

【原著・基礎】

ベロ毒素産生性大腸菌 O157 の各種抗菌薬感受性と薬剤作用時の
verotoxin 遊離について高畑 正裕¹⁾・古田 要介¹⁾・山城 芳子¹⁾・満山 順一¹⁾
南 新三郎¹⁾・平田 浩子²⁾・山地恵美子²⁾・中山 誠²⁾¹⁾ 富山化学工業株式会社総合研究所*²⁾ 日本大学医学部第三外科

(平成 10 年 6 月 29 日受付・平成 10 年 10 月 9 日受理)

ベロ毒素産生性大腸菌 O157 として臨床分離された *Escherichia coli* 35 株の verotoxin (VT) 産生性、各種抗菌薬に対する感受性および薬剤作用時の VT 遊離量を調べた。

1) VT 産生性

検討した 35 株中 3 株が VT-2 を産生し、他の 32 株は VT-1, VT-2 両方の毒素を産生していた。

2) 薬剤感受性

β -ラクタム系 21 薬剤、キノロン系 5 薬剤、その他 10 薬剤の抗菌活性を測定した結果、35 株中 1 株がペニシリン耐性株であったが、その他はすべての薬剤に感受性であった。今回検討した株は、キノロン系抗菌薬、カルバペネム系抗菌薬、ceftazidime (CAZ)、cefaclor (CCL) を除くセフェム系抗菌薬、およびモノバクタム系抗菌薬の aztreonam (AZT) に高い感受性を示した。使用した抗菌薬のうち、tosufloxacin (TFLX) の MIC₅₀ 値がもっとも小さく 0.0125 μ g/ml であった。

3) VT 遊離

VT-1, VT-2 両毒素を産生する *E. coli* TK-806 株に TFLX, kanamycin (KM), fosfomycin (FOM) を 2 MIC および 100 MIC 濃度で 2 時間作用させ、培養上清中の VT 遊離量を測定した。その結果、TFLX および KM の 2 MIC, 100 MIC 作用後の培養上清中の VT 遊離量は薬剤無添加時とほぼ同じであったが、FOM では 2 MIC で 64 倍、100 MIC で 48 倍の VT 遊離が認められた。

以上、今回検討したベロ毒素産生性大腸菌 O157 のほとんどの株は、VT-1 および VT-2 の両毒素を産生し、良好な薬剤感受性を示した。また、キノロン系薬剤の TFLX 作用時の VT 遊離量は FOM より少なかった。

Key words: ベロ毒素産生性大腸菌, O157, verotoxin, 薬剤感受性, 毒素遊離

ベロ毒素産生性大腸菌 O157 による集団食中毒は、社会的な問題として大きな波紋を広げている。本菌は腸管出血性大腸菌の一種であり、その主要な病原因子は verotoxin (VT) である¹⁾。VT は赤痢菌の産生する志賀毒素類似の毒素であり、真核細胞の 60 S リボソームを酵素的に失活させ、蛋白合成を阻害することにより毒性を示す²⁾。特に予後不良となる溶血性尿毒症症候群 (hemolytic uremic syndrome: HUS) は、出血性大腸炎により腸管上皮が破壊され血流に入った VT が腎の遠位尿細管に結合して起こる急性腎炎と考えられており、小児と老人で多発するため治療学的に重要な問題となっている³⁾。

抗菌薬使用に関しては、赤痢、コレラの病状を悪化させたという過去の臨床上の経験から、ベロ毒素産生性大腸菌などの毒素産生菌による感染症に対して、慎重に行うべきとの意

見がある⁴⁾。これは薬剤で細菌が死滅することにより、菌体内の毒素が一時に遊離し、症状が悪化すると報告^{5,6)}にもとづいている。しかし、1990 年に発生した埼玉県の園児らを中心とした O157 の集団感染において、早期の抗菌薬治療は有用であったと報告⁷⁾されている。VT 産生陽性のベロ毒素産生性大腸菌に対して抗菌性化学療法を実施する場合、発症早期にいかに菌体から VT を遊離させず速やかに除菌するかが大きな課題であると考えられる。

今回、ベロ毒素産生性大腸菌の抗菌薬による化学療法の基礎研究として、臨床分離ベロ毒素産生性大腸菌 35 株を用いて、各種薬剤の抗菌活性および抗菌薬作用時の VT 遊離について検討したので報告する。

I. 材料と方法

1. 使用菌株

*富山県富山市下奥井 2-4-1

1996年に臨床材料(便)から分離され、病原大腸菌免疫血清「生研」(デンカ生研)で陽性と判定されたベロ毒素産生性大腸菌 O157 35 株を用いた。薬剤作用時の VT 遊離量の検討には、verotoxin-1 (VT-1), verotoxin-2 (VT-2) を共に産生する TK-806 株を用いた。

2. VT 産生の確認

VT-1, VT-2 産生を *Escherichia coli* VT 検出用キット・ベロトックス-F「生研」(デンカ生研)を用いて調べた。すなわち、90 µg/ml 濃度の lincomycin を含有する Brain Heart Infusion agar (栄研化学)斜面に菌を接種し、一夜培養後、被験菌を 5,000 単位/ml に polymyxin B (PL-B) を加えた生理食塩液 1 ml に懸濁した。37°C で 30 分間振盪培養後、培養液を 3,000 rpm で 30 分間遠心した上清を検体とした。検体を添付の操作法に従い試験し、ラテックス沈降像を模式図の基準に従い判定、(+)以上を陽性とした。また、用いた試験株における VT-1, VT-2 産生遺伝子の有無について PCR 法により chromosome DNA の一部を増幅し調べた。なお、PCR には Kobayashi らの報告¹⁾した VT 型別用混合プライマー (Table 1) を用いた。

3. 使用薬剤

Tosufloxacin (TFLX), ofloxacin (OFLX), levofloxacin (LVFX), norfloxacin (NFLX), fleroxacin (FLRX), tetracycline (TC), minocycline (MINO), chloramphenicol (CP), clarithromycin (CAM), erythromycin (EM), gentamicin (GM), kanamycin (KM), tobramycin (TOB), fosfomycin (FOM), PL-B, flomoxef (FMOX), ceftazidime (CAZ), cefoperazone (CPZ), cefozopran (CZOP), cefotiam (CTM), cefazolin (CEZ), cefteram (CFTM), cefaclor (CCL), cefditoren (CDTR), cefdinir (CFDN), cefixime (CFIX), ampicillin (ABPC), carbenicillin (CBPC), amoxicillin (AMPC), piperacillin (PIPC), ampicillin/sulbactam (ABPC/SBT), piperacillin/tazobactam (PIPC/TAZ), imipenem (IPM), meropenem (MEPM), aztreonam (AZT) を用いた。なお、CFTM, CDTR, TFLX, LVFX, FLRX は、富山化学工業株式会社で合成した。CCL, NFLX, MINO, EM, GM, KM, TOB は Sigma 社から、TC は和光純薬社から購入した。CFDN, CFIX, CP, CAM は市販品より抽出した。他は市販の注射用製剤をそのまま用いた。

いずれの薬剤も使用直前に溶解した。

4. 各種薬剤に対する感受性の測定

日本化学療法学会標準法²⁾にもとづき、測定培地として Mueller-Hinton agar (Difco) を用い、MIC を測定した。FOM の場合は Nutrient agar (栄研)を用いた。

5. 遊離 VT 量の測定

Heart Infusion agar (HIA: 栄研)平板上で 37°C 一夜培養した菌を約 1×10^8 CFU/ml となるように Mueller-Hinton broth (MHB: Difco) に懸濁した。なお、菌量は試験開始時より VT が十分検出できる 1×10^8 CFU/ml とした。菌液を 30 分静置後、菌液 9 容に対し各薬剤の終濃度の 10 倍 (20 MIC, 1,000 MIC) 溶液 1 溶を加えた。薬剤添加 2 時間後に培養液を採取し、メンブランフィルター (0.2 µm: ミリポア) で濾過後、その濾液を VT 測定用試料とした。また、同時に生菌数を HIA を用いた混釈法で測定した。FOM の場合は、Nutrient broth (栄研)を用いた。

培養液中の VT 量は、Vero 細胞を用いた bioassay 法で測定した³⁾。VT 測定用試料を vero 細胞培養培地である 5% FCS 添加 E-MEM (日水)を用い、公比 10 倍で希釈した。各希釈溶液の 100 µl を 96 well マイクロプレート (CORNING) に移入後、Vero 細胞 1×10^5 cells/ml 溶液 100 µl を添加し、炭酸ガス培養装置内で 5% CO₂, 37°C の条件下で 48 時間培養した。培養終了時に XTT 溶液 (XTT: Sigma 1 mg/ml, phenazine methosulfate: 和光純薬 25 µM) 50 µl を加え、3 時間インキュベーション後、測定波長 450 nm で吸光度を測定し、細胞の生死を判定した⁴⁾。VT 量はベロトックス-F (生研)の VT 標品を用いて検量線を作成して換算し、2 MIC 濃度の TFLX, FOM は 3 回の試験結果を、その他は 2 回の試験結果を平均した。

なお、本試験における VT-1, VT-2 の検出限界は 0.1 ng/ml と 0.02 ng/ml であり、標品として用いた VT-1, VT-2 の Vero 細胞に対する IC₅₀ 値は、5.06 pg/ml と 0.83 pg/ml であった。また、使用した TK-806 株に対する TFLX, KM および FOM の MIC は、0.025, 3.13, 25 µg/ml であった。

6. 走査型電子顕微鏡観察

TFLX, KM および FOM の 100 MIC で 1 または 6 時間作用させた菌を走査型電子顕微鏡 (日立 S-4500) で観察した。電子顕微鏡試料の作製は常法に従って行った。すなわち、MHB にて振盪培養した対数増殖期の

Table 1. PCR primer used to amplify the fragment of verotoxin gene

Toxin type	PCR product size (bp)	Primer	
		sense	antisense
VT-1	811	5' agttaaagtgggtggcgaa	5' gactcttccatctgcgg
VT-2	471	5' ttggatctctattcccg	5' tctctggctcattgtatta

菌に薬剤を 1 または 6 時間作用させ、菌体を 12,000 rpm で遠心集菌した。Kerenerger buffer で洗浄し、1.5% グルタルアルデヒド (和光純薬) で 1 時間、さらに 1% オスミウム酸 (和光純薬) で 18 時間固定、アルコール脱水後、酢酸イソアミルで置換し、試料を臨界点乾燥および金蒸着を行って観察・撮影した。

II. 結 果

1. VT 産生性

今回検討した 35 株に対するベロトックスによる VT の検出結果および PCR 法で確認した VT 産生遺伝子有無の結果を Table 2 に示す。また、VT 産生遺伝子確認におけるアガロース電気泳動像の一例を Fig. 1 に示す。ベロトックスによる VT の検出結果と PCR 法による産生遺伝子の確認結果は全株で一致した。35 株中 3 株は

Table 2. Results of Verotoxin-F and PCR against verotoxin producing *Escherichia coli* O157

Strain no.	Results of Verotoxin-F		Results of PCR	
	VT-1	VT-2	VT-1 gene	VT-2 gene
1	+	+	+	+
2	+	+	+	+
3	+	+	+	+
4	+	+	+	+
6	-	+	-	+
7	-	+	-	+
9	+	+	+	+
10	+	+	+	+
11	+	+	+	+
12	+	+	+	+
13	+	+	+	+
14	+	+	+	+
16	+	+	+	+
18	+	+	+	+
19	+	+	+	+
20	+	+	+	+
21	+	+	+	+
22	+	+	+	+
23	+	+	+	+
24	+	+	+	+
25	+	+	+	+
26	+	+	+	+
27	+	+	+	+
28	+	+	+	+
29	+	+	+	+
30	+	+	+	+
31	+	+	+	+
32	+	+	+	+
33	+	+	+	+
34	+	+	+	+
35	+	+	+	+
36	+	+	+	+
37	-	+	-	+
38	+	+	+	+
39	+	+	+	+

A missing numbers = not verotoxin producing *Escherichia coli* O157

VT-2 のみの産生が、他の 32 株では VT-1, VT-2 の両方とも産生しているのが確認された。本試験で使用した TK-806 株 (Fig. 1 No. 31 株) は VT-1, VT-2 をともに産生していた。

2. 薬剤感受性

臨床分離ベロ毒素産生性大腸菌 O157 35 株に対する各種薬剤の MIC 値の分布および MIC₅₀, MIC₉₀ 値を Table 3 に示す。

ペニシリン系薬剤に耐性な株 (MIC: >100 μg/ml) が 1 株認められたが、その他の株はすべての薬剤に対して感受性を示した。

今回検討した株はキノロン系抗菌薬にもっとも高い感受性を示し、MIC₉₀ 値は 0.0125~0.1 μg/ml で、TFLX の MIC₉₀ 値 (0.0125) がもっとも小さかった。β-ラクタム系薬では、カルバペネム系、CEZ, CCL を除いたセフェム系抗菌薬、モノバクタム系抗菌薬の AZT に対する感受性が高く、それぞれの MIC₉₀ 値は 0.025~0.20 μg/ml, 0.05~0.39 μg/ml, 0.1 μg/ml であった。その他の抗菌薬に対する MIC₉₀ 値は、MINO 1.56 μg/ml, KM 1.56 μg/ml, FOM 12.5 μg/ml, EM 50 μg/ml, PL-B 1.56 μg/ml であった。

3. 薬剤作用時の VT 遊離

10⁸CFU/ml の TK-806 株に殺菌効果が確実に現れると思われる 2 MIC 濃度、ならびに腸管内での薬剤との高濃度接触を考えて 100 MIC 濃度の TFLX, KM および FOM を作用させ、VT 遊離量を作用前の VT 量と比較して Fig. 2 に示す。

2 時間後の薬剤無添加時の遊離 VT 量は、培養開始時の値 (VT-2 換算 2.69 μg/ml) と比べ 5.7 倍の値を示し、2 MIC 濃度の TFLX, KM 作用時では、それぞれ 2.6 倍、4.1 倍の値で薬剤無添加の場合と変わらなかった。FOM 作用時では、薬剤添加前の 64 倍の VT 遊離が見られた。100 MIC 濃度では、TFLX で 3.9 倍、KM で 5.4 倍、FOM で 48 倍であり 2 MIC 濃度添加時と同傾向であった。

2 MIC 濃度添加時の 2 時間後の菌数は TFLX で約

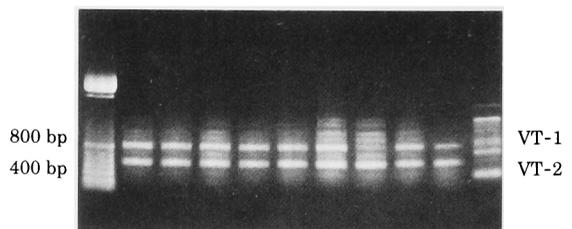


Fig. 1. Example of agarose gel electrophoresis of PCR products.

M.W.: Molecular weight marker. #: Strain No.. Strain No. 40 was not O157. Strain No. 37 produced only VT-1. Other strains produced both VT-1 and VT-2.

Table 3. Antibacterial activities of drugs against verotoxin-producing *Escherichia coli* O157 (35 strains)

Antibacterial agents	Range ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₁ ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₂ ($\mu\text{g/ml}$)
Tosufloxacin	0.0125 - 0.025	0.0125	0.0125
Ofloxacin	0.05 - 0.10	0.10	0.10
Levofloxacin	0.025 - 0.05	0.05	0.05
Norfloxacin	0.05 - 0.10	0.10	0.10
Fleroxacin	0.10	0.10	0.10
Tetracycline	1.56	1.56	1.56
Minocycline	0.78 - 1.56	1.56	1.56
Chloramphenicol	6.25 - 12.5	6.25	6.25
Clarithromycin	25 - 50	25	25
Erythromycin	25 - 50	50	50
Gentamicin	0.39	0.39	0.39
Kanamycin	1.56	1.56	1.56
Tobramycin	0.39 - 1.56	0.39	1.56
Fosfomicin	3.13 - 25	12.5	12.5
Polymyxin B	0.39 - 1.56	0.78	1.56
Flomoxef	0.05 - 0.10	0.05	0.05
Ceftazidime	0.10 - 0.20	0.20	0.20
Cefoperazone	0.10 - 0.39	0.20	0.20
Cefozopran	0.05 - 0.10	0.10	0.10
Cefotiam	0.10 - 0.20	0.20	0.20
Cefazolin	0.78 - 3.13	1.56	1.56
Cefteram	0.20	0.20	0.20
Cefaclor	0.78 - 3.13	1.56	3.13
Cefditoren	0.20 - 0.39	0.39	0.39
Cefdinir	0.20 - 0.39	0.20	0.20
Cefixime	0.20 - 0.39	0.20	0.39
Ampicillin	3.13 - >100	3.13	6.25
Carbenicillin	3.13 - >100	12.5	12.5
Amoxicillin	3.13 - >100	3.13	6.25
Piperacillin	0.78 - >100	1.56	1.56
Ampicillin/sulbactam	3.13 - 25	3.13	6.25
Amoxicillin/clavulanic acid	3.13 - 12.5	3.13	6.25
Piperacillin/tazobactam	1.56 - 6.25	1.56	3.13
Imipenem	0.20	0.20	0.20
Meropenem	0.025	0.025	0.025
Aztreonam	0.05 - 0.20	0.10	0.10

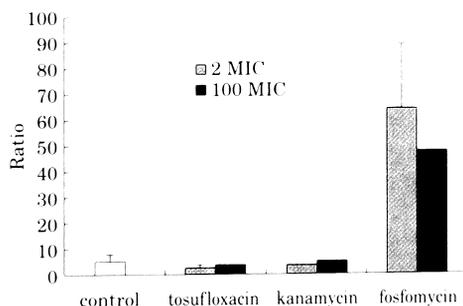


Fig. 2. The amounts of verotoxin released from *Escherichia coli* TK-806 (O157) after exposure to tosufloxacin, kanamycin and fosfomicin for 2 h. Tosufloxacin, kanamycin and fosfomicin were used at the concentration of 2 MIC and 100 MIC. The amounts of released verotoxin are presented as a ratio of before and after exposure to drugs.

$1/10^4$ に減少した。FOM では約 $1/50$ に減少したが、KM 作用時には薬剤無添加と同様の生菌数推移を示した (Fig. 3)。100 MIC 濃度添加時の 2 時間後の菌数は TFLX および FOM で約 $1/10^6$ に減少した。また、KM では約 $1/10^7$ に減少した (Fig. 4)。

4. 走査型電子顕微鏡観察

TFLX, KM および FOM の 100 MIC で作用させた菌の走査型電子顕微鏡像を Fig. 5 に示す。TFLX, KM は 6 時間作用させたが溶菌像は観察されなかった。FOM では 1 時間で強い溶菌像が観察され、6 時間では菌体が崩れ観察用試料が作製できなかった。

III. 考 察

今回、VT 産生陽性の臨床分離ベロ毒素産生性大腸菌 O157 35 株を用いて、各種薬剤に対する感受性および薬剤作用時の遊離 VT 量を検討した。その結果、感

受性は TFLX をはじめとするキノロン系薬剤がもっとも高く、次いで β -ラクタム系薬剤のカルバペネム系とセフェム系薬剤の順であった。また、使用した 35 株の中にはペニシリン系薬剤耐性株が 1 株認められたが、他の株はすべての薬剤に感受性であった。この結果は、伊藤らの O157 での検討成績¹²⁾と良く一致しており、1994 年に尿路感染症患者から分離された大腸菌の薬剤感受性報告¹³⁾ (ペニシリン系薬剤耐性株: 約 20%, キノロン系薬剤耐性株: 約 6%) とほぼ一致し、ベロ毒素産生性大腸菌 O157 は現状では一般の *E. coli* と比べ特別な薬剤感受性を示すことはないと考えられた。

今回、TFLX, KM, FOM の試験濃度を、殺菌性が確実に現れる濃度として 2 MIC を、また、後述するように腸管内薬剤濃度が高濃度であると想定されることから 100 MIC を設定した。薬剤作用時の VT 遊離は薬

剤間で大きな差が認められ、2 MIC および 100 MIC 濃度において TFLX, KM は対照群と同程度の低い遊離量しか示さなかったが、FOM では多量の毒素遊離が認められた。殺菌作用の強さは、2 MIC 濃度で TFLX, FOM, KM の順であり、100 MIC 濃度では各薬剤とも強い殺菌性を示したが、毒素遊離と殺菌作用には相関が認められなかった。

100 MIC の薬剤を作用させた時の菌体の電子顕微鏡観察から、FOM 作用時には短時間内での溶菌がみられ、TFLX, KM 作用時には溶菌が認められなかった。毒素遊離量は菌が死滅する時の溶菌の程度と相関する結果であった。

ところで薬剤作用後の VT 遊離についての報告には、ST 合剤が菌の VT 産生を増大させ、逆に CPFX が VT 産生を抑制するとの報告¹⁴⁾がある。最近、伊藤らはキ

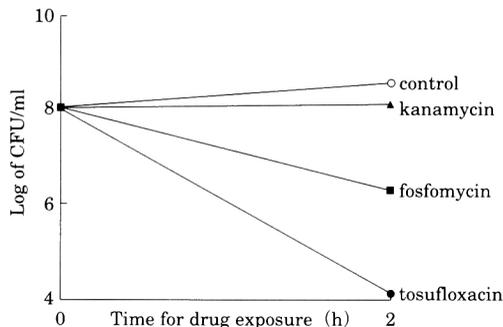


Fig. 3. Reduction of viable cells of *Escherichia coli* TK-806 (O157) after exposure to 2 MIC of tosofloxacin, kanamycin and fosfomycin for 2 h.

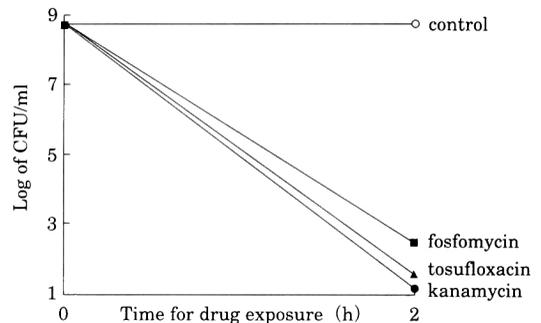


Fig. 4. Reduction of viable cells of *Escherichia coli* TK-806 (O157) after exposure to 100 MIC of tosofloxacin, kanamycin and fosfomycin for 2 h.

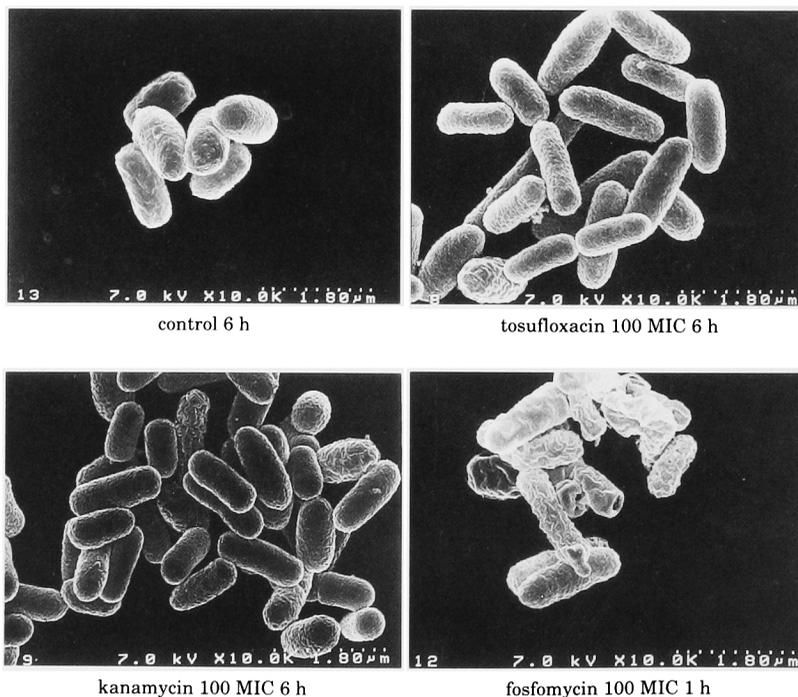


Fig. 5. Morphological alteration of *Escherichia coli* TK-806 (O157) after exposure to tosofloxacin, kanamycin and fosfomycin.

ノロン剤の NFLX が sub MIC 濃度で VT-2 産生を誘導すること、また FOM など溶菌作用の強い薬剤では VT が多量に遊離することを報告¹²⁾している。今回の検討において伊藤らの報告と同様に FOM 作用時 (100 MIC) には多量の VT 遊離が認められた。一方、キノロン系抗菌薬である TFLX 作用時には O157 に対して、強い殺菌力を示したが溶菌は見られず VT 遊離量は少なかった。TFLX の高濃度作用時に溶菌像も見られずまた VT 遊離量は少なかったことから、TFLX では、sub MIC で VT 産生を誘導する可能性はあるが、2 MIC を超えるような濃度では、殺菌作用が優先し VT 産生の増加までは至らないと推定された。

抗菌剤内服後のヒト糞便中濃度は、FOM (小児) 197~605 $\mu\text{g/ml}$ ¹⁵⁾、NFLX (成人) 102~960 $\mu\text{g/ml}$ ¹⁶⁾、TFLX (成人) 205~449 $\mu\text{g/ml}$ ¹⁷⁾、KM (成人) 1,354~14,612 $\mu\text{g/ml}$ ¹⁸⁾ と報告されており、いずれも高濃度である。腸管感染症における下痢時の糞便中濃度に関する報告はほとんどないが、下痢時においても腸管内では比較的高濃度の抗菌薬とベロ毒素産生性大腸菌が接触するものと考えられる。

以上、高濃度作用時に速やかに殺菌し VT 遊離も少ないキノロン系抗菌薬は、すでに種々の腸管感染症に対する有用性も確立されていることから、小児の場合を除くベロ毒素産生性大腸菌感染症に対する化学療法にも適した薬剤と考えられる。しかし、キノロン剤の場合低濃度で VT 量を増加させる可能性もあるので、ベロ毒素産生性大腸菌感染に対するキノロン剤の有用性を見きわめるには、下痢時の腸管内濃度推移を測定することや腸管内濃度推移を再現したような条件での殺菌作用、VT 遊離を検討すること、糞便中での抗菌作用などさらに種々の検討が必要であろう。

本論文の要旨は、第 43 回日本化学療法学会東日本支部総会および第 71 回日本感染症学会総会において発表した。

文 献

- 1) Konowalchuk J, Speirs J I, Stavric S: Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. *Infect Immun* 18: 775~779, 1977
- 2) 山崎伸二, 竹田美文: Vero 毒素の構造と機能。医学のあゆみ 178: 915~920, 1996
- 3) Lingwood C A: Verotoxin-binding in human renal sections. *Nephron*. 66: 21~28, 1994
- 4) 吉川昌之介: 腸管出血性大腸菌 O157: H7 による食中毒。日本医事新報 3770: 127~129, 1996
- 5) Walterspiel J N, Ashkenazi S, Morrow A L: Effect of subinhibitory concentration of antibiotics on extracellular Shiga-like toxin 1. *Infection* 20: 25~29, 1992
- 6) Pavia A T, Nichols C R, Green D P: Hemolytic-uremic syndrome during an out-break of *Escherichia coli* O157: H7 infections for mentally retarded persons: Clinical and epidemiologic observations. *J. Pediatr* 116: 544~551, 1990
- 7) 城 宏輔: 埼玉県某幼稚園で流行した *E. coli* O157: H7 による出血性大腸炎。臨床と微生物 18: 19~27, 1991
- 8) 小林 一寛: 腸管出血性大腸菌の PCR 法による検出。臨床と微生物 18: 507~512, 1991
- 9) 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
- 10) Hormansdorfer S, Gareis M, Bauer J, et al.: Determination of *Escherichia coli* Shiga-like toxins by means of the MTT bioassay. *ZEITSCHRIFT FÜR LEBENSMITTEL-UNTERSUCHUNG UND-FORSCHUNG*. 201: 293~297, 1995
- 11) Scudiero A D, Shoemaker H R, Paull D K et al.: Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *CANCER RESEARCH* 48: 4827~4833, 1988
- 12) 伊藤輝代, 秋野恵美, 平松啓一: 腸管出血性大腸菌 O157 に用いる抗生物質の検討。感染症学雑誌 71: 130~135, 1997
- 13) 熊本悦明, 広瀬宗興, 横尾影文, 他: 尿路感染症分離菌に対する経口並びに注射用抗菌薬の抗菌力比較 (第 16 報 1994 年) その 1. 感染性について。Jap. J. Antibiotics 49: 465~491, 1996
- 14) Karch H, Goroncy-Bermes P, Opferkuch W, et al.: Subinhibitory concentrations of antibiotics modulate amount of Shiga-like toxin produced by *Escherichia coli*. The influence of antibiotics on the host-parasite relationship II: 239~245. Adam D, Hahn H and Opferkuch W, Springer-Verlag, Berlin, 1985
- 15) 佐藤 肇, 中西好子, 成田 章, 他: Fosfomycin 内服による感染性腸炎に対する有用性の検討。小児科臨床 37: 2189~2204, 1984
- 16) 本廣 孝, 織田慶子, 荒巻雅史, 他: 成人における Norfloxacin 投与後の糞便内細菌叢への影響。Jap. J. Antibiotics 40: 1584~1616, 1987
- 17) 中島光好, 植松俊彦, 金丸光隆, 他: T-3262 の臨床第 I 相試験。Chemotherapy 36 (S-9): 158~180, 1988
- 18) 谷本 弘, 斎藤 徹, 稲本 俊, 他: 経口抗菌剤の消化管術前処理としての意義。Chemotherapy 32: 972~984, 1984

Antibacterial effect and verotoxin-release of antibiotics exposure on
verotoxin-producing *Escherichia coli* O157

Masahiro Takahata¹⁾, Yousuke Furuta¹⁾, Yoshiko Yamashiro¹⁾,
Junichi Mitsuyama¹⁾, Shinzaburo Minami¹⁾, Hiroko Hirata²⁾,
Emiko Yamaji²⁾ and Issei Nakayama²⁾

¹⁾ Research Laboratories, Toyama Chemical Co., Ltd. 4-1 Shimookui, 2-Chome, Toyama 930-8508, Japan

²⁾ Third Department of Surgery, School of Medicine, Nihon University

Thirty five clinical isolates of *Escherichia coli* O157 were subjected to verotoxin-production, susceptibility and verotoxin (VT) release testing against various antibiotics.

1) Verotoxin-production of clinical isolates of *E. coli*

Three strains produced only VT-2 and an other 32 strains produced both VT-1 and VT-2 in our tested 35 clinical isolates of *E. coli* O157.

2) Susceptibility testing

Thirty five clinical isolates of *E. coli* O157 were subjected to susceptibility testing against 21 drugs of β -lactams, 5 drugs of quinolones and 10 other drugs. Only one strain was resistant to penicillins, whereas, an other 34 strains were susceptible to all drugs tested. Quinolones were most active against *E. coli* O157, and its MIC₉₀s were 0.0125-0.1 μ g/ml.

3) Verotoxin release

The amounts of VT released from *E. coli* TK-806 were measured after exposure to 2 MIC of tosufloxacin (TFLX), kanamycin (KM) and fosfomycin (FOM). The amounts of VT were increased 64 fold after exposure to FOM for 2 h. On the other hand, no increase was observed in the case of TFLX and KM.

In the study described here, clinical isolates of verotoxin-producing *E. coli* O157 were tested for susceptibility to various antibiotics, and TFLX made *E. coli* release less VT than FOM did.