尿路感染症由来 *E. coli* の R-plasmid に関する研究

―感染病態，薬剤耐性パターンと R-plasmid の関係―

張　　邦　　光

岐阜大学医学部泌尿器科学教室*

（主任：河田幸道教授）

（昭和63年3月3日受付）

難治性尿路感染症の原因の一つである耐性菌の頻度と病態との関係を明確にする目的で，薬剤耐性プラスミド（R-plasmid）の検出を行ない，病態との関係を検討した。

1982 年から 1985 年までの4年間に分離された *Escherichia coli* 366 株について，ampicillin (ABPC), tetracycline (TC), chloramphenicol (CP), streptomycin (SM), kanamycin (KM), sulfanilamide (SA), nalidixic acid (NA), rifampicin (RFP) の MIC を化学療法学会標準法により測定し，得られた耐性菌株を供与菌とし，RFP と NA 耐性株を受容菌として一次および二次の接合伝達実験を行ない，R-plasmid 支配株を確認した。

耐性菌の頻度は ABPC と SM が 41%，SA が 40%，TC が 35%，CP が 18%，KM と NA が 9% であり，RFP 耐性菌は1株も分離されなかった。これらの耐性菌からの R-plasmid の検出率は単剤耐性菌よりも多剤耐性菌において高かった。多剤耐性菌の中では，単純性尿路感染症よりも複雑性尿路感染症において R-plasmid の検出率が高かった。複雑性尿路感染症では，カテーテル留置症例と非留置症例の耐性菌分離頻度はほぼ同等であったが，R-plasmid の検出率はカテーテル非留置症例において高かった。これらのことから，耐性菌の頻度，R-plasmid の検出率は尿路感染症の病態によって異なることが明らかとなった。

Key words：R-plasmid, Urinary tract infection, *E. coli*

抗菌剤の開発と相まって，各種感染症に対する化学療法剤の進歩には目ざましいものがある。しかし，最近の優れた抗菌剤の開発にもかかわらず，治癒しがたい感染症の症例が存在し，化学療法の限界を感じざるをえないのも事実である。これは感染宿主の免疫能の低下による opportunistic infection の問題，宿主の基礎疾患の病態，さらに薬剤耐性菌の増加などと複雑に関連しているものと思われ，これらの各方面の研究も活発に行なわれている。なかでも，薬剤耐性菌の研究は古くから行なわれており，最近では細菌の耐性メカニズムや原因の解明がなされつつある。

尿路感染症においても薬剤耐性菌の増加が問題になっているが，*Escherichia coli* は尿路感染症から分離される頻度が最も高い菌種であり[1,2]，R-plasmid も高率に検出されている[3~5]。尿路感染症は一般に，尿路に基礎疾患のない単純性尿路感染症と基礎疾患の存在する複雑性尿路感染症に分けられるが，両者の抗菌剤に対する反応には大きな差がみられ，一般に単純性感染症は治癒しやすいが複雑性感染症は治癒しがたいばかりでなく，再発の頻度も高い。この理由として，尿流通過障害などの各種基礎疾患や留置カテーテルなどの関与も考えられるが，複雑性尿路感染症からは薬剤耐性菌が高頻度に分離されることより，耐性菌の関与も重要と思われる。さらに，これらの耐性菌は多剤耐性のものが多いが，種々の病態における多剤耐性菌の分離頻度あるいは R-plasmid との関連性についてはほとんど検討がなされていない。そこで，著者は種々の病態の尿路感染症患者から分離された *E. coli* 366 株について，R-plasmid 支配の耐性を示す6種類の抗菌剤に対する薬剤感受性測定を行なうとともに，得られた耐性株から R-plasmid を検出して，尿路感染症の病態と多剤耐性の実態，および R-plasmid による耐性との関連性を検討した。

I. 材料と方法

1. 使用菌株

* 岐阜市司町 40

対象菌種は尿路感染症由来の *E. coli* とし，被験菌株は 1982 年1月から 1985 年 12 月までの4年間に岐阜大学医学部附属病院泌尿器科で治療を受けた外来および入院患者から分離し，保存の良好であった菌株を対象とした。なお *E. coli* が複数回分離された場合は，初回に分離された菌株のみを用いた。その結果 366 株が対象として検討された。

R-plasmid による薬剤耐性伝達性の検討は，上記菌株のうち薬剤耐性の確認されたものを対象とし，接合伝達受容菌は群馬大学医学部微生物学教室から分与された *E. coli* K 12 χ 1037 RFP^r (rifampicin resistant) と *E. coli* K 12 χ 1037 NA^r (nalidixic acid resistant) の2株を用いた。

2. 使用薬剤

薬剤耐性が R-plasmid により支配される薬剤として，ampicillin (ABPC), tetracycline (TC), chloramphenicol (CP), streptomycin (SM), kanamycin (KM) および sulfanilamide (SA) の6剤を用い，一方，薬剤耐性が非 R-plasmid 支配の抗菌剤として nalidixic acid (NA) および rifampicin (RFP) の2剤を用いた。

3. 薬剤感受性試験ならびに薬剤耐性菌の決定

薬剤感受性試験は日本化学療法学会の MIC 測定標準法[6]に準じて行なった。すなわち被験菌を Mueller-Hinton broth (Difco) 中で 37℃, 一夜培養後，buffered saline with gelatin (BSG 液) で 10^6 CFU/ml に希釈し，その希釈液をミクロプランター (約 0.005 ml) で薬剤添加平板 (Mueller-Hinton agar, MHA, Difco) に接種した。37℃ で 18 時間培養後，肉眼的に *E. coli* の発育が完全に阻止された最低薬剤濃度を最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 値とした。各薬剤に対する耐性菌の決定は各薬剤の *E. coli* に対する MIC 分布から行なった。

4. 接合伝達実験

一次伝達は broth 法と membrane filter 法を用いて行なった。

1) Broth 法

1剤に対してでも耐性を示した耐性菌を供与菌 (donor) とし，RFP 耐性の *E. coli* χ 1037 RFP^r を受容菌 (recipient) として用いた。まず供与菌，受容菌を brain heart infusion broth (BHI) 中でそれぞれ 37℃, 一夜培養した。受容菌はさらに新しい BHI 中で振盪培養し，10^8 CFU/ml の菌数になった時点でこの 0.5 ml と供与菌液の 0.5 ml を混合して 37℃ で一夜培養し，その培養液の1白金耳 (約 0.002 ml) を各種濃度の薬剤添加選択用平板 (BTB lactose agar, ただし SA 選択培地は MHA) に塗抹し，37℃ で一夜培養した。選択用平板に添加した各薬剤の最終濃度は *E. coli* の MIC 分布の成績をもとにして，以下のごとくとした。

TC : 25 μg/ml, CP : 25 μg/ml, SM : 12.5 μg/ml, KM : 25 μg/ml, ABPC : 25 μg/ml, SA : 400 μg/ml とし，各々に RFP : 100 μg/ml を加えた。

2剤添加の各選択平板上に発育した耐性伝達株を3コロニーずつ釣菌し，純培養のため前述と同じ濃度の6種類の薬剤添加選択用培地 (eosine methylene blue agar; EMB agar, ただし SA に対しては MHA を用いた) にそれぞれ再接種した。また，37℃ で一夜培養後，各種濃度の薬剤添加選択用 BTB lactose agar に replica して，耐性の伝達を確認した。

2) Membrane filter 法

Broth 法で耐性の伝達が認められなかった株については，その伝達頻度を高める目的で，さらに membrane filter 法を行なった。すなわち，供与菌と受容菌を BHI 中で2時間振盪培養後 (late log phase), 供与菌液 0.5 ml と受容菌液 4.5 ml (1 : 9 の割合) を混合し，millipore filter (HA : 0.45 μm) で濾過後，filter を無菌的に取り出して，BTB lactose の上に置き，2～3時間静置培養した。次いで，membrane filter 上の菌を新鮮な BHI に懸濁し，懸濁液を 0.1 ml ずつ選択平板上に塗抹し，さらに 37℃ で一夜培養して耐性伝達株を得た。

R-plasmid の伝達によらず突然変異による耐性株が生ずる可能性が否定できないので，これのないことを確認する目的で二次伝達試験を行なった。一次伝達において耐性の伝達が確認された株 (耐性伝達株) を供与菌とし，NA 耐性の *E. coli* χ 1037 NA^r を受容菌として，一次と同様の接合実験を行なった。選択用平板に添加した各薬剤の最終濃度は次の通りである。

TC : 25 μg/ml, CP : 25 μg/ml, SM : 12.5 μg/ml, KM : 25 μg/ml, ABPC : 25 μg/ml, SA : 400 μg/ml とし，各々に NA : 25 μg/ml を加えた。この場合 NA 耐性は接合により伝達しないので，上記の平板に発育したコロニーは受容菌に耐性が伝達した耐性伝達株と考えられる。

以上の結果，二次伝達の確認された株の薬剤耐性は伝達性 R-plasmid 支配であるとした。

5. 薬剤耐性および R-plasmid の伝達性と病態との関連性について

E. coli の分離された尿路感染症例を，基礎疾患のない単純性尿路感染症と基礎疾患のある複雑性尿路感染症に大別し，各々を UTI 薬効評価基準[7]に準じて，前者は上部尿路感染症 (急性単純性腎盂腎炎) と下部尿路感染症 (急性単純性膀胱炎) に，また後者は第1～第6群に分類して，各病態における耐性菌および R-plasmid の

分離状況，耐性菌に占める R-plasmid の検出頻度を求め，種々の感染病態がこれらとどのようなかかわりあいをもつかを検討した。

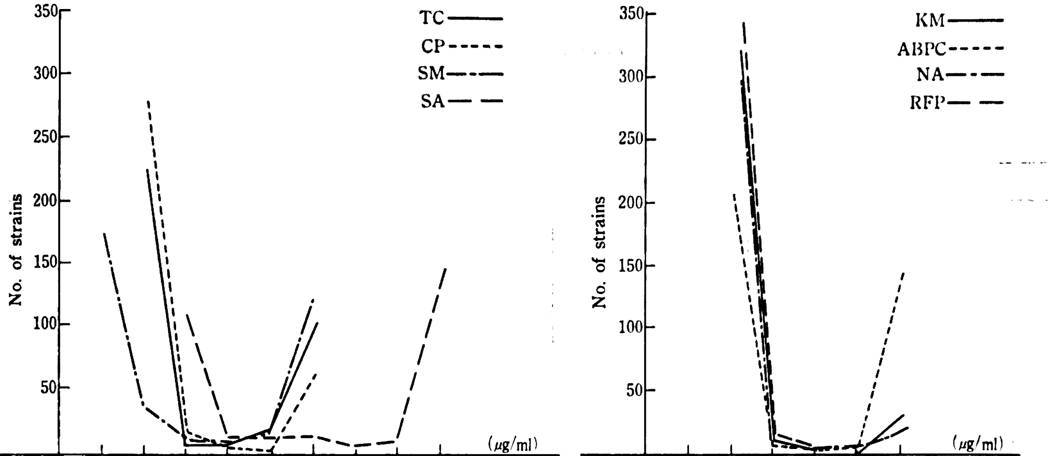
II. 成　　績

1. *E. coli* の薬剤感受性成績

各薬剤の MIC 分布を Fig. 1 に示したが，RFP を除く7剤の MIC 分布には明らかな二峰性の分布がみられ，感性側と耐性側に分かれたので，その分布の谷間を感性菌と耐性菌の境界とした。

各薬剤に対する耐性菌の分離頻度は 9-41% に分布していたが，このうち耐性菌の分離頻度が最も高率であった薬剤は SM と ABPC で各々 41% にみられた。SA もこれらとほとんど同率（40%）であったが，その他の薬剤は TC（35%），CP（18%），NA（9%），KM（9%）の順に耐性率が低かった。

6剤のいずれか一つにでも耐性を示した菌株は 232



MIC / Drug	≦3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400	≧800	Resistant strains(%)
TC		226	5	6	20	109				129 (35)
CP		282	14	3	1	66				67 (18)
SM	170	37	8	7	19	125				151 (41)
SA			109	15	11	13	5	8	145	145 (40)

MIC / Drug	≦3.13	6.25	12.5	25	50	100	Resistant strains(%)
KM		320	13	0	0	33	33 (9)
ABPC		206	6	5	7	142	149 (41)
NA		323	5	4	7	27	34 (9)
RFP		348	13	5			0 (0)

Fig. 1. MIC distribution against *E. coli* isolated from urinary tract (366 strains) and isolation frequencies of drug-resistant strains

Table 1. Isolation frequencies of drug-registant *Escherichia coli* classified by drug resistant patterns

Sensitivity and resistance patterns	No. of strains (%)
Resistant strains	
TC, CP, SM, SA, ABPC	48 (20.7)* (13.1)**
Quadruple resistance	37 (15.9) (10.1)
Triple resistance	57 (24.6) (15.6)
Double resistance	32 (13.8) (8.8)
Single resistance	58 (25.0) (15.8)
Sub-total	232 (100) (63.4)
Sensitive strains	134 (36.6)
Total	366 (100)

* No. of drug-resistant strains in each resistance pattern/no. of drug-resistant strains

** No. of strains in each group/no. of whole strains tested

Table 2. Isolation frequencies of drug-resistant and/or R-plasmid positive strains of *Escherichia coli* isolated from the year 1982-1985

Year	No. of strains tested	No. of drug-resistant strains (%)*	No. of R+ strains (%)**
1982	102	63 (62)	39 (62)
1983	73	40 (55)	33 (83)
1984	115	81 (70)	52 (64)
1985	76	48 (63)	25 (52)
Total	366	232 (63)	149 (64)

* No. of drug-resistant strains/no. of isolates tested
** No. of R+ strains/no. of drug-resistant strains

Table 3. Isolation frequencies of drug-resistant strains and R-plasmid of *Escherichia coli* classified by the type of infection and resistance patterns from 1982 to 1985

Resistance patterns	1982	1983	1984	1985
	* ** ***			
TC, CP, SM, SA, ABPC	15 (13) 86.7%	10 (8) 80 %	12 (11) 91.6%	11 (7) 63.6%
Quadruple resistance	13 (10) 76.9%	6 (6) 100 %	13 (9) 69.2%	5 (3) 60 %
Triple resistance	12 (8) 66.7%	12 (11) 91.6%	21 (20) 95.2%	12 (7) 58.3%
Double resistance	10 (3) 30 %	3 (3) 100 %	12 (6) 50 %	7 (4) 57.1%
Single resistance	13 (5) 38.4%	9 (5) 55.5%	23 (6) 26 %	13 (4) 30.7%
Total	63 (39) 62 %	40 (33) 82 %	81 (52) 64 %	48 (65) 52 %

Uncomplicated UTI	1982	1983	1984	1985
	* ** ***			
Upper urinary tract	6 (3) 50 %	1 (1) 100 %	1 (1) 100 %	1 (0) 0 %
Lower urinary tract	15 (7) 46.6%	10 (8) 80 %	18 (8) 44.4%	9 (6) 66.7%
Total	21 (10) 47.6%	11 (9) 81.8%	19 (9) 47.4%	10 (6) 60 %

Complicated UTI	1982	1983	1984	1985
	* ** ***			
Group 1	2 (1) 50 %	1 (0) 0 %	3 (2) 66.7%	6 (3) 50 %
2	1 (0) 0 %	0 (0) 0 %	0 (0) 0 %	0 (0) 0 %
3	5 (3) 60 %	2 (1) 50 %	8 (6) 75 %	5 (4) 80 %
4	22 (17) 77.2%	16 (14) 87.5%	33 (19) 57.5%	14 (6) 42.9%
Group 5	1 (0) 0 %	1 (1) 100 %	8 (6) 78 %	5 (1) 20 %
6	11 (8) 72.2%	9 (8) 88.9%	10 (10) 100 %	8 (5) 62.5%
Total	63 (39) 62 %	40 (33) 82 %	81 (52) 64 %	48 (25) 52 %

* Drug-resistant strains
** R+ strains
*** No. of R+ strains/no. of drug-resistant strains

株みられ，その耐性パターンは，Table 1 に示したように TC, CP, SM, SA, ABPC の5剤耐性菌株は48株(20.7%)，4剤耐性株は37株(15.9%)，3剤耐性株は57株(24.6%)，2剤耐性株は32株(13.8%)，1剤耐性株は58株(25%)であった。

2\. R-plasmid の検出頻度

366株中耐性株が232株みられたが，このうち broth 法による一次伝達が可能であった株は143株，membrane filter 法による伝達が可能であった株は16株であった。これらの一次伝達が可能であった159株について，二次伝達実験を行なった結果，149株が二次伝達可能であった。したがって，366株中149株(40.7%)がR-plasmid を有していることが判明し，また，耐性菌に占める R-plasmid 保有株の割合は232株中149株，

Table 4. Relation between drug-resistance patterns of *Escherichia coli* and isolation frequencies of R-plasmid

Resistance pattern	No. of strains	No. of transferable drugs (strains)					No. of R^+ strains (%)*
		5	4	3	2	1	
TC, CP, SM, SA, ABPC	48	5	2	4	13	15	39 (81.3)
Quadruple resistance	37		8	1	3	16	28 (75.6)
Triple resistance	57			24	5	16	45 (78.9)
Double resistance	32				8	7	15 (46.8)
Single resistance	58					22	22 (37.9)
Total	232	5	10	29	29	76	149 (64.2)

* No. of R^+ strains/no. of resistant strains in each resistance pattern

Table 5. Isolation frequencies of drug-resistant strains and R-plasmid of *Escherichia coli* isolated from uncomplicated urinary tract infection

Site of infection	No. of isolates	No. of drug-resistant strains (%)*	No. of R^+ strains (%)**
Upper urinary tract	18	9 (50)	5 (56)
Lower urinary tract	120	52 (43)	29 (56)
Total	138	61 (44)	34 (56)

* No. of drug-resistant strains/no. of isolates tested
** No. of R^+ strains/no. of drug-resistant strains

64.2% であった。

一方，耐性株の年代別の検出状況を 1982 年から 1985 年にわたってみると，Table 2 に示したように耐性株の分離頻度は 55% から 70% とどの年度においても大差はみられなかった。しかし，この耐性菌の中で R-plasmid 保有株の割合には 1982 年から 1983 年の間の 62%→83% という極めて高率となった時期と，その後の 64%，52% と低下傾向のみられた時期があった。

この点に関して，年次ごとに耐性パターンや感染部位，病態との関係などについて検討してみたが (Table 3)，各年次とも耐性パターン，耐性菌の R-plasmid 検出率はほぼ同様であり，また単純性尿路感染症における感染部位，複雑性尿路感染症における疾患病態群別の R-plasmid 検出率でも特徴的な結果は得られなかった。

3. R-plasmid と薬剤耐性パターンの関係

R-plasmid 保有株は全体で 149 株みられたが，これらの株について薬剤耐性パターンとの関係をみると，Table 4 に示したように 5 剤耐性株 48 株のうち，R-plasmid の検出された株は 39 株で，81.3% と高頻度に R-plasmid が検出された。同様に 4 剤耐性株では 37 株中 28 株，75.6%，3 剤耐性株では 57 株中 45 株，78.9% とかなり高率であったが，2 剤耐性株になると 32 株中 15 株，46.8%，1 剤耐性株では 58 株中 22 株，37.9% と低頻度となり，耐性薬剤が多剤になるほど R-plasmid の検出率が高くなる傾向がみられた。しかし，多剤耐性株でも耐性薬剤のすべてに耐性が伝達されるわけではないことから，薬剤耐性が伝達される時，すべての薬剤耐性が一挙に伝達されたものではないと考えられた。

4. 感染病態と薬剤耐性パターン別の R-plasmid 検出頻度

1) 単純性尿路感染症

単純性尿路感染症由来株は 138 株であるが，これを上部尿路感染症由来の 18 株と下部尿路感染症由来の 120 株に分けて検討すると，Table 5 のように上部尿路感染症では 9 株の耐性株中 5 株 (56%) から R-plasmid が検出された。下部尿路感染症では 52 株の耐性株中 29 株 (56%) から R-plasmid が検出され，両者の耐性株分離率と R-plasmid 検出率はほとんど同率であった。

次に，薬剤耐性パターンと R-plasmid 検出率の関係をみると，Table 6 のように 5 剤耐性株 5 株中 4 株 (80%) に R-plasmid が検出され，4 剤耐性株では 8 株中 7 株 (87%)，3 剤耐性株では 13 株中 9 株 (69%)，2 剤耐性株では 16 株中 5 株 (31%) および 1 剤耐性株では 19 株中 9 株 (47%) に R-plasmid が検出された。すなわち単純性の尿路感染症においても耐性薬剤が多くなるほど R-plasmid が高頻度に検出される傾向がみられた。

Table 6. Relation between drug-resistance patterns and isolation frequencies of R-plasmid in uncomplicated urinary tract infection

Resistance patterns	No. of strains	No. of R+ strains (%)*
TC, CP, SM, SA, ABPC	5	4 (80)
Quadruple resistance	8	7 (87)
Triple resistance	13	9 (69)
Double resistance	16	5 (31)
Single resistance	19	9 (47)
Total	61	34 (56)

* No. of R+ strains/no. of resistant strains in each resistance patterns

Table 7. Relation between drug-resistance patterns and isolation frequencies of R-plasmid in complicated urinary tract infection

Resistance patterns	No. of strains	No. of R+ strains (%)*
TC, CP, SM, SA, ABPC	43	35 (81)
Quadruple resistance	29	21 (73)
Triple resistance	44	36 (82)
Double resistance	16	10 (63)
Single resistance	39	13 (33)
Total	171	115 (67)

* No. of R-plasmid strains/no. of resistant strains in each resistance patterns

Table 8. Isolation frequencies of drug-resistant and/or R-plasmid positive strains of *Escherichia coli* classified by the type of infection

Type of infection		No. of isolates	No. of drug-resistant strains (%)*	No. of R+ strains (%)**
Monomicrobial infection	Group 1 (indwelling catheter)	17	12 (71)	6 (50)
	Group 2 (post-prostatectomy)	1	1 (100)	0
	Group 3 (upper UTI)	24	20 (83)	14 (70)
	Group 4 (lower UTI)	115	85 (74)	56 (66)
	Sub-total	157	118 (75)	76 (64)
Polymicrobial infection	Group 5 (indwelling catheter)	19	15 (79)	8 (53)
	Group 6 (noncatheterized)	52	38 (73)	31 (82)
	Sub-total	71	53 (75)	39 (74)
Total		228	171 (75)	115 (67)

* No. of drug-resistant strains/no. of isolates tested

** No. of R+ strains/no. of drug-resistant strains

2) 複雑性尿路感染症

複雑性尿路感染症からは 228 株が分離され，このうち 171 株 (75%) が耐性株で，また耐性株中 115 株 (67%) から R-plasmid が検出された (Table 7)。これを UTI 薬効評価基準に従って6群に分けて検討すると，Table 8 のように各群における耐性株の検出頻度は大体 70～80% 前後と各群間に大差はみられなかったが，R-plasmid の検出率には群により開きがみられた。単数菌感染症においては第1群 (カテーテル留置群) の R-plasmid 検出率は 50% と，第3群 (70%) および第4群 (66%) の R-plasmid 検出率に比べて低い傾向であった (第2群は1株のみであったので除外とした)。

一方，複数菌感染症においても，カテーテル留置症例である第5群の R-plasmid 検出率 (53%) が，カテーテル非留置群 (第6群) の検出率 (82%) に比べて低い傾向が認められたが有意差ではなかった ($\chi^2=3.0807$, $p=0.0792$)。なお，第6群の R-plasmid 検出率は全6群中最も高く 82% であった。

単数菌感染症 (第 1, 2, 3, 4 群) と複数菌感染症 (第 5, 6 群) の比較では耐性株の分離率はいずれも 75% と差はなく，一方 R-plasmid の検出率は各々 64%，74% と複数菌感染症の方が単数菌感染症に比べてやや高い検出率であったが，大きな差ではなかった ($\chi^2=1.0132$, $p=0.3141$)。

カテーテル留置群 (第 1, 5 群) とカテーテル非留置群 (第 2, 3, 4, 6 群) の R-plasmid 検出率を比較してみると，カテーテル留置群は 52%，カテーテル非留置群は 70% と，カテーテル非留置群の方が高い R-plasmid 検出率であった (Table 9) が有意差ではなかった ($\chi^2=2.6720$, $p=0.1021$)。一方，カテーテル留置，あるいは非留置の症例中，外来通院患者と入院患者の占める割合によっても耐性菌ないし R-plasmid の検出が影響を受けるのではないかとも思われたので，この点についても検討してみたが，カテーテル非留置群における R-plasmid 検出率は外来症例由来株で 68.8%，入院症例由来株で 77.2% と差を認めず ($\chi^2=0.2930$, $p=0.5883$)，またカテーテル留置群でも外来症例由来株で 44.4%，入院症例由来株で 66.6% と有意差を認めなかった ($\chi^2=0.4639$, $p=0.4959$)。そこでカテーテル留置症例についてカテーテル留置期間との関係を 27 例について検討したところ，留置期間が長くなるほど R-plasmid 検出頻度が高くなる傾向がみられた (Table 10)。

Table 9. Relation between indwelling catheter and isolation frequencies of R-plasmid, and drug-resistance patterns

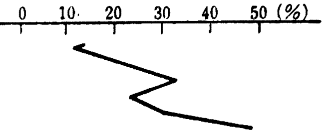
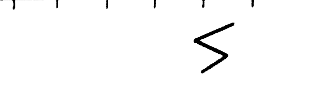
		Indwelling catheter group	Noncatheterized group	Total
No. of strains		36	192	228
No. of drug-resistant strains (%)*		27 (75)	144 (75)	171 (75)
No. of R⁺ strains (%)**		14 (52)	101 (70)	115 (67)
Resistance patterns (%)**	TC, CP, SM, SA, ABPC	10 (60)	33 (88)	
	Quadruple resistance	3 (67)	26 (73)	
	Triple resistance	7 (57)	37 (86)	
	Double resistance	1 (0)	15 (67)	
	Single resistance	6 (33)	33 (33)	
Total		27 (52)	144 (70)	

* No. of drug-resistant strains/no. of isolates tested
** No. of R^+ strains/no. of drug-resistant strains

Table 10. Relation between duration of catheterization and isolation frequencies of R-plasmid

Duration of catheterization	No. of strains	No. of drug-resistant strains	No. of R⁺ strains
1-6 (days)	15	8 (53.3%)*	2 (25%)**
7-13	6	4 (66.7%)	2 (50%)
>14	15	15 (100 %)	10 (67%)
Total	36	27 (75 %)	14 (52%)

* No. of drug-resistant strains/no. of isolates tested
** No. of R^+ strains/no. of drug-resistant strains

Year	No. of strains	No. of ABPC-resistant strains (%)*	Percentage of ABPC-resistant strains 0 10 20 30 40 50 (%)
1972	72	8 (11.1)	
1973	94	20 (21.3)	
1974	64	21 (32.8)	
1975	44	10 (22.7)	
1976	66	20 (30.3)	
1977	84	41 (48.8)	
Total	424	120 (28.3)	
			0 10 20 30 40 50 (%)
1982	102	48 (47)	
1983	73	27 (37)	
1984	115	51 (44)	
1985	76	30 (40)	
Total	366	156 (42)	

* Percentage of ABPC-resistant strains

Fig. 2. Isolation frequency of ABPC-resistant *E. coli* and R-plasmid from Urological Department of Gifu University by year

Table 11. Drug-resistance patterns of ampicillin-resistant *Escherichia coli*

Resistance patterns	No. of strains 1974-1977	No. of strains 1982-1985
ABPC TC CP SM SA (KM)	61 (69%)*	47 (30%)**
ABPC CP SM SA (KM)	10	8
ABPC TC SM SA (KM)	5 (18%)	26 (22%)
ABPC TC CP SM	1	1
ABPC SM SA (KM)	5	26
ABPC SM SA	1	3
ABPC TC SM (KM)	2 (9%)	2 (26%)
ABPC TC SM (KM)	0	8
ABPC CP SM	0	2
ABPC TC	0	12
ABPC SM (KM)	0 (4%)	3 (11%)
ABPC SA (KM)	4	1
ABPC only	0 (0%)	17 (11%)
Total	89 (100%)	156 (100%)

* Percentage of ABPC-resistant strains isolated from 1974-1977
** Percentage of ABPC-resistant strains isolated from 1982-1985

5. *E. coli* の ampicillin 耐性頻度と R-plasmid の関係

尿路感染症の治療薬として古くからよく用いられたペニシリン系薬剤である ABPC について，これに対する耐性菌の頻度と R-plasmid の関係を検討した。ABPC 耐性 *E. coli* の年度別分離頻度を最近の 4 年間（1982-1985 年）と約 10 年前の 6 年間（1972-1977 年）についてみてみると，1972 年から 1977 年にかけては 11.1% から 48.8% へと年々耐性菌の増加がみられた（Fig. 2）。しかし最近の 4 年間では 47-37% とほぼ横ばいか多少低下の傾向がみられている。

一方，これらの菌株の多剤耐性の程度を各々 4 年間についてみてみると，Table 11 のように 1974-1977 年の菌株は 5 剤耐性株が約 70% と高頻度である反面，ABPC 単独耐性株は 1 株もなく多剤耐性の傾向が極めて強くみられた。これに対し 1982-1985 年の菌株は 5 剤耐性株は 30% に減少し，逆に 3 剤，2 剤および 1 剤耐性株が各々 9→26%，4→11%，0→11% と増加しており，多剤耐性傾向がかなり薄らいでいた。

次に最近 4 年間の菌株について R-plasmid の検出状

Table 12. Isolation frequencies of ampicillin-resistant strains and R-plasmid of *Escherichia coli* by year

Year	No. of ABPC-resistant strains	No. of R+ strains (%)*
1982	48	31 (64)
1983	27	20 (74)
1984	51	36 (70)
1985	30	18 (60)
Total	156	105 (67)

* No. of R+ strains/no. of ABPC-resistant strains

況をみてみると，Table 12 に示したように 60-74%（平均 67%）の検出頻度で，かなり高いものではあるが分離年度による特別の特徴はなく，また ABPC 耐性菌に限ってみても，R-plasmid 検出率が 67% と他の薬剤に耐性を示した細菌の R-plasmid 検出率（67%）と同等であった。

III. 考　　案

1. 尿路感染症由来 *E. coli* の薬剤耐性について

尿路感染症患者から分離される *E. coli* からは薬剤耐性株および R-plasmid が高頻度に検出されることがすでに報告されていたが[3,5,9,10,11]，今回の 4 年間にわたる入院および外来患者に関する検討でも 63.4%（232/366 株）と高率に耐性株が分離された。この頻度は他の報告ともほぼ一致した成績であり，年次的にも 1982-1985 年の 4 年間の分離頻度は大体 55-70% の間にあり，各年ともこの程度の分離頻度が持続していることがわかる。

薬剤別にみた耐性菌の分離率は，ABPC，SM，SA 耐性株がともに 41-40% と最も高く，次いで TC（35%），CP（18%），KM（9%）および NA（9%）の順に低下しており，ABPC 耐性菌がかなり多い。今回の当科における ABPC 耐性菌に関する検討では，1972-1977 年にかけて著しい増加（11%→49%）がみられており，橋本[8]も同様の傾向を報告している。これは当時 ABPC を中心に β-lactam 系薬剤が最も多く常用された結果と思われるが，しかし，比較的最近の 1982-1985 年における ABPC 耐性菌の分離頻度は約 50-40% と横ばいかやや減少傾向がみられ，最近では使用抗菌薬の中心が ABPC からセフェム系抗菌薬に変わってきていることが反映されているものと思われる。

ABPC 以外の薬剤に関する耐性株の分離頻度は，報告者によりばらつきがみられる。例えば，橋本の報告[8]では SM 耐性株の分離頻度は低下の傾向がみられるが，当科の SM 耐性株の分離頻度は依然 41% と高く推移している。また，耐性菌感染症研究会の 1971-1974 年の各施設の *E. coli* に関する報告[10]では，ABPC とKM の耐性株は 74% と高い分離頻度を示しているが，当科の KM 耐性株の分離頻度はわずか 9% である。このように報告者により成績の差が認められるのは，対象（病巣）の相違あるいは施設による抗菌薬使用状況の違いも一因ではないかと思われる[8]。

耐性株の耐性パターンは，5, 4, 3, 2 および単剤耐性株が各々 20.7%，15.9%，24.6%，13.8% および 25% であり，全体的にみた場合，多剤耐性株が特に多いという傾向はみられなかった。しかし，ABPC 耐性株に限って検討してみると，1974-1977 年の間では，ABPC を含む 5 剤耐性株が全体の約 70% を占めていたのに対し 4，3，2 および単剤耐性株は各々 18%，9%，4% および 0% と低率であり，両者の間に大きな開きがみられた。しかし，このように極めて高率に分離された 5 剤耐性株もその後はかなり減少してきており，1982-1985 年の検討では，5 剤耐性株でも 30%，その他は 25-10% 程度と比較的均等になり，ABPC を含む多剤耐性傾向は近年低下しているが，これも ABPC の使用頻度が低下してきていることによるものと思われる。

2. 耐性 *E. coli* からの R-plasmid 検出率

薬剤耐性 *E. coli* からの R-plasmid の検出率は今回の著者の成績では 64%（149/232 株）とかなり高率であったが，この成績は耐性菌感染症研究会[10]の 73.1%（90/123 株）あるいは三橋ら[9]の 66.3% という報告に比べて大きな相違はみられず，耐性 *E. coli* からは一般にこの程度の R-plasmid が検出されるものと思われる。

一方，この R-plasmid の検出率を薬剤耐性パターン別に検討すると，5 剤耐性を示す耐性菌からは 81% と極めて高率に検出されるのに対して，2 剤および 1 剤耐性株からは各々 47%，38% と低い検出率であった。この傾向は各報告者の成績[3,5,9,10]からもうかがえ，また *E. coli* だけでなく赤痢菌などの *E. coli* 以外の腸内細菌に関しても同様の傾向がみられるので，R-plasmid は一般に耐性薬剤の種類の多い株ほど検出率が高いことがわかるが，尿路感染症においても同様であった。次に，R-plasmid 検出率の年次推移に関して，今回検討した 1982-1985 年にわたる各年の検出頻度は各々 62%，83%，64%

および 52% という成績であったが，この年次推移をどのように解釈するかは問題が多い。すなわち，1983 年が高率であったのは一過性の現象であり，各年の分離頻度には大きな差はないとみるのか，あるいは 1983 年まで増加傾向にあったものが，その後 83%→64%→52% と減少に転じたとみるべきなのか判断に迷うところである。これについて，年次ごとに耐性パターンや病態との関係などを検討したにもかかわらず明らかな解答は得られなかった。

しかし，木村ら[8]の報告によれば，尿路感染症由来の *Serratia marcescens* からの R-plasmid 検出頻度は年次ごとに低下する傾向が認められており，当施設でも同様の傾向が現われたものと考えるのが妥当かもしれない。木村らは R-plasmid の検出頻度が低下してきた原因は不明であると述べているが，やはり一般使用薬剤がペニシリン系からセフェム系に移行してきたことに伴い，耐性支配に関しても R-plasmid から染色体性のものに代わってきているとも考えられる。今後もこの傾向が続くのかどうか，あるいはこれらの菌種以外の細菌についても同じ傾向がみられるのかどうか，今後の動向を見守る必要があると思われる。

3. 感染病態と耐性菌および R-plasmid の検出頻度

単純性尿路感染症から分離された *E. coli* 全体における耐性株分離頻度は 44%，R-plasmid 検出率は 25% であり，一方，耐性株における R-plasmid 保有率は 56% であった。これを上部尿路（腎盂腎炎）と下部尿路（膀胱炎）に分けてみても，耐性株の頻度は各々 50%，43% と大差はなく，また R-plasmid 保有率も各々 56%，56% と全く同率であった。したがって，単純性尿路感染症においては上部尿路感染症も下部尿路感染症もこれらに関してはほとんど差がないといえる。また，耐性パターンに関しても，単純性尿路感染症には多剤耐性株が少ないといった傾向はみられず，5 剤から単剤耐性に至るまでほぼ均等に分布していた。一方，耐性株における R-plasmid 検出率は 5 剤耐性株の 81% から単剤耐性株の 36% へと，耐性薬剤種が少なくなるに従い R-plasmid の検出率も低下する傾向は複雑性尿路感染症も含めた全体の傾向と同様であった。

複雑性尿路感染症における耐性株および R-plasmid 検出頻度は各々 75%，50% であり，また耐性菌における R-plasmid 保有率は 67% であった。この耐性株の分離頻度（75%）は単純性尿路感染症の 44% に比べ有意に高い値であった（$\chi^2=33.819$，$p<0.01$）。R-plasmid 検出頻度（50%）も単純性に比べて高くなっているが，これは主として複雑性の方に耐性菌が多いことによるものであり，一方，耐性株における R-plasmid 検出頻度も単純性で 56%，複雑性で 67% と複雑性尿路感染症の方がやや高値であった。耐性菌における R-plasmid 検出頻度が複雑性尿路感染症の方に高く現われた理由に関して，単純性および複雑性尿路感染症から分離された耐性菌の耐性パターンを比較してみたが，複雑性尿路感染症の方に多剤耐性傾向が強いということはなく，両者ともに 5 剤から単剤に至るまでほぼ均等に分布していた。また耐性菌の分離頻度に関しても，1983 年に複雑性の耐性菌が特に多かったということもない。したがって，両者に差のみられた原因ははっきりしないが，はたしてこの差は意義のあるものか否かはさらに症例を蓄積して検討する必要がある。

単数菌感染と複数菌感染における耐性菌および R-plasmid の検出頻度に関しては，単数菌感染も複数菌感染も両者ともにほとんど差はみられなかった。

次にカテーテル非留置症例と留置症例における耐性菌と R-plasmid の検出頻度に関して，耐性菌の分離頻度はいずれの症例群も 75% と差はみられなかったが，耐性菌からの R-plasmid の検出率に関しては，カテーテル非留置例が 70%，留置例が 52% とカテーテル非留置症例の方が高率であった。しかしカテーテル留置症例の R-plasmid 検出株数が 14 株と少ないため，パーセントのみでは正しく評価できず，また推計学的な検定では有意の差ではない（$\chi^2=2.6720$，$p=0.1021$）ため，特に意義のあるものとはいえないが，カテーテル非留置症例の方に R-plasmid が高く検出されたことは当初の予想とやや異なるものであるので，このような結果の得られた原因について検討してみた。まず両群から分離された耐性株の耐性パターンに関して，もしカテーテル非留置例の方が多剤耐性傾向の強い場合には，このような結果になることも予想されたので，この点について検討してみたが，両者間に特に相違はみられなかった。そこで次に，カテーテル留置期間と耐性菌および R-plasmid 検出率の関係について検討したところ，カテーテル留置期間が短い場合（特に 1 週間以内）には，耐性菌の検出頻度，R-plasmid の検出頻度ともに非留置症例に比べて低いことが判明し，今回検討した症例にはこのような症例が多数含まれていたため上記の結果になったものと考えられる。

しかし，この場合もカテーテル短期間留置症例の耐性菌や R-plasmid の検出率がどうしてカテーテル非留置症例よりも低いのかははっきりせず，この点に関して，著者は現時点ではカテーテル留置期間が短い場合には，感受性のよく保たれた細菌が contamination に近い形で侵入しやすく，そのため検出細菌の母数が増えて見掛け上，耐性菌や R-plasmid の検出頻度が低下するので

はないかと考えているが，このようなことが実際に起こるのかどうかは興味深い点である。今後カテーテル留置と R-plasmid 検出率との関連性についてはさらに詳細に検討したいと思っている。

稿を終えるに臨み，終始懇切丁寧なる御指導ならびに御校閲を賜りました恩師，(故) 西浦常雄教授，河田幸道教授，坂 義人助教授ならびに嫌気性菌実験施設上野一恵教授に深謝いたします。また本研究において技術的指導や数々の御協力をいただいた兼松 稔講師をはじめとする教室員諸兄，接合伝達受容菌を分与下さった群馬大学医学部微生物学教室に深謝いたします。

本論文の要旨は第 32 回および第 34 回日本化学療法学会総会，第 14 回国際化学療法学会において発表した。

文 献

1) 河田幸道：尿由来大腸菌の病原性に関する研究。日泌尿会誌 62：308～324, 1971
2) 兼松 稔，坂 義人，西浦常雄：泌尿器科外来患者における尿路感染症菌の薬剤感受性について。第 31 回日本化学療法学会西日本支部総会 (演)，佐賀，1983
3) 橋本 一：腸内細菌の薬剤耐性。臨床と細菌 9：399～413, 1982
4) HUGHES C, BAUER E, ROBERTS A P : Spread of R plasmid among *Escherichia coli* causing urinary tract infections. Antimicrob Agents Chemother 20 : 496～502, 1981
5) 橋本 一：耐性遺伝のメカニズム。病態生理 5：692～697, 1986
6) 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
7) UTI 研究会 (代表：大越正秋)：UTI薬効評価基準 (第 3 版)。Chemotherapy 34 : 408～442, 1986
8) 木村光子，沢田和江，川原 薫，菅野理恵子，池田達夫，木村貞夫：*Serratia marcescens* の Aminoglycoside 抗生物質耐性と R-plasmid に関する研究。Chemotherapy 34 : 115～124, 1986
9) 三橋 進編：薬剤と耐性菌，第 3 章 多剤耐性菌の出現とその遺伝学的問題，87～103 頁，南江堂，1970
10) 耐性菌感染症研究会：薬剤耐性菌の疫学と R 因子の分布，第 2 報：大腸菌の薬剤耐性について。Chemotherapy 28 : 900～903, 1980
11) 和志田裕人，渡辺秀輝，神野浩彰，竹内賢次：尿由来大腸菌の感受性分布。泌尿紀要 26：791～796, 1980
12) 山口恵三，草野展周，石井良和：臨床検査細菌室からみた耐性菌の趨勢。病態生理 5：708～714, 1986
13) 西浦常雄，清水保夫，熊本悦明，江藤耕作，熊沢浄一，折笠精一，松村陽右，小幡浩司，藤田民夫，大川光央：留置カテーテルによる感染症について。日泌尿会誌 70：990～995, 1979
14) 河田幸道，西浦常雄：複雑性尿路感染症における病態と薬効との関係について。日泌尿会誌 70：523～533, 1979
15) DAVIS J, SMITH D I : Plasmid-determined resistance to antimicrobial agents. Ann Rev Microbiol : 469～518, 1978
16) 中谷林太郎編：薬剤耐性，3．薬剤耐性菌の現状 (中谷林太郎)，47～116 頁，講談社サイエンティフィック，1976
17) 日本細菌学会教育委員会編：R プラスミドの分子遺伝学的実験法，II．R プラスミドの接合伝達と分類，8～16 頁，菜根出版，1983
18) 三橋 進編：薬剤と耐性菌，第 4 章 薬剤耐性菌の遺伝，104～131 頁，南江堂，1970
19) 西野武志：抗生物質耐性と変異株。病態生理 5：684～691, 1986
20) MITSUHASHI S (ed.) : Bacterial drug resistance R plasmid. Kodansha, 7. Drug Resistance Patterns in Bacteria (MITSUHASHI S), pp. 83～90, 1980
21) MITSUHASHI S(ed.) : Transferable drug resistance factor R. University of Tokyo Press, 2. Epidemiology of R Factors (MITSUHASHI S), pp. 25～38, 1971
22) MACRINA F L, KOPECKO D J, JONES K R : A multiple plasmid-containing *Escherichia coli* strain. Plasmid 417～420, 1978
23) 鈴木成美，中沢昭三，潮田敏康：昭和 26 年以降 5 カ年間 京都地方に流行せる赤痢菌の薬剤耐性の推移に就いて。Chemotherapy 3 : 336～338, 1956
24) 三橋 進：腸内細菌の薬剤耐性とその遺伝。科学 30：628～633, 1960
25) MITSUHASHI S, HASHIMOTO H, EGAWA R, TANAKA T, NAGAI Y : Drug resistance of enteric bacteria, IX. Distribution of R factors in gram-negative bacteria from clinical sources. J Bact 93 : 1242～1245, 1967
26) HARADA K, SUZUKI M, KAMEDA M, MITSUHASHI S : On the drug-resistance of enteric bacteria, 2) Transmission of the drug-resistance among Enterobacteriaceae. Jap J Exp Med 30 : 289～299, 1960
27) TANAKA T, NAGAI Y, HASHIMOTO H, MITSUHASHI S : Distribution of R factors among *Shigella* strains isolated in Japan. Jap J Microbio 13 : 187～191, 1969

STUDY ON DRUG RESISTANCE AND R-PLASMID DISTRIBUTION OF *E. COLI* ISOLATED FROM URINARY TRACT INFECTIONS

PANG-KUANG CHANG
Department of Urology (Director : Prof. YUKIMICHI KAWADA),
Gifu University School of Medicine,
40 Tsukasa-machi, Gifu 500, Japan

Drug-resistant strains isolated from urinary tract infections (UTI) have become an increasingly serious problem because of their resistance to chemotherapy and as potential donors of their R-plasmid to sensitive strains. We therefore investigated drug resistance and distribution of R-plasmid isolated from UTI patients.

We studied 366 strains of *Escherichia coli* isolated from clinical specimens in our department from 1982 to 1985. Ampicillin (ABPC), tetracycline (TC), chloramphenicol (CP), streptomycin (SM), kanamycin (KM), sulfanilamide (SA), nalidixic acid (NA), and rifampicin (RFP) were used for the determination of MICs and the selection of transconjugants.

Among these 366 strains, ABPC- and SM-resistant strains (41%) were isolated most frequently, followed by those with SA (40%), TC (35%), CP (18%), KM and NA (9%) resistance. No RFP-resistant strains were isolated.

Multiple drug-resistant strains carried transferable R-plasmid more frequently than single- or double-resistant strains. Among these multiple drug-resistant strains, those isolated from complicated UTI carried transferable R-plasmid more frequently than those from uncomplicated UTI. The catheterized group and catheter-free group had almost the same incidence of drug resistance among the complicated UTI strains, but the catheter-free group carried transferable R-plasmid more frequently than the catheterized group. From the results obtained in this study, we conclude that the incidence of drug-resistant strains and R-plasmid carriers varies according to the type of urinary tract infection.