群馬大学附属病院において分離された緑膿菌の検討

☆塚田 勝彦, 加藤 広行, 長町 幸雄

群馬大学医学部第一外科学教室 (主任: 長町幸雄教授)

伊豫部 志津子, 橋本 一

群馬大学医学部微生物学教室 (主任: 橋本一教授)

(昭和63年1月28日 受付)

はじめに

近年, 抗生物質等による治療法の進歩がめざましく重篤な患者の救命例が増えているが, 一方では compromised host の日和見感染の問題が, 持ち上がってきている。その原因菌として, 緑膿菌は重要な菌種である^{1,2)}。

今回, 我々は, 群馬大学附属病院より最近約4年間の間に分離された緑膿菌について検討を行ったところ, 薬剤耐性特に多剤耐性株の増加蔓延の傾向を認めたので, ここに報告する。

I 検査材料及び方法

緑膿菌は, 1984年4月から1987年9月までの間に, 群馬大学附属病院において分離された菌株のうち385株 (一人一株とした) を用いた。

この385株の由来及び検体別を図1, 2に示す。使用薬剤は, 日常緑膿菌に対して用いられる Piperacillin (PIPC, 富山化学), Cefsulodin (CFS, 武田薬品), Ceftazidime (CAZ, 日本グラクソ), Imipenem (IPM, 萬有製薬), Aztreonam (AZT, エーザイ), Gentamicin (GM, 塩野義製薬), Amikacin (AMK, 萬有製薬), Norfloxacin (NFLX, 杏林薬品) である。薬剤の略号は日本化学療法学会の制定に準じた。薬剤感受性試験は, 日本化学療法学会で定める標準法³⁾に従って, 平板希釈法で行った。

II 実験結果

1) 薬剤感受性分布

1986年度分離緑膿菌140株を用いて各薬剤の最小発育阻止濃度 (以下 MIC と略す) を測定し, その

図1 緑膿菌の科別由来

図2 緑膿菌の検体別由来

分布曲線を図3に示した。

アミノ配糖体に関しては, 大部分の株が一峰性の同様な分布を示し, そのピークは GM の方が3.1 $\mu\text{g/ml}$ で, AMK の場合よりは1/2低い。しかし GM では高度耐性株が5株現れ, その5株の AMK の MIC は6.25ないし12.5 $\mu\text{g/ml}$ であり AMK 感受性であった。

両薬剤に8倍以上感受性が高い株も数株みられ, これらは MIC カーブの左方に小さな山を示した。

新キノロンである NFLX の MIC 分布は三峰性を示し, MIC3.1 $\mu\text{g/ml}$ 以上の群が耐性株の群と考えられた。

β ラクタム系薬剤に対する MIC 分布曲線では, IPM が2峰性で僅かな耐性株がみられただけであるが, 他の薬剤では, 数個の分布の山がみられ, 感受性株と耐性株の分布の区別は PIPC を除いて明瞭ではない。PIPC では25 $\mu\text{g/ml}$ を境として感受性株と耐性株の分布に分けられるが, 感受性株に3つの群があり, 耐性株に2つの群があると考えられる。

CFS, CAZ, AZT では数個の分布の山が, 全般的に PIPC の場合よりも左方に移動し, 感受性が高いことを示している。

以上の MIC 分布曲線と臨床における投与量を考慮して耐性株の MIC 値の下限を次のように決め

た。アミノ配糖体では臨床的に血液中濃度が10 $\mu\text{g/ml}$ 以上の持続時間が短いので, 常に感受性株の MIC 以上の血中濃度を保つことは難しい。しかし感受性株の単一峰の MIC 分布を臨床的な耐性と感受性の2つに分けることはできないので, 限界の山が終わった次の段階を限界値とし, GM は50 $\mu\text{g/ml}$, AMK は100 $\mu\text{g/ml}$ 以上を耐性株とした。NFLX では MIC3.1 $\mu\text{g/ml}$ が耐性分布の下限であり, 臨床的にも血中濃度が 1 $\mu\text{g/ml}$ 内外にしか達しないので, MIC3.1 $\mu\text{g/ml}$ 以上を耐性とした。 β -ラクタムに関しては MIC 分布の山が多様であり明かな境界線はひきにくい。更に, 臨床的にも高濃度の薬剤を静脈内に投与可能である。従って, 分布の不明瞭な中等度耐性菌を除外することにして, MIC100 $\mu\text{g/ml}$ 以上を明かな耐性株とした。IPM のみは常用投与量も少なく, MIC 分布でも大部分の株が6.25 $\mu\text{g/ml}$ までなので, 12.5 $\mu\text{g/ml}$ を限界とした。

2) 全株における耐性株の分離頻度

耐性限界値により各年の株を調べると, 表1に示すごとく年度ごとに耐性株の分離頻度が上昇している。特に PIPC, NFLX において1986年度及び1987年度に著しかった。

3) 薬剤耐性の組合せ (以下耐性型と略す) と年度別分離頻度

表2に示すごとく, 耐性型の内訳をみると, 1984

表1 薬剤耐性緑膿菌の年度別分離頻度

薬 剤	MIC($\mu\text{g/ml}$)	分 離 頻 度 (%)				合 計 (%)
		1984	1985	1986	1987	
PIPC	≥ 100	7(8)	10(8)	25(18)	11(34)	53(14)
CFS	≥ 100	1(1)	0	4(3)	3(9)	8(2)
CAZ	≥ 100	2(2)	5(4)	9(6)	1(3)	17(4)
IPM	≥ 12.5	0	0	1(1)	2(6)	3(1)
AZT	≥ 100	0	0	8(6)	1(3)	9(2)
GM	≥ 50	9(10)	7(5)	5(4)	9(28)	30(8)
AMK	≥ 100	0	1(1)	0	5(16)	6(2)
NFLX	≥ 3.1	1(1)	5(4)	23(16)	13(41)	42(11)
総 耐 性 株 数		13(15)	20(16)	41(29)	16(50)	90(23)
感 受 性 株 数		73(85)	107(84)	99(71)	16(50)	295(77)
総 検 査 株 数		86	127	140	32	385

検 査 株: 1984年から1987年までの群馬大学附属病院分離株

検査薬剤: Piperacillin (PIPC). Cefsulodin (CFS). Ceftazidime (CAZ). Imipenem (IPM). Aztreonam (AZT). Gentamicin (GM). Amikacin (AMK). Norfloxacin (NFLX).

図3 緑膿菌の薬剤感受性分布

(1986 群馬大学附属病院)

表2 緑膿菌の耐性型と年度別分離頻度

耐性型								分離株数 (%)				
PIPC	CFS	CAZ	IPM	AZT	GM	AMK	NFLX	84年度	85年度	86年度	87年度	計
●								1(1.2)	3(2.4)	9(6.4)	1(3.1)	14(16)
	●							1(1.2)				1(1)
		●								1(0.7)		1(1)
					●			3(3.4)	3(2.4)			6(7)
							●		5(4.0)	15(10.9)	4(13)	24(28)
●		●			●			1(1.1)	4(3.1)			5(6)
●					●			5(5.8)	3(2.4)	2(1.4)		10(11)
●					●	●	●			4(2.9)	2(6.2)	6(7)
					●		●	1(1.1)	1(0.8)			1(1)
					●		●					1(1)
●		●		●						2(1.4)		2(2)
●		●			●		●			1(0.7)		1(1)
●					●		●			1(0.7)	2(6.2)	3(3)
			●		●	●					1(3.1)	1(1)
●	●	●		●	●					2(1.4)		2(2)
●	●				●	●					1(3.1)	1(1)
●	●				●		●				1(3.1)	1(1)
●		●		●	●	●	●			2(1.4)		2(2)
●		●			●	●	●				2(6.2)	2(2)
●	●	●		●	●	●	●			2(1.4)		2(2)
●			●		●	●	●				1(3.1)	1(1)
●	●	●		●	●	●	●				1(3.1)	1(1)

総耐性株数

13

(15%)

20

(16%)

41

(29%)

16

(50%)

90

(23%)

総株査件数

86

127

140

32

385

検査株：1984年から1987年までの群馬大学附属病院の分離株

検査薬剤：Piperacillin (PIPC), Cefsulodin (CFS), Ceftazidime (CAZ), Imipenem (IPM), Aztreonam (AZT), Gentamicin (GM), Amikacin (AMK), Norfloxacin (NFLX)

年度及び1985年度では33株すべてが1ないし2剤耐性であったが、1986年度及び1987年度では57株中19株33%が3剤以上の耐性を示し、年度が進むのに伴って多剤耐性化の傾向がみられた。

4) 検体別の薬剤耐性

表3に示すごとく、検体別ではドレーン、尿に耐性株の出現頻度が高い。また薬剤別比較では、尿ではPIPC, GM, NFLX耐性が多く、気道内容ではPIPC, NFLX耐性は多いがGM耐性が少ないのが特徴であった。

図4 化学療法剤の使用量

(群馬大学附属病院)

表3 検体別の耐性薬剤

	気道内容	尿	耳漏	膿	鼻咽頭	ドレーン	その他	計
総株数	101	79	52	45	18	17	90	385
耐性株数	19	22	6	11	3	6	23	90
耐性率(%)	19	28	12	24	17	35	26	23
薬剤別								
PIPC	9	12	3	6	2	6	15	53
CFS	1	0	0	0	1	3	3	8
CAZ	2	2	1	3	1	4	4	17
IPM	0	1	1	1	0	0	0	3
AZT	0	0	1	0	0	4	4	9
GM	1	11	2	3	1	1	11	30
AMK	0	0	1	0	0	4	4	9
NFLX	12	11	2	4	1	1	11	42

(1984～1987 群馬大学附属病院)

III 考 察

緑膿菌は群馬大学附属病院における臨床分離株の中で最も分離頻度の高い株で、1985年8月から1986年7月までの一年間で414株が分離されている⁴⁾。この原因としては compromised host の増加及び使用薬剤の増加による菌交代現象が考えられる。

由来科別では耳鼻咽喉科、泌尿器科、第一内科等が多く、それを反映して検体別では気道内容、耳漏、尿等に多くみられた。

薬剤感受性試験では、各種薬剤で耐性株の分離頻度が増加し、特に PIPC, NFLX でこの傾向が著しい。

耐性型をみると1986年より3剤以上の多剤耐性株の増加の傾向がみられた。

NFLX 耐性株急増の原因としては図4に示すごとく、群馬大学附属病院において化学療法剤中NFLX, OFLX の使用がそれぞれ1984年、1985年より始まり年々使用量が増加していることによる。両者は薬剤の作用機構も耐性機構も同一なので新キノロン使用量の増加がNFLX 耐性菌選択の原因である。また他の薬剤耐性株の増加も使用量が関与していると考えられる。

検体別にみると尿由来株に PIPC 耐性、GM 耐性株、NFLX 耐性株が多くみられたが、これは、薬剤の体内分布及び排泄経路の差により、尿中での薬剤濃度が大で、選択力が強かった為と考えられる。

これらを他の報告と比較してみると、分離頻度で

は上位を占めると言う報告が多く、また、鷺津ら⁵⁾、相原ら⁶⁾のように、最近数年間に緑膿菌の増加をみたとする報告が多い。

緑膿菌の分離頻度は不変との報告もあるが、その場合には特定の科由来株が大多数を占めていた⁷⁾。分離頻度の増加の原因としては、鷺津ら⁵⁾も緑膿菌に対する有効な療剤が少なくこと及び compromised host の増加をあげている。耐性株の分離頻度については NFLX, GM ほか各種耐性菌の分離頻度が増加した例^{7,8)}、横ばいの例⁹⁾等種々の報告があるが、これらの原因追求には使用薬剤量を加味した検討が必要であろう。

現在の段階では CFS, CAZ, IPM, AZT, AMK 等に耐性株の出現が少なくこれらは緑膿菌感染症の治療に有効な薬剤と考えられた。しかし臨床的な有効非有効の差は、病巣菌の MIC と病巣内薬剤濃度との関係で決定されるので、以上のような in vitro の結果が必ずしも直接 invivo の有効性に反映しない。感受性株の MIC では図3のごとく AMK では GM よりも MIC が2倍高い。しかし毒性が1/2以下なので、AMK は GM より2倍以上の投与量が可能である。又 GM 耐性機構は不活化酵素によるものであり⁹⁾、図3の例では AMK はその不活化をうけないので、これらの2つの点より AMK の方が GM より有効であると言える。しかしアミノ配糖体では、感受性株の MIC の分布の山が広く、一部は常用投与量における最高血中濃度を超えるので、compromised host の場合または腎以外の病巣

の場合は効果が低い。

NFLX も経口で最高血中濃度は $1\mu\text{g/ml}$ 程度であるが, 組織移行性がよいので図3における感受性株群には有効である。 β -ラクタム系薬剤は副作用が少なく大量静注使用が可能である。

図3で MIC50 及び MIC90 の値を比較すると, IPM は MIC50 が $0.78\mu\text{g/ml}$ で最もすぐれ CAZ, CFS がそれより2段階高く, PIPC, AZT がこれに次ぐ。耐性株の多くを含んだ臨床株を対象とした場合での MIC90 では PIPC が $200\mu\text{g/ml}$ で最も高く, CAZ, AZT が $50\mu\text{g/ml}$, CFS が $25\mu\text{g/ml}$ でこれに次いでいる。臨床株の90%を $3.1\mu\text{g/ml}$ の低濃度で増殖阻止しうる IPM は他剤と格段の開きがある。このように IPM は極めてすぐれた薬剤であるといえるが, まだ臨床使用を開始したばかりであり, 耐性菌の出現は NFLX と同じ道筋を辿る可能性がある。

今後の推移を見守るべきであろう。

ま と め

群馬大学附属病院より分離された385株の緑膿菌に対して NFLX 等8種の抗菌剤に対する耐性値を測定し次の結論が得られた。

- 1) 385株中90株23%が PIPC, CFS, CAZ, IPM, AZT, GM, AMK, NFLX のうち少なくとも1剤に耐性を示した。
- 2) 1986年以降において, PIPC, NFLX 耐性株の増加及び多剤耐性化がみられた。
- 3) CFS, CAZ, IPM, AZT, AMK ではほとんどの株が感受性で, 現時点での治療に有効と考えられた。
- 4) GM 耐性株は気道内容由来株(19%)より尿由来株(28%)のほうが耐性化の頻度が高く, そ

の他の耐性でも由来検体別に耐性化の頻度に差があった。

文 献

- 1) 山田好則, 石引久弥, 阿部令彦, 相川直樹, 山本修三: 熱傷感染症の細菌学的検討。熱傷。6: 117-122, 1981.
- 2) 中塩哲士, 菊川伊都美, 中村正夫ら: 当院熱傷センターおよび広範熱傷患者から分離された *Staphylococcus aureus* および *Pseudomonas aeruginosa* の型別, 薬剤感受性の検討, 感染症学雑誌, 60(3), 222-230, 1986.
- 3) 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。Chemotherapy, 29: 76-79, 1981.
- 4) 田波洋, 高橋綾子, 四方田幸恵, 井野佳代子: 群馬大学附属病院における臨床分離菌の変遷—分離細菌種の変遷と薬剤感受性の現在値, 化学療法の領域, 2: 108-116, 1987.
- 5) 鷲津良道, 久世拓己, 西野圭子, 水谷昭夫: 京都府立大学病院における臨床分離株の変遷, 化学療法の領域, 2: 77-82, 1986.
- 6) 相原雅典: 天理よろず相談所病院における臨床分離菌の変遷, 化学療法の領域, 3: 67-72, 1987.
- 7) 滝井昌英, 村上紀之, 吉村尚江, 藤 洋美, 速水小夜, 百田敏彦: 福岡大学病院におけ臨床分離菌の変遷, 化学療法の領域, 3: 86-90, 1987.
- 8) 内田昌宏, 近藤俊男, 黒川幸徳, 上田 智, 二本芳人, 副島林造: 川崎医科大学附属病院における抗生物質の使用状況と臨床分離菌の変遷, 化学療法の領域, 3: 94-99, 1987.
- 9) 三橋 進: 薬剤耐性機構の生化学, 学会出版センター, 東京, 1981.

**BACTERIOLOGICAL STUDIES ON PSEUDOMONAS AERUGINOSA ISOLATED
FROM PATIENTS IN GUNMA UNIVERSITY HOSPITAL**

KATSUHIKO TSUKADA, HIROYUKI KATOH YUKIO NAGAMACHI

First Department of Surgery, Gunma University
School of Medicine, Maebashi Japan

SHIZUKO IYOBE, HAJIME HASHIMOTO

Department of Microbiology, Gunma University
School of Medicine, Maebashi Japan

Three hundred and eighty-five strains of *Pseudomonas aeruginosa* were isolated from patients in Gunma University Hospital from 1984 to 1987. Susceptibilities to eight kinds of antibiotics (PIPC, CFS, CAZ, IPM, AZT, GM, AMK, NFLX) were investigated and following results were obtained.

- 1) Ninety of 385 strains (23%) were resistant to some kind of antibiotic.
- 2) The isolation frequency of resistant strains increased year by year for most antibiotics, especially NFLX and PIPC. Strains with multiple resistance increased in 1986 and 1987.
- 3) Minimum inhibitory concentration curves indicated that, CFS, CAZ, IPM, AZT, and AMK were still effective for *Pseudomonas* infections.
- 4) The isolation frequency of resistant strains to each drug varied from source to source. For example, GM-resistant strains were isolated more frequently from urine (33%) than from the airway (3%).

Key words : *Pseudomonas aeruginosa* GM-resistant strain multiple-resistant strain