

臨床分離株のニューキノロン耐性菌，多剤耐性菌の経年的推移に関する検討

II. グラム陰性桿菌その1

出口 浩一・横田のぞみ・古田 昌美
 中 根 豊・福島よし子・深山 成美
 石原 理加

東京総合臨床検査センター研究部*

小田 清次・田中 節子・佐藤久美子
 同 検査第II部

(平成2年4月23日受付・平成2年6月8日受理)

1985年分離株，1988年分離株の *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, そして *Haemophilus influenzae*, いわゆる4 major GNR 350株の感受性(MIC)測定成績の比較から，次の結論を得た。

1. ニューキノロン耐性が出現してきた菌種は，*E. coli*, *K. pneumoniae* であるが，*E. coli* のニューキノロン耐性株の多くは，外来を受診した婦人の急性単純性尿路感染症由来株であることから，市中感染症レベルにおいて，ニューキノロン耐性菌が増加することを示唆していた。
2. *E. coli* の cephems 耐性が増加しており，*E. coli* の多剤耐性が，増加することが危惧される。
3. *P. mirabilis*, *H. influenzae* のニューキノロン耐性株は認められない。
4. *H. influenzae* の β -ラクタマーゼ産生株の経年的増加傾向は認められない。

Key words: 臨床分離大腸菌のニューキノロン耐性菌，多剤耐性大腸菌の経年的推移

本稿では *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, そして *Haemophilus influenzae*, いわゆる4 major GNRの成績を報告する。

I. 検 討 方 法

本検討報告のI. に詳細を記載したり。

II. 成 績

Tables 1~4に *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *H. influenzae* に対する9薬剤のMIC-range, MIC₅₀ (50% MIC), MIC₈₀ (80% MIC), MIC₉₀ (90% MIC)を，Table 5に new-QLs に対するI株，R株の経年的な割合を，そしてTable 6に *E. coli* の耐性パターンの経年的比較を示した。

1. *E. coli*

New-QLs 4薬剤のMIC-rangeの最小値は，1985年分離株に比較して1988年分離株にも変化はないが，最大値が大幅に上昇しており，4薬剤のMIC₉₀が共通して上昇した。Table 5に示したように，1985年分離株には enoxacin (ENX) にI株が2% (1株) 認められ

るだけであるが，1988年分離株には4薬剤に対するI株とR株が合わせて10% (ENXは12%) 認められる。これら new-QLs 4薬剤に対して，共通にIまたはRを示した5株中の4株は，婦人の急性単純性尿路感染症由来である。

β -ラクタム系4薬剤のMIC-rangeの最小値に変化はないが，sultamicillin (SBTPC), cefaclor (CCL), そして ceftemam (CFTM) の最大値が大幅に上昇しており，これに伴いMIC₈₀, MIC₉₀に，経年的な変化が認められる。

Table 6は，1985年分離株，1988年分離株の耐性パターンである。これで見ると1985年分離株は，ampicillin (ABPC) 耐性の割合が高く，耐性パターンは1~6分類で比較的単純であるが，1988年分離株には前述の new-QLs に対するI株とR株，SBTPCに対するR株，さらにCFTMに対するI株が登場しており，CCLに対するR株も増加している。この結果耐性パターンは1~16分類となり，複雑な様相を示した。

*東京都足立区千住仲町 14-4

Table 1. Susceptibility distribution of clinical isolates of *E. coli*

Organism	Year of isolated	No. of strains	Antibiotic	Range	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
					50%	80%	90%
<i>Escherichia coli</i>	1985	50	PPA	0.78 ~ 25	1.56	3.13	3.13
			NFLX	$\leq 0.025 \sim 0.78$	0.05	0.1	0.1
			OFLX	$\leq 0.025 \sim 0.78$	0.05	0.1	0.1
			ENX	0.05 ~ 3.13	0.1	0.39	0.39
			CPFX	$\leq 0.025 \sim 0.2$	≤ 0.025	0.05	0.05
			ABPC	1.56 ~ >100	3.13	>100	>100
			SBTPC	1.56 ~ 25	3.13	6.25	12.5
			CCL	1.56 ~ 50	6.25	12.5	25
	CFTM	0.1 ~ 1.56	0.2	0.39	0.39		
	1988	50	PPA	0.78 ~ >100	1.56	3.13	50
			NFLX	$\leq 0.025 \sim >100$	0.05	0.2	6.25
			OFLX	$\leq 0.025 \sim 50$	0.05	0.2	3.13
			ENX	0.05 ~ >100	0.1	0.39	12.5
			CPFX	$\leq 0.025 \sim 25$	≤ 0.025	0.05	3.13
			ABPC	1.56 ~ >100	50	>100	>100
			SBTPC	1.56 ~ 100	6.25	25	25
CCL			1.56 ~ >100	6.25	>100	>100	
CFTM	0.1 ~ 12.5	0.2	3.13	6.25			

Table 2. Susceptibility distribution of clinical isolates of *K. pneumoniae*

Organism	Year of isolated	No. of strains	Antibiotic	Range	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
					50%	80%	90%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1985	50	PPA	1.56 ~ 50	3.13	3.13	6.25
			NFLX	$\leq 0.025 \sim 3.13$	0.1	0.2	0.2
			OFLX	$\leq 0.025 \sim 1.56$	0.05	0.1	0.2
			ENX	0.1 ~ 6.25	0.2	0.39	0.78
			CPFX	$\leq 0.025 \sim 0.78$	≤ 0.025	0.05	0.05
			ABPC	12.5 ~ >100	100	>100	>100
			SBTPC	0.78 ~ 50	3.13	6.25	12.5
			CCL	0.78 ~ 25	1.56	3.13	3.13
	CFTM	$\leq 0.025 \sim 0.39$	0.05	0.1	0.2		
	1988	50	PPA	1.56 ~ >100	3.13	6.25	12.5
			NFLX	$\leq 0.025 \sim 12.5$	0.1	0.2	0.78
			OFLX	$\leq 0.025 \sim 6.25$	0.1	0.1	0.78
			ENX	0.1 ~ 50	0.2	0.78	1.56
			CPFX	$\leq 0.025 \sim 6.25$	0.05	0.1	0.2
			ABPC	25 ~ >100	>100	>100	>100
			SBTPC	1.56 ~ >100	6.25	12.5	25
CCL			0.78 ~ 25	1.56	3.13	6.25	
CFTM	$\leq 0.025 \sim 0.39$	0.05	0.1	0.2			

Table 3. Susceptibility distribution of clinical isolates of *P. mirabilis*

Organism	Year of isolated	No. of strains	Antibiotic	Range	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
					50%	80%	90%
<i>Proteus mirabilis</i>	1985	25	PPA	1.56 ~ 6.25	3.13	3.13	6.25
			NFLX	≤ 0.025 ~ 0.2	≤ 0.025	0.05	0.05
			OFLX	≤ 0.025 ~ 0.1	0.05	0.05	0.1
			ENX	≤ 0.025 ~ 0.39	0.1	0.2	0.2
			CPFX	≤ 0.025 ~ 0.05	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
			ABPC	0.78 ~ >100	1.56	>100	>100
			SBTPC	1.56 ~ 12.5	3.13	6.25	6.25
			CCL	0.78 ~ 12.5	1.56	3.13	6.25
			CFTM	≤ 0.025 ~ 0.1	≤ 0.025	0.05	0.05
	1988	25	PPA	1.56 ~ 6.25	3.13	3.13	6.25
			NFLX	≤ 0.025 ~ 0.1	≤ 0.025	0.05	0.05
			OFLX	≤ 0.025 ~ 0.1	≤ 0.025	0.05	0.05
			ENX	≤ 0.025 ~ 0.2	0.05	0.1	0.1
			CPFX	≤ 0.025 ~ 0.05	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
			ABPC	0.78 ~ >100	1.56	100	>100
			SBTPC	0.78 ~ 12.5	3.13	3.13	6.25
			CCL	0.78 ~ 12.5	1.56	3.13	3.13
			CFTM	≤ 0.025 ~ 0.1	≤ 0.025	≤ 0.025	0.05

Table 4. Susceptibility distribution of clinical isolates of *H. influenzae*

Organism	Year of isolated	No. of strains	Antibiotic	Range	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
					50%	80%	90%
<i>Haemophilus influenzae</i>	1985	50	PPA	1.56 ~ 12.5	6.25	12.5	12.5
			NFLX	≤ 0.025 ~ 0.05	≤ 0.025	≤ 0.025	0.05
			OFLX	≤ 0.025 ~ 0.1	≤ 0.025	≤ 0.025	0.05
			ENX	≤ 0.025 ~ 0.2	0.05	0.05	0.1
			CPFX	≤ 0.025 ~ 0.05	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
			ABPC	0.1 ~ >100	0.39	12.5	>100
			SBTPC	0.2 ~ 3.13	0.78	1.56	1.56
			CCL	0.78 ~ 25	3.13	6.25	12.5
			CFTM	≤ 0.025 ~ 0.2	≤ 0.025	0.05	0.05
	1988	50	PPA	1.56 ~ 12.5	6.25	6.25	12.5
			NFLX	≤ 0.025 ~ 0.39	≤ 0.025	≤ 0.025	0.05
			OFLX	≤ 0.025 ~ 0.2	≤ 0.025	≤ 0.025	0.05
			ENX	≤ 0.025 ~ 0.78	≤ 0.025	≤ 0.025	0.1
			CPFX	≤ 0.025 ~ 0.2	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
			ABPC	0.1 ~ >100	0.39	12.5	100
			SBTPC	0.2 ~ 6.25	0.39	0.78	1.56
			CCL	0.78 ~ >100	3.13	6.25	12.5
			CFTM	≤ 0.025 ~ 0.39	≤ 0.025	≤ 0.025	0.05

Table 5. Annual comparison between strains of four major GNR insensitive and resistant to new quinolones

Organism	Year of isolated	No. of strains	NFLX		OFLX		ENX		CPFX	
			I ^(*)	R ^(*)	I	R	I	R	I	R
<i>Escherichia coli</i>	1985	50	0 ^(**)	0 ^(**)	0	0	2	0	0	0
	1988	50	2	8	6	4	4	8	6	4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1985	50	2	0	0	0	2	0	0	0
	1988	50	8	0	6	0	2	6	6	0
<i>Proteus mirabilis</i>	1985	25	0	0	0	0	0	0	0	0
	1988	25	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Haemophilus influenzae</i>	1985	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	1988	50	0	0	0	0	0	0	0	0

*¹⁾: Intermediate (insensitive new quinolones) MIC 3.13~12.5 µg/ml*²⁾: Resistant (new quinolones) MIC ≥25 µg/ml*³⁾: Percentage (%)Table 6. Annual change in resistance patterns of *Escherichia coli*

Year of isolation	No. of strains	Antibiotic										resistant pattern
		PPA	NFLX	OFLX	ENX	CPFX	ABPC	SBTPC	CCL	CFTM		
1985	3	S ^(*)	S	S	S	S	R ^(**)	S	S	S	S	1
	2	S	S	S	S	S	R	I ^(*)	S	S	S	2
	3	S	S	S	S	S	R	S	I	S	S	3
	5	S	S	S	S	S	R	I	I	S	S	4
	2	S	S	S	S	S	R	I	R	S	S	5
	1	I	S	S	I	S	S	S	S	S	S	6
1988	2	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	1
	1	S	S	S	S	S	R	I	S	S	S	2
	2	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	3
	2	S	S	S	S	S	R	I	I	S	S	4
	4	S	S	S	S	S	R	I	R	S	S	5
	1	S	S	S	S	S	R	R	I	S	S	6
	2	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	7
	7	S	S	S	S	S	R	I	R	I	S	8
	2	S	S	S	S	S	R	R	R	I	S	9
	1	I	S	S	S	S	R	S	S	S	S	10
	1	I	S	S	I	S	R	I	R	S	S	11
	1	R	I	I	I	I	R	I	R	S	S	12
	1	R	R	I	R	I	S	S	S	S	S	13
	1	R	R	I	R	R	S	S	S	S	S	14
	1	R	R	R	R	I	R	I	R	I	S	15
	1	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	16

*¹⁾: Susceptible strains

PPA	NFLX	MIC	NFLX	
ABPC	OFLX		≤1.56µg/ml	OFLX
SBTPC	ENX		ENX	
CCL	CPFX		CPFX	
	CFTM		CFTM	

*²⁾: Intermediate (insensitive) strains

PPA	NFLX	MIC	NFLX	
ABPC	OFLX		12.5~25µg/ml	OFLX
SBTPC	ENX		ENX	
CCL	CPFX		CPFX	
	CFTM		CFTM	

*³⁾: Resistant strains

PPA	NFLX	MIC	NFLX	
ABPC	OFLX		≥50µg/ml	OFLX
SBTPC	ENX		ENX	
CCL	CPFX		CPFX	
	CFTM		CFTM	

1988年に分離した *E. coli* は、new-QLS耐性に加えて cephems 耐性の増加傾向を示唆していた。

2. *K. pneumoniae*

New-QLS 4薬剤の MIC-range の最小値には、経年的な変化はないが、最大値が2~3管(4~8倍)高値へと移行しており、これに伴い4薬剤の MIC₉₀が共通して上昇した。これらは、ENX に対しては R株が存在するか、他の3薬剤に対しては1株であり、由来はいずれも慢性気道系感染症由来株である。

β -ラクタム系4薬剤の MIC range に、経年的な大きな変化は認められない。

3. *P. mirabilis*

検討した9薬剤の MIC-range に、経年的な変化は認められない。

4. *H. influenzae*

New-QLS 4薬剤の MIC-range の最小値には、経年的な変化はないが、最大値が1~3管(2~8倍)高値へと移行しているが、new-QLS 4薬剤に対する I または R株は、1988年分離株でも認められない。

β -ラクタム系4薬剤の MIC-range は、SBTPCが1管(2倍)、CCLが3管(8倍)、そして CFTM が1管(2倍)高値へと移行しているが、MIC₉₀に経年的な変化は少なく、*H. influenzae* の β -ラクタマーゼ産生株の、経年的な増加傾向は認められない。

III. 考 察

1985年分離株に比較して、1988年分離株の耐性菌の特徴は、new-QLS耐性株が *E. coli*, *K. pneumoniae* に登場したこと、そして *E. coli* の cephems 耐性の増加を挙げることができる。

1987年以降の自験例を順を追ってみると、new-QLS耐性 *E. coli* (I株とR株)が出現したのは、1988年後半と考えられる。1987年後半(7月~12月)に分離した入院患者由来 *E. coli* に対する norfloxacin (NFLX), ofloxacin (OFLX) の MIC₁₀₀ (100% MIC) は、各々 $\leq 0.39 \mu\text{g/ml}$ ²⁾、1988年前半(1月~5月)に分離した外来患者由来 *E. coli* に対する OFLX の MIC₁₀₀ は $0.78 \mu\text{g/ml}$ であり、本稿で取り挙げている I 株、R 株は、この時期には認められない³⁾。しかし、上述の1988年前半に分離した *E. coli* に対する OFLX の MIC₅₀ と MIC₉₀ の差は、3管差(8倍)に拡大しており、MIC 値の分布が右側の高い方に移行する傾向を、我々は指摘した³⁾。

橋本らは、new-QLS耐性には二つのタイプがあり、その一つは DNA gyrase の変異によるもので、それらは中等度耐性(本稿の I 株に相当)、もう一つは透過性の低下で porin 遺伝子の変異により生じ、これも中等

度耐性となる。そしてこれらの二つが重なると、高度耐性(本稿の R 株に相当)となるとしている⁴⁾。平井は、臨床分離株の new-QLS耐性機構は、DNA gyrase の耐性化が中心であり、これに膜透過性低下が加わるようなパターンが考えられるとしている⁵⁾。そして橋本は、1990年に発行された雑誌の座談会において、現状で検出される臨床分離株の new-QLS耐性菌は、DNA gyrase の変異によるものであると述べている⁶⁾。

橋本、平井らが述べている DNA gyrase の変異による new-QLS耐性株の MIC 値が、どの程度であるかは定かではないが、我々が1988年の後半に分離した *E. coli* の new-QLS耐性5株中の2株に対する供試4薬剤(NFLX, OFLX, ENX, ciprofloxacin (CPFX))の MIC 値は、各々 $\geq 25 \mu\text{g/ml}$ であり、これらの2株が DNA gyrase の変異による機構だけの耐性と断定するためには、さらに詳細な検討が求められていることを、示唆しているものと考えられた。そこで著者らは、これら new-QLS 高度耐性 *E. coli* の耐性機構を検討し、平井の報告を支持する成績を得た⁷⁾。これらは別稿で報告する。

1988年分離株にはさらに、cephems耐性 *E. coli* が高い割合に認められた。1980年以降の自験例をみると、これら cephems耐性 *E. coli* は、1980年代の後半から増加していることが考えられる。

1980年、1983年に分離した単純性尿路感染症由来の *E. coli* の CEZ に対する I 株 (MIC 値 $12.5 \mu\text{g/ml}$) は各々4%、R株 (MIC 値 $\geq 50 \mu\text{g/ml}$) は各々0%であるが^{8,9)}、1988年前半に分離した単純性尿路感染症由来 *E. coli* の CCL に対する I 株4%、R株16%であり³⁾、市中感染症レベルにおける cephems耐性 *E. coli* は、1980年代後半になって増加したことを示唆していた。一方、入院患者由来で尿以外の由来株も含めた1988年分離株を対象とした別報では¹⁰⁾、*E. coli* のセファマイシン耐性が高い割合で認められている。上述したことから、今後は new-QLS耐性に cephems耐性に加わり、*E. coli* の多剤耐性化が危惧された。これらのことから著者らは、上述の new-QLS 高度耐性株に加え、cephems耐性 *E. coli* の耐性機構を検討し、それらから高い β -lactamase activity などを認めている⁷⁾、これらは別稿で報告する。

上述したように、cephems耐性 *E. coli* は、セファマイシンにも耐性であるが、1987年以降に登場したいわゆる第三世代セフェム系経口薬剤にも耐性を示す³⁾。Neu は、米国においては変化した penicillin binding proteins (PBPs) を持つ *E. coli* が分離されていて、mecillinam耐性株は PBP 2 に対して最も起こりやす

いが、他のPBPsの変化は普通の臨床材料分離株にはみられない。しかし、PBPsの全体が変化するような耐性型が、 β -ラクタマーゼに安定な薬剤の使用量が増加するに伴い、将来は問題となろうと述べている¹¹⁾。さらに橋本は、前述の座談会において、 β -ラクタマーゼにより安定な薬剤やニューキノロン系薬剤の使用量が増加すると、細菌の方が自ら変異しなくては対応できないため、作用点の変化や透過性の低下の耐性機構を保有する耐性菌が出現してくる。近年は臨床分離株の耐性機構が、大きな変わり目にきてしていると述べている⁹⁾。

以上のことから、*E. coli*のnew-QLs耐性とcephems耐性は、従来の耐性型とは機構が異なる耐性菌であることが考えられる。

文 献

- 1) 出口浩一, 他9名: 臨床分離株のニューキノロン耐性菌, 多剤耐性菌の経年的推移に関する検討。I. グラム陽性球菌。Chemotherapy 38: 1013~1019, 1990
- 2) 出口浩一, 横田のぞみ, 古口昌美, 中根 豊, 深山成美, 西村由紀子, 小田清次, 田中節子, 佐藤久美子, 加藤三枝子, 福本寅雄: 新鮮臨床分離株に対するmonobactam系抗生物質の抗菌力。Jap. J. Antibiotics 41: 1600~1622, 1988
- 3) 出口浩一, 横田のぞみ, 古口昌美, 中根 豊, 福島よし子, 深山成美, 西村由紀子, 小田清次, 田中節子, 佐藤久美子, 加藤三枝子, 福本寅雄: 外来患者由来臨床分離株に対するcefteramの抗菌力。Jap. J. Antibiotics 42: 1216~1232, 1989
- 4) 橋本 一, 平井敬二, 佐竹幸子: 細菌感染症の化学療法の実状と将来。9. 薬剤はどう改良されたか。—合成抗菌剤の改良—。モダンメディア 34: 71~81, 1988
- 5) 平井敬二: キノロン(ピリドン)カルボン酸系薬剤耐性。臨床と微生物 14: 135~142, 1987
- 6) 橋本 一: 座談会, 病原体の耐性化防止策をめぐって(松本慶蔵 司会)。化学療法の領域 6: 510~524, 1990
- 7) 出口浩一, 横田のぞみ, 古口昌美, 中根 豊, 福島よし子, 深山成美, 西村由紀子, 小田清次, 岩谷芳人, 千田尚人, 関根敬治: 臨床分離Cephems耐性*E. coli*, CAZ耐性*P. aeruginosa*の耐性機構に関する検討。第37回日本化学療法学会西日本支部総会 p. 108, Dec, 1989 (和歌山)。
- 8) 出口浩一, 深山成美, 西村由紀子, 西家綾子, 小田清次, 佐藤慎一, 松本好弘, 池上亮裕, 横田のぞみ, 田中節子, 福本寅雄: 高頻度臨床分離株の主な抗菌性物質に対する感受性。経年的推移に関する検討 第3報。Jap. J. Antibiotics 38: 1603~1618, 1985
- 9) 出口浩一: 臨床分離高頻度分離菌株の主な抗菌性物質に対する感受性。Jap. J. Antibiotics 34: 1263~1277, 1981
- 10) 出口浩一, 横田のぞみ, 古口昌美, 中根 豊, 福島よし子, 深山成美, 西村由紀子, 小田清次, 田中節子, 佐藤久美子, 加藤三枝子: 新鮮分離グラム陰性桿菌に対するCefotetanのMIC測定成績。Jap. J. Antibiotics 42: 2363~2376, 1990
- 11) Neu H C: β -ラクタム系薬に対する菌の耐性— β -ラクタマーゼ, 細胞壁透過性およびペニシリン結合蛋白— β -ラクタム系薬。上田 泰, 清水喜八朗編, p. 60~76 南江堂, 1987

YEARLY CHANGES IN RESISTANCE TO NEW QUINOLONES AND
MULTIPLE DRUG-REGIMEUS IN CLINICAL ISOLATES

II: GRAM-NEGATIVE BACILLI PART I

Koichi Deguchi¹⁾, Nozomi Yokota¹⁾, Masami Koguchi¹⁾, Yutaka Nakane¹⁾,
Yoshiko Fukushima¹⁾, Shigemi Fukayama¹⁾, Rika Ishihara¹⁾, Seiji Oda²⁾,
Setsuko Tanaka²⁾ and Kumiko Sato²⁾

¹⁾: Research Section, Tokyo Clinical Research Center, 14-4 Senjunakamachi Adachi ku 120, Tokyo, Japan

²⁾: Clinical Laboratory, Second Department, Tokyo Clinical Research Center (Department of Microbiology)

We determinend MICs against 350 isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* and *Haemophilus influenzae* (four species of "4 major Gram negative bacilli") collected in 1985 and 1988 the and results were as follow:

1. New quinolone resistant strains were shown in *E. coli* and *K. pneumoniae*. New quinolone resistant *E. coli* strains were isolated from female patients with auto-infections of the urinary tract, suggesting that new quinolone resistant strains are increasing in the setting of community acquired infections.

2. Cephem-resistant *E. coli* (CREC) have been increasing, and an increase in multidrug-resistant *E. coli* is a cause for concerne.

3. No new quinolone resistant strains of *P. mirabilis* or *H. influenzae* were found in.

4. No yearly increase in β -lactamase producing *H. influenzae* was identified.