

Serratia marcescens の Aminoglycoside 抗生物質耐性と R Plasmid に関する研究

木村 光子・沢田 和江・川原 薫
菅野理恵子・池田 達夫・木村 貞夫
帝京大学医学部細菌学教室

(昭和 60 年 6 月 24 日受付)

1980~1983 年の 4 年間に 5 病院で分離された *Serratia marcescens* 972 株について、アミノ配糖体抗生物質 (AGs) 11 剤に対する耐性と R plasmid の検出、および得られた transconjugant の耐性型から AGs 修飾酵素の推定を行なった。用いた株は尿由来株が最も多く 572 株 (58.8%)、次いで喀痰由来株 199 株 (20.5%)、膿由来株 83 株 (8.5%)、その他の材料由来株 118 株 (12.1%) の順であった。11 種の AGs のいずれか 1 剤以上に耐性を示す株の分離率は、尿由来株が最も高く、尿以外の材料由来株の間では差がなかった。薬剤別の耐性菌分離率は ribostamycin (RSM) が最も高く 4 年間の平均で 88.2% を示した。次いで kanamycin (KM), dibekacin (DKB), tobramycin (TOB) が 56~58%、さらに butirosin (BT), sisomicin (SISO) が 48~50%、amikacin (AMK), gentamicin (GM) が 33%、neomycin (NM), paromomycin (PRM), lividomycin (LVDM) は 16~19% であった。KM, DKB, TOB, BT, SISO, GM, AMK に対する年次別耐性菌分離率は、ほぼ同じパターンで、1981 年は低いが、1980 年と 1983 年はほぼ同程度の率であった。NM, PRM, LVDM は年次が下がるほど分離率が低下した。

これらの耐性菌からの R plasmid の検出率は、尿由来株で最も高く 29.5%、次いで膿由来株 18.3%、喀痰由来株 5.4%、その他の材料由来株 7.1% であった。年次別には尿由来株で、1982 年、1983 年に検出率が顕著に減少した。DKB, KM, TOB, SISO 耐性菌からの R plasmid 検出率は、1980 年には 46~58% であったが、1983 年には 16~18% まで減少した。GM ではこの傾向は一層顕著で、1980~1981 年では 86~94% の検出率が 1983 年には 22% にまで低下した。AMK 耐性菌からの R plasmid 検出率は 1981~1983 年を通じて 3~6% と低率であった。

AGs 修飾酵素は AAD(2'') が最も多く、そのほか APH(3')I, APH(3')II もみられた。また AAC(6')IV も存在していることが推定された。

Serratia marcescens (以下 *S. marcescens*) のアミノ配糖体系抗生物質 (以下 AGs) に対する耐性菌の増加は、1978 年頃から注目されるようになり多くの報告がある^{1-7, 14, 17, 19, 20}。

また *S. marcescens* の臨床分離株の抗生物質耐性が、伝達性 R plasmid (以下 R plasmid) によって伝播されるという報告も MEDEIROS ら⁸⁾の最初の発表以来多数ある⁹⁻¹²。さらに近年 AGs 耐性、あるいは AGs と CBPC, ABPC などの耐性を同時に伝達する R plasmid、またセフェム系薬剤耐性を伝達する R plasmid についての報告もみられる^{13, 15, 21}。R plasmid の伝達された transconjugant の耐性型からある程度の AGs の修飾酵素の推定が可能で、これをもとにその分布、分離頻度などの研究も行なわれている。

今回著者らは、関東地区の 5 病院中検で、1980~1983 年の 4 年間に分離された *S. marcescens* 972 株について、AGs に対する感受性測定とその結果得られた耐性株から R plasmid の検出を行なった。さらに得られた transconjugant の R plasmid の耐性型から、耐性に関与する修飾酵素の推定を行なった。本報では、これらの成績について報告する。

I. 材料と方法

1. 被験菌株

被験 *S. marcescens* として、1980~1983 年の 4 年間に、東京大学 (190 株)、東京医科歯科大学 (147 株)、帝京大学 (228 株)、横浜市立大学 (209 株) の各附属病院および済生会宇都宮病院 (198 株) において、種々の臨床材料から分離された株計 972 株を用いた (Table

1). 得られた株のうち、乳糖非分解、白糖分解、VP 反応陽性、IPA 反応陰性、Indole 非産性、アラビノース非分解、ラフィノース非分解の株を *S. marcescens* とした。またこれらの株の殆どは、DNase 産生、クエン酸利用能陽性 (Simmons クエン酸ナトリウム培地)、運動性陽性であった。

株の採取にあたっては、1 病院 1 年 50 株を目途に、年間にわたって at random に抽出するよう留意した。

2. 使用抗生物質

kanamycin (以下 KM), dibekacin (DKB), ribostamycin (RSM); 明治製菓, gentamicin (GM), tobramycin (TOB); 塩野義製薬, amikacin (AMK); 萬有製薬, sisomicin (SISO); Bayer, butirosin A (BT); 三共, neomycin B (NM); P-L Biochemicals, lividomycin A (LVDM); 興和, paromomycin (PRM); 協和醗酵, rifampicin (RFP) および nalidixic acid (NA); Sigma Chemical の 13 種を用いた。

3. 薬剤感受性試験

日本化学療法学会標準法²⁶⁾に準じて行なった。すなわち Mueller Hinton Broth (Difco) で被験菌を一夜培養後 100 倍に希釈 (約 10^7 /ml) し、その希釈液 0.005 ml をマイクロプランター (佐久間製作所製) で薬剤加平板 (Mueller Hinton Medium, Difco) に接種した。耐性値は最大発育許容濃度 (MAC) で表した。また各種薬剤に対する *S. marcescens* の耐性の判定基準は下記のとおりである。

MAC $\geq 12.5 \mu\text{g/ml}$: KM, DKB, RSM, PRM, LVDM, NM, AMK, BT

MAC $\geq 6.25 \mu\text{g/ml}$: GM, TOB, SISO

4. 接合伝達実験

一次伝達: 上記 AGs に 1 剤以上耐性の菌を供与菌とし、*E. coli* K 12 W 3104 rif を受容菌として用いた。Antibiotic Medium 3 (Difco) で供与菌・受容菌をそれぞれ 37°C で一夜培養後、供与菌 0.1 ml に受容菌 0.9 ml 加え、37°C および 27°C でそれぞれ 3 時間混合培養し、その培養液 0.1 ml を、各種濃度の薬剤添加選択用平板 (普通寒天, 栄研) に塗抹し、37°C で一夜培養した。選択用平板に添加した各薬剤の濃度は次のとおりである。

KM 12.5 (6.25)+RFP 100, GM 3.13+RFP 100, DKB 12.5 (6.25)+RFP 100, AMK 3.13+RFP 100, RSM 12.5(6.25)+RFP 100, (単位: $\mu\text{g/ml}$)

一次 transconjugant の耐性: 各選択平板上に発育した集落を 3 個ずつとり、BTB 平板 (ニッスイ) に広げて大腸菌であることを確認した後、前記寒天平板希釈法で MAC を測定した。一次 transconjugant の耐性の基準

は下記のとおりである。

MAC $\geq 12.5 \mu\text{g/ml}$: KM, DKB, RSM, NM, PRM, LVDM

$\geq 6.25 \mu\text{g/ml}$: TOB, BT

$\geq 3.13 \mu\text{g/ml}$: AMK

$\geq 1.56 \mu\text{g/ml}$: GM, SISO

なお、一次伝達受容菌 W 3104 rif の上記 AGs に対する MAC は、上記の値の 1/4 以下である。

二次伝達: 一次伝達において、1 株の供与菌から耐性型の異なる数種の transconjugant が得られた場合にはそのすべてを供与菌とし、*E. coli* K 12 J 53 nal を受容菌として上記と同様の接合実験を行なった。なお選択用平板に添加した各薬剤の濃度は次のとおりである。

KM 12.5 (6.25)+NA 25, GM 1.56+NA 25, DKB 6.25+NA 25, BT 3.13+NA 25, AMK 3.13+NA 25, RSM 12.5(6.25)+NA 25, PRM 12.5+NA 25, (単位: $\mu\text{g/ml}$)

なお二次伝達受容菌の J 53 nal は、上記選択平板上には発育しなかった。

その結果、二次伝達が可能であった薬剤耐性のみを、伝達性 R plasmid 支配であるととした。

II. 成 績

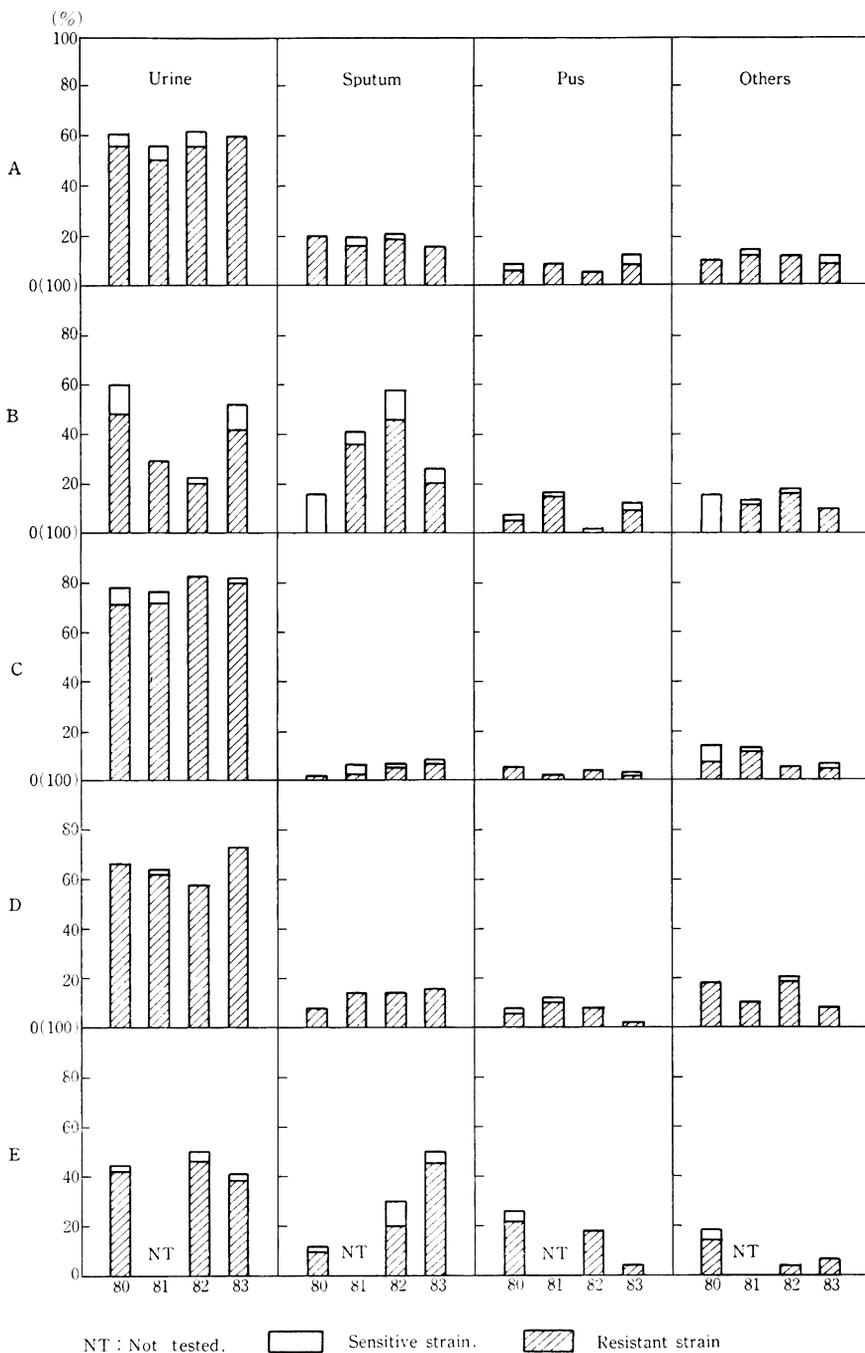
1. 由来別, 年次別, 病院別にみた *S. marcescens* の分離状況ならびに耐性菌分離率

由来別, 年次別, 病院別にみた *S. marcescens* の分離状況ならびに耐性菌分離率を Table 1 および Fig. 1 に示した。1980~1983 年の 4 年間に分離された合計 972 株のうち、その半数以上 (572 株, 58.8%) が尿由来株であった。次いで喀痰由来株 (199 株, 20.5%), 膿由来株 (83 株, 8.5%) およびその他の臨床材料由来株 (118 株, 12.1%) の順であった。

年次別にみると、尿由来株は、1980 年 62.3%, 1981 年 54.8%, 1982 年 55.7%, 1983 年 62.4% とほぼ 60% 前後を上下し、大きな変動はみられなかった。一方喀痰由来株は、1980 年 10.9%, 1981 年 21.6%, 1982 年 26.1% と増加し、1983 年では 22.4% であった。膿由来株は 1980 年 11.3%, 1981 年 10.6%, 1982 年には 6.4% と減少し、1983 年には 6.5% であった。その他由来株は、1980 年 15.5% から漸次減少し、1983 年には 8.6% であった。

病院別にみた株の由来別分離状況をみると、C 病院は尿由来株の占める割合が約 80% と 5 病院中最も高く、4 年間でその割合に大きな変動はみられなかった。喀痰由来株は 1981 年の 1.8% から 1983 年の 8.5% へと漸次増加傾向を示し、その他由来株は 1980 年の 14.5% から 1983 年の 6.8% へと減少傾向を示した。

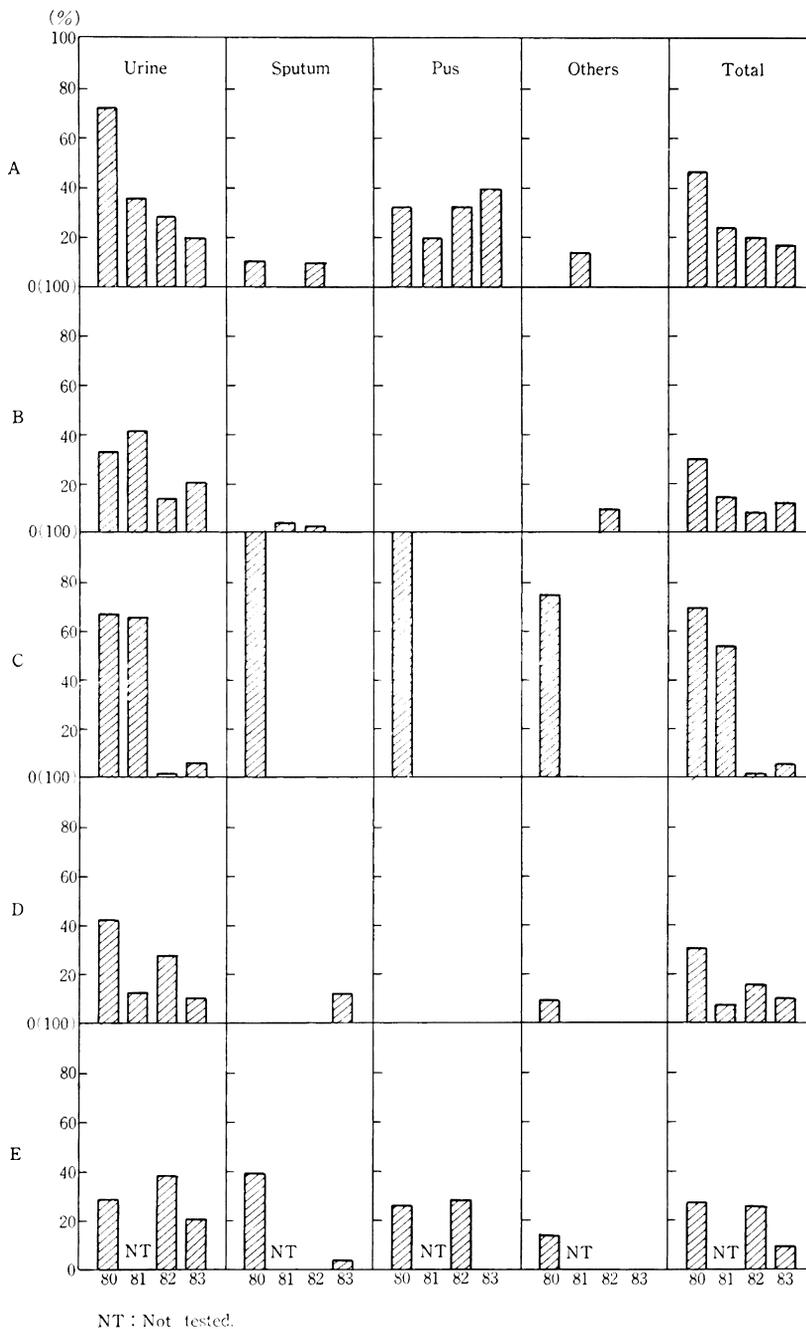
Fig. 1 Frequencies isolates from each clinical specimen (1980~1983)



D病院はC病院に次いで尿由来株の占める割合が高く、66%、64%、58%、72.9%で1983年はやや増加した。喀痰由来株の割合は、8%、14%、14%、16.7%で微増傾向を示した。

A病院は尿由来株の割合がD病院に近く、60.9%、56.4%、61.5%、58.9%とほぼ60%前後で終始大きな変動はみられなかった。膿、喀痰、その他由来の株の割合も、4年間を通じてほぼ一定であった。

Fig. 2 Detection rate of strains carrying R plasmid by each hospital from 1980 to 1983



E病院は、1981年の株の検査ができなかったが、尿由来株の割合は1980年44%、1982年50%、1983年41.2%と上記3病院と比べて低かった。喀痰由来株は1980年12%、1982年30.4%、1983年49%と急増

し、1983年では尿由来株よりも多かった。膿由来株は1980年26%、1982年17.9%と他の病院よりも多く分離されたが、1983年には3.9%と低下した。

B病院は5病院中、各由来株の割合が最も大きく変動

Table 2 Frequencies of resistant and plasmid-carrying strains for each antibiotics by years

Year	No. of total strains		RSM	KM	DKB	TOB	SISO	GM	BT	AMK	NM	PRM	LVDM
1980	239	Resist. str.*	82.8	61.9	62.8	61.5	49.0	27.2	46.4	33.1	35.6	36.0	27.2
		R ⁺ strains**	32.8	58.1	46.0	47.6	51.3	86.2	26.1	16.5	58.8	59.3	58.5
1981	208	Resist. str.	91.3	50.5	46.6	42.8	31.3	15.4	45.2	22.6	23.1	22.1	20.7
		R ⁺ strains	14.7	43.8	36.1	39.3	53.8	93.8	6.4	6.4	25.0	26.1	18.6
1982	260	Resist. str.	89.3	56.8	59.6	59.3	55.0	42.9	56.8	38.2	12.1	11.4	11.8
		R ⁺ strains	8.0	17.0	13.8	13.9	14.9	18.3	5.0	5.6	20.6	21.9	21.2
1983	245	Resist. str.	89.4	55.5	60.0	57.1	51.8	40.8	51.4	35.1	9.0	7.8	6.9
		R ⁺ strains	7.3	18.4	15.6	16.4	18.1	22.0	3.2	4.7	13.6	15.8	17.6
Sum total	972	Resist. str.	88.2	56.4	57.7	55.8	47.6	32.6	50.4	32.8	19.4	18.8	16.3
		R ⁺ strains	15.1	33.6	26.7	27.9	30.5	41.0	9.6	8.2	38.1	39.9	35.4

* : (Number of resistant strains/Number of total strains)×100

** : (Number of strains carrying R plasmids/Number of resistant strains)×100

した。尿由来株は 1980 年 60.5% から順次 28.8%, 22.6%, 51.6% と上下し, 4 年間の平均では 36.8% と 5 病院中最も低率であった。喀痰由来株は 15.8%, 40.7%, 58.1% と急増, 1983 年には 25.8% と低下したが, 1982 年にはほぼ 6 割を占め, 4 年間の平均は 38.9% で尿由来株をやや上回り, 5 病院中最も高率であった。膿由来株は 7.9%, 16.9%, 1.6%, 12.9% と上下したが, その他由来株には大きな変動はみられなかった。

次に由来別の耐性菌分離率をみると, 尿由来株の耐性菌分離率が 94.8% と最も高く, 膿・喀痰・その他の材料から得られた耐性菌は, 83.4%~85.5% の割合であった。また年次別では 1980 年 84.9%, 1981 年 91.3%, 1982 年 91.8%, 1983 年 93.1% で微増傾向を示した。病院別にみると D 病院が 98% で 5 病院中最も高く, 特に喀痰・尿由来株の殆どが耐性菌だった。次いで A 病院 92.3%, C 病院 92.1%, E 病院 88.4% の割合で, B 病院は 79.5% であった。また C, B 病院分離のその他由来株の耐性菌分離率は他の病院に比べて低かった。

2. R plasmid 検出率

Table 1 ならびに Fig. 2 に, 由来別, 年次別, 病院別にみた R plasmid 検出率を示した。

1980 年から 1983 年までの年次別の R plasmid 検出率 (R plasmid 保有株数/耐性菌株数) は, それぞれ 42.4%, 23.7%, 12.8%, 11.0% と年を追って低下した。これを病院別にみると (Fig. 2), A, B, C の各病院ではすべて低下しており, 特に C 病院分離株では顕著であった。D, E 病院分離株でも 1983 年分離株では低下の傾向がみられた。

由来別の R plasmid 検出率は, 尿由来株からの検出率が最も高く (平均検出率は 29.5%), 次いで膿由来株

から (18.3%), 喀痰由来株から (5.4%), その他由来株から (7.1%) で, 喀痰由来株からの R plasmid 検出率が最も低かった。これを年次別にみると, 尿由来, 喀痰由来株において 1982, 1983 年で検出率の低下が顕著であった。さらに病院別にみると (Fig. 2), 各病院で尿由来株から毎年 R plasmid が検出された。1980 年に R plasmid 検出率が高かった病院 (A, C) では検出率が顕著に減少し, 低かった病院 (B, E) での減少傾向はそれほど明らかでなかった。また尿以外の材料由来株からの R plasmid の検出については, A, E 病院で 4 年間を通じて少数例ずつながら得られたが, 他の 3 病院では散発的に得られただけであり, 特に C 病院では 1981 年以降は全く検出されなかった。

3. 薬剤別耐性菌分離率および R plasmid 検出率

Table 2 に薬剤別の耐性菌分離率と R plasmid 検出率を示した。耐性菌分離率が最も高かったのは RSM で 4 年間の平均耐性菌分離率は 88.2% であった。次いで KM, DKB, TOB の耐性菌分離率が高く 56~58% であった。さらに BT, SISO では 48~50% で, AMK, GM ではやや減少して 33% であった。KM, DKB, TOB, BT, GM, AMK の 7 剤の年次別耐性菌分離率の推移はほぼ同じパターンで, 1981 年に谷があり, 1982, 1983 年は 1980 年とほぼ同程度かそれ以上に高率であった。NM (19.4%), PRM (18.8%), LVDM (16.3%) の 3 剤は別のパターンで, 年次が新しい程耐性菌分離率が低下した。

薬剤別の R plasmid 検出率は, ある薬剤の耐性を支配する R plasmid を保有しているもと株の割合を表し, 次の式より算出した。

薬剤別の R plasmid 検出率 = (ある薬剤に耐性の transconjugant を生じたもと株数) / (ある薬剤に対して

Table 3 Possible modifying enzymes of transconjugants by each hospital

	A					B					C					D					E					Sub-total
	80	81	82	83	Sub-total	80	81	82	83	Sub-total	80	81	82	83	Sub-total	80	81	82	83	Sub-total	80	81	82	83	Sub-total	
AAD(2')	4	6	7	9	26	1	4	5	3	13	37	11	1	3	52	8	4	1	3	16	10	—	8	5	23	130
APH(3')I	3	4	4	1	12	3			1	4	28	3	1		32	5	1	1	1	8		—	2		2	58
AAC(6')IV			1		1				1	1	2			1	3	8			1	9	4	—	5	1	10	24
APH(3')II	10	4	3		17	1				1				0						0	2	—			2	20

—: Not tested.

耐性の菌株数)。

薬剤別の R plasmid 検出率はその年次推移のパターンから三つのグループに分かれた。

RSM, PRM, LVDM, NM の各薬剤耐性を支配する R plasmid の検出率は 1980 年から 1983 年にかけて漸次減少した。DKB, KM, TOB, SISO, GM 各耐性株からの各薬剤耐性支配の R plasmid 検出率は、1980 年、1981 年に比べて 1982 年で急激に減少し、1983 年では 1982 年よりやや増加または横ばい状態を示した。特に GM でこの減少が顕著で、1980 年で 86.2%、1981 年では 93.8% の GM 耐性菌から GM 耐性支配 R plasmid が検出されたが、1982 年では 18.3% の耐性菌からと激減し、1983 年でも 22% であった。AMK, BT 耐性菌からの R plasmid 検出率は、1980 年には 16~26% であったが、1981~1983 年では 3~6% と低率であった。

4. 修飾酵素の推定

1980 年分離株由来の R plasmid により支配される修飾酵素については、酵素活性の bioassay および transconjugant の耐性型に基づき、その種類を推定し、すでに報告した¹⁶⁾。1981 年以降はその報告に基づき、transconjugant の耐性型のみから R plasmid の支配する修飾酵素を推定し^{16,18)}、その病院別、年次別推移を Table 3 に示した。

AAD(2') は、KM, GM, TOB, DKB, SISO の耐性化に寄与する酵素と考えられているが、5 病院のいずれにおいても最も多くその存在が推定された。年次別にみると、transconjugant のほぼ半数あるいは年によっては 3/4 から、本酵素を支配する R が検出された。

APH(3')I (KM, RSM, PRM, LVDM, NM 修飾酵素) は AAD(2') に次いで多くその存在が推定され、B, C 病院では第 2 位、D 病院では第 3 位ではあるが第 2 位と殆ど同じ位の頻度であった。年次別推移でも、1983 年を除いていずれの年でも第 2 位の頻度であった。

AAC(6')IV (KM, RSM, TOB, DKB, SISO, AMK, BT 修飾酵素) は、D, E 病院では第 2 位の頻度で存在していたが、他の病院では極めて少数で、年次別推移も 1981 年を除いて 10~13% の頻度であった。

APH(3')II (KM, RSM, NM, PRM, BT 修飾酵素) は、上記 3 酵素と分布が異なり、その存在の殆どが A 病院に集中し (20 例中 17 例が A 病院から検出)、他の病院からは 1980 年に B 病院 1 例、E 病院 2 例であり、A 病院以外の病院からは 1981 年以降、本酵素は検出されなかった。

III. 考 察

1. *S. marcescens* の由来別分離率

S. marcescens が尿から最も多く分離されることは、すでに上田ら²²⁾により報告されている。著者らの用いた株は、各病院から一定の間隔をおいて集めた株であるので、各病院の由来別分布をある程度反映しているものと思われるが、その成績は、上田らの 1977~1978 年分離株の由来別分布とほとんど一致している。すなわち、かれらの成績では、1977~1978 年分離計 341 株中、尿由来株 57.3%、喀痰由来株 19.9%、膿由来株 5%、その他由来株 17.8% の割合で、著者らのそれは、尿由来株 58.8%、喀痰由来株 20.5%、膿由来株 8.5%、その他由来株 12.1% であった。上田らと著者らの成績から、*S. marcescens* が尿から高頻度に分離される傾向が、1977 年から 1983 年まで続いていたことが明らかとなった。

しかし、由来別分離率を病院別にみると、尿由来株の割合が高い病院 (C; 80.3%, D; 65.2%, A; 59.3%) と、喀痰由来株の割合が増加した病院 (B; 38.9%, E; 30.6%) の 2 群に大別できた (Table 1, Fig. 1)。また尿由来株の多い病院は由来別分離率の年次変動が小さく、喀痰由来株が増加した病院は変動が大きかった。以上のことから、全体としては *S. marcescens* が尿から高頻度に分離されたが、病院によってその分離頻度にかかなりの差のあることが示された。

2. 由来別耐性菌分離率

由来別にみた耐性菌分離率 (11 剤の AGs いずれか 1 剤以上に耐性の株の割合) は、尿由来株が最も高く (94.8%)、膿、喀痰、その他由来株は 83~86% と高率であった。尿由来株に耐性菌が多いという点については上田らの報告と一致しているが、著者らの耐性菌分離率の値は上田らの成績よりもかなり高い。この理由は

Table 3 に示した RSM 耐性菌分離率が、83~91% と非常に高率であったためと思われる。

病院別にみた耐性菌分離率は、D病院が最も高く(98%)、次いで A, C, E 病院(88~92%)、B病院は80% であり、病院による差が認められた。このことは、病院間での薬剤投与量の違いを示唆するのではないかと推測する。

3. 薬剤別耐性菌分離率

S. marcescens の AGs に対する耐性菌分離率については多くの報告があるが、これらの成績にはかなりの変動がある。上田ら⁹⁾の 1977~1978 年分離株についての報告ではすでに、DKB, TOB に対してそれぞれ 96%, 77% の高い耐性菌分離率を示している。さらに 1980~1982 年分離株についての大越ら⁷⁾の成績でも、KM, DKB (MIC 12.5 µg/ml 以上), TOB, SISO (MIC 6.25 µg/ml 以上) に対して 70~98% の高い耐性菌分離率が報告されている。これらに比べ、今回の著者らの成績は、大越らの報告より耐性菌の判定基準が一段階高いが、KM, DKB, TOB, SISO に対してほぼ 50~70% の耐性菌分離率でかなり低い。これを川原ら¹³⁾の 1978~1979 年の成績に比べると、KM, DKB, TOB ではほぼ同様の率であるが、SISO ではやや上昇している。

AMK, GM に対する耐性菌分離率についても著者らの成績は大越らの報告よりもやや低い値を示している。

報告者により、これらの耐性菌分離率に差が認められるのは、耐性の判定基準、サンプリングの方法の違いも一因であると思われる。

また GM 耐性菌分離率が 1980 年に比べ、1982 年、1983 年で確実に上昇しているのが認められた。この点については酒井ら²³⁾の報告とも一致した成績で、今後の推移を注目する必要がある。

4. R plasmid 検出率

S. marcescens の薬剤耐性菌からの R plasmid の検出率は、報告者によってかなり差がある。ALVAREZ ら¹¹⁾は 257 株中 54 株 (21%)、TANTULAVANICH ら¹²⁾は 27 株中 27 株から R plasmid を検出している。EDA ら⁵⁾、木村¹⁰⁾の成績 (CP, TC などの耐性を支配する R plasmid も含む) では、1977~1978 年ではほぼ 30% の耐性菌から R plasmid が検出され、1979~1980 年は検出率が 44% まで上昇し、1981 年には 27.1% に低下した。この傾向は、今回の AGs 耐性菌からの R plasmid 検出率にも見られ (Table 1), 1980 年をピークとして検出率が年々低下し、1982~1983 年では 11~13% である。この R plasmid 検出率の低下の傾向を、川原らの報告と合わせて由来別に分析すると、1978~1980 年は尿由来株からの検出率ははなはだ高く (51~59%)、喀痰・膿由来

株では 18~32% であった。1982~1983 年では尿由来株の R plasmid 検出率が大幅に低下したが、膿由来株には大きな変動はみられなかった。

R plasmid 検出率を病院別にみると、C, A 病院は高く (26~28%)、E 病院 (21%)、B, D 病院 (14~17%) と 3 群に分かれた。また耐性株分離率の高い病院での R plasmid 検出率は高い (C 病院: 耐性株分離率 92.1% - R plasmid 検出率 28.1%, A 病院: 92.3% - 26.4%, E 病院: 88.4% - 20.8%, B 病院 79.5% - 13.9%) という関係が得られたが、D 病院ではこの関係からはずれていた (98% - 16.5%)。どの病院も年次が降るほど検出率が低下しているが、その低下のパターンは、尿由来株からの R plasmid 検出率の低下のパターンと酷似している (Fig. 2)。以上の成績から、1980 年から 1983 年にかけての R plasmid 検出率の低下の原因は、尿由来株における R plasmid 検出率の低下によることが分かる。この点については現在その理由を検討中である。

薬剤別の R plasmid 検出率の低下は、GM で著しい。この原因としては、R plasmid が非伝達性 plasmid (r) に変化した、または染色体に組み込まれたなどの理由が考えられるが、現在この点についても検討中である。

5. 修飾酵素

R plasmid 支配による APH(3'), AAD(2') は、グラム陰性桿菌に広く分布している修飾酵素であるが、著者らの成績でも各病院由来株からその存在が推定され (Table 3), 多くの報告と一致した結果が得られた。

AAC(6')IV は、*S. marcescens* においては染色体上に code されているという報告²⁴⁾があるが、他の腸内細菌科では R plasmid 支配という報告²⁵⁾もある。著者らの成績では、少数例ではあるが、各病院から本酵素を支配する R plasmid が見出された。この R plasmid の検出率はここ 3 年間非常に低いが、今後の動向を見守る必要があると思われる。

以上の著者らの成績では、*S. marcescens* に特有な R plasmid 支配の AGs 修飾酵素は見出されなかった。

謝辞: 実験に使用した *S. marcescens* 株を分与して下さった東京大学医学部附属病院、横浜市立大学医学部附属病院、東京医科歯科大学医学部附属病院、済生会宇都宮病院ならびに帝京大学医学部附属病院の各中央検査部細菌検査室の方々に深く感謝いたします。

また LVDM を分与して下さった興和株式会社東京研究所 織田健所長、BT を分与して下さった三共株式会社中央研究所 村山圭介所長に、厚く感謝の意を表します。

(本論文の要旨は、第 3 回東京国際薬剤耐性菌シンポジウム、第 29・30・31 回日本化学療法学会東日本支部

総会で口演した)。

文 献

- 1) GRAY, J. & D. MCGHIE : *Serratia marcescens* : a study of the sensitivity of British isolates to antibacterial agents and their combinations. J. Antimicrob. Chemother. 4 : 551~559, 1978
- 2) WATANAKUNAKORN, C. & C. A. KAUFFMAN : *In vitro* susceptibility of gentamicin and/or tobramycin resistant gram-negative bacilli to seven aminoglycosides. Infection 6 : 111~115, 1978
- 3) 上田 泰, ほか 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
- 4) ALVAREZ, J. S.; B. REGUEIRO & M. J. GARRIDO : Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Serratia marcescens*. Antimicrob. Agents Chemother. 16 : 523~524, 1979
- 5) EDA, T.; T. IKEDA & S. KIMURA, et al. : Antibiotic resistance and R plasmids in *Serratia marcescens* isolated from clinical specimens in Japan. Antibiotic Resistance, S. MITSUHASHI, L. ROSIVAL, & V. KRČMĚRY, eds. Czechoslovak Med. Press, Prague, 285~291, 1980
- 6) FARRAR, W. E. : Antimicrobial susceptibility of clinical isolates, synergistic effects, and beta lactamases of *Serratia*. The Genus *Serratia*, A. VON GRAEVENITZ & S. J. RUBIN, eds. CRC Press Boca Raton, 121~138, 1980
- 7) 大越正秋, ほか 23 名 : 本邦におけるアミノ配糖体抗生物質耐性菌の検索。Chemotherapy 31 : 976~987, 1983
- 8) MEDEIROS, A. A. & T. F. O'BRIEN : Contribution of R factors to the antibiotic resistance of hospital isolates of *Serratia*. Antimicrob. Agents Chemotherapy, 1968, G. L. HOBBY, eds. American Society for Microbiology, Bethesda, Md., 30~36, 1969
- 9) HEDGES, R. W. : The R factors of *Serratia*. The Genus *Serratia*, A. VON GRAEVENITZ & S. J. RUBIN eds. CRC Press Boca Raton, 139~153, 1980
- 10) 木村貞夫 : セラチアの抗生物質耐性と R プラスミド。医学のあゆみ 111 : 888~892, 1979
- 11) ALVAREZ, J. S. & B. REGUEIRO : R plasmids from clinical isolates of *Serratia marcescens*. J. Hospital Infection 1 : 133~139, 1980
- 12) TANTULAVANICH, S. et al. : An R plasmid of broad host-range, coding for resistance to nine antimicrobial agents endemic in gram-negative nosocomial isolates. J. Med. Microbiol. 14 : 371~380, 1981
- 13) OLEXY, V. M.; T. J. BIRD, et al. : Hospital iso-
- lates of *Serratia marcescens* transferring ampicillin, carbenicillin, and gentamicin resistance to other gram-negative bacteria including *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents Chemother. 15 : 93~100, 1979
- 14) MARKOWITZ, S. M. & D. J. SIBILLA : Comparative susceptibilities of clinical isolates of *Serratia marcescens* to newer cephalosporins, alone and in combination with various aminoglycosides. Antimicrob. Agents Chemother. 18 : 651~655, 1980
- 15) 川原 薫, 木村貞夫 : *Serratia marcescens* のアミノグリコシド耐性と伝達性プラスミドの研究。Chemotherapy 30 : 535~539, 1982
- 16) KATO, R.; M. KIMURA, et al. : Resistance to aminoglycoside antibiotics and conjugative R plasmids in *Serratia marcescens*. Drug Resistance In Bacteria, S. MITSUHASHI eds., Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 369~372, 1982
- 17) VERBIST, L.; J. VANDEPITTE & J. VANDEVEN : Activity of eight aminoglycosides against isolates of *Serratia marcescens* from four hospitals. J. Antimicrob. Chemother. 4 : 47~55, 1978
- 18) 近藤信一 : アミノ配糖体の耐性機構。日本細菌学雑誌 35 : 46, 1980
- 19) PRICE, K. E.; M. D. DEFURIA & T. A. PURSIANO : Amikacin, an aminoglycoside with marked activity against antibiotic-resistant clinical isolates. J. Infec. Dis. 134 (suppl.) : 249~261, 1976
- 20) GOLDSTEIN, F. W. et al. : *In vivo* and *in vitro* emergence of simultaneous resistance to both β -lactam and aminoglycoside antibiotics in a strain of *Serratia marcescens*. Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur). 134 A : 329~337, 1983
- 21) KNOTHE, H.; P. SHAH, V. KRČMĚRY, M. ANTAL, S. MITSUHASHI : Transferable resistance to cefotaxime, ceftioxin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. Infection 11 : 315~317, 1983
- 22) 上田 泰, ほか 16 名 : *Serratia marcescens* に関する基礎的臨床的研究, 第1報, 臨床分離株における新旧株分離材料別および色素産生別による検出率と薬剤感受性の比較。Chemotherapy 27 : 841~847, 1979
- 23) 酒井 茂, 熊本悦明 : *Serratia marcescens* による尿路感染症に関する臨床的研究。日泌尿会誌 74 : 467~484, 1983
- 24) MINSHEW, B. H.; R. K. HOLMES, J. P. SANFORD & C. R. BAXTER : Transferrable resistance to tobramycin in *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter cloacae* associated with enzymatic acetylation of tobramycin. Antimicrob.

- Agents Chemother. 6 : 492~497, 1974
- 25) WIEDEMANN, B.; I. KLOPFER-KAUL & G. TETZLAFF : Untersuchungen über das Aminoglykosid-Antibiotika inaktivierende Enzym AAC-(6')IV. Infection 7 (suppl. 2) : S 192~S 196, 1979
- 26) 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

RESISTANCE TO AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS (AGs) AND R PLASMIDS IN *SERRATIA MARCESCENS*

MITSUKO KIMURA, KAZUE SAWADA, KAORU KAWAHARA, RIEKO KATOH-KANNO,
TATSUO IKEDA and SADA O KIMURA

Department of Bacteriology, Teikyo University School of Medicine

The patterns of antimicrobial susceptibility of 972 isolates of *Serratia marcescens* obtained from 5 hospitals during 1980~1983 were studied by using an agar dilution method. Of these strains, 572 (58.8%) were isolated from urine, 199 (20.5%) from sputum, 83 (8.5%) from pus and 118 (12.1%) from other clinical specimens. Antimicrobial agents used were kanamycin (KM), gentamicin (GM), tobramycin (TOB), dibekacin (DKB), sisomicin (SISO), butirosin (BT), amikacin (AMK), paromomycin (PRM), lividomycin (LVDM), ribostamycin (RSM) and neomycin (NM).

Among these 972 strains, 878 (90.3%) were resistant to one or more AGs. There was a little difference in the resistance rates in the isolates by specimens, i. e., 94.8% of the isolates from urine, 85.5% from pus, 83.4% from sputum and 83.9% from other specimens were resistant to at least one of the antibiotics.

Of 878 resistant strains, the strains with RSM-resistance (88.2%) were isolated most frequently, then followed by those with DKB (57.7%)-, KM (56.4%)-, TOB (55.8%)-, BT (50.4%)-, SISO (47.6%)-, AMK (32.8%)-, GM (32.6%)-, NM (19.4%)-, PRM (18.8%)- and LVDM (16.3%)-resistance. There was little difference by year except 1981 in the resistance rates of the isolates resistant to AGs, other than PRM, LVDM, NM and GM. The rates of those resistant to PRM, LVDM and NM decreased obviously year by year. On the other hand, the rate of those resistant to GM increased.

Among 878 resistant isolates, 189 (21.5%) carried transferrable R plasmid mediating AGs-resistance. The rate of strains carrying R plasmid in isolates in each specimen was as follows : 29.5% from urine, 18.3% from pus, 5.4% from sputum and 7.1% from other clinical specimens. During the 4 years, the rate in the isolates from urine decreased apparently. The rates in the isolates resistant to DKB, KM, TOB and SISO ranged from 46% to 58% in 1980, and decreased to 16~18% in 1983. The rate in those resistant to GM ranged from 86% to 94% in 1980~1981, and decreased to 22% in 1983. On the other hand, the rates in those resistant to AMK and BT were very low, ranging from 3% to 6% in 1981~1983.

The AGs modifying enzymes in the transconjugants were presumed from their resistant patterns. AAD(2'') was most prevalent and was detected in the isolates of all 5 hospitals every year. APH(3')I and AAC(6')IV were also detected in those of 5 hospitals, whereas APH(3')II was detected in 3 hospitals.