

## 【原著・基礎】

臨床分離株に対する Etest を用いた各種  $\beta$ -ラクタム薬の抗菌力

石井 良和・馬 晃・山口 恵三

東邦大学医学部微生物学教室\*

(平成 11 年 12 月 7 日受付・平成 12 年 5 月 8 日受理)

Cefepime をはじめとする  $\beta$ -ラクタム系抗菌薬間での感受性および耐性菌の出現状況を把握するために全国レベルでの疫学調査を piperacillin (グラム陰性菌), oxacillin (グラム陽性菌), ceftazidime, cefpirome, cefepime, cefoperazone/sulbactam (2: 1), imipenem の各 Etest ストリップを使用して行った。Etest を使用するにあたり、精度管理株を用いて再現性および施設間の誤差に関して調査を行ったが、再現性ならびに施設間の誤差とも少なく、ほぼ満足できる結果が得られた。今回はグラム陽性菌として oxacillin 感性の *Staphylococcus aureus* および oxacillin 感性の coagulase-negative staphylococci を対象としたが、ceftazidime を除いて耐性株の出現は認められなかった。*Escherichia coli* には piperacillin に対する耐性菌が 14.6% 存在したが、その他の抗菌薬に対する耐性菌は 0.5% であった。*Klebsiella* spp. および *Citrobacter freundii* に対しては、cefepime および imipenem には耐性株が認められなかった。*Enterobacter* spp. には imipenem が 0.5%, cefepime が 1.0% の割合で、*Serratia* spp. に対しては imipenem が 4.5%, cefepime が 5.0% の割合でそれぞれ耐性株が認められたが他の抗菌薬に対する耐性菌の出現率と比較して小さい値を示していた。Indole-positive *Proteus* の場合、cefepime は ceftazidime と同様に耐性菌の出現率が低く 0.5% であった。*Pseudomonas aeruginosa* に対しては今回対象とした薬剤のなかでは cefepime の感受性ももっとも優れており、耐性率も 9.1% であった。一方、ceftazidime は 11.4%, imipenem は 22.4% の値を示した。以上の結果から、cefepime に対する耐性菌の出現は、今回対象とした他の  $\beta$ -ラクタム系抗菌薬と比較すると低いものと考えられた。

**Key words:** 塩酸セフェピム,  $\beta$ -ラクタム系抗菌薬, Etest, 感受性, 耐性菌

現在までさまざまな抗菌薬が開発され、臨床応用されているがそれらの抗菌薬に対する耐性菌が必ず出現してきた。第三世代、第四世代セフェム系抗菌薬あるいはカルバペネム系抗菌薬もその例外ではなかった。第三世代、第四世代セフェム系抗菌薬は腸内細菌科の菌種や *Pseudomonas aeruginosa* をはじめとするグラム陰性菌が産生する  $\beta$ -ラクタマーゼに安定な抗菌薬としてドラッグデザインされている。ところが、これら  $\beta$ -ラクタマーゼに安定な抗菌薬を分解する菌株が 1980 年代に欧米を中心に出現してきた<sup>1)</sup>。これらの菌株は基質特異性拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼと呼ばれ、クラス A に属する  $\beta$ -ラクタマーゼが点変異を起こして、第三世代、第四世代セフェム系抗菌薬まで分解することが可能となったのである<sup>2)</sup>。カルバペネム系抗菌薬は、通常はこれら基質特異性拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼにも安定であるが、BlaIMP と呼ばれているクラス B に属する  $\beta$ -ラクタマーゼに効率よく分解される<sup>3)</sup>。このクラス B  $\beta$ -ラクタマーゼは、モノバクタム系抗菌薬を除く多くの  $\beta$ -ラクタム系抗菌薬を分解することができる。この BlaIMP は、本邦で多く見出されており、欧米での報告はさわめて少ないのが現状である。カルバペネム系抗菌薬に対しては当初より、*P. aeruginosa* においてその透過孔である D2 ポーリンの欠損による耐性が問題となっ

ていた。この D2 ポーリンの欠損によるイミペネム耐性は第三世代、第四世代セフェム系抗菌薬耐性との交差耐性は一般的に認められない<sup>4)</sup>。

塩酸セフェピムは、世界 50 数か国で承認されている第四世代のセフェム系抗菌薬であり、 $\beta$ -ラクタマーゼに安定で、特に *P. aeruginosa* に対して抗菌力を発揮することがその特徴である。われわれは、世界的規模での cefepime をはじめとする主な  $\beta$ -ラクタム系抗菌薬間での感受性および耐性菌出現状況の比較検討の一環として、日本全国 22 施設における *P. aeruginosa* を含む 1996 年 10 月～1997 年 3 月の間に臨床から分離された菌株を対象として、Etest を用いて薬剤感受性試験を実施した。

## I. 材料および方法

## 1. 参加施設および対象菌株

今回の調査には東邦大学、東京医科大学、北里大学、聖マリアンナ医科大学、大阪大学、関西大学、川崎医科大学、川崎医科大学附属川崎病院、久留米大学、福岡大学、長崎大学第二内科、長崎大学熱帯医学研究所、済生会宇都宮病院、信楽園病院、国立療養所西新潟中央病院、癌研究会附属病院、社会保険中央総合病院、神奈川県衛生看護専門学校付属病院、神奈川県立循環器呼吸器病セ

\*東京都大田区大森西 5-21-16

ンター、大手前病院、済生会吹田病院、天理よろづ相談所病院の22病院が参加した。各施設において1996年10月～1997年3月の間に臨床から分離された、oxacillin 感性 *Staphylococcus aureus*, oxacillin 感性 coagulase-negative staphylococci, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp., indole-positive *Proteus*, *Serratia* spp., *Acinetobacter* spp., *P. aeruginosa* の10菌種各10株ずつを対象とした。なお、各施設で分離された菌株はすべて薬剤感受性試験成績の結果と共に東邦大学医学部微生物学教室に送付された。

## 2. 対象薬剤

各病院において Etest ストリップ (AB バイオディスク社, スウェーデン) を用いて薬剤感受性試験を実施した。対象薬剤は, piperacillin (グラム陰性菌), oxacillin (グラム陽性菌), ceftazidime, cefpirome, cefepime, cefoperazone/sulbactam (2:1), imipenem とした。

## 3. Etest による薬剤感受性の測定方法

Etest ストリップ, Mueller-Hinton 寒天培地 (日本ベクトン・ディッキンソン), 精度管理用菌株はすべての施設が同一ロットのものを使用した。対象菌株は, Mueller-Hinton 寒天培地を用いて純培養した数個のコロニーを, 生理食塩液に 0.5 McFarland の濃度になるように懸濁した。その菌液を Mueller-Hinton 寒天培地にシャーレを 90 度ずつ回転させ, 菌液を 3 回塗抹した。この菌液を塗抹した寒天培地上に常温に戻した Etest ストリップを放射状に貼付し, staphylococci は 35℃ で 24 時間, その他の菌種は 35℃ で 16～18 時間ふ卵器で培養した後, その最小発育阻止濃度 (MIC) 値を読み取った。

各施設で得られたデータは東邦大学医学部微生物学教室で一括集計し, 菌株の同定, 薬剤感受性試験結果に関して疑わしいと思われるデータは同教室において同定および薬剤感受性試験を再度行い, 誤りが認められた菌株のデータは削除した。

本試験の実施にあたり, 事前に参加施設の実施責任者が集まり, その Etest ストリップの使用法, 判定方法など今回の試験に関するすべてのプロトコールについて事前確認した。さらに, この試験では実施施設すべてに同一クローンの *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 29213 および *P. aeruginosa* ATCC 27853 の各菌株を配布して薬剤感受性を実施することにこれらの菌株に対する MIC を測定して精度管理を行った。また, 施設間の測定精度を確認する目的で, 全施設に標準菌株および特徴的な耐性機構を有する菌株を配布し初回の測定時に MIC を測定した。菌株は, 前述の 3 菌株に *S. aureus* ATCC 25923 を加えた 4 種類の標準菌株と, 特徴的な耐性機構を有する菌株として TEM-1 型  $\beta$ -ラクタマーゼを産生する *E. coli* ATCC 35218 および米国アイオワ

大学の Ronald Jones 教授から分与された構成的に AmpC が発現している *Enterobacter cloacae* SD-AmpC, アンピシリン耐性の *Citrobacter diversus* D-11, 基質特異性拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼを産生する *E. coli* T-05, *mecA* 陽性の *S. aureus* D-05, *mecA* 陽性の coagulase-negative staphylococci の 6 菌株, 合計 10 菌株を用いた。

施設間の測定誤差は, MIC 値が耐性と判定されるべきところを感性とした場合を Very major error, 感性と判定されるべきところを耐性とした場合を Major error, 感性または耐性を中等度耐性と判定した場合あるいはその逆の場合を Minor error と判定した。

各施設のデータを集計するにあたり, 感性および耐性のブレイクポイントは NCCLS の基準にしたがって判定した (Table 1)。なお, NCCLS において cefpirome に対するブレイクポイントは示されていないので便宜的に cefepime に対する値を使用した。

## II. 結 果

### 1. 精度管理株の薬剤感受性試験結果

Fig. 1 に精度管理株を用いた検討の結果を示す。*S. aureus* ATCC 29213 に対しては oxacillin, cefepime, cefoperazone/sulbactam がすべて指定された数値の範囲を示し, その一致率は 100% であり, imipenem の一致率はもっとも低かったものの 96.8% であった。*E. coli* ATCC 25922 に対しては piperacillin (95.3%) を除きすべての対象薬ストリップが指定された数値の範囲を示し, その一致率は 100% であった。*P. aeruginosa* ATCC 27853 に対しては ceftazidime および cefpirome の一致率が 100% であったが, piperacillin, cefepime, imipenem の一致率は 96.9%, cefoperazone/sulbactam は指定された数値を示した菌株は全体の 95.3% であった。

### 2. 施設間の測定誤差

Fig. 2 に施設間の測定誤差を示す。参加施設間におい

Table 1. The category of MIC value of NCCLS

Antimicrobial agents	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )		
	S	I	R
Oxacillin	$\leq 2$	-	$\geq 4$
Piperacillin	$\leq 16$	32-64	$\geq 128$
	$\leq 64^*$	-*	$\geq 128^*$
Cefepime	$\leq 8$	16	$\geq 32$
Cefpirome		-	-
Ceftazidime	$\leq 8$	16	$\geq 32$
Cefoperazone/sulbactam	$\leq 16$	32	$\geq 64$
Imipenem	$\leq 4$	8	$\geq 16$

\**P. aeruginosa*

る正確さは93.3%~100%であった。その誤差のほとんどはMinorに属し、Very Majorと判定される誤差を生じた施設は3施設であった。

### 3. 臨床分離株に対する感受性試験結果

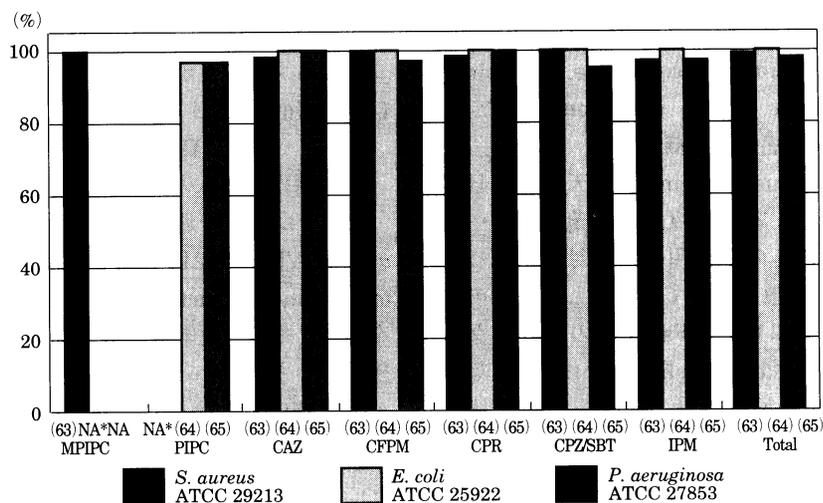
感受性試験成績はTable 2にまとめて示した。

Oxacillin 感性 *S. aureus* は ceftazidime に対して感性和判定された菌株が全体の3.7%、耐性と判定されたものが6.4%であった。その他の抗菌薬には耐性と判定される菌株は認められなかった。MIC<sub>90</sub> を見てみると imipenem の値が0.064  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ともっとも優れており、次いで oxacillin (0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), ceftazidime (2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), cefepime および cefoperazone/sulbactam (4  $\mu\text{g}/$

mL), ceftazidime (24  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) の順であった。

Oxacillin 感性 coagulase-negative staphylococci は ceftazidime (感性: 45%, 耐性: 15.4%) を除くすべての薬剤に対して感性を示した。MIC<sub>90</sub> を見てみると、imipenem の値が0.125  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ともっとも優れており、次いで oxacillin (1.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), ceftazidime (2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), cefepime (3  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), cefoperazone/sulbactam (4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), ceftazidime (32  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) の順であった。

*E. coli* は piperacillin に14.6%の菌株が耐性を示したが、その他の抗菌薬に対して耐性を示すものは0.5%であった。MIC<sub>90</sub> は cefepime (0.125  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) がもっとも優れており、次いで ceftazidime (0.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),



( ): Number of tests, NA\*: not applicable  
MPIPC : oxacillin, PIPIC : piperacillin, CAZ : ceftazidime, CFPM : cefepime, CPR : ceftazidime, CPZ/SBT : cefoperazone/sulbactam, IPM : imipenem

Fig. 1. Quality control Etest results from 22 facilities.

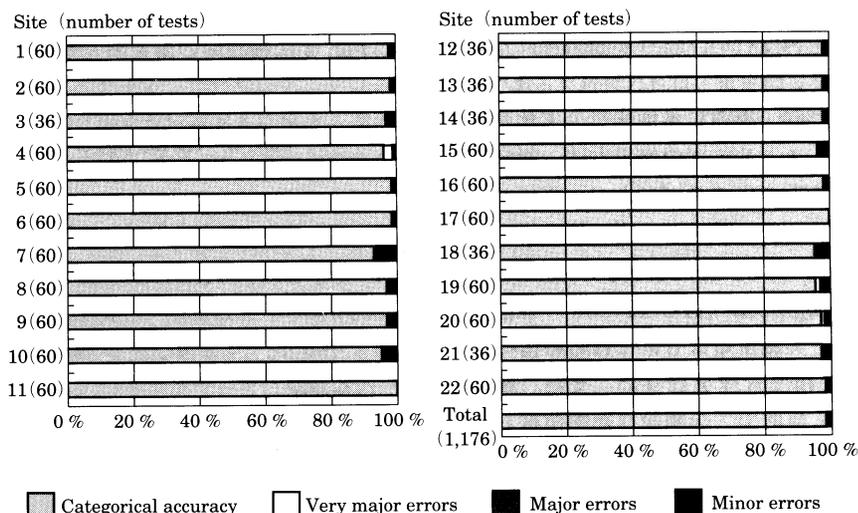


Fig. 2. Categorical accuracy: Etest results of 22 participants for 10 challenge strains against 6 antimicrobial agents.

Table 2. Result of antimicrobial susceptibility testing

Strain (number of strains) antimicrobial agent	MIC (μg/mL)		% by category	
	50%	90%	susceptible	resistant
<i>S. aureus</i> (219 strains)				
Oxacillin	0.5	0.75	100.0	0.0
Ceftazidime	16	24	3.7	6.4
Cefepime	3	4	100.0	0.0
Cefpirome	1.5	2	100.0	0.0
Cefoperazone/sulbactam (2:1)	3	4	100.0	0.0
Imipenem	0.047	0.064	100.0	0.0
Coagulase-negative staphylococci (173 strains)				
Oxacillin	0.38	1.5	100.0	0.0
Ceftazidime	12	32	45.1	15.4
Cefepime	1.5	3	100.0	0.0
Cefpirome	0.75	2	100.0	0.0
Cefoperazone/sulbactam (2:1)	2	4	100.0	0.0
Imipenem	0.047	0.125	100.0	0.0
<i>E. coli</i> (205 strains)				
Piperacillin	3	>256	75.6	14.6
Ceftazidime	0.25	0.75	99.5	0.5
Cefepime	0.064	0.125	99.5	0.5
Cefpirome	0.094	0.25	99.5	0.5
Cefoperazone/sulbactam (2:1)	0.25	1.5	99.5	0.5
Imipenem	0.25	0.38	99.5	0.5
<i>Klebsiella</i> spp. (220 strains)				
Piperacillin	12	48	77.3	7.2
Ceftazidime	0.25	0.75	97.7	1.8
Cefepime	0.064	0.19	100.0	0.0
Cefpirome	0.094	0.38	98.6	1.4
Cefoperazone/sulbactam (2:1)	0.38	2	96.8	2.7
Imipenem	0.25	0.5	100.0	0.0
<i>C. freundii</i> (180 strains)				
Piperacillin	6	>256	70.0	26.1
Ceftazidime	1	>256	74.4	25.0
Cefepime	0.064	2	100.0	0.0
Cefpirome	0.125	4	96.1	1.1
Cefoperazone/sulbactam (2:1)	0.75	48	82.8	8.3
Imipenem	0.5	1	100.0	0.0
<i>Enterobacter</i> spp. (205 strains)				
Piperacillin	4	>256	73.7	18.5
Ceftazidime	0.5	>256	77.6	20.5
Cefepime	0.094	3	97.6	1.0
Cefpirome	0.19	12	87.3	3.9
Cefoperazone/sulbactam (2:1)	0.75	128	82.4	15.1
Imipenem	0.5	1.5	99.5	0.5
Indole-positive <i>Proteus</i> (195 strains)				
Piperacillin	1	64	87.7	8.7
Ceftazidime	0.19	0.75	96.9	0.5
Cefepime	0.064	0.19	99.5	0.5
Cefpirome	0.125	0.5	96.4	3.1
Cefoperazone/sulbactam (2:1)	1	3	97.9	1.5
Imipenem	2	4	92.8	1.0
<i>Serratia</i> spp. (200 strains)				
Piperacillin	6	>256	68.5	25.0
Ceftazidime	0.5	24	88.0	9.5
Cefepime	0.125	4	93.0	5.0
Cefpirome	0.19	12	88.5	8.5
Cefoperazone/sulbactam (2:1)	2	>256	74.0	23.5
Imipenem	0.5	2	93.5	4.5
<i>P. aeruginosa</i> (219 strains)				
Piperacillin	12	>256	63.5	20.1
Ceftazidime	2	32	83.1	11.4
Cefepime	3	16	83.6	9.1
Cefpirome	12	>256	49.8	27.9
Cefoperazone/sulbactam (2:1)	6	192	74.9	13.7
Imipenem	2	>32	74.9	22.4
<i>Acinetobacter</i> spp. (199 strains)				
Piperacillin	48	>256	21.7	31.2
Ceftazidime	6	16	84.4	8.0
Cefepime	3	6	89.4	5.0
Cefpirome	3	32	83.4	12.1
Cefoperazone/sulbactam (2:1)	2	4	99.5	0.5
Imipenem	0.38	0.75	97.0	2.5

imipenem (0.38  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), ceftazidime (0.75  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), cefoperazone/sulbactam (1.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), piperacillin (> 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) の順であった。

*Klebsiella* spp. に対する  $\text{MIC}_{90}$  は cefepime (0.19  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), imipenem (0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) が優れており, 両抗菌薬に対する耐性株は認められなかった。一方, その他の抗菌薬の  $\text{MIC}_{90}$  は cefpirome (0.38  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), ceftazidime (0.75  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), cefoperazone/sulbactam (2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), piperacillin (48  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) の順で, それぞれ 1.4%, 1.8%, 2.7%, 7.2%, の割合で耐性菌が認められた。

*C. freundii* は *Klebsiella* spp. と同様 cefepime および imipenem に対する耐性菌が認められず,  $\text{MIC}_{90}$  はそれぞれ 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であった。その他の抗菌薬に対しては,  $\text{MIC}_{90}$  の優れた順に cefpirome (4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 1.1%, cefoperazone/sulbactam (48  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 8.3%, ceftazidime (> 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 25.0%, piperacillin (> 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 26.1% の割合で耐性菌が認められた。

*Enterobacter* spp. では  $\text{MIC}_{90}$  の優れた順に imipenem (1.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) で 0.5%, cefepime (3  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) で 1.0%, cefpirome (12  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) には 3.9%, cefoperazone/sulbactam (128  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 15.1%, piperacillin (> 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) には 18.5%, ceftazidime (> 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) には 20.5% の菌株が耐性を示した。

Indole-positive *Proteus* の  $\text{MIC}_{90}$  は cefepime (0.19  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) がもっとも優れ, 次いで ceftazidime (0.75  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) であり, それぞれ 0.5% の耐性菌が認められた。以下,  $\text{MIC}_{90}$  の優れた順に imipenem (4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 1.0%, cefoperazone/sulbactam (3  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 1.5%, cefpirome (3  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 3.1%, piperacillin (64  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 8.7% の割合で耐性菌が認められた。

*Serratia* spp. では  $\text{MIC}_{90}$  の優れた順に imipenem (2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 4.5%, cefepime (4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 5.0%, cefpirome (12  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 8.5%, ceftazidime (24  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 9.5%, cefoperazone/sulbactam (> 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 23.5%, piperacillin (> 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) には 25.0% の割合で耐性菌が認められた。

*P. aeruginosa* では  $\text{MIC}_{90}$  の優れた順に cefepime (16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 9.1%, ceftazidime (32  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 11.4%, imipenem (> 32  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 22.4%, cefoperazone/sulbactam (192  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 13.7%, piperacillin (> 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 20.1%, cefpirome (> 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 27.9% の割合で耐性菌が認められた。

*Acinetobacter* spp. では  $\text{MIC}_{90}$  の優れた順に imipenem (0.75  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 2.5%, cefoperazone/sulbactam (4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 0.5%, cefepime (6  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 5.0%, ceftazidime (16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 8.0%, cefpirome (32  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 12.1%, piperacillin (> 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に 31.2

% の割合で耐性菌が認められた。

### III. 考 察

今回実施した全国レベルでのサーベイランスの目的は, cefepime をはじめとする  $\beta$ -ラクタム系抗菌薬間での感受性および耐性菌出現状況の比較検討であった。本検討を実施するにあたり, もっとも重要なことはすべての施設において同一プロトコールによる再現性が保証された方法である。さらに, 測定方法が簡便で, その結果が数値化されることが望ましいと考えられた。以上の観点から, 今回は Etest によるサーベイランスを試みた。この方法は, 同一ロットの精度管理されたディスクと培地さえ供給されればどこの施設でも再現性ある結果を得ることが可能となる。さらに, 今回は精度管理用の菌株も同一ロットのものをあらかじめ配布し, Etest の信頼性に関するチェックも行った。その結果, いずれの施設でも, 精度管理株に定められた MIC 値から大きく外れることはまれであった。しかし, 3施設において Major 誤差が発生したが, これらは Etest のディスクに書かれている数値の読み間違いによるものであろうことが報告書の数値から推察された。したがって, 今回は他の薬剤感受性試験と Etest との相関性に関する検討は行わなかったが, Etest は再現性の良好な方法であるものと推察された。

今回対象としたグラム陽性菌である oxacillin 感性 *S. aureus* および coagulase-negative staphylococci には今回用いた抗菌薬では ceftazidime 以外に耐性菌は認められなかった。次に, *E. coli* の piperacillin に対する 14.6% の耐性菌は, ペニシリナーゼの大量産生あるいはセファロスポリナーゼの大量産生あるいはその両方によってもたらされたと考えられる<sup>6)</sup>。しかし, それ以外の抗菌薬に対する耐性菌は基質特異性拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼの産生<sup>6,7)</sup>あるいは BlaIMP の産生によるものと考えられる。*Klebsiella* spp. の耐性菌には *Klebsiella pneumoniae* の染色体上にコードされているペニシリナーゼの大量産生によるものも含まれていると考えられる<sup>6)</sup>。しかし, *Klebsiella oxytoca* には Koxy と呼ばれている基質特異性の広い  $\beta$ -ラクタマーゼが存在するため<sup>8)</sup>, その関与も否定できない。しかし, 今回の検討で imipenem と共に cefepime に対する耐性菌も存在しなかったことは注目に値するものとする。

*C. freundii* に対しても imipenem および cefepime 以外の抗菌薬には耐性菌が出現していた。その原因は *C. freundii* のなかにはセファロスポリナーゼを大量に産生する菌株が存在し, これらの菌株は多くの  $\beta$ -ラクタム系抗菌薬に耐性を示すことが知られている<sup>9)</sup>。Imipenem はセファロスポリナーゼに安定なので耐性菌の出現がないことは容易に予測される。今回, セフェム系抗菌薬の1つである cefepime に対する耐性菌の出現が認められなかった理由として, Hiraoka らが報告し

ている抗菌薬の低濃度域における cefepime の安定性<sup>9)</sup>がその原因と考えられる。すなわち、菌体内での抗菌薬濃度は、通常β-ラクタマーゼ活性を測定するときを使用する濃度と比較するときわめて低く、このような濃度で他の抗菌薬のβ-ラクタマーゼに対する安定性と比較すると cefepime はきわめて安定なのである。この特徴により、今回のサーベイランスで *C. freundii* に耐性菌が認められなかったと考えている。また、*C. freundii* と同様にセファロスポリナーゼを産生する *Enterobacter* spp. に関しても、cefepime は同様の理由から他のセフェム系抗菌薬と比較して耐性菌の出現率が低いものと考えられた。Indole-positive *Proteus* に対しても cefepime に対する感性菌は 99.5% と他の薬剤に対する感性菌より多く存在した。*Serratia* spp. のなかで主要な菌種である *Serratia marcescens* もセファロスポリナーゼを産生する菌種であるので、cefepime は他のセフェム系抗菌薬と比較すると低い耐性率を示したと考えられる。*P. aeruginosa* に対してもっとも耐性率が低かったのが cefepime である。その理由として、セファロスポリナーゼの大量産生、ならびに imipenem 耐性に関与する D2 ポーリンの欠損の両方の影響を受けない cefepime の特性によるものと考えられる。

これらの臨床分離株の感受性試験結果を、鈴木ら<sup>10)</sup>が報告している 1994 年の臨床分離株の感受性試験結果と比較すると、methicillin 感受性、すなわち oxacillin 感受性の *S. aureus* および coagulase-negative staphylococci について、今回の結果では MIC 値が高い傾向を示した。*E. coli* については、cefepime、cefprome および ceftazidime に対する耐性菌がみられていないことと比較し、今回の検討では 0.5% の低頻度ながら耐性菌が検出された。*Klebsiella* spp. の cefepime および cefprome の感受性には注目すべき相違はみられないが、ceftazidime に対しては感受性の低下傾向がみられた。*Citrobacter* spp. および *Enterobacter* spp. には 1994 年においても高頻度で ceftazidime 耐性株がみられていたが、MIC<sub>50</sub> 値で比較すると ceftazidime の感受性の低下傾向がうかがわれる。*P. aeruginosa* については、cefepime および ceftazidime の感受性は類似した成績であったが、MIC<sub>50</sub> 値の比較から、今回の試験成績では imipenem 耐性菌の増加傾向が推測された。

以上の結果から、グラム陽性菌からグラム陰性菌に至るまで cefepime は幅広い抗菌力を有しており、腸内細菌科における耐性菌の出現はペニシリン系抗菌薬あるい

はセフェム系抗菌薬と比較して低いものと考えられる。さらに、*P. aeruginosa* に対してはペニシリン系、セフェム系ならびに imipenem と比較しても耐性菌の占める割合が低いことが確認された。しかし、今後新たな耐性菌が出現してくる可能性も十分考えられることから、さらにこのようなサーベイランスを継続して実施する必要があると考えている。

#### 文 献

- 1) Knothe H, Shah P, Krcmery V, et al.: Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection*. 11: 315~317, 1983
- 2) Knox J R: Extended-spectrum and inhibitor-resistant TEM-type beta-lactamases mutations, specificity, and three-dimensional structure. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39: 2593~2601, 1995
- 3) Ito H, Arakawa Y, Ohsuka S, et al.: Plasmid-mediated dissemination of the metallo-beta-lactamase gene blaIMP among clinically isolated strains of *Serratia marcescens*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39: 824~829, 1995
- 4) Livermore D M: Bacterial resistance to carbapenems. *Adv. Exp. Med. Biol.* 390: 25~47, 1995
- 5) Bush K, Jacoby G A, Medeiros A A: A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39: 1211~1233, 1995
- 6) Ishii Y, Ohno A, Taguchi H, et al.: Cloning and sequence of the gene encoding a cefotaxime-hydrolyzing class A beta-lactamase isolated from *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39: 2269~2275, 1995
- 7) Ma L, Ishii Y, Ishiguro M, et al.: Cloning and sequencing of the gene encoding Toho-2, a class A beta-lactamase preferentially inhibited by tazobactam. *Antimicrob. Agents Chemother.* 42: 1181~1186, 1998
- 8) Arakawa Y, Ohta M, Kido N, et al.: Chromosomal beta-lactamase of *Klebsiella oxytoca*, a new class A enzyme that hydrolyzes broad-spectrum beta-lactam antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33: 63~70, 1989
- 9) Hiraoka M, Inoue M, Mitsuhashi S: Hydrolytic rate at low drug concentration as a limiting factor in resistance to newer cephalosporins. *Reviews of Infectious Diseases.* 10: 746~751, 1988
- 10) Suzuki Y, Koguchi M, Tanaka S, et al.: Antimicrobial activities of cefepime against clinically isolated strains. *Jpn. J. Antibiotics.* 48: 1906~1919, 1995

## Evaluation by Etest of the antimicrobial activity of beta-lactam antibiotics against clinical isolates

Yoshikazu Ishii, Ling Ma and Keizo Yamaguchi

Department of Microbiology, Toho University School of Medicine,  
5-21-16 Omori-nishi, Ota-ku, Tokyo 143-0015, Japan

A nationwide epidemiological survey of the susceptibility of clinical isolates to beta-lactam antibiotics including cefepime was performed in order to assess the emergence of resistant strains in Japan. Susceptibility to 7 beta-lactam antibiotics, cefepime, ceftazidime, cefoperazone/sulbactam (C/S), imipenem, and piperacillin (for gram-negatives) or oxacillin (for gram-positives), was studied in 22 medical centers, using a common protocol and method (Etest; AB BIODISK, Solna, Sweden). Inter- and intra-laboratory variations were evaluated by analysis of quality control strains, and the results demonstrated good reproducibility. No strains resistant to any of these beta-lactams except for ceftazidime were found in Oxacillin-susceptible *Staphylococcus aureus* or coagulase-negative staphylococci. In *Escherichia coli*, 14.6% of the clinical strains were resistant to piperacillin, while only 0.5% were resistant to any of the other antibiotics. All clinical strains of *Klebsiella* spp. and *Citrobacter freundii* were susceptible to cefepime and imipenem. Isolates of *Enterobacter* spp. were most susceptible to imipenem (0.5% resistance) and cefepime (1.0%). Isolates of *Serratia* spp. were more susceptible to imipenem (4.5% resistance) and cefepime (5.0%) than to the other beta-lactam antibiotics tested. Only 0.5% of indole-positive *Proteus* were resistant to cefepime and ceftazidime. Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* were more susceptible to cefepime (9.1% resistance) than to ceftazidime (11.4%), C/S (13.7%), piperacillin (20.1%), imipenem (22.4%), or ceftazidime (27.9%). These results clearly indicate that emergence of strains resistant to cefepime is less of a problem than for the other beta-lactam antibiotics tested.