

## 【原著・基礎】

## 基質特異性拡張型 $\beta$ -lactamase 産生 *Escherichia coli* に対する 各種抗菌薬の抗菌力

村谷 哲郎<sup>1,2)</sup>・小林とも子<sup>2)</sup>・後藤 令子<sup>2)</sup>・和田 明子<sup>2)</sup>・有馬 純徳<sup>2)</sup>・大隈 雅紀<sup>2)</sup>  
薬師寺博子<sup>2)</sup>・小田原ゆう子<sup>2)</sup>・重高 正行<sup>2)</sup>・大久保孔平<sup>2)</sup>・山田 陽司<sup>1)</sup>・松本 哲朗<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>産業医科大学泌尿器科\*

<sup>2)</sup>ひびき臨床微生物研究会

(平成 16 年 7 月 29 日受付・平成 16 年 9 月 1 日受理)

1998～2004 年までの間に九州・山口地区で分離された基質特異性拡張型  $\beta$ -lactamase (ESBL) 産生 *Escherichia coli* のうち 31 施設 133 人から分離され、ESBL の構造遺伝子まで決定された 143 株を用い、各種薬剤の抗菌力を検討した。ESBL type の内訳は、UOE-2 (CTX-M-14, -18) type 34, CTX-M-2 type 43, CTX-M-3 type 17, UOE-1(CTX-M-15) type 24, CTX-M-12 type 3, SHV-12 type 20, TEM type 2 株であった。UOE-2 および CTX-M-2 type 産生株に対しては、ceftazidime, cefepime および aztreonam が、TEM および SHV type に対しては cefotaxime, ceftiofime および cefepime の MIC が比較的低い値を示したが、cephalosporins および penicillins の MIC は高く、特に経口薬の MIC はそれぞれの breakpoint MIC と比較して高い値を示した。Carbapenems の抗菌力が最も強く、meropenem は 0.25, imipenem 0.5  $\mu$ g/mL ですべての株の発育を阻止した。8 位に methoxy 基を有する cephamycins の抗菌力も強く、lata-moxef は 8  $\mu$ g/mL で、flomoxef は 4  $\mu$ g/mL ですべての株の発育を阻止し、cefmetazole は、1 株 32  $\mu$ g/mL を示す株が存在したが、その他は、その breakpoint MIC である 16  $\mu$ g/mL で発育を阻止した。 $\beta$ -lactamase 阻害薬との合剤では、CTX-M type に対しては、piperacillin/tazobactam が、TEM および SHV type では cefoperazone/sulbactam の抗菌力が強かった。Ampicillin/sulbactam および amoxicillin/clavulanic acid はそれぞれの単剤よりも明らかに MIC は改善されたが、Breakpoint MIC 以下とならない株が多数存在した。 $\beta$ -lactams 以外では、quinolones, tetracycline, ST 合剤および gentamicin の感受性率は低く、minocycline および fosfomycin は UOE-2 type を除いて、75% 以上の感受性率を有していた。ESBL 産生菌に有効な薬剤は限られており、また院内感染により拡がりやすい耐性菌であるため、早期検出、早期対策を行う必要がある重要な耐性菌である。

**Key words:** Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL), Antimicrobial susceptibility, *Escherichia coli*

基質特異性拡張型  $\beta$ -lactamase (ESBL) は、主に penicillins を分解する Class A  $\beta$ -lactamase である TEM-1, TEM-2, SHV-1 または Class D  $\beta$ -lactamase である OXA-1 遺伝子の point mutation により基質特異性が拡張した  $\beta$ -lactamase として定義され、現在までに 100 種類以上の type が報告されている。これらと同様の基質特異性を有する Class A  $\beta$ -lactamase として、CTX-M 型などが知られているが、現在ではこれらの  $\beta$ -lactamase も含めて ESBL と定義しているのが一般的である。すなわち、penicillins および第一世代 cephalosporins のみならず、第二世代以降の cephalosporins および monobactams を分解可能な Class A および Class D  $\beta$ -lactamase のことを ESBL と呼んでいる。ESBL 産生菌は 1983 年に Knothe ら<sup>1)</sup> が ESBL 産生 *Klebsiella pneumoniae* および *Serratia marcescens* を世界で初めて報告し、日本においては

1995 年に Ishii ら<sup>2)</sup> が Toho-1 型 ESBL 産生 *Escherichia coli* を報告したのが最初である。われわれは 1998 年より、九州・山口地区を中心に cephem 耐性菌に関する調査研究を実施しているが、ESBL 産生菌の急速な増加を認めている。本研究は、1998 年以降に九州・山口地区で分離された ESBL 産生 *E. coli* のうち ESBL の構造遺伝子が決定されたものに対する各種薬剤の抗菌力を検討したものである。

### I. 材料と方法

#### 1. 使用菌株

1998～2004 年までの間に九州・山口地区の 31 施設 132 人から分離された ESBL 産生 *E. coli* のうち、ESBL の構造遺伝子まで決定された 140 株を用いた。その内訳は、UOE-2 (CTX-M-14, -18) type 34, CTX-M-2 type 43, CTX-M-3 type 17, UOE-1(CTX-M-15) type 24, SHV-

\*福岡県北九州市八幡西区医生ヶ丘 1 1

Table 1. PCR primer

	primer for detection	sequencing primer
U2-F	GTGACAAAGAGAGTGAACGG	AAAAAACACACGTGGAATTTAGG
U2-R	GGCTCTCTGCGTTCTGTTGC	ATCTGATCCTTCAACTCAGC
C2-F	ATGATGACTCAGAGCATTCCG	AAAAAACACACGTGGAATTTAGG
C2-R	CCTTTCGGCCTTCTGCTC	CAAGACTGAAGTTCAGGAGC
C3-F	GGGACGATGTCACCTGGC	GTCTCTCCAGAATAAGGAATCCC
C3-R	GCGGTGTTAACGTCGGC	CCGTTTCGGCTATTACAAACCC
TEM-F	TAAGAGAATTATGCACTGCTGCC	CCGCTCATGATACAATAACCC
TEM-R	TCCATAGTTGCCTGACTCCCC	ATATGAGTAAACTTGGTCTGACAG
SHV-F	TGACGAACAGCTGGAGCGAAA	CTCGCCTTTATCGGCCCTC
SHV-R	GCGCTCTGCTTTGTTATTCGG	GATAACGCGCGCGGCCA

12 type 20, TEM type 2 株であった。

## 2. 使用抗菌薬

使用した抗菌薬の略号および入手元を以下に示す。

ampicillin (ABPC, Nacalai tesque), amoxicillin (AMPC, Sigma), sulbactam (SBT, Pfizer), clavulanic acid (CVA, Glaxo), piperacillin (PIPC, 富山化学工業), tazobactam (TAZ, 大鵬薬品), cefazolin (CEZ, 藤沢薬品工業), cefotiam (CTM, 武田薬品工業), cefotaxime (CTX, Sigma), ceftriaxone (CTRX, Sigma), cefoperazone (CPZ, 富山化学工業), ceftazidime (CAZ, Glaxo), cefpirome (CPR, 塩野義製薬), cefepime (CFPM, Bristol Myers Squibb), ceftazopran (CZOP, 武田薬品工業), cefmetazole (CMZ, 三共), latamoxef (LMOX, 塩野義製薬), flomoxef (FMOX, 塩野義製薬), aztreonam (AZT, エーザイ), faropenem (FRPM, 山之内製薬), imipenem (IPM, 万有製薬), meropenem (MEPM, 住友製薬), cefaclor (CCL, 塩野義製薬), cefuroxime (CXM, Sigma), cefixime (CFIX, 藤沢薬品工業), cefteraam (CFTM, 富山化学工業), cefpodoxime (CPDX, 三共), cefdinir (CFDN, 藤沢薬品工業), cefditoren (CDTR, 明治製薬), cefcapene (CFPN, 塩野義製薬), ciprofloxacin (CPF, バイエル薬品), levofloxacin (LVFX, 第一製薬), gatifloxacin (GFLX, 杏林製薬), tetracycline (TC, Sigma), minocycline (MINO, 和光純薬), sulfamethoxazole (SMX, Sigma), trimethoprim (TMP, Sigma), fosfomycin (FOM, 明治製薬), nitrofurantoin (NIT, Nacalai tesque), gentamicin (GM, Nacalai tesque), amikacin (AMK, Sigma)

## 3. 薬剤感受性測定

薬剤感受性は、NCCLS<sup>3)</sup>に準じて、寒天平板希釈法にて測定した。

合剤については以下の比率で混合して使用し、MIC は略号の最初に記載されたほうの薬剤の濃度で示した。

PIPC/TAZ:4/1, CPZ/SBT:1/1, ABPC/SBT:1/1, AMPC/CVA:2/1, TMP/SMX:1/19

また、CAZ, CPR, CPDX に 4 μg/mL CVA を添加した場合にも MIC は単剤の濃度で示した。

## 4. ESBL の検出

臨床材料から分離され、薬剤感受性測定がなされた *E. coli* のうち、CPDX, CAZ, CTX, CTRX, AZT および CPR のいずれかの抗菌薬の MIC が 2 μg/mL 以上を示した株を ESBL スクリーニング陽性とした。寒天平板希釈法にて、CPDX, CAZ, CPR のいずれかの抗菌薬の MIC が CVA 4 μg/mL 添加時に単剤の MIC よりも 8 倍以上低下したものを ESBL 産生株とした。また、CVA との併用効果の有無に関わらず全株 Table 1 に示す primer for detection を用いて PCR を行い、保有している Class A β-lactamase を検索した。

## 5. β-lactamase 構造遺伝子の決定

ESBL 産生株と判定された株については、Table 1 に示す Sequencing primer を用いて PCR 産物を得た。この PCR 産物を用いて、構造遺伝子の塩基配列を Direct sequence 法により ABI377 sequencer にて決定した。

## II. 結 果

### 1. ESBL type の決定

PCR の結果、九州・山口地区で分離された ESBL は、*E. coli* では、CTX-M-9, UOE-2 (CTX-M-14), Toho-2 などが陽性となる U2 type が最も多く、次いで CTX-M-2, Toho-1 などが陽性となる C2 type, CTX-M-1, CTX-M-3, CTX-M-12, UOE-1 (CTX-M-15), などが陽性となる C3 type および SHV type の順であった。TEM type は多数検出されたが、ほとんど TEM-1 であった。TEM type では 2 株 ESBL type が分離された。

### 2. ESBL type 別薬剤感受性

NCCLS では、ESBL 産生株に対する penicillins, cephalosporins および monobactams の臨床効果は低いので、たとえ MIC が低い場合であっても「耐性 (Resistant)」と報告するとしている<sup>4)</sup>。本研究ではすべて ESBL 産生株を用いているので、すべて耐性とするべきであるが、本研究では抗菌活性の比較が目的であるため、Table 2~6 の感受性率 (% susceptibility) は単純に Breakpoint MIC 以下のものの率として算出している。また、Breakpoint MIC の設定のないものに関しては、Table 2~6 に示した

Table 2. Susceptibility distribution of UOE-2 producing *Escherichia coli* isolates against antimicrobials

Antimicrobials	Number of isolates														Total	Break-point MIC (µg/mL)	Susceptibility*** (%)			
	MIC (µg/mL)																			
	0.0078	0.0156	0.0313	0.0625	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64				128	> 256	
ABPC															2	<b>32</b>	34	8	0	
ABPC/SBT* (1/1)									2	<u>17</u>	10	<b>4</b>	1				34	8	55.9	
AMPC																<b>34</b>	34	8	0	
AMPC/CVA* (2/1)								2	<u>26</u>	<b>6</b>							34	8	82.4	
CCL														1	7	<u>17</u>	<b>9</b>	34	8	0
CXM															1	<b>33</b>	34	4	0	
CFIX								2	10	<u>13</u>	4	1	<b>4</b>				34	1	5.9	
CFTM											1	6	<u>18</u>	5	<b>2</b>	2	34	1	0	
CPDX												1	<u>13</u>	14	<b>3</b>	3	34	2	0	
CPDX + CVA**					3	<u>18</u>	<b>10</b>	2	1								34	2	97.1	
CFDN													1	7	<u>20</u>	<b>3</b>	3	34	1	0
CDTR										1	2	<u>19</u>	8	<b>2</b>	2		34	2	0	
CFPN										1	7	<u>16</u>	6	<b>2</b>	2		34	2	0	
FRPM						5	<u>27</u>	1		1							34	2	97.1	
PIPC												1	6	<u>19</u>	<b>5</b>	3	34	16	0	
PIPC/TAZ* (4/1)						1	1	<u>17</u>	10	<b>3</b>	1	1					34	16	97.1	
CEZ														1		<b>33</b>	34	8	0	
CTM									1		5	<u>15</u>	9	<b>2</b>	1	1	34	8	2.9	
CTX									1	2	11	<u>14</u>	<b>4</b>		2		34	8	8.8	
CPZ												1	2	9	<u>14</u>	<b>8</b>	34	16	0	
CPZ/SBT* (1/1)								1	3	<u>20</u>	6	<b>3</b>	1				34	16	88.2	
CTRX										1	3	<u>18</u>	<b>9</b>	1	2		34	8	2.9	
CAZ						2	12	<u>13</u>	2	<b>2</b>	2		1				34	8	97.1	
CAZ + CVA**			1	1	<u>23</u>	5	<b>2</b>	2									34	8	100	
CAZ + TAZ**				1	10	<u>16</u>	<b>5</b>	2									34	8	100	
CPR									2	2	<u>21</u>	5	1	2		1	34	8	73.5	
CPR + CVA**	1	3	<u>20</u>	<b>9</b>		1											34	8	100	
CFPM								3	4	<u>18</u>	5	<b>1</b>	3				34	8	88.2	
CZOP											2	2	<u>20</u>	6	<b>2</b>	1	1	34	8	5.9
CMZ						1	2	<u>19</u>	7	<b>2</b>	3						34	16	100	
LMOX			1	6	<u>16</u>	<b>7</b>	<b>3</b>	1									34	8	100	
FMOX		2	5	<u>16</u>	<b>8</b>	2	<b>1</b>										34	8	100	
AZT						2	1	12	<u>12</u>	<b>4</b>	1	2					34	8	91.2	
IPM			1	11	<u>18</u>	<b>3</b>	1										34	4	100	
MEPM	2	<u>21</u>	<b>8</b>	3													34	4	100	
CPFX	1	1									1	7	<u>19</u>	<b>4</b>	1		34	1	5.9	
LVFX		1	1								1	<u>14</u>	<b>15</b>	1	1		34	2	5.9	
GFLX	1	1							2	<u>20</u>	<b>10</b>						34	2	5.9	
TC								1	1		1		2	3	<b>26</b>		34	4	5.9	
MINO						1	1	2		6	<u>13</u>	<b>10</b>	1				34	4	11.8	
FOM						8	2	2	1			1	<u>18</u>	2			34	8	38.2	
TMP/SMX* (1/19)			2	1	1	1							<b>28</b>			1	34	2	14.7	
NIT									2	14	<u>14</u>	<b>3</b>	1				34	32	97.1	
GM					4	12	<u>4</u>	3		1	1	5	<b>3</b>	1			34	4	67.6	
AMK						1	20	7	1	<b>2</b>	1	1		1			34	16	94.1	
ISP					1	6	21	1	3	<b>1</b>			1				34	8	97.1	

Abbreviations: ABPC: ampicillin, SBT: sulbactam, AMPC: amoxicillin, CVA: clavulanic acid, CCL: cefaclor, CXM: cefuroxime, CFIX: cefixime, CFTM: cefteteram, CPDX: cefpodoxime, CFDN: cefdinir, CDTR: cefditoren, CFPN: cefcapene, FRPM: faropenem, PIPC: piperacillin, TAZ: tazobactam, CEZ: cefazolin, CTM: cefotiam, CTX: cefotaxime, CPZ: cefoperazone, CTRX: ceftriaxone, CAZ: ceftazidime, CPR: cefpirome, CFPM: cefepime, CZOP: ceftazopran, CMZ: cefmetazole, LMOX: latamoxef, FMOX: flomoxef, AZT: aztreonam, IPM: imipenem, MEPM: meropenem, CPFX: ciprofloxacin, LVFX: levofloxacin, GFLX: gatifloxacin, TC: tetracycline, MINO: minocycline, FOM: fosfomycin, TMP: trimethoprim, SMX: sulfamethoxazole, NIT: nitrofurantoin, GM: gentamicin, AMK: amikacin, ISP: isepamicin

Bold numbers: 90% of isolates inhibited, underlined numbers: 50% of isolates inhibited

\* MICs represented as amounts of ABPC, AMPC, PIPC, CPZ, and TMP

\*\* add 4 µg/mL of CVA or TAZ

\*\*\* ratio of isolates which MICs were less than its breakpoint MIC

Table 3. Susceptibility distribution of CTX-M-2 producing *Escherichia coli* isolates against antimicrobials

Antimicrobials	Number of isolates														Total	Break-point MIC (µg/mL)	Susceptibility <sup>***</sup> (%)			
	MIC (µg/mL)																			
	0.0078	0.0156	0.0313	0.0625	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64				128	> 256	256
ABPC															1	<u>42</u>	43	8	0	
ABPC/SBT* (1/1)									1	<u>5</u>	<u>18</u>	<u>19</u>					43	8	14.0	
AMPC															1	<u>42</u>	43	8	0	
AMPC/CVA* (2/1)								2	<u>20</u>	<u>21</u>							43	8	51.2	
CCL													1	4	2	<u>8</u>	<u>28</u>	43	8	0
CXM												1	4	1	1	1	<u>35</u>	43	4	0
CFIX								1	<u>6</u>	<u>21</u>	<u>7</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	1	1	1	43	1	0	
CFTM									2	3	1	1	10	<u>14</u>	<u>9</u>	3	43	1	0	
CPDX														1	<u>27</u>	<u>13</u>	2	43	2	0
CPDX + CVA**				4	<u>24</u>	<u>12</u>	2	1									43	2	97.7	
CFDN							1	2	2	1	1		3	10	<u>16</u>	<u>7</u>	43	1	2.3	
CDTR								1	4	1	4	<u>13</u>	<u>14</u>	<u>3</u>	3		43	2	2.3	
CFPN							2	3	2		4	<u>21</u>	<u>8</u>	1	2		43	2	11.6	
FRPM					1	4	<u>30</u>	<u>7</u>	1								43	2	97.7	
PIPC														3	<u>32</u>	<u>8</u>	43	16	0	
PIPC/TAZ* (4/1)							2	4	<u>32</u>	<u>3</u>	2						43	16	100	
CEZ																<u>43</u>	43	8	0	
CTM												1	16	<u>18</u>	<u>5</u>	1	2	43	8	0
CTX												6	<u>21</u>	<u>12</u>	2		2	43	8	0
CPZ										2	3	1	3	3	<u>22</u>	<u>9</u>	43	16	11.6	
CPZ/SBT* (1/1)							1	4	2	6	<u>24</u>	<u>4</u>	2				43	16	86.0	
CTRX								2	3	1	1	4	<u>16</u>	<u>13</u>		3	43	8	14.0	
CAZ							6	<u>29</u>	<u>6</u>		2						43	8	95.3	
CAZ + CVA**				18	<u>17</u>	<u>4</u>	3	1									43	8	100	
CAZ + TAZ**				3	<u>29</u>	<u>9</u>	1	1									43	8	100	
CPR										1	16	<u>17</u>	<u>7</u>		2		43	8	39.5	
CPR + CVA**	1	14	<u>21</u>	<u>5</u>	2												43	8	100	
CFPM					1	2	2	2	<u>17</u>	11	<u>6</u>		2				43	8	81.4	
CZOP							1	4		2	7	<u>16</u>	7	5	1		43	8	16.3	
CMZ						2	18	<u>16</u>	<u>4</u>	3							43	16	100	
LMOX				3	17	<u>17</u>	<u>3</u>	3									43	8	100	
FMOX	1	2	<u>20</u>	<u>8</u>	<u>8</u>	4											43	8	100	
AZT										3	<u>30</u>	<u>7</u>	1	2			43	8	76.7	
IPM				1	<u>39</u>	2	1										43	4	100	
MEPM		<u>27</u>	<u>16</u>														43	4	100	
CPFX	1	6			1	1				6	<u>26</u>	2					43	1	20.9	
LVFX		1	4	1	1	1	1				<u>31</u>	2	1				43	2	20.9	
GFLX		1	4	1		1			1	<u>24</u>	<u>7</u>	4					43	2	16.3	
TC								2	4	1	1	3	<u>12</u>	14	<u>6</u>		43	4	14.0	
MINO								15	<u>20</u>	<u>5</u>	2	<u>1</u>					43	4	81.4	
FOM					1	18	<u>13</u>	2		1			<u>6</u>	2			43	8	81.4	
TMP/SMX* (1/19)			2	1	4	2	4	2				<u>26</u>				2	43	2	34.9	
NIT									5	<u>24</u>	<u>9</u>	<u>3</u>	1			1	43	32	95.3	
GM					5	11					2	<u>14</u>	<u>10</u>	1			43	4	37.2	
AMK						1	17	<u>22</u>		1		1				1	43	16	95.3	
ISP						5	<u>26</u>	<u>9</u>		1	1					1	43	8	95.3	

Abbreviations: see Table 2 footnote

Bold numbers: 90% of isolates inhibited, underlined numbers: 50% of isolates inhibited

\* MICs represent amounts of ABPC, AMPC, PIPC, CPZ, and TMP

\*\* add 4 µg/mL of CVA or TAZ

\*\*\* ratio of isolates which MICs were less than its breakpoint MIC

値を使用しており、これは類薬の値を参考に設定したものである。また、ESBLは院内感染により同一 clone や同一 plasmid が拡がりやすいことが報告<sup>5)</sup>されているため、

複数の施設より分離された株を用いた。

### 3. UOE-2 type 産生 *E. coli* に対する薬剤感受性

U2 primer で陽性となった株のうち塩基配列を決定し

Table 4. Susceptibility distribution of CTX-M-3 producing *Escherichia coli* isolates against antimicrobials

Antimicrobials	Number of isolates															Total	Break-point MIC (µg/mL)	Susceptibility (%)	
	MIC (µg/mL)																		
	0.0078	0.0156	0.0313	0.0625	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128				> 256
ABPC																<u>17</u>	17	8	0
ABPC/SBT * (1/1)										4	<u>9</u>	4					17	8	23.5
AMPC																<u>17</u>	17	8	0
AMPC/CVA ** (2/1)									7	<u>9</u>		1					17	8	41.2
CCL														1	2	<u>14</u>	17	8	0
CXM																<u>17</u>	17	4	0
CFIX								1	3	4		<u>6</u>	<u>2</u>	1			17	1	0
CFTM												1	4	2	<u>2</u>	<u>8</u>	17	1	0
CPDX												1	4	<u>6</u>		<u>6</u>	17	2	0
CPDX + CVA **				1	7	<u>3</u>	2	2		1	1						17	2	76.5
CFDN													1	5	<u>5</u>	<u>6</u>	17	1	0
CDTR												3	4	<u>2</u>	5	<u>3</u>	17	2	0
CFPN												3	4	<u>5</u>	3	<u>2</u>	17	2	0
FRPM						1	<u>9</u>	3	4								17	2	76.5
PIPC												1	1	1	4	<u>10</u>	17	16	0
PIPC/TAZ * (4/1)								3	<u>9</u>	2	2			1			17	16	94.1
CEZ																<u>17</u>	17	8	0
CTM										1	2	1	<u>7</u>	3	<u>3</u>		17	8	5.9
CTX											3	5	<u>5</u>	1	<u>3</u>		17	8	0
CPZ													1	2	5	<u>9</u>	17	16	0
CPZ/SBT * (1/1)									2	5	<u>8</u>	2					17	16	88.2
CTRX										1	2	4	<u>3</u>	5	<u>2</u>		17	8	0
CAZ								2	3	<u>6</u>	3				<u>3</u>		17	8	82.4
CAZ + CVA **			1	2	<u>6</u>	2	3	<u>2</u>	1								17	8	100
CAZ + TAZ **				1	<u>8</u>	4	2	<u>1</u>	1								17	8	100
CPR								1		3	4	<u>4</u>	3	2			17	8	23.5
CPR + CVA **	1	4	<u>5</u>	4	1	<u>2</u>											17	8	100
CFPM								2	2	4	<u>4</u>	2	1	<u>2</u>			17	8	47.1
CZOP				1						1	1	4	<u>5</u>	1	2	<u>2</u>	17	8	11.8
CMZ								4	4	<u>3</u>	4	<u>2</u>					17	16	100
LMOX				2	2	<u>5</u>	5	<u>3</u>									17	8	100
FMOX			6	2	<u>3</u>	2	1	<u>3</u>									17	8	100
AZT									2	4	<u>5</u>	1	3	<u>2</u>			17	8	35.3
IPM			2	<u>12</u>	<u>3</u>												17	4	100
MEPM	8	<u>6</u>	<u>3</u>														17	4	100
CPFX	8	<u>1</u>			3					2	1			<u>2</u>			17	1	70.6
LVFX			<u>8</u>	<u>1</u>		3					3			<u>2</u>			17	2	70.6
GFLX	2	<u>7</u>			3					3				<u>2</u>			17	2	70.6
TC								2	<u>7</u>					4	<u>4</u>		17	4	52.9
MINO						5	3	<u>2</u>	3	1		<u>2</u>	1				17	4	76.5
FOM						<u>10</u>	5					<u>2</u>					17	8	88.2
TMP/SMX * (1/19)				2	4	2	<u>1</u>						<u>8</u>				17	2	52.9
NIT										5	<u>5</u>	7					17	32	100
GM						2	1						2	1	<u>11</u>		17	4	17.6
AMK							2	3						1		<u>11</u>	17	16	29.4
ISP								5								<u>12</u>	17	8	29.4

Abbreviations: see Table 2 footnote

Bold numbers: 90% of isolates inhibited, underlined numbers: 50% of isolates inhibited

\* MICs represent amounts of ABPC, AMPC, PIPC, CPZ, and TMP

\*\* add 4 µg/mL of CVA or TAZ

\*\*\* ratio of isolates which MICs were less than its breakpoint MIC

た株は、すべて UOE-2 type であり、GenBank accession no. AF311345 とまったく同じ配列を示した。ここでは、14 施設、32 人から分離された 34 株を用いた。患者年齢

は、0 歳から 94 歳であり、平均 69.4 歳、検査材料は、尿 16、呼吸器 12、血液 3、膿 2、便 1 株である。Table 2 に各種抗菌薬の感受性分布および感受性率を示す。peni-

Table 5. Susceptibility distribution of UOE-1 producing *Escherichia coli* isolates against antimicrobials

Antimicrobials	Number of isolates														Total	Break-point MIC (µg/mL)	Susceptibility (%) <sup>***</sup>			
	MIC ( µg/mL )																			
	0.0078	0.0156	0.0313	0.0625	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64				128	>256	256
ABPC																<u>24</u>	24	8	0	
ABPC/SBT * ( 1/1 )											2	<u>20</u>	2				24	8	8.3	
AMPC																<u>24</u>	24	8	0	
AMPC/CVA * ( 2/1 )										<u>12</u>	<u>11</u>	1					24	8	50.0	
CCL													1	2		1	<u>20</u>	24	8	0
CXM																1	<u>23</u>	24	4	0
CFIX											2	1	6	<u>7</u>	<u>6</u>	1	1	24	1	0
CFTM												1	1	1	4	8	<u>9</u>	24	1	0
CPDX													1	2		8	<u>13</u>	24	2	0
CPDX + CVA **				1	3	<u>11</u>	6	<u>3</u>									24	2	100	
CFDN													2	1	1	8	<u>12</u>	24	1	0
CDTR											2	2	1	<u>10</u>	6	2	1	24	2	0
CFPN											1	2	2	<u>7</u>	8	<u>3</u>	1	24	2	0
FRPM								<u>19</u>	<u>4</u>		1						24	2	95.8	
PIPC													1	1	3	<u>10</u>	<u>9</u>	24	16	0
PIPC/TAZ * ( 4/1 )										<u>13</u>	<u>9</u>	2					24	16	100	
CEZ															1	1	<u>22</u>	24	8	0
CTM											2	1	1	<u>8</u>	5	<u>5</u>	1	24	8	12.5
CTX									1		1	1	2	<u>9</u>	5	<u>3</u>	2	24	8	8.3
CPZ												1	2	3	5	<u>13</u>	24	16	4.2	
CPZ/SBT * ( 1/1 )						1		1	8	<u>11</u>	<u>3</u>						24	16	100	
CTRX												3	1	6	<u>8</u>	<u>4</u>	2	24	8	0
CAZ										2	1	6	<u>7</u>	<u>6</u>	2			24	8	37.5
CAZ + CVA **				1	5	<u>13</u>	2	<u>3</u>									24	8	100	
CAZ + TAZ **				1	5	<u>10</u>	5	<u>3</u>									24	8	100	
CPR									2	1	2	5	<u>6</u>	<u>6</u>	1	1		24	8	20.8
CPR + CVA **	1	8	<u>9</u>	<u>4</u>	2												24	8	100	
CFPM								1	3	1	<u>7</u>	8	<u>2</u>	2			24	8	50.0	
CZOP										2	2	7	<u>8</u>	2	2	1	24	8	8.3	
CMZ						1	8	<u>5</u>	<u>8</u>	2							24	16	100	
LMOX			1	2	5	<u>8</u>	<u>8</u>										24	8	100	
FMOX		1	<u>11</u>	8	<u>3</u>	1											24	8	100	
AZT									2	1	4	<u>10</u>	<u>5</u>	1	1		24	8	12.5	
IPM			1	<u>20</u>	<u>2</u>	1											24	4	100	
MEPM	9	<u>13</u>	1	1	1												24	4	100	
CPFX	3	2	1	1	1								4	<u>4</u>	<u>9</u>		24	1	29.2	
LVFX		1	4	1	1				1	<u>2</u>	<u>10</u>	<u>4</u>					24	2	29.2	
GFLX	1	4	1	1	1				2	<u>10</u>	<u>5</u>						24	2	29.2	
TC								3	6				1	<u>3</u>	7	<u>4</u>	24	4	37.5	
MINO							2	7	<u>7</u>	2	2	<u>3</u>		1			24	4	75.0	
FOM				1	1	7	<u>11</u>				2		1	1			24	8	91.7	
TMP/SMX * ( 1/19 )			3	5	2								<u>14</u>				24	2	41.7	
NIT									3	<u>14</u>	<u>6</u>	1					24	32	100	
GM				1	<u>13</u>	<u>8</u>					1			1			24	4	91.7	
AMK							6	<u>6</u>	2	<u>8</u>	2						24	16	100	
ISP						3	<u>12</u>	<u>8</u>	1								24	8	100	

Abbreviations: see Table 2 footnote

Bold numbers: 90% of isolates inhibited, underlined numbers: 50% of isolates inhibited

\* MICs represent amounts of ABPC, AMPC, PIPC, CPZ, and TMP

\*\* add 4 µg/mL of CVA or TAZ

\*\*\* ratio of isolates which MICs were less than its breakpoint MIC

cillins ,第一 ,第二世代 cephalosporins に対しては高度耐性を示し ,感受性率は 3% 未満であった。第三世代以降であっても CTX , CPZ , CTRX , CZOP の感受性率は

10% 以下であり ,経口薬は Breakpoint MIC が低いこともあり ,CFIX にやや感受性を示す株が存在しただけで ,その他は感受性率 0% であった。CAZ および AZT は比較

Table 6. Susceptibility distribution of SHV-12 producing *Escherichia coli* isolates against antimicrobials

Antimicrobials	Number of isolates														Total	Break-point MIC (µg/mL)	Susceptibility (%) <sup>***</sup>			
	MIC (µg/mL)																			
	0.0078	0.0156	0.0313	0.0625	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64				128	> 256	256
ABPC																<b>1</b>	<b>19</b>	20	8	0
ABPC/SBT * (1/1)								1	5	1	<u>6</u>	<b>7</b>						20	8	35.0
AMPC																<b>1</b>	<b>19</b>	20	8	0
AMPC/CVA * (2/1)								1	3	<u>8</u>	<b>7</b>	<b>1</b>						20	8	60.0
CCL												2	2	4	<u>2</u>		<b>10</b>	20	8	0
CXM										1	5	3		<u>1</u>	4	<b>6</b>	20	4	0	
CFIX										<u>10</u>	3	1		1	4	<b>1</b>	20	1	0	
CFTM									7	1	1		<u>4</u>	<b>5</b>	1	1	20	1	0	
CPDX											3	6	<u>2</u>	3	1	3	<b>2</b>	20	2	0
CPDX + CVA **				1	3	<u>6</u>	<b>6</b>	<b>3</b>								1		20	2	95.0
CFDN								3	4	2	<u>1</u>		2	3	2	<b>3</b>		20	1	15.0
CDTR									4	4	1		<u>5</u>	<b>4</b>	1		1	20	2	20.0
CFPN							3	4	2		<u>4</u>	1	<b>4</b>	2				20	2	45.0
FRPM					1		<u>13</u>	4	<b>1</b>	1								20	2	90.0
PIPC												4	4	<u>3</u>	2	1	<b>6</b>	20	16	20.0
PIPC/TAZ * (4/1)								3	<u>7</u>		3	4	<b>2</b>				1	20	16	85.0
CEZ												1	4	<u>5</u>	1	4	<b>5</b>	20	8	0
CTM								1	3	2	<u>6</u>	2	2	1	<b>3</b>			20	8	60.0
CTX								5	3	<u>3</u>	3		1	<b>4</b>			1	20	8	70.0
CPZ									3	2	2	2	<u>1</u>	3	<b>6</b>	1		20	16	35.0
CPZ/SBT * (1/1)					2	2	1	4		<u>5</u>	<b>5</b>	1						20	16	95
CTRX									4	4	1		<u>3</u>	<b>6</b>	1		1	20	8	45.0
CAZ											4	5	<u>2</u>	2	2	<b>4</b>	1	20	8	20.0
CAZ + CVA **					<u>10</u>	3	4	<b>2</b>					1					20	8	95.0
CAZ + TAZ **					7	<u>4</u>	1	5				<b>2</b>	1					20	8	85.0
CPR						5	<u>6</u>	2	1	3	<b>2</b>		1					20	8	85.0
CPR + CVA **	2	3	<u>7</u>	<b>6</b>	2													20	8	100
CFPM					3	3	3		<u>5</u>	3	<b>2</b>	1						20	8	85.0
CZOP								4	1	3		<u>3</u>	5	<b>4</b>				20	8	40.0
CMZ								3	4	<u>7</u>	<b>4</b>	1	1					20	16	95.0
LMOX					5	4	<u>4</u>	3	1	<b>3</b>								20	8	100
FMOX			8	<u>2</u>	3	4	<b>2</b>	1										20	8	100
AZT												3	5	<u>2</u>	2	2	<b>6</b>	20	8	0
IPM				3	<u>17</u>													20	4	100
MEPM	2	<u>12</u>	5	1														20	4	100
CPFX		3		1		3					1		<u>6</u>	<b>5</b>	1			20	1	35.0
LVFX			3		1	2	1				1	<u>6</u>	<b>5</b>	1				20	2	35.0
GFLX		3			1	2	2				<u>9</u>	<b>2</b>	1					20	2	40.0
TC								1	2	6		<u>1</u>		4	<b>5</b>	1		20	4	45.0
MINO							2	<u>9</u>	3	<b>5</b>		1						20	4	95.0
FOM					1	<u>11</u>	4	<b>2</b>						2				20	8	90.0
TMP/SMX * (1/19)			1	2					1				<u>16</u>					20	2	15.0
NIT											8	<u>2</u>	<b>9</b>	1				20	32	95.0
GM					1	<u>14</u>	2			<b>1</b>	1	1						20	4	85.0
AMK								9	<u>10</u>		1							20	16	100
ISP						5	<u>10</u>	<b>5</b>										20	8	100

Abbreviations: see Table 2 footnote

Bold numbers: 90% of isolates inhibited, underlined numbers: 50% of isolates inhibited

\* MICs represent amounts of ABPC, AMPC, PIPC, CPZ, and TMP

\*\* add 4 µg/mL of CVA or TAZ

\*\*\* ratio of isolates which MICs were less than its breakpoint MIC

的 CTX-M type の ESBL には安定であるため感受性率は 90% を超えていたが, ESBL スクリーニングの基準である 2 µg/mL 以上の株は, それぞれ 20.6% および 91.2%

存在した。FRPM は Breakpoint MIC を 2 µg/mL とすると 1 株を除いて感受性を示した。IPM, MEPM の carbapenems および 8 位に methoxy基を有する CMZ, LMOX,

Table 7. Antimicrobial activities of TEM type ESBL producing *Escherichia coli* isolates against antimicrobials

Antimicrobials	MIC ( µg/mL )		Breakpoint MIC ( µg/mL )	Antimicrobials	MIC ( µg/mL )		Breakpoint MIC ( µg/mL )
	Rec777	SEC204			Rec777	SEC204	
ABPC	> 256	> 256	8	PIPC	64	> 256	16
ABPC/SBT * ( 1/1 )	16	64	8	PIPC/TAZ * ( 4/1 )	2	32	16
AMPC	> 256	> 256	8	CEZ	16	256	8
AMPC/CVA * ( 2/1 )	8	32	8	CTM	2	8	8
CCL	16	128	8	CTX	1	0.5	8
CXM	64	32	4	CPZ	16	> 256	16
CFIX	16	1	1	CPZ/SBT * ( 1/1 )	1	1	16
CFTM	8	2	1	CTRX	1	1	8
CPDX	64	8	2	CAZ	128	4	8
CPDX + CVA **	1	0.5	2	CAZ + CVA **	0.25	1	8
CFDN	2	2	1	CAZ + TAZ **	0.25	2	8
CDTR	4	4	2	CPR	4	4	8
CFPN	1	1	2	CPR + CVA **	0.0625	0.0625	8
FRPM	1	2	2	CFPM	2	4	8
CPFEX	0.0156	1	1	CZOP	8	2	8
LVFX	0.0625	1	2	CMZ	1	2	16
GFLX	0.0156	0.5	2	LMOX	1	1	8
TC	2	2	4	FMOX	0.125	125	8
MINO	1	1	4	AZT	64	4	8
FOM	1	0.5	8	IPM	0.25	0.25	4
TMP/SMX * ( 1/19 )	0.0625	0.5	2	MEPM	0.0313	0.0313	4
NIT	8	8	32	GM	1	2	4
				AMK	2	32	16
				ISP	1	8	8

Abbreviations: see Table 2 footnote

Rec777 has TEM-6, SEC204 has TEM-UOE-3

\* MICs represent amounts of ABPC, AMPC, PIPC, CPZ, and TMP

\*\* add 4 µg/mL of CVA or TAZ

FMOX の cephamycins に耐性を示す株は存在しなかった。β-lactamase 阻害薬との合剤である ABPC/SBT, AMPC/CVA, PIPC/TAZ および CPZ/SBT の感受性率は、55.9, 82.4, 97.1 および 88.2% であり、単剤の感受性率はすべて 0% であったので、明らかな改善を認めた。特に PIPC/TAZ は 1 株を除いて、感受性域まで MIC が増強していた。CPFEX, LVFX, GFLX の quinolones および TC の感受性率は 10% 未満であった。MINO, FOM, ST の感受性率はそれぞれ 11.8, 38.2, 14.7% であり、耐性株が大半を占めていた。Aminoglycosides の感受性率は、GM は 67.6% と低かったが、AMK および ISP は 94.1 および 97.1% と高い感受性率を示した。

#### 4. CTX-M-2 産生 *E. coli* に対する薬剤感受性

C2 primer で陽性となった株のうち塩基配列を決定した株は、すべて CTX-M-2 type であり、GenBank accession no. AJ416343 とまったく同じ配列を示した。ここでは、12 施設 41 人から分離された 43 株を用いた。43 株中 24 株は TEM-1 も同時に産生していたが、TEM-1 産生の有無と β-lactams の感受性は無関係であった。患者年齢は 34 歳から 95 歳で、平均 74.8 歳、検査材料は呼吸器 17、尿 12、膿 5、便 6、その他 3 であった。Table 3 に各種抗菌薬

の感受性分布および感受性率を示す。UOE-2 産生株に対する傾向とほぼ同様であったが、carapenem, cephamycin に加えて、PIPC/TAZ の感受性率も 100% であった。MINO と FOM の感受性率は 81.4% と高かった。

#### 5. CTX-M-3 産生 *E. coli* に対する薬剤感受性

C3 primer で陽性となった株について塩基配列を決定したところ、CTX-M-3, UOE-1, CTX-M-12 の 3 種類の β-lactamase が同定された。ここでは、7 施設 16 人から分離された 17 株を用いた。CTX-M-3 と同定された 17 株中 14 株は、GenBank accession no. Y10278 と同じ配列であったが、3 株より得られた β-lactamase の塩基配列はその配列とは、8 カ所異なっており、Sekiguchi らが報告<sup>6)</sup>した配列と同じであった。17 株中 12 株は TEM-1 同時産生株であった。患者年齢は 29 歳から 89 歳で、平均 62.8 歳、検査材料は呼吸器 4、尿 7、膿 2、その他 4 株であった。Table 4 に各種抗菌薬の感受性分布および感受性率を示す。UOE-2 および CTX-M-2 産生株と比較すると cephalosporins の MIC は高く、CAZ および AZT の MIC<sub>90</sub> はそれぞれ 8 倍および 8~16 倍であった。FRPM に 4 µg/mL を示す株が 4 株存在した。β-lactams 以外の抗菌薬に対する感受性率はキノロン系 70.6%、FOM 88.2%、



ST 52.9%と比較的感受性率が高かった。aminoglycosidesの感受性率は低く、17.6~29.4%であった。

#### 6. UOE-1 産生 *E. coli* に対する薬剤感受性

UOE-1 と同定された  $\beta$ -lactamase は、GenBank accession no. AY013478 とまったく同じ配列を示した。9施設 21人から分離された 24株を用いた。24株中 12株は TEM-1 同時産生株であった。患者年齢は 0歳から 91歳で、平均 69.2歳、検査材料は尿 17、呼吸器 1、膿 2、便 2、血液 1、生殖器 1株であった。Table 5 に各種抗菌薬の感受性分布および感受性率を示す。Cephalosporin 系の MIC は高く、CAZ と AZT の感受性率は、それぞれ 37.5% と 12.5% であった。PIPC と CPZ の感受性率は、それぞれ 0 と 4.2% であったが、PIPC/TAZ と CPZ/SBT は全株、感受性の領域まで MIC が低下していた。 $\beta$ -lactams 以外の抗菌薬に対する FOM と aminoglycosides の感受性率は高く、91.7~100% であった。

#### 7. CTX-M-12 産生 *E. coli* に対する薬剤感受性

CTX-M-12 産生 *E. coli* は同一患者の尿から薬剤感受性および性状の異なる株が 2株および喀痰から 1株の計 3株が分離されただけであった。 $\beta$ -lactams に対する感受性パターンは CTX-M-2 産生株に対するパターンとほぼ同様であった。CPFX 2  $\mu$ g/mL、LVFX 2~4  $\mu$ g/mL、GFLX 1~2  $\mu$ g/mL であり、それぞれの Breakpoint MIC 付近の値を示した。

#### 8. SHV-12 産生 *E. coli* に対する薬剤感受性

PCR により *E. coli* から検出された SHV type のうち塩基配列の決定まで行った  $\beta$ -lactamase は、すべて SHV-12 type であり、GenBank accession no. AY008838 とまったく同じ配列を示した。10施設 20人から分離された 20株を用いた。20株中 13株は TEM-1 同時産生株であった。患者年齢は 1歳から 91歳で、平均 71.1歳、検査材料は、尿 12、呼吸器 2、膿 3、血液 2、胆汁 1であった。Table 6 に各種抗菌薬の感受性分布および感受性率を示す。前述の 4つの CTX-M type とは異なり、CAZ および AZT の MIC が高く、MIC<sub>50</sub> および MIC<sub>90</sub> はそれぞれ 32 および 256、および 64 および >256  $\mu$ g/mL であり、CTX-M type では MIC が高値を示した CTX のそれらは、4 および 64  $\mu$ g/mL であり、CAZ のそれらよりも低かった。経口セフェムでは、CFIX が高度耐性を示し、CFDN、CDTR、CFPN では感受性を示す株も存在した。CMZ に対して 32  $\mu$ g/mL を示す株が 1株存在したが、この株は  $\beta$ -lactamase 阻害薬との合剤である PIPC/TAZ、CPZ/SBT にも耐性を示しており、ClassC  $\beta$ -lactamase も同時に産生している株であると考えられた。FRPM の感受性率は 90% であった。LMOX、FMOX、IPM、MEPM に対しては 100% 感受性であった。 $\beta$ -lactams 以外の抗菌薬に対する感受性率は、AMK および ISP が 100%、MINO 95%、FOM 90% と高く、quinolone 系は 35~40%、ST 合剤はわずか 15% であった。

#### 9. TEM type ESBL 産生 *E. coli* に対する薬剤感受性

TEM type は PCR により多数陽性となったが、ESBL として同定された株は、TEM-6 が 89歳女性の尿検体から、TEM-U3 が 68歳男性の喀痰から分離された 2株のみであった。こらら 2株に対する MIC を Table 7 に示す。Cephalosporins の MIC は比較的低かったが、CAZ および AZT の MIC は CTX と比較すると高い値を示した。Quinolones、tetracyclines、FOM および ST 合剤は感受性を示した。

### III. 考 察

ESBL は外来遺伝子であり、多くの場合、プラスミド上に存在しているため、いずれの菌種からも分離される可能性がある。*Enterobacteriaceae* の中でも *E. coli* は病原性が高く、臨床材料からの分離頻度も高い。ESBL 産生株は海外では TEM および SHV type ESBL を産生する *Klebsiella pneumoniae* に関する報告<sup>7)</sup>が多いが、本邦では CTX-M type ESBL 産生 *E. coli* に関する報告が多い<sup>8,9)</sup>。九州・山口地区で分離された ESBL も UOE-2、CTX-M-2 など CTX-M type が大半を占め、TEM および SHV type も分離されたが、その割合は少なかった。*E. coli* は染色体上に ClassC  $\beta$ -lactamase を有しているが、プロモーターの構造上その産生が抑制されている。主に TEM-1 などの ClassA  $\beta$ -lactamase をコードする plasmid を獲得し、penicillins および第一世代 cephalosporins に耐性化する株は以前より存在していたが、第二世代以降の cephalosporins は通常感受性を示していた。しかし、近年 ESBL を獲得し、第二世代以降の cephalosporins および monobactams に対しても高度耐性となった株が増加している。

NCCLS では、ESBL のスクリーニング方法として、CAZ、CTX、CTR、AZT のいずれかの MIC が 2  $\mu$ g/mL 以上を示す場合、または CPDX の MIC が 8  $\mu$ g/mL 以上を示す場合をスクリーニング陽性とするとしている。CPDX については、2002 年までは 2  $\mu$ g/mL 以上という基準であった。本検討は 1998 年より実施しているため、CPDX 2  $\mu$ g/mL 以上をスクリーニング陽性として検討した。実際に検査室では、これら 5 薬剤をすべてルチン検査で使用しているわけではない。したがって、一部の薬剤をスクリーニングに使用することになる。また、薬剤感受性測定法は、微量液体希釈法が主流となっているが、より多くの薬剤数を測定できる Breakpoint MIC 付近の濃度のみを測定に用いる方法も普及している。経口  $\beta$ -lactams の場合、その Breakpoint MIC は 2  $\mu$ g/mL 前後であるため、ESBL スクリーニングに適しているが、注射用  $\beta$ -lactams の多くはその Breakpoint MIC は 8  $\mu$ g/mL 以上であるため、Breakpoint 付近のみを測定している場合には、ESBL を見逃してしまうおそれがある。今回用いた株においても、CAZ、CTX、CTR および AZT は 8  $\mu$ g/mL 未満を示す株が多数存在した。CPDX の MIC は

8 ~ > 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$  に分布しており, ESBL スクリーニング薬剤としては非常に優れている。しかしながら, 第三世代経口セフェムは現在 6 薬剤存在し, 施設ごとに採用薬剤は異なるため, CPDX の感受性をルチンで測定しているとは限らない。ESBL 産生株は院内感染を引きおこしやすい耐性菌であることを考慮すると, 早期発見, 早期対策が重要であることはいうまでもなく, スクリーニングに用いる薬剤を施設ごとに決めておくことは重要である。今回のデータは, TEM type ESBL は少なかったが, 国内で分離される多くの ESBL は網羅しており, 臨床分離 ESBL 産生株のスクリーニング薬剤を決める参考になると思われる。ESBL の確認試験としては, CAZ および CTX 単剤と CVA を加えた場合に相乗効果を見ることが, NCCLS により推奨されている。CVA を含有した CAZ および CTX ディスクは市販されており, 安価で簡単に ESBL 確認試験を行うことができる。この方法は遺伝子を調べるなど煩雑な操作は必要なく, 細菌検査室で実施可能であり, 有用な方法である。また, CTX-M type ESBL の多くは, CTX の MIC が CAZ の MIC より高く, TEM および SHV type ESBL の多くはその逆である。例外は存在するものの, 現在国内では非常にまれであると考えられる。したがって, CAZ と CTX およびその CVA 含有ディスクを用いた ESBL 確認試験により, ESBL type の推定も可能である。

注射用  $\beta$ -lactams では, LMOX, FMOX, IPM, MEPM に耐性を示す株は存在せず, CMZ および  $\beta$ -lactamase 阻害薬との合剤 PIPC/TAZ および CPZ/SBT も優れた活性を示した。経口薬では FRPM は優れた活性を示した他は,  $\beta$ -lactamase 阻害薬との合剤 ABPC/SBT, AMPC/CVA を含めて, 抗菌力は劣っていた。SBT や CVA を併用することにより, ABPC および AMPC 単剤の MIC を明らかに低下させていたが, 感受性の *E. coli* に対する ABPC および AMPC の MIC は, その Breakpoint MIC 付近であるため, ESBL 産生株では治療域までは MIC が低下していなかった。 $\beta$ -lactams による治療を選択する場合には, 注射薬では carbapenems, cephamycins および  $\beta$ -lactamase 阻害薬との合剤が, 経口薬では FRPM が選択されるべき薬剤である。

UOE-2, CTX-M-2, CTX-M-3 type ESBL 産生株に対しては, CAZ の MIC は低く, その Breakpoint MIC である 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以下の株は 82 ~ 97% であった。一方 SHV-12 type ESBL 産生株に対しては, CTX, CPR および CFPM の MIC は低く, その Breakpoint MIC である 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以下の株は, 70, 85 および 85% であった。NCCLS では, ESBL 産生株であることが判明した場合はすべての penicillins, cephalosporins および monobactams の臨床効果は低いので, たとえ MIC が低い場合であっても「耐性 (Resistant)」へ変換して報告すべきであるとしている。いったん治療に成功しても, 再発率が高いとの報告

もあり<sup>10)</sup>, 徹底すべき事項であると考えられる。しかしながら, ESBL 確認試験およびその報告はすべての施設で実施されている訳ではなく, 国内は過渡期にあると思われる。ESBL 産生株の比率が低い施設では, CVA 含有ディスクを用いたディスク拡散法が有用であろうし, 比率が低い施設では, 微量液体希釈法のルチンの Panel に CVA 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  含有 CPDX を追加するなどして, 早期報告および省力化に努めることも考慮するべきと考える。このことは, 再発を含めた治療効果を左右するだけでなく, 院内感染対策を早期に開始できる点でも重要である。また国内での分離頻度が最も高いと考えられる UOE-2 および CTX-M-2 type に対して, CAZ, AZT, CFPM の MIC は低く, その Breakpoint MIC 以下で 76 ~ 97% の株の発育を阻止するため, 感受性報告の際に「耐性 (Resistant)」へ変換して報告する必要はないのではないかと考えられる。ESBL により分解を受けない  $\beta$ -lactams として, carbapenems はもちろん,  $\beta$ -lactamase 阻害薬との合剤, cephamycins などの選択肢は存在するので, CAZ などの cephalosporins および monobactams をあえて「感受性 (Susceptible)」のまま報告する必要はないと考える。さらに CTX-M type はわずかな変異により, 基質特異性が変化するので, MIC が低いことを理由に cephalosporins などを使用すると点変異により新たな基質特異性を有する ESBL の出現を促すことにもつながると考えられる。事実 CTX-M-3 type と UOE-1 type のアミノ酸配列の違いはわずか 1 カ所であり, この 1 カ所の違いにより, CAZ および CFPM の MIC は明らかに高くなっている。CVA 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  添加 CAZ の MIC は CTX-M-3 type と UOE-1 type 産生株との間に差は認められなかったことより, ESBL の違いにより, MIC に違いが認められたと考えられる。もちろん酵素学的な差異についても Poirel らにより報告<sup>11)</sup>されている。CTX-M-3 産生株に対して, MIC の低い CAZ などの薬剤を使用したために, 突然変異がおり, UOE-1 が出現した可能性が高いのではないだろうか。したがって, ESBL 産生株であることが判明したら, TEM, SHV type だけでなく, CTX-M type についても MIC に関わらず「耐性 (Resistant)」と変換して報告すべきである。

$\beta$ -lactams 以外の薬剤では, 汎用されている quinolones の耐性率は高く, CPFEX, LVFX, GFLX の 3 薬剤では MIC には差は認められるものの, 感受性率では差は認められなかった。MINO および FOM の感受性率は比較的高く, 外来治療の選択肢の一つとなりうるので, 感受性測定の必要がある。また NIT は, 国内では承認されていない薬剤であるが, *E. coli* に対する感受性率は高く, 海外では単純性膀胱炎における第一選択薬の一つとして推奨されている経口薬である<sup>12,13)</sup>。今回の検討でも Intermediate が 3 株, Resistant が 1 株存在しただけで, 感受性率は 97.2% であった。GM 耐性株は多数存在したが,

AMK および ISP の感受性率は高く、治療薬となりうると考えられた。また、CPR に CVA を添加した場合、143 株中最も高い MIC は  $0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$  であり、今後他菌種を含めて ESBL がさらに増加するのであれば、このような薬剤の組み合わせも考慮されるべきではないだろうか。

近年これらの ESBL に加えて、Class C  $\beta$ -lactamase を多量に産生する株や複数の ESBL を有する株も出現してきた。これらの株の  $\beta$ -lactamase を日常検査において検出することは難しいかもしれない。しかしながら、院内感染により拡がりやすい耐性菌であり、早期検出、早期対策が重要な耐性菌であるので、検出法も含め、今後とも注目していく必要がある。

#### 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) 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
- 3) National Committee for Clinical Laboratory Standards: M7-A6, Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: Approved standard-fifth edition, Wayne, Philadelphia, 2000
- 4) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 14th Informational Supplement. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Philadelphia, M100-S14, 24(1): 97, 2004
- 5) Branger C, Bruneau B, Lesimple A L, et al: Epidemiological typing of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates responsible for five outbreaks in a university hospital. *J Hosp Infect* 36: 23 ~ 36, 1997
- 6) Sekiguchi J, Morita K, Watanabe N, et al: Plasmid-mediated CTX-M-3 type  $\beta$  lactamase isolated from *Citrobacter koseri* in Japan. Gene Accession No. AB059404, 2001
- 7) Quinn J P: Clinical significance of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 13 (Suppl 1) S39 ~ 42, 1994
- 8) Yagi T, Kurokawa H, Senda K, et al: Nosocomial spread of cephem-resistant *Escherichia coli* strains carrying multiple Toho-1-like  $\beta$ -lactamase genes. *Antimicrob Agents Chemother* 41: 2606 ~ 2611, 1997
- 9) 伊藤重彦, 中村司朗, 村谷哲郎, 他: Tazobactam/piperacillin が有効であった ESBL 産生大腸菌による急性腎盂腎炎の 1 症例. *日化療会誌* 51: 347 ~ 351, 2003
- 10) Lee M A, Moon H W, Lee S J: 42nd ICAAC ( Chicago ) abstr K-1949, 2002
- 11) Poirel L, Gniadkowski M, Nordmann P: Biochemical analysis of the ceftazidime-hydrolyzing extended-spectrum  $\beta$ -lactamase CTX-M-15 and of its structurally related  $\beta$ -lactamase CTX-M-3. *J Antimicrob Chemother* 50: 1031 ~ 1034, 2002
- 12) Warren J W, Abrutyn E, Hebel J R, et al: Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. *Infectious Diseases Society of America ( IDSA )*. *Clin Infect Dis* 29: 745 ~ 758, 1999
- 13) Kahan N R, Chinitz D P, Kahan E: Longer than recommended empiric antibiotic treatment of urinary tract infection in women: an avoidable waste of money. *J Clin Pharm Ther* 29: 59 ~ 63, 2004

## Antimicrobial activity of antimicrobials against extended-spectrum $\beta$ -lactamase( ESBL ) in *Escherichia coli*

Tetsuro Muratani<sup>1,2</sup>, Tomoko Kobayashi<sup>2</sup>, Ryoko Gotoh<sup>2</sup>, Akiko Wada<sup>2</sup>,  
Suminori Arima<sup>2</sup>, Masanori Ohkuma<sup>2</sup>, Hiroko Yakushiji<sup>2</sup>, Yuko Odahara<sup>2</sup>,  
Masayuki Shigetaka<sup>2</sup>, Kohei Ohkubo<sup>2</sup>, Yoji Yamada<sup>1</sup> and Tetsuro Matsumoto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Urology, School of Medicine, University of Occupational and Environmental Health,  
1-1 Iseigaoka, Yahatanishi-ku, Kitakyushu, Japan

<sup>2</sup>Hibiki Research Group for Clinical Microbiology

We studied the antimicrobial activity of 42 antimicrobial agents against 143 *Escherichia coli* isolates identified structural gene of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase. The 143 isolates were from 133 patients who visited 31 hospitals in northern Kyushu and Yamaguchi. ESBL items were UOE-2 ( CTX-M-14 or -18 ) type 34, CTX-M-2 type 43, CTX-M-3 type 17, UOE-1 type ( CTX-M-15 ) 24, CTX-M-12 type 3, SHV-12 type 20, and TEM type 2. Against UOE-2 and CTX-M-2 ESBL producing isolates ceftazidime, cefepime, and aztreonam showed comparatively low MIC, and against TEM and SHV type ESBL producing isolates cefotaxime, ceftazidime, and cefepime showed comparatively low MIC. Against all ESBL producing isolates, most cephalosporins and penicillins showed high MIC. Carbapenems ( imipenem and meropenem ) were the most active of all agents tested. The growth of all isolates was inhibited at 0.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  of meropenem and 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  of imipenem. Cephamycins, which have methoxy substitute at position 8, also have good activity against ESBL producing *E. coli*. Cefmetazole had a resistant, and latamoxef and flomoxef were susceptible against all isolates. Regarding  $\beta$ -lactam combined with  $\beta$ -lactamase inhibitor, against CTX-M type ESBL producing isolates piperacillin/tazobactam showed good activity than cefoperazone/sulbactam, while against TEM and SHV type ESBL producing isolates cefoperazone/sulbactam showed good activity than piperacillin/tazobactam. Although the activity of ampicillin/sulbactam and amoxicillin/clavulanic acid improved compared to ampicillin and amoxicillin alone, the improved MIC was not less than the breakpoint MIC. Regarding non- $\beta$ -lactams, quinolones ( ciprofloxacin, levofloxacin, and gatifloxacin ), tetracycline, gentamicin, and cotrimoxazole showed less activity, while minocycline and fosfomycin were susceptible more than 75% against ESBL producers except UOE-2 producers. Early detection of ESBL producers and early infection control are vital importance to preventing ESBL producer outbreaks.