

原 著

腸球菌群の分離頻度と薬剤感受性

山 田 俊 彦¹⁾・深 沢 義 村¹⁾設 楽 政 次²⁾・佐 野 純 子²⁾多 田 正 人²⁾・久 米 章 司²⁾¹⁾ 山梨医科大学微生物学教室*²⁾ 山梨医科大学中央検査部

抄 録: 腸球菌群はセフェム系抗生物質に耐性であるために、化学療法に伴う菌交代現象あるいは菌交代症に発展し易い。また近年、腸球菌群による敗血症の症例報告が増えるにしたがい、腸球菌感染症に対する治療薬剤の選択に関心が向けられるようになった。われわれは1983年10月に山梨医科大学付属病院が開院されて以来、臨床材料より分離される菌種の動向を検討している。この度はセフェム系抗生物質に耐性を示すグラム陽性球菌のうち、腸球菌に注目し、外来・入院患者について、材料別に検出率の推移を検討した。さらに菌種の同定を行ない、分離頻度の高い *Streptococcus faecalis* および *S. faecium* について薬剤感受性を寒天平板希釈法により行ない、各種薬剤の最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。その結果、腸球菌群は入院患者材料で有意に高い検出率を示し、しかも検出率は年々増加する傾向が認められた。調査期間中に7例の腸球菌群による敗血症がみられ、その内訳は *S. faecalis* によるもの6例、*S. faecium* によるもの1例であった。薬剤感受性成績は菌種により大きく異なっており、*S. faecalis* に対してはアンピシリン、ピペラシリンが優れていた。*S. faecium* に対してはリンコマイシン、クリンダマイシンが最も優れていたが、耐性菌株も認められた。以上のことから、感染症におけるセフェム系抗生物質耐性菌の増加が明らかであり、適切な薬剤の選択あるいは組み合わせによる治療方針が今後更に必要となるものと考えられる。

キーワード 腸球菌群, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium*, セフェム耐性

緒 言

腸球菌群 (Enterococci group) は Lancefield の血清群別によれば D 群レンサ球菌に属し、*S. faecalis*, *S. faecium*, *S. durans* および *S. avium* の4菌種が含まれる。これらの中で、臨床材料から最も分離頻度の高い菌種として、*S. faecalis* があげられる。しかし近年多剤耐性を示す *S. faecium* の分離頻度も高く^{1,2)}、抗生物質の汎用による菌交代症あるいは日和見感染症の原因菌として注目されるようになった³⁾。

また *S. faecium* による敗血症例も報告^{4,5)} されており無視し得ない問題となっている。

臨床細菌学の分野における病原菌の分離頻度あるいは薬剤感受性成績は、各医療施設ごとに異なる。このことは検査材料の種類や常用薬剤の種類とその使用頻度がそれぞれ異なるためと考えられている。したがって、われわれは山梨医科大学付属病院が開院して以来の臨床材料別分離菌種の変動および薬剤感受性成績の推移を検討し現状を明らかにすることを試みた。この度は、特にセフェム系薬剤に耐性を示す腸球菌群に注目し、これらの菌種の分離頻度と薬剤感受性の検討を行なった。

*〒409-38 山梨県中巨摩郡玉穂町下河東1110
受付: 1986年1月28日

材料および方法

臨床材料：1983年10月（開院時）より、1985年6月までに提出された尿 1,862例、膿 1,004例、胆汁 160例、腹水74例、血液 806例の材料について細菌の分離・同定を行なった。

腸球菌の分離・同定：検査材料は5%ヒツジ血液加寒天培地（BBL）、5%血液加 PEA 寒天培地（BBL）に塗抹し、腸球菌群の分離を行なった。腸球菌群の同定には胆汁エスクリン培地（栄研）、6.5% NaCl 加 BHI 培地（栄研）を用い判定した。菌種の同定には API 20 strept system（La Balme les Grottes, France）を用い、さらに D 群抗血清（Phadebact）を用いて D 群レンサ球菌の確認を行なった。

統計学的検討：外来および入院材料について培養陽性検体に占める腸球菌群の検出率を求めた。さらに腸球菌群の分離頻度の経年変化については1984年1月～6月、および1985年1月～6月の入院材料についてそれぞれ集計し、材料別推移を検討した。統計学的処理は χ^2 検定により有意差を求めた。

薬剤感受性測定：日本化学療法学会、最小発育

阻止濃度（MIC）測定法⁶⁾に準拠し、寒天平板希釈法により測定した。接種菌液は M. H. broth（BBL）に 37°C、18 時間培養後、 10^6 CFU/ml に調整したものを使用した。各種抗生物質の2倍段階希釈溶液を調整し、最終濃度が 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.2, 0.1, 0.05 μ g/ml となるように12段階の5%ウマ脱線維素血加 M. H. 寒天培地を作製した。培地表面を十分乾燥させた後、調整済の接種菌液を Multiple Inoculator（Denley, England）を用いて接種し、37°C、18時間培養し、肉眼的に菌の発育が全く認められない最低濃度を最小発育阻止濃度として求めた。さらに MIC 分布から MIC₅₀, MIC₈₀ を求め各種薬剤の有効性を検討した。

使用薬剤：MIC の測定にはアンピシリン（AB PC）、ピペラシリン（PIPC）、セファゾリン（CEZ）、クロラムフェニコール（CP）、ミノサイクリン（MINO）、エリスロマイシン（EM）、リンコマイシン（LCM）およびクリンダマイシン（CLDM）の8剤を使用した。

結 果

検査材料別検出頻度（Table 1）：尿の検査総数

Table 1. Isolation frequency of Enterococci group from various clinical sources

Source	In or Out patient	No. of sample tested	No. of positive culture	Enterococci group		<i>S. faecium</i>	
				No. of sample isolated	P	No. of sample isolated	P
Urine (≥ 10 CFU/ml)	Out	637	190	29 (15.3) ^a	0.001	0 (0)	0.01
	In	1225	494	197 (40.0)		27 (5.5)	
Pus	Out	305	223	16 (7.1)	0.001	2 (0.9)	0.001
	In	699	462	242 (52.4)		75 (16.2)	
Bile	Out	0	0	0 (0)	NS ^b	0 (0)	NS
	In	160	115	42 (36.5)		17 (14.8)	
Ascites	Out	2	1	0 (0)	NS	0 (0)	NS
	In	72	15	8 (40.0)		2 (13.3)	
Blood	Out	8	3	0 (0)	NS	0 (0)	NS
	In	798	73	7 (9.6)		1 (1.4)	

^a %, ^b not significant.

Table 2. Comparison of isolation frequency of Enterococci from clinical source for recent two years

Source	Organism	Isolation frequency (%)		P
		1984 (1~6) ^a	1985 (1~6)	
Urine ($\geq 10^5$ CFU/ml)	Enterococci	35.5	43.5	NS ^b
Pus		33.1	79.9	0.001
Bile		32.1	53.6	NS
Ascites		0	66.6	0.05
Blood		0	4.9	NS
Urine ($\geq 10^5$ CFU/ml)	<i>S. faecalis</i>	2.6	8.7	0.02
Pus		11.9	26.2	0.01
Bile		17.9	17.9	NS
Ascites		0	22.2	NS
Blood		0	2.4	NS

^a month, ^b not significant.

は外来637例, 入院1,225例であり, そのうち培養陽性例は外来229例(36.0%), 入院1,192例(97.8%)であった。培養陽性検体のうち菌数 10^5 CFU/ml以上の尿路感染症と推定される材料は外来190例(83.0%), 入院494例(41.3%)であり, そのうち腸球菌群検出率は外来15.3%, 入院40.0%であった。腸球菌群の大部分は*S. faecalis*であり, *S. faecium*は外来尿からは検出されなかった。しかし入院患者由来の尿からは5.5%に*S. faecium*が検出された。

膿の検査総数は外来305例, 入院699例であり, 培養陽性例は外来223例(73.1%), 入院463例(66.1%)であった。培養陽性に占める腸球菌群検出率は外来7.1%, 入院52.4%であり, *S. faecium*は外来0.9%, 入院16.2%に検出された。

胆汁の検査総数は入院患者材料160例のみであり, 培養陽性は115例(71.9%)であった。培養陽性例に占める腸球菌検出率は36.5%であり, *S. faecium*は14.8%に認められた。

腹水の検査総数は外来2例, 入院72例であった。このうち培養陽性は外来1例(50%), 入院5例(20.8%)であった。腸球菌群は外来材料からは検出されず, 培養陽性入院材料の6例(40.0%)から検出されたが, このうち*S. faecium*の検出率は13.3%であった。

血液材料の検査総数は外来8例, 入院798例であった。培養陽性検体は外来3例(37.5%),

入院73例(9.1%)であった。腸球菌群の検出例は入院材料のみで7例(9.6%)に認められ, このうち*S. faecium*は1例(1.4%)に検出された。

経年変化(Table 2): 1984年および1985年の分離成績を比較すると, 腸球菌群および*S. faecium*のいずれもこの1年で増加する傾向がみられた。とくに膿から分離される腸球菌群の比率は1984年に33.1%であったものが, 1985年には79.9%と2倍以上に増加していた。この中で*S. faecium*は尿および膿から2~3倍と有意な検出率の増加が認められた。

*S. faecalis*の薬剤感受性成績: *S. faecalis* 223株に対する各種抗生物質のMIC分布をFigure 1に示す。ABPCのMIC分布は $\leq 0.1 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$ でピークは $1.56 \mu\text{g/ml}$ であった。PIPCの分布は $0.78 \sim 25 \mu\text{g/ml}$, ピークは $3.13 \mu\text{g/ml}$ であった。CEZの分布は $3.13 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ でピークは $50 \mu\text{g/ml}$ であった。CPは $6.25 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ に分布し, ピークは $50 \mu\text{g/ml}$ であった。MINOおよびEMの分布は $\leq 0.1 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ であり, MINOのピークは $50 \mu\text{g/ml}$, EMのピークは $1.56 \mu\text{g/ml}$ と $>100 \mu\text{g/ml}$ の2峰性であった。LCMは $0.39 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ の分布で, ピークは $50 \mu\text{g/ml}$ と $>100 \mu\text{g/ml}$ の高い濃度の2峰性であった。CLDMの分布は $1.56 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ であり, ピークは

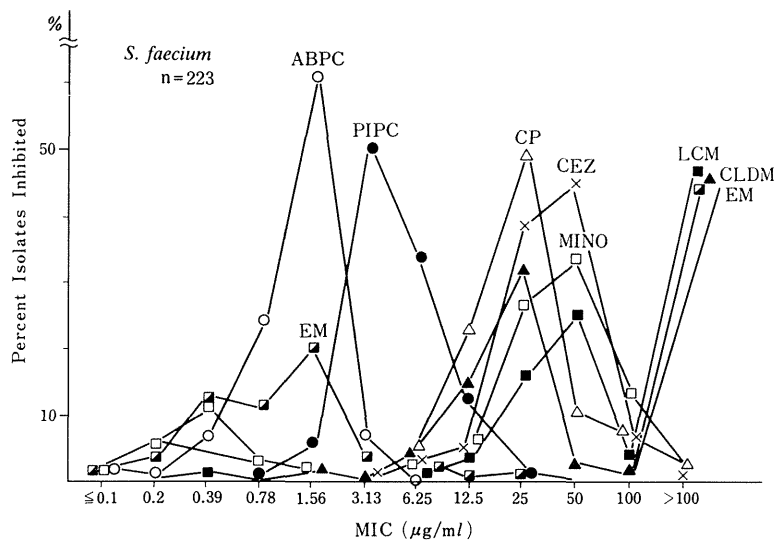


Fig. 1. Susceptibility of the 223 *S. faecalis* isolates to ampicillin (ABPC), piperacillin (PIPC), cephazolin (CEZ), chloramphenicol (CP), minocycline (MINO), erythromycin (EM), lincomycin (LCM), and clindamycin (CLDM).

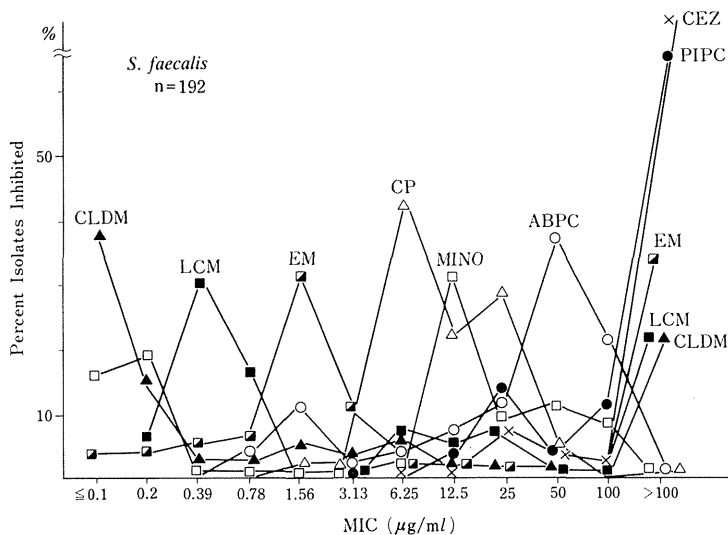


Fig. 2. Susceptibility of the 192 *S. faecium* isolates to ampicillin (ABPC), piperacillin (PIPC), cephazolin (CEZ), chloramphenicol (CP), minocycline (MINO), erythromycin (EM), lincomycin (LM), and clindamycin (CLDM).

25 μg/ml と >100 μg/ml の 2 峰性であり、LCM に近似した分布を示した。さらに被検菌株の 50% 発育阻止濃度 (MIC₅₀) を求めたところ、

ABPC; 1.56 μg/ml, PIPC, EM; 3.13 μg/ml, CP, MINO, CLDM; 25 μg/ml, CEZ; 50 μg/ml, LCM; 100 μg/ml であった。また MIC₈₀

は ABPC; 1.56 $\mu\text{g/ml}$, PIPC; 6.25 $\mu\text{g/ml}$ であったが, CEZ, CP, MINO; 50 $\mu\text{g/ml}$, EM, LCM および CLDM; $>100 \mu\text{g/ml}$ と高い耐性を示した。

S. faecium の薬剤感受性成績: *S. faecium* 192 株に対する各種抗生物質の MIC 分布を Figure 2 に示す。ABPC の MIC 分布は 0.78 $\sim >100 \mu\text{g/ml}$ でピークは 50 $\mu\text{g/ml}$ であった。PIPC は 3.13 $\sim >100 \mu\text{g/ml}$ に分布し, ピークは $>100 \mu\text{g/ml}$ であった。CEZ は 12.5 $\sim >100 \mu\text{g/ml}$, ピークは $>100 \mu\text{g/ml}$ であった。CP の分布は 1.56 $\sim >100 \mu\text{g/ml}$ で, ピークは 6.25 $\mu\text{g/ml}$ であった。MINO は $\leq 0.1 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ に分布し, ピークは 12.5 $\mu\text{g/ml}$ であった。EM の分布は $\leq 0.1 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ で, ピークは 1.56 $\mu\text{g/ml}$ と $>100 \mu\text{g/ml}$ の 2 峰性であった。LCM は 0.2 $\sim 100 \mu\text{g/ml}$ に分布し, ピークは 0.39 $\mu\text{g/ml}$ と $>100 \mu\text{g/ml}$ の 2 峰性であった。CLDM は LCM の分布に近似し, $\leq 0.1 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ の分布を示し, $\leq 0.1 \mu\text{g/ml}$ と $>100 \mu\text{g/ml}$ にピークを有す 2 峰性であった。MIC₅₀ によって薬剤感受性を比較すると, CLDM; 0.2 $\mu\text{g/ml}$, LCM; 0.78 $\mu\text{g/ml}$, EM; 1.56 $\mu\text{g/ml}$ とこれらの薬剤には感受性であるが, CP, MINO; 12.5 $\mu\text{g/ml}$, ABPC; 50 $\mu\text{g/ml}$, PIPC, CEZ; $>100 \mu\text{g/ml}$ とこれらの薬剤には耐性の株が多かった。MIC₈₀ による成績は, CP, MINO; 25 $\mu\text{g/ml}$, CLDM, LCM, ABPC, PIPC, CEZ; $\geq 100 \mu\text{g/ml}$ であり, 本菌種の多くの分離株が使用抗生物質に耐性であることが確認された。

考 察

山梨医科大学付属病院開院後の臨床分離菌株の動向を知ることは, 患者の治療および予防の面で重要である。この度はとくにセフェム耐性の腸球菌群について外来および入院患者より採取された検体について材料別に検討を行なった。

腸球菌群は腸管内常在菌叢を構成するものであり, なかでも *S. faecalis*, *S. faecium* など免疫能の低下した患者 (compromised host) における菌交代現象あるいは菌交代症として注目されつつある。とくにセフェム系薬剤に耐性を示すこれらの菌種は, セフェム系薬剤の開発と使用頻度の増加にともない, 今後ますます増えてくるものと考えられている。われわれのこの度の研究において, 腸球菌群の検出率は外来と入院を比較すると入院患者材料に有意に高く, 治療内容にともなう菌交代現象あるいは菌交代症と推定された。材料別に検討すると $\geq 10^5 \text{ CFU/ml}$ の菌数を有す尿からの腸球菌群の検出率は外来 15.3%, 入院 40.0% と有意な差であった。膿においても外来 7.1%, 入院 52.4% と入院患者に高率であった。胆汁, 腹水および血液からの腸球菌群検出例は入院患者のみに認められ, とくに血液からは, 7 例の腸球菌群による敗血症例が認められた。検出される腸球菌群の大部分は *S. faecalis* であったが, *S. faecium* も統計学的に有意に入院材料からの検出率が高かった。

年次推移を 1984 年 1 月 \sim 6 月と 1985 年 1 月 \sim 6 月の期間に分けて検討すると, 腸球菌群の検出率はすべての材料で増加の傾向を示し, とくに膿および腹水からは有意な増加が認められた。同様に, *S. faecium* についても尿および膿では有意な増加であった。これらの結果から腸球菌群が院内感染の原因菌として定着する可能性が示唆されるので, 今後さらに推移を追跡する必要があると考える。

薬剤感受性成績では, *S. faecalis* に対し, ABPC, PIPC が有効であるが, 他の抗生物質は MIC₅₀, MIC₈₀ の結果からも第一次選択薬とは考えられない。また, *S. faecium* については, ABPC, PIPC, CEZ の β -ラクタム系抗生物質は全て無効であり, CLDM, LCM, EM などが MIC₅₀ の成績から優れている点で, *S. faecalis* の成績と対称的であった。しかし, *S. faecium* の MIC₈₀ の成績はすべての抗生物質が 25 $\mu\text{g/ml}$ と高い MIC を示したことから, *S. faecium*

感染症の治療にあたっては有効薬剤の選択に困難があるように思われた。

腸球菌群の検出率の増加および敗血症例の報告が増えるにしたがい, compromised host におけるセフェム系抗生物質万能とする治療方針には反省が必要であり, 適切な薬剤の選択および組み合わせが望ましいと考える。

文 献

- 1) Thorusberry, C., Baker, C. N. and Facklam, R. R.: Antibiotic susceptibility of *Streptococcus bovis* and other group D streptococci causing endocarditis. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 5, 228-233, 1974.
- 2) Moellering, R. C. Jr., Korzeniowski, O. M., Sande, M. A. and Wennersten, C. B.: Species-specific resistance to antimicrobial synergy in *Streptococcus faecium* and *Streptococcus faecalis*. *J. Infect. Dis.*, 140, 203-208, 1979.
- 3) Shales, D. M., Levy, J. and Wolinsky, E.: Enterococcal bacteremia without endocarditis. *Arch. Intern. Med.*, 141, 578-581, 1981.
- 4) Coudron, P. E., Mayhall, C. G., Facklam, R. R., Spadora, A. C., Lamb, V. A., Lybrand, M. R. and Dalton, H. P.: *Streptococcus faecium* outbreak in a neonatal intensive care unit. *J. Clin. Microbiol.*, 20, 1044-1048, 1984.
- 5) 岡 慎一, 島田 馨, 稲村孝思, 浦山糸子: 腸球菌敗血症に関する研究 第2報 腸球菌敗血症46例の臨床的検討. *日本感染症学雑誌* 59, 545-550, 1985.
- 6) 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.

Isolation of Enterococci from Clinical Materials and their Susceptibility to eight Antimicrobial Agents

Toshihiko Yamada¹, Yoshimura Fukazawa¹, Masatsugu Shitara², Junko Sano², Masahito Ohta² and Shoji Kume²

¹ Department of Microbiology and ² Department of Laboratory Medicine, Yamanashi Medical College, 1110, Tamaho-cho, Yamanashi 409-38, Japan

Enterococci isolated from various clinical sources were assessed retrospectively for the years 1983 through 1985 with respect to their isolation rate and susceptibility to eight antimicrobial agents. Susceptibility of 223 isolates of *Streptococcus faecalis* and 192 isolates of *S. faecium* to ampicillin (ABPC), piperacillin (PIPC), cephazolin (CEZ), chloramphenicol (CP), minocycline (MINO), erythromycin (EM), lincomycin (LCM), clindamycin (CLDM) were determined by agar dilution method. *S. faecalis* was the most prevalent among enterococci group isolated. Isolation rates of the enterococci of both *S. faecalis* and *S. faecium* from the inpatient materials were significantly higher than those from the outpatient materials, respectively. The isolation rate of enterococci was higher for the 1985 than for 1984. Seven cases of enterococcal bacteremia (*S. faecalis*; 6, *S. faecium*; 1) were noted during the survey. ABPC and PIPC (MIC for 80% of isolates; 1.56, 6.25 µg/ml) were the most active agents to *S. faecalis*, among antimicrobial agents used. In contrast, to the isolates of *S. faecium*, CLDM, LCM, EM (MIC for 50% of isolates; 0.2, 0.78, 1.56 µg/ml) were more active agents than the others. *S. faecium* could be classified into two groups, susceptible and resistant to the lincosamide. Our data suggest that the enterococci may cause opportunistic infection after the inadequate antibiotic therapy.

Key words: Enterococci, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium*, Cephem resistant