CPZ には耐性であるが、

Fig. 9 Interrelationship between penicillinase activity and sensitivity to piperacillin of 25 *P. aeruginosa* strains



azthreonam および CAZ には感受性であった。PIPC に対する MIC と PCase 比活性には最も強い相関が認められた (Fig. 9) が、有意性は認められなかった ($r = 0.2869$; $P < 0.05$)。

染色体性 CEPase と plasmid 性 PCase の両者が検出された菌株 (No. 36, 37) は、すべての抗緑膿菌性 β -lactam 剤に耐性であった。なお、No. 37 の菌株から得られた粗酵素液で、CFS, azthreonam または CAZ を基質とした時は、これらの抗生物質は、全く加水分解されなかった。

Table 1 Activities of β -lactamases and susceptibilities to each antibiotic of 37 *P. aeruginosa* strains resistant to CFS

No.	Type of β -lactamase	β -lactamase activity (μ /mg prot.) Hydrolysis rate of		MIC (μ g/ml) 1 spot of 10^6 cells/ml				
		ABPC	CEZ	CFS	PIPC	CPZ	Azth-reonam	CAZ
1				12.5	3.13	50	1.56	0.78
2				12.5	12.5	25	25	3.13
3				12.5	12.5	25	25	3.13
4				12.5	12.5	25	25	6.25
5				12.5	12.5	25	25	6.25
6				12.5	25	12.5	1.56	6.25
7				12.5	25	12.5	3.13	1.56
8				12.5	25	50	12.5	12.5
9				25	0.78	≤ 0.39	≤ 0.39	0.78
10				25	3.13	50	3.13	1.56
11				25	25	12.5	3.13	0.78
12				50	6.25	12.5	6.25	3.13
13		ND	0.00667	100	6.25	50	25	6.25
14		0.0050	0.0150	50	50	≥ 200	0.78	12.5
15		0.063	0.0317	≥ 200	3.13	6.25	1.56	0.78
16		ND	0.0450	≥ 200	12.5	50	50	6.25
17		0.013	0.0800	≥ 200	6.25	25	≥ 200	≥ 200
18	a	0.0017	0.367	100	12.5	50	25	6.25
19	a	0.033	3.37	12.5	100	100	12.5	50
20	a	0.072	9.18	≥ 200	≥ 200	≥ 200	25	25
21	b	0.0033	0.135	100	25	50	≥ 200	12.5
22	b	ND	0.550	≥ 200	25	100	25	25
23	Cephalosporinase b	0.035	1.02	25	1.56	100	≤ 0.39	≤ 0.39
24	b	0.012	1.27	≥ 200	100	≥ 200	50	25
25	b	0.035	1.68	≥ 200	100	≥ 200	50	50
26	b	0.023	2.67	12.5	100	50	12.5	50
27	b	0.020	3.12	100	25	50	25	25
28	b	0.065	7.23	25	6.25	100	≤ 0.39	0.78
29	b	0.085	12.5	50	≥ 200	≥ 200	25	25
30	c	0.025	2.57	25	≥ 200	100	25	25
31	c	0.053	3.27	≥ 200	100	≥ 200	25	50
32	d	0.027	0.148	≥ 200	6.25	50	≥ 200	≥ 200
33	d	0.033	0.500	≥ 200	12.5	25	12.5	3.13
34	PSE-4	5.9	0.102	100	100	≥ 200	3.13	1.56
35	TEM-1	3.7	0.135	50	≥ 200	100	1.56	0.78
36	Cephalosporinase + TEM-1 a	0.52	48.3	25	≥ 200	≥ 200	25	50
37	Cephalosporinase + OXA-2 c	0.27	48.6	100	≥ 200	≥ 200	100	≥ 200
	Cephalosporinase a : pI=8.6 b : pI=8.4 c : pI=8.4+8.0 d : pI=7.7	Assay method : Macro-iodometric method Substrate concentration : 5 mM		Assay method : Agar plate dilution method				

ND: Not detected

3. 使用された抗生物質と、 β -lactamase 活性ならびに抗生物質に対する耐性の関係

調査対象とした全例に少なくとも1剤の β -lactam 剤が使用されていた。特に PIPC は12例に、CFS および sulbenicillin は9例に使用されていた。CAZ は4例に、CPZ は CPZ+sulbactam の形で3例、CPZ として1例に使用されていた。今回検索した菌株が分離される直前に、PIPC、CFS、CPZ または CAZ が使用されていた症例から分離された菌株では、CAZ 使用例の半数を除いて、各々の抗生物質に耐性であった。

β -lactam 剤の多剤使用例からの分離株のうち No.14、23 および 28 は13種の、No.27 は12種の、No.32 は10種の β -lactam 剤の使用歴があったが、これらの菌株間では、 β -lactamase 活性、各抗生物質に対する耐性と、使用された抗生物質の種類に一定の傾向はみられなかった。一方、No.13 と15は3種の、No.16 と18は2種の、No.17 は1種の β -lactam 剤の使用歴を有する症例からの分離株で、いずれも β -lactamase 活性は低く、No.17 を除いて、CAZ に感受性であった。

No.26 の分離後 PIPC を使用し、そのあとで分離された菌株 (No.19) では、前者に比べ後者で染色体性 CEPase 比活性が増加し、CPZ に対する耐性が増加していた。同様に、No.10 の分離後 PIPC、CFS、carbenicillin および cefotiam を使用したあとで分離された菌株 (No.20) でも、後者では染色体性 CEPase 比活性が高く、使用された抗生物質以外の β -lactam 剤にも耐性を示した。

III. 考 察

CAZ、CFS、aztreonam、PIPC および CPZ 開発時の新薬シンポジウムに発表された資料から計算した各抗生物質に 12.5 μ g/ml 以上耐性の緑膿菌の頻度は、CAZ に対して、10.4%¹⁰⁾、CFS に 17.6%¹¹⁾、aztreonam に 28%¹²⁾、PIPC に 39.5%¹³⁾ および CPZ に 7.9%¹⁴⁾ であるが、今回の調査では、CAZ に対して 5.6%、CFS に 16%、aztreonam に 22.9%、PIPC に 26.4% および CPZ に 35.4% で、PIPC で有意に減少 ($P < 0.05$)、CPZ で有意に増加 ($P < 0.05$) していた。最近のデータでは、武田ら¹⁵⁾ のデータと比べ、CAZ、CFS および CPZ 耐性は低く、奥村ら¹⁶⁾ のデータと比べ、CAZ および CPZ 耐性は逆に高かったが、五島ら¹⁷⁾ のデータとは CFS、CPZ 耐性につき、小酒井ら¹⁸⁾ のデータとは CAZ、CFS、PIPC および CPZ 耐性についてよく一致し、全体として、供試菌株に偏りはないと思われた。

CFS 耐性株では、全体の臨床分離緑膿菌株に比べ、その他の抗緑膿菌性 β -lactam 剤に対する耐性株の頻度は

2.7~8.2 倍に増加し、1/3 以上の菌株は、これらの抗生物質すべてに耐性であった。

本実験で β -lactamase の定性に用いたポリアクリルアミド薄層ゲルを支持体とする等電点電気泳動法で、緑膿菌に関する限り、粗酵素液でも、その pI 値の差から、plasmid 性 PCase と染色体性 CEPase をほぼ判別することができる^{7,10)}。

緑膿菌によって産生される plasmid 性の β -lactamase (PCase) は、TEM-1 (pI=5.4)、TEM-2 (pI=5.6)、OXA-2 (pI=7.45+7.7)、OXA-3 (pI=7.1)、PSE-1 (pI=5.7)、PSE-2 (pI=6.1)、PSE-3 (pI=6.9)、PSE-4 (pI=5.3) および SHV (pI=7.6) の9種が知られている^{9,20)}。JACOBY ら²⁰⁾によると、TEM-1、PSE-4 または OXA-2 を産生する緑膿菌は、PIPC、CFS および CPZ 耐性で、これは著者のデータと一致した。少なくとも PIPC と CPZ は、これらの酵素によって加水分解されることが知られている²¹⁾。一方、緑膿菌の TEM 型および OXA 型 β -lactamase による CFS 耐性は、*Escherichia coli* で報告されている²²⁾ ように、CFS と酵素の結合親和性による耐性が考えられる。

緑膿菌が染色体性に産生する β -lactamase (CEPase) は、pI=8.7、8.15、7.95、7.7、7.5、7.2 の6種が報告されており^{19,23)}、pI=8.7 と 7.7 の酵素間では、基質特異性、分子量等に若干の相違があるとされている²²⁾ が、他の酵素については不明な点が多い。今回得られた緑膿菌の染色体性 CEPase の等電点は pI=8.6、8.4、8.4+8.0、7.7 であった。これらの CEPase の、緑膿菌における分布に関しては、更に多数例についての検討が必要と思われる。染色体性 CEPase 比活性と、PIPC、CFS、CPZ、CAZ および aztreonam に対する MIC との間に直接的な相関は認められなかったが、これらの抗緑膿菌性 β -lactam 剤すべてに耐性であった菌株の大多数は、1 u/mg prot. 以上の CEPase を産生していたこと、また、同一患者から複数回耐性緑膿菌が分離された症例では、あとで分離された菌株ほど CEPase 比活性、耐性ともに高度であったことから、染色体性 CEPase は、直接これらの抗生物質を加水分解しないとしても、結合親和性等による耐性機構と関係あることは否定できない。

緑膿菌の外膜は特異であり、 β -lactam 剤の通過が他の菌よりも悪いことが知られている²³⁾ ので、 β -lactamase 産生量が低い場合は、外膜の影響が大きくなり、MIC と β -lactamase 活性の関係が不明確となる。緑膿菌においては、染色体性であれ、plasmid 性であれ、 β -lactamase 産生量の多い時は、MIC との相関が合理的に説明できるが、少ない時は外膜透過性の良否の方が MIC を反映すると考えられるので、今後その方面の研究が必要

であらう。

<謝辞> 養稿に当り、本研究のテーマを賜り、終始御指導、御助言を与えて下さいました順天堂大学 横田健教授はじめ同大学細菌学教室の皆様、ならびに麻生菌を分与して下さいました順天堂大学医学部附属病院中央臨床検査室 小栗豊子様、虎の門病院細菌検査室 野沢京子様に深謝いたします。

本研究の要旨は、第 13 回国際化学療法学会において発表した。

文 献

- 1) 日本化学療法学会, 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) LENNOX, E. S.; Transduction of linked genetic characters of the host by bacteriophage. Pl, Virology 1: 190~206, 1955
- 3) 横田 健: β -ラクタマーゼ測定法とその酵素活性と耐性。モダンメディア 24(7): 360~377, 1978
- 4) ROSS, G. W. & C. H. O'CALLAGHAN: β -Lactamase assay. Methods Enzymol. 43: 69~85, 1975
- 5) 根橋敏行, 山本達男, 横田 健: Ceftezole の各種 β -lactamase に対する安定性。Chemotherapy 24: 635~644, 1976
- 6) LOWRY, O. H.; N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR & R. J. RANDALL: Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265~275, 1951
- 7) MATTHEW, M.; A. M. HARRIS, M. J. MARSHALL & G. W. ROSS: The use of analytical isoelectric focusing for detection and identification of β -lactamase. J. Gen. Microbiol. 88: 169~178, 1975
- 8) 横田 健, 関口玲子, 東 映子: Clavulanic acid の β -lactamase 阻害様式と, β -lactamase 感受性抗生物質との協力作用の関係。Chemotherapy 30 (S-2): 11~19, 1982
- 9) MATTHEW, M.: Plasmid-mediated β -lactamases of gram-negative bacteria: properties and distribution. J. Antimicrob. Chemother. 5: 349~358, 1979
- 10) 第 30 回日本化学療法学会総会, 新薬シンポジウム I. SN 401 (Ceftazidime), June 11~13, 1982 (東京)
- 11) 第 26 回日本化学療法学会総会, 新薬シンポジウム II. Cefsulodin, June 17~19, 1978 (東京)
- 12) 第 30 回日本化学療法学会東日本支部総会, 新薬シンポジウム. Azthreonam (SQ 26, 776), Nov. 10~11, 1983 (東京)
- 13) 第 23 回日本化学療法学会東日本支部総会, 新薬シンポジウム I. T-1220 (Piperacillin), Nov. 18~19, 1976 (東京)
- 14) 第 27 回日本化学療法学会総会, 新薬シンポジウム. T-1551, June 7~9, 1979 (福岡)
- 15) 武田憲三, 大橋康弘, 田口邦夫, 増田順一, 加藤日出子, 神田佐枝子, 奥村和夫: Ceftazidime (SN 401) の抗菌作用について。Chemotherapy 31 (S-3): 136~145, 1983
- 16) 奥村和夫, 加藤日出子, 横田 健, 関口玲子: Ceftazidime (SN 401) の抗菌力とその生体内効果に対する基礎的研究。Chemotherapy 31 (S-3): 22~30, 1983
- 17) 五島瑛智子, 遠 彦二, 辻 明良, 小川正俊, 宮崎修一, 金子麻子, 桑原章吾: 7 位に Carboxy propyl oxyimino 基を有する Cephalosporin 系誘導体 Ceftazidime の細菌学的評価。Chemotherapy 31 (S-3): 46~69, 1983
- 18) 小酒井 望, 小栗豊子: 最近臨床材料から分離された各種細菌類に対する Ceftazidime の抗菌力の他のセフェム剤との比較。Chemotherapy 31 (S-3): 31~45, 1983
- 19) MATTHEW, M. & A. M. HARRIS: Identification of β -lactamases by analytical isoelectric focusing: correlation with bacterial taxonomy. J. Gen. Microbiol. 94: 55~67, 1976
- 20) JACOBY, G. A.; L. SUTTON & A. A. MEDEIROS: Plasmid-determined β -lactamases of *Pseudomonas aeruginosa*. Curr. Chemother. Infect. Dis. 1(265): 769~771, 1980
- 21) SYKES, R. B.; D. P. BONNER, K. BUSH & N. H. GEORGOPAPADAKOU: Azthreonam (SQ 26, 776), a synthetic monobactam specifically active against aerobic gram-negative bacteria. Antimicrob. Agents Chemother. 21: 85~92, 1982
- 22) YAMAMOTO, T. & T. YOKOTA: Beta-lactamase-directed barrier for penicillins of *Escherichia coli* carrying R-plasmids. Antimicrob. Agents Chemother. 11: 936~940, 1977
- 23) SYKES, R. B. & M. MATTHEW: The β -lactamases of gram-negative bacteria and their role in resistance to β -lactam antibiotics. J. Antimicrob. Chemother. 2: 115~157, 1976

β -LACTAMASES IN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* RESISTANT TO NEWLY DEVELOPED β -LACTAM ANTIBIOTICS

AKEMI KANESAKA

Department of Bacteriology, School of Medicine, Juntendo University

Pseudomonas aeruginosa holds a very important position in the nosocomial and opportunistic infections, because of its resistance to most broad-spectrum antibiotics. Newly developed β -lactam antibiotics, for example piperacillin (PIPC), cefsulodin (CFS), cefoperazone (CPZ), ceftazidime (CAZ) and azthreonam possess good permeabilities through the outer membrane of this microbe and stabilities to β -lactamases produced by it.

However, some clinical isolates of *P. aeruginosa* are found to be resistant to these antibiotics. Interrelationships between the types of β -lactamases and resistances to these antibiotics are discussed.

1. In 144 *P. aeruginosa* strains, 8 (5.6%), 23 (16%), 33 (22.9%), 38 (26.4%) and 51 (35.4%) strains were resistant to higher than 12.5 $\mu\text{g/ml}$ of CAZ, CFS, azthreonam, PIPC and CPZ respectively.

2. In CFS resistant ($\text{MIC} \geq 12.5 \mu\text{g/ml}$) 37 *P. aeruginosa* strains, 17 (45.9%), 24 (64.9%), 27 (73%), 35 (94.5%) strains were resistant to higher than 12.5 $\mu\text{g/ml}$ of CAZ, azthreonam, PIPC and CPZ respectively. Fourteen (37.8%) strains were resistant to all antibiotics.

3. Chromosome mediated cephalosporinase (CEPase)s were detected in 18 out of 20 strains examined. Most strains, whose CEPase activities were higher than 1 u/mg prot., were resistant to all these antibiotics.

4. Plasmid-mediated penicillinase (PCase)s, that is, TEM-1 (2 strains), PSE-4 and OXA-2, were detected in 4 out of 20 strains examined. These strains were resistant to CFS, PIPC and CPZ.

5. Two strains, each of which produced highly active chromosome mediated CEPase and plasmid-mediated PCase, that is, TEM-1 or OXA-2, were resistant to all of five antibiotics.