

厚生科学研究費補助金（新興再興感染症研究事業）

分担 研究報告書

無芽胞嫌気性グラム陰性桿菌の抗菌薬耐性化とその耐性機構の解析

第一報 *Fusobacterium* 感染症とその抗菌薬耐性の現況

渡邊邦友（研究分担者）

岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設

田中香お里、川村千鶴子（研究協力者）

岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設、青森県立中央病院

研究要旨

臨床材料から分離されることの多い嫌気性菌のグラム陰性桿菌の一つであるにもかかわらず、その感染症の頻度、分離菌の抗菌薬耐性化の動向が不明の *Fusobacterium* を対象とし、臨床細菌学的な検討を実施した。1995 年より 5 年間に *Fusobacterium* が分離された 108 症例について、レトロスペクティブに解析し、検体の由来と同時分離菌などの情報をまとめた。さらに、日常検査の一貫として実施した微量液体希釈法による薬剤感受性試験成績から *Fusobacterium* の主要抗菌薬に対する感受性分布、耐性化の現況を明らかにした。

A. 研究目的

分担者らは過去3年間の厚生科学研究「細菌の薬剤耐性機構の分子解析と耐性機構別迅速検出法に関する研究」で、メタロ-β-ラクタメース産生、カルバペネム耐性 *Bacteroides fragilis* の迅速検出法の確立についての研究を行った。カルバペネム耐性遺伝子の *cfiA* と *cfiA* の直上流にある IS element を PCR で検出し、IPM 耐性株 (MIC、 $\geq 16 \mu\text{g/ml}$) と *cfiA* 陽性・IPM 感受性株 (MIC、 $\leq 4 \mu\text{g/ml}$) を区別する方法を考案した。

今回は、臨床材料から分離されることの多い嫌気性グラム陰性桿菌の一つであるにもかかわらず、その感染症の頻度、分離菌の抗菌薬耐性化の動向を適切に追跡した研究が全くみられない *Fusobacterium* を対象とした。第二次医療機関である青森県立中央病院で、1995 年よりの 5 年間に *Fusobacterium* が分離された 108 症例について、レトロスペクティブに解析し、検体の由来と同時分離菌などの情報をまとめた。次いで、日常検査の一貫として実施した薬剤感受性試験

成績から分離株の抗菌薬感受性を検討した。

B. 研究方法

青森県立中央病院では、1995年より、嫌気性輸送容器を使用し、予備還元した嫌気性菌用培地を含む7種類の初代分離培地を用い、臨床嫌気性細菌学マニュアルに従い、嫌気性グローブボックス中で検体の処理を行う厳密な分離培養法を実施している。平成9年度から平成11年度までに細菌学的検索を実施した*Fusobacterium*が分離された感染症症例を臨床細菌学的に解析した。

ついで、penicillin G(PCG)、ampicillin(ABPC)、piperacillin(PIPC)、cefmetazole(CMZ)、latamoxef(LMOX)、ceftizoxime(CZX)、erythromycin(EM)、clindamycin(CLDM)、ofloxacin(OFLX)、minocycline(MINO)、chloramphenicol(CP)の主要抗菌薬に対する感受性を微量液体希釈法で測定した。*Fusobacterium*の同定は、簡易同定キットを用いて、グレード2の同定法を採用した。

C. 研究結果

*Fusobacterium*分離検体を解析した結果、耳鼻科領域感染症由来の12検体12株、口腔外科領域感染症由来の23検体24株、肺胸膜感染症由来の11検体11株、腹腔内感染症由来の42検体42株(実質臓器感染症肝臓由

来の4検体4株;胆道感染症由来の12検体13株;その他の腹腔内感染症由来の26検体28株)、皮膚軟部組織感染症由来の19検体20株(頸部、胸部の感染症由来の4検体5株;肛門周囲/外陰部膿瘍の5検体5株;褥そう由来の4検体4株;その他の皮膚軟部組織感染症由来の6検体6株)および剖検材料1検体1株となった。血液、髄液からの分離株はなかった。*Fusobacterium*113株の内訳は、*F.nucleatum*80株、*F.necrophorum*18株、*F.varium/mortiferum*9株、*Fusobacterium* spp.6株であった。これらは、複数菌感染症(2~10菌種)の1つの構成菌として分離された。同時分離菌は、材料の種類により異なったが、腹腔内感染症では、*Bacteroides*や*Enterobacteriaceae*と、それ以外の感染症からは、*Prevotella*と*Streptococcus*と分離される場合が多かった。また、約45%の*Fusobacterium*分離例でBeta-lactamase産生菌株の共存が認められた。微量液体希釈法で測定した薬剤感受性成績を見ると、*Fusobacterium*は、CPを除くすべての薬剤に対し、低濃度から高濃度のかかなり幅広いMIC分布を示した。特に、PCG、ABPCなどBeta-lactamに対しては、概して感受性傾向にあったものの、耐性側にシフトした株が認められた。それとは反対に、マクロライドに自然耐性とされる本菌がEMに比較的感受性に判定されていた。さらに、本菌のMICを化学療法学会の標準法のひとつであ

る微量液体方法で測定できない株が相当数認められた。

D. 考察

Fusobacterium は、臨床細菌学的に重要な無芽胞グラム陰性嫌気性桿菌の一つである。この菌の分離には熟練した技術が必要である。当施設では、分離法を見直し、感染症材料からの本菌の検出率アップに成功した。今回の検討から、*Fusobacterium* の分離頻度は、*Bacteroides* や *Prevotella* に比べると低率で、第二次医療施設でも一年間に分離できる株数は約 20 株程度であった。今後、十分かつ正しい情報を得るためには、標準化された手法による国内の複数の施設での経年的な研究が必須であると考えられた。

Fusobacterium は、すでに報告されているように、横隔膜上部のみならず、全身の種々の感染症から分離され、そのほとんどは複数菌感染症であった。また、その約半数の症例で Beta-lactamase 産生の通性菌や嫌気性菌との共存が確認された。*Fusobacterium* は比較的抗菌薬、特に Beta-lactam 薬に感受性でありながら、感染病巣に比較的高頻度に分離されることは、共存する細菌による Beta-lactamase 産生が影響している可能性が考えられる。

今回の成績は、Wadsworth VA センター(米国)の成績(1984-1990 の 5 年間の 113 例)とほぼ相応する成績であったが、米国の成績では見られた血液と髄液からの分離例が、今回の解析

では 1 例もみられなかった。これは、米国とわが国の血液培養事情の相違を反映しているものと考えられ、今後の重要検討課題の一つと考えられた。

現在化学療法学会で推奨している感受性試験法の一つである微量液体希釈法を、*Fusobacterium* spp. に適用した今回の検討では、MIC を測定できない株が相当存在したことから、日常検査法としての *Fusobacterium* の感受性測定法の代替法を検討し、新しい提案をする必要があると判断された。

E. 結論

Fusobacterium は、すでに報告されているように、横隔膜上部のみならず、全身の種々の感染症から分離され、そのほとんどは複数菌感染症であった。また、その約半数で Beta-lactamase 産生の通性菌や嫌気性菌との共存が確認された。現在化学療法学会が推奨している感受性試験法の一つである微量液体希釈法を、*Fusobacterium* spp. に適用した場合、MIC を測定できない株 *Fusobacterium* 対象菌株の中に相当存在したことから、日常検査法としての *Fusobacterium* の感受性測定法のあり方を検討し、新しい提案をする必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

各種 ESBL 検出システムの比較検討に関する研究

分担研究者 山口恵三 東邦大学医学部 教授
研究協力者 石井良和 東邦大学医学部 助手

研究要旨

現在、市販されている ESBL 検出用ディスクおよび検出システムに関する評価を試みた。その結果、何れの検出システムでも非 ESBL、ESBL ともに概ね良好な結果を得ることができた。しかし、どの検出システムにおいてもいくつかの β -ラクタマーゼに対して誤判定が発生した。特に、Etest ではファントム現象の取り扱いが問題となることが明らかになった。この誤判定を防止するためには KB 法で採用されているセフポドキシムの採用が有効である可能性が示唆された。一方、SHV-1 の大量発現株を何れの検出システムも ESBL 産生株と判定してしまった。このことから、SHV-型 β -ラクタマーゼは、本来クラバン酸に対する感受性が低いことが示唆された。さらに、AmpC を大量に産生し、かつ SHV-26 を同時に産生する菌株は、ESBL 非産生株と判断されてしまう傾向が見られた。Vitek II は Expert System という耐性機構に関する情報を提供することが可能なオプションが用意されており、このシステムを活用することによりさらに詳細な耐性菌に対する情報を臨床に提供することが可能となることが期待された。

A. 研究目的

私たちは、迅速且つ高感度な基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) に対する検出方法の確立を目指して検討を行っている。最近、数多くの検査機器メーカーあるいは試薬メーカーから、異なる方法で ESBL を検出するためのシステムあるいはディスクが市場に出回り、実際に臨床検査の現場で使用されている。本年度のプロジェクトは、現在使用されている試験方法を評価することにより、細菌検査にフィードバックすることを目的として計画した。すなわち、ESBL を含む既知の β -ラクタマーゼを用いて、ESBL 検出用キットあるいはディスクとし

て現在市販されているものを用いて、それぞれの菌株が産生する同定された β -ラクタマーゼと今回実施した試験成績との一致性に関する検討を加えることにより各試験に対する問題点を確認した。

B. 研究方法

供試菌株として、TEM-1、TEM-2、TEM-3、TEM-4、TEM-5、TEM-6、TEM-7、TEM-9、TEM-10、TEM-33、TEM-34、TEM-35、TEM-36、SHV-1、SHV-3、SHV-26、PSE-1、PSE-3、PSE-4、OXA-1、OXA-3、Sme-1、NMC-A、CTX-M-2、CTX-M-8、Toho-1、Toho-3 および IMP-1 産生各種大腸菌を用いた。一方、ESBL 検出用(確認

用)システムあるいは確認用ディスクとして、グラム陰性菌薬剤感受性用 VitekII パネル(日本ビオメリュー株式会社)、MicroScan ESBL 確認用パネル(デイトレーリング株式会社)、Etest(AB Biodisk)および KB 法ディスク(栄研科学株式会社)を用いた。VitekII および MicroScan については添付された説明書にしたがって使用し、Etest および KB 法ディスクに関しては、McFaland 0.5 に調製した菌液を二価イオン調製済みの Mueller Hinton Agar (Difuco)に塗布後、それぞれのディスクを貼付した。なお、Etest はセフトジジムおよびセフトキシムの単独およびクラバン酸との合剤、KB 法はそれらに加えてセフトキシムの単独およびクラバン酸との合剤の各ディスクを使用した。

C. 研究結果

今回の試験成績は表 1 に纏めて示した。KB ディスクを用いた場合、非 ESBL および ESBL 産生株の判別は何れも 95%以上の一貫率を得た。Etest の場合、形成されたファントムゾーンを考慮に入れると、一貫率が非 ESBL 産生株で 95.5%、ESBL 産生株で 70.0%であった。一方、ファントムゾーンの形成を考慮に入れないと、非 ESBL 産生株で 86.4%、ESBL 産生株で 90.0%の一貫率を示した。ESBL 確認用 MicroScan パネルを用いた場合は、非 ESBL 産生株が 90.9%、ESBL 産生株が 95.0%の一貫率を認めた。VitekII では非 ESBL 産生株で 88.2%、ESBL 産生株で 95.5%の一貫率をそれぞれ示したが、Expert system によるコメントを考慮に入れた場

合、非 ESBL 産生株の一貫率が 90.0%に改善された。

表 1 各種検査法による試験結果と遺伝子型の一貫率

	KB法 (CTX, CAZ, CTXM) 一致率 (%)	Etest (CTX, CAZ) 一致率 (%)	MicroScan 一致率 (%)	Vitek II (Expert) 一致率 (%)
非ESBL (22株)	21/22 (95.5%)	19/22 (86.4%)	22/22 (100%)	20/22 (90.9%)
ESBL (20株)	19/20 (95.0%)	14/20 (70.0%) 11/20 (55.0%)*	19/20 (95.0%)	18/20 (90.0%)

* *Phenox phenoximid* による判定
** *Phenox phenoximid* による判定とコメント (Expert) 一致

非 ESBL 産生株であって ESBL 産生株と判定された菌株の内訳を表 2 に示した。

表 2 各種検査方法と遺伝子型との乖離

	KB法	Etest	MicroScan	Vitek II (Expert使用)
非ESBL → ESBL (22株)	⇒SHV-1	(TEM-2)* (NMC-A)* ⇒SHV-1	⇒SHV-1	⇒SHV-1 ⇒AmpC
ESBL → 非ESBL (20株)	SHV-26 + AmpC	Clho-3** (TEM-3)** (TEM-4)** (TEM-6)** CTX-M† SHV-26 † AmpC	SHV26 † AmpC	CTX-M†

* *Phenox phenoximid* による判定
** *Phenox phenoximid* による判定とコメント

何れの方法でも SHV-1 大量産生株に対するエラーが認められた。これに加えて、Expert system を併用した Vitek II では AmpC を、また Etest はファントムゾーンを考慮に入れると、TEM-2 と NMC-A が非 ESBL であるにも関わらず ESBL と判定された。一方、KB 法、Etest および MicroScan では SHV-26 産生株に対して ESBL 非産生株であるとの判定がなされた。Etest では CTX-M 型 β-ラクタマーゼ産生株が非 ESBL と判定され、さらにファントムゾーンを考慮に入れられない場合、それに加えて Toho-3、TEM-3、TEM-4 および TEM-6 が非 ESBL であるとの判定がなされた。一方、Vitek II では、2 種類の CTX-M 型 β-ラクタマーゼを非 ESBL との誤判

定がなされた。

D. 考察

KB ディスクおよび MicroScan は NCCLS のガイドラインに準拠した方法であるが、Etest および Vitek II はこれらとは異なる新しい方法である。Etest は、寒天培地上に正確な薬剤濃度勾配を作成することが可能な用に設計されたストリップを用いる方法であり、Vitek II は独自のデータベースを基に薬剤含有培地中における菌の発育速度の遅延を濁度のモニターで類推する方法である。

KB ディスク法および Etest は特別な設備を必要とせず、供試菌株の懸濁液を塗布した培地にディスクあるいはストリップを直接貼付するだけで試験が行え、非常に簡便な方法である。同様に、MicroScan も特別な設備を必要とせず、ESBL 産生を疑った菌株の懸濁液を添付の接種用水で希釈し、専用の接種器で接種することで試験が行え、簡便な方法であると考えられる。一方、Vitek II は薬剤感受性試験のみならず、自動同定も同時に実施するための機器であるため装置が大掛かりである。しかし、判定までに要する時間が他の試験法と比較する短時間であり、緊急を要する場合などには有用な機器であるといえる。さらに、Vitek II には Expert System という薬剤耐性機構に関するコメントを提供するためのシステムを併用することが可能で、本システムを用いた場合には様々な有用な耐性菌に対する情報を臨床医に対して提供することが可能である。ただ、菌種の同定が不完全であるいは同定不能であった場合にはコメントが付

されないことから、その運用には専門知識を必要とすると考えられる。

今回問題となる試験結果の中で、KB 法と Etest 間における乖離は対象薬剤に起因すると考えられる。すなわち、KB 法においてもセフトキシムを対象薬剤から除外してしまった場合、Etest と同様にいくつかの ESBL に対する誤判定した。したがって、ESBL の判定に際してはセフトキシムおよびセフトジムのみならずセフトキシムも合わせて使用することが重要であると考えられた。さらに、Etest ではファントム現象の取り扱いが問題となり、非 ESBL 産生株でファントム現象を考慮した場合には 2 種類の β -ラクタマーゼを ESBL と判定してしまうが、反対に ESBL 産生株でファントム現象を考慮しなければ 4 種類の ESBL に対して非 ESBL であるとの判定がなされた。したがって、Etest に関しては対象抗菌薬を追加するなどして、更なる精度向上に対する改良が必要であると考えられた。

SHV-1 大量発現株においては何れの方法でも誤判定しており、SHV-1 はクラブラン酸に対する感受性が TEM-型 β -ラクタマーゼと比較して低いことを伺われた。

今回実施した試験のように多種類の酵素を産生する菌株を用いて複数の試験方法に関する評価を行った報告はあまり例がない。このような比較試験を実施することにより、それぞれの試験方法の長所および短所が明らかになり、それを基に短所に関しては改良あるいは改善を図ることができると考えている。今

後は、他施設の協力を得ることが可能であるならば、今回用いた菌株のいくつかを複数の施設における細菌検査室に送付して、各検査室がどのような判定をするのかに関するサーベイランスを実施することも視野に入れ、検査室の更なるレベルアップを図ることも必要であると考えている。

E. 結語

複数のβ-ラクタマーゼ産生株を用い

て KB 法、Etest、MicroScan および Vitek

II に対する評価を実施した。KB 法、MicroScan および Vitek II においてはほぼ満足できる結果を得たが、Etest においてはその試験方法ならびに判定基準をさらに検討する必要があるものと考えられた。

平成12年度厚生科学研究

新型の薬剤耐性菌のレファレンス並びに耐性機構の解析
及び迅速・簡便検出法に関する研究

班会議日時：平成13年2月5日

場所：東京都新宿区戸山一丁目23番1号

国立感染症研究所

共用第2会議室

演 題	氏 名
1. 日本で検出されるマクロライド系抗菌薬耐性機構の解析	山本友子
2. アミノグリコシド耐性菌のレファレンス因子の特定と迅速簡便検出法に関する研究	堀田國元
3. 緑膿菌の薬剤排出ポンプ MexEF-OprN の制御因子	中江太治
4. 緑膿菌の多剤耐性化に寄与するマルチコンポーネント型排出システムの性状の解析	後藤直正
5. 呼吸器系感染症から分離される肺炎球菌およびインフルエンザ菌における耐性メカニズムの解析とその迅速診断法の検討	生方公子
6. グリコペプチド耐性黄色ブドウ球菌の検出法と耐性遺伝子検査技術の開発	和田昭仁
7. アミノグリコシド耐性菌のレファレンス因子の特定と迅速簡便検出法に関する研究	渡邊邦友
8. β -ラクタマーゼ産生菌の遺伝・生化学的解析	井上松久
9. 各種 ESBL 検出用キットの比較検討に関する研究	山口恵三
10. 国内で確認された新型クラス A 型 ESBL(TEM-91)とクラス C 型 β -ラクタマーゼ(CMY-9)	荒川宜親
11. バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE)の耐性機構の研究とレファレンス及び VRE の拡散原因	池 康嘉
12. Epidemiological Studies on VRE from Animal and Human in Korea	Park, Yong Ho (朴 龍浩)

日本で検出されるマクロライド系抗菌薬耐性機構の解析

千葉大学薬学部薬効・安全性学講座微生物薬品化学研究室 山本 友子

共同研究者：小原康治 (千葉大学薬学部微生物薬品化学研究室、
現所属、東京理科大学薬学部微生物学教室)

マクロライド (ML) 系抗菌薬は、最近、緑膿菌感染症である慢性汎細気管支炎に有効とされ長期投与されることから、高度耐性菌の出現が危惧されている。そこで本研究では、我が国における ML 耐性グラム陰性菌の出現状況を調査しさらに、耐性遺伝子の種類と耐性機構を検討した。1997 年臨床分離大腸菌 500 株のうち 13 株 (2.6%) が ML 高度耐性菌であった。保有する耐性遺伝子は mphA (ML-2'リン酸化酵素。型) 2 株、mphB (ML-2'リン酸化酵素「型」) 1 株、ereB (エステラーゼ) 2 株、ereB/ermB (メチラーゼ) 1 株であった。一方、1997 年臨床分離緑膿菌 300 株のうち 3 株 (0.9%) が ML 高度耐性菌であった。保有する耐性遺伝子は mphA (ML-2'リン酸化酵素 I 型) 2 株であり、日本で該耐性遺伝子が緑膿菌で分離されたのはこれがはじめてである。1986 年臨床分離 ML 耐性菌の出現頻度に比較し (大腸菌 0.5%、緑膿菌 0%)、明らかに増加していることが明らかとなった。

ML-2'リン酸化酵素。型 [MPH-(2)。] の活性中心を明らかにするために、種々のリン酸化酵素の C 末端側に存在する保存性の高いモチーフに着目し、機能性アミノ酸残基の解析をおこなった。その結果、MPH-(2)。のアミノ酸配列の 135 位、198 位、265 位のヒスチジン残基は、活性の発現に関与すること、なかでも His198 は必須であることが明らかとなった。さらに、205 位のヒスチジン残基は 14 員環 ML の基質特異性に関わることが明らかとなった。

平成 12 年度厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

「新型の薬剤耐性菌のレファレンス並びに耐性機構の解析及び迅速・簡便検出法に関する研究」

研究班会議：平成 12 年度研究成果

アミノグリコシド耐性菌のレファレンス因子の特定と迅速簡便検出法に関する研究

国立感染症研究所 堀田国元

コロニー PCR 法を用いてマルチ耐性因子の同時一元的な検出法の確立を目指すことを目的として、以下の研究成果を得た。

1. MRSA の *mecA* 遺伝子および 3 種のアミノグリコシド耐性遺伝子 [*aac(6)/aph(2'')*, *aph(3)* および *aad(4',4'')*] を、それぞれの PCR 増幅産物サイズに 100~150bp 程度の差をつけるようにプライマー設計することにより、一度の PCR で検出できる系を確立した。
2. コアグラーゼ遺伝子について 3'領域の Direct repeat を標的としてコロニー PCR を行い、増幅産物を直接制限酵素 *AluI* 処理して得られる切断パターンにより遺伝子多型を調べる系を確立した。
3. 上記の方法を用いて臨床分離 MRSA 株を調査した結果、以下のことが明らかになった。
 - 1) ほとんどの菌株においてアルベカシン (ABK; 抗 MRSA 剤) 耐性と二機能酵素遺伝子 *aac(6)/aph(2'')* の間に相関性を認めた。
 - 2) 98 年に全国の病院で ABK 耐性 MRSA として報告されたものの内、*mecA* と *aac(6)/aph(2'')* の両方が検出されたのは 43 株中 21 株で、ABK 耐性 MRSA の同定精度に問題が認められた。なお、ABK 非耐性 MRSA の同定精度は高かった。
 - 3) コアグラーゼ遺伝子に関しては、L21 とコード番号を付けたものが圧倒的に多く、とくに *aad(4',4'')* だけが検出された MRSA で相関性が高かったことから、L21 はコアグラーゼ II 型との相関性が強く示唆された。
 - 4) アミノグリコシド耐性に関して、*aac(6)/aph(2'')* は ABK 以外の KM 系や ISP 以外の GM 系に高度耐性を付与し、*aad(4',4'')* は 4'-OH をもつ KM, AMK および ISP に特異的に耐性を付与した。両方をもつ菌株は、ABK に対して特異的に感受性が高いことが見出された

緑膿菌の薬剤排出ポンプ MexEF-OprN の制御因子

東海大学医学部

中江太治、間世田英明

緑膿菌は MexABM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN 及び MexXYM の 4 種の薬剤排出ポンプをコードすることが知られている。中でも MexABM ポンプは野生株で低レベルに発現されており、nalB 変異により高度に発現される。MexCD-OprJ 及び MexEF-OprN ポンプは野生株では検出できないが、各々に nfxB 及び nfxC 遺伝子の変異によって高発現されることが知られている。MexEF-OprN ポンプは nfxC 遺伝子の他に MexEF-OprN を陽性制御する mexT によってその発現が制御されていることが明らかとされている。ところが緑膿菌野生株を出発点として nfxC 型変異株の分離を試みると、変異株が得られず、研究室保存株と得られない保存株が存在することが明らかとなった。そこで本実験においては、MexEF-OprN 排出ポンプの発現がどのように制御されているかを明らかとする実験を行った。

研究室保存 *P. aeruginosa* のいわゆる標準菌を数株集めそれから nfxC 型耐性株を分離する試みを行ったところ、その分離頻度から 3 つの野生株が存在することが明らかとなった。(○) 分離頻度約 2×10^{-10} 程度以下のもの (PA01-Tokai, PA04290, PA04009)、(□) 分離頻度が 1×10^{-7} 程度のもの (PA01S-Lac, PA01-GP)、及び (△) 分離頻度が約 1×10^{-8} 程度のもの (8380, 1008)。

そこでこれらの菌の mexT 遺伝子に変異が存在するのか否かを明らかとするため、mexT の塩基酸列を調べ活性のある MexT を産生することが明らかとなっている PA01-Geneva と比較した。その結果、型の mexT すべてに突然変異が見出され、これらから得られる MexT はすべて不活性化されていた。「○」型の mexT は 8bp の挿入変異を有していたためにフレームシフトとなり不活性の MexT を産生した。これらから得られた nfxC 型変異株はこの 8bp が欠落していた。従って nfxC 株では活性のある MexT を産生しているものと考えられた。「△」型に属する株の mexT は活性のある MexT をコードしているものと考えられた。

従って、いわゆる野生株から nfxC 変異株が得られるためには数種の異型が存在し (i) 正常な mexT を有する親株を出発点として mexT 以外の制御因子 (mexS) に変異を期したもの (ii) mexT, mexS の二重変異株を出発点として mexT が野生株に復帰したもの、及び (iii) mexT の変異株から出発して mexT の復帰変異、及び mexS の新たな変異が起きたものなどを考えることができる。これらの制御はいずれの場合も MexEF-OprN の発現が起き難くするためのものであると考えることができる。なぜ MexEF-OprN ポンプが発現すると菌にとって都合が悪いのかは今のところ不明である。

緑膿菌の多剤耐性化に寄与するマルチコンポーネント型排出システムの性状の解析

京都薬科大学 微生物学教室 後藤直正

本年度は、緑膿菌の新規多剤排出システムの性状の解析および臨床分離株の解析と基質認識機構研究を、1) 新規多剤排出システム MexXY/OprM の性状の解析; 2) 臨床分離緑膿菌の染色体にコードされる MexD 排出タンパク質遺伝子の基質認識プロフィールのバリエーション; および 3) MexD 分子内の基質認識に重要なアミノ酸残基について行った。

1) 新規排出システム MexX-MexY/OprM の性状

Pseudomonas aeruginosa 染色体上の *mexX-mexY* オペロンは、MFS ペリプラスムコンポーネント MexX と RND 内膜コンポーネント MexY をコードしているが、本菌ですでに同定された排出システムオペロンとは異なり、特定の外膜コンポーネントをコードしていないことがすでに明らかにされてきた。報告者らは、既報の排出システムコンポーネントのノックアウト株を作成する過程で、MexX-MexY は、*mexA-mexB-oprM* オペロンにコードされた OprM と共同して、キノロン薬、数種のβ-ラクタム、アミノ配糖体の排出に働き、それらの抗菌薬に対する交差耐性をもたらすことを明らかにした。また、MexX および MexY を検出するために、その配列をもとに合成したポリペプチドに対するウサギポリクロナル抗体を作成した。得られた抗体を用いた研究から、*mexX-mexY* オペロンは野生株では発現していないこと、およびその発現はテトラサイクリン、エリスロマイシン、ゲンタマイシンにより誘導され、薬物の除去により消失することを明らかにした。

2) 臨床分離株の排出タンパク質のバリエーションと基質認識に寄与するアミノ酸残基の同定

緑膿菌の MexC-MexD-OprJ 排出システムの RND コンポーネント MexD を標的に、この分子による基質認識機構を明らかにする目的で、臨床分離株中でのバリエーションを調べた。臨床分離株 43 株から分離した染色体 DNA を鋳型に、*mexD* 遺伝子を PCR 増幅し、*P. aeruginosa* KG4501 株 ($\Delta mexAB-oprM\Delta mexY mexC-\Delta mexD-oprJ$) にクローン化した。得られたクローンの抗菌薬感受性測定を行ったところ、すでに PA01 からの実験室変異株で明らかにした MexC-MexD-OprJ の耐性プロフィールとは異なる 4 種類の *mexD* を得た。これは、臨床分離株の約 10% に PA01 の場合とは異なる基質認識プロフィールを持つ MexD がコードされていることを示している。これらの MexD をコードする遺伝子の塩基配列を調べたところ、MexD の二次構造から推定されるペリプラスム側の二つの約 350 アミノ酸からなる巨大ループ中にアミノ酸置換を見いだした。これは、MexD 分子内の巨大ループが基質認識に寄与していることを示唆している。排出システムの岸いつ認識機構の解明のために、同定された変異は重要な研究材料となりうるということが考えられ、現在、部位特異的変異導入法により抗菌薬認識のためのアミノ酸残基の同定を行っている。

厚生科学研究：平成12年度研究成果

分担研究課題：呼吸器系感染症から分離される肺炎球菌およびインフルエンザ菌における耐性メカニズムの解析とその迅速診断法の検討

分担研究者：(財)微生物化学研究所 生方 公子

- 1)全国各地から収集された肺炎球菌とインフルエンザ菌を対象とし、主に β -ラクタム系薬とマクロライド系薬耐性に関わるPBP遺伝子の解析を行い、その成績に基づいて迅速診断法としてのPCRを確立した。この方法によっては2時間弱で肺炎球菌とインフルエンザ菌における菌種の確定と薬剤感受性の推定がほぼ100%の精度で可能であった。
- 2)その応用として、正確な感性と耐性の判定結果が要求される化膿性髄膜炎の起炎菌について、全国規模でのサーベイランスを立ち上げた。化膿性髄膜炎例由来の肺炎球菌は57株収集され、そのうちの23株がpbp1a+2x+2b変異のPRSP(40.3%)、23株がPISP(pbp2x:12株、1a+2x:4株、2x+2b:3株、2b:2株、pbp1a:2株)、11株が遺伝子変異を有しないPSSP(19.3%)であった。
- 3)肺炎球菌の遺伝子解析結果と薬剤感受性との関係は極めて精度の高いもので、遺伝子変異の成績から治療薬の抗菌力を推定できた。例えば、日本で重症感染症に対して使用されているPAPMに対しては、PSSPは0.004~0.008 μ g/ml、PISPは0.016~0.031 μ g/ml、PRSPは0.063~0.125 μ g/mlのMICを示すことが遺伝子変異の検索のみで推定可能であった。CTXやその他の β -ラクタム系薬に対しても同様のことが可能で、その具体的な推定値を明らかにした。
- 4)インフルエンザ菌は91株が送付されてきたが、そのうち感性菌は29株(31.8%)、TEM型 β -ラクタマーゼ産生株が27株(29.7%)、軽度耐性BLNARが24株(26.4%)、BLNARが4株(4.3%)、TEM+BLNARが6株(6.5%)という内訳で、急速にBLNARの増加してきていることが示唆された。
- 5)インフルエンザ菌においても遺伝子変異から各 β -ラクタム系薬に対する抗菌力が推定できることを明らかにした。すなわち、第一選択の治療薬であったCTXにおいては、軽度耐性BLNARは0.031~0.063 μ g/mlのMIC、BLNARでは0.25~1.0 μ g/mlのMICであることから、遺伝子変異の検索のみで治療薬剤を選択することが可能であった。
- 6)臨床的に最も注目されることは、インフルエンザ菌性髄膜炎は小児においてのみ発症しているのに対し、肺炎球菌性髄膜炎では成人例が増加しており、しかも発症後1日も経ないでDIC等を惹起する劇症型の経過例の多いことが明らかにされた。気管支炎や肺炎などの呼吸器系感染症、あるいは中耳炎を基礎疾患と保持し、化膿性髄膜炎を発症することが多いことが明らかにされ、市中における耐性肺炎球菌とインフルエンザ菌の増加はこのような重症感染症の増加へとつながっていることが示唆された。

グリコペプチド耐性黄色ブドウ球菌の検出法と耐性遺伝子検査技術の開発

国立感染症研究所 細菌部 和田昭仁

黄色ブドウ球菌は市中、院内感染の主要な起炎菌であり、なかでもメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は、医療上深刻な問題をもたらしてきた。1997年に、バンコマイシンに対する低感受性 MRSA の分離症例が初めて報告され、今後、このような菌の分離症例が増えることが懸念される。バンコマイシンの MIC 4 mg/L を示す菌は、その耐性度が不安定であり、hetero VRSA として提唱されている菌も、その遺伝的背景は明らかでない。平成 12 年度は、黄色ブドウ球菌のグリコペプチド耐性、特にテイコプラニンに耐性を与える遺伝子として、*tcaRAB* オペロンを同定し、COL 株と、NCTC8325 株由来の BB255 においてこのオペロン変異が薬剤耐性に与える影響を解析し、以下の結果を得た。COL の *tcaA* のトランスポゾン挿入変異株、ならびに *tcaRAB* null 変異株は、テイコプラニンの MIC が 8–12 mg/L となり、親株の MIC 3 mg/L から比べ、3–4 倍の上昇が見られた。しかし、これらの変異を NCTC8325 由来の BB255 に導入しても、テイコプラニンの MIC 上昇は、1.5 mg/L から 3 mg/L と 2 倍にとどまった。また、テイコプラニン耐性株 14–4 から調整したゲノム DNA を用いて BB255 を形質転換して得られた株 BB938 (テイコプラニン MIC 24 mg/L) においては、*sigB* の活性調節因子 *rsbW* に変異が入り、*sigB* が活性化された結果、テイコプラニンの MIC が上昇していることが明らかになった。今後は、これらの遺伝子、特に *tcaRAB* の相補実験により、このオペロンのうちのどれがテイコプラニン耐性にもっとも影響を与えるか、また、複数の変異の組み合わせにより、テイコプラニン、バンコマイシンの耐性度がどの程度変化するかを検討課題としたい。

新型の薬剤耐性菌のレファレンス並びに耐性機構の解析および迅速・簡便検出法に関する研究

無芽胞嫌気性グラム陰性桿菌の抗菌薬耐性化とその耐性機構の解析 第一報 Fusobacterium 感染症とその抗菌薬耐性の現況

渡邊邦友 (研究分担者)

岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設

田中香お里、川村千鶴子、加藤直樹(研究協力者)

岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設、青森県立中央病院

分担者らは過去3年間の厚生科学研究「細菌の薬剤耐性機構の分子解析と耐性機構別迅速検出法に関する研究」で、メタロ-β-ラクタメース産生、カルバペネム耐性 *Bacteroides fragilis* のPCR法を用いる迅速検出法の確立についての研究を行い、カルバペネム耐性遺伝子(*cfiA*)と*cfiA*の直上流にあるIS elementをPCRで検出し、*cfiA*陽性・カルバペネム耐性株と*cfiA*陽性・IPM感受性株を区別する方法を考案した。

今回は、臨床材料から分離されることの多い嫌気性菌のグラム陰性桿菌の一つであるにもかかわらず、分離が難しく、感染症の頻度、分離菌の抗菌薬耐性化の動向を適切に追跡した研究が全くみられない *Fusobacterium* を対象とし、1995年より5年間に *Fusobacterium* が分離された108検体の臨床細菌学的情報をレトロスペクティブに解析し、検体の由来と同時分離菌などについて整理するとともに、日常検査の一貫として実施してきた微量液体希釈法による薬剤感受性試験成績を整理し、分離株の抗菌薬感受性の概要を明らかにし、その問題点についても検討した。

方法

青森県立中央病院では、1995年より、嫌気性輸送容器を使用し、予備還元した嫌気性菌用培地を含む7種類の初代分離培地を用い、臨床嫌気性細菌学マニュアルに従い、嫌気性グローブボックス中で検体の処理を行う厳密な分離培養法を実施している。1997年から1999年までに細菌学的検索を実施した *Fusobacterium* が分離された感染症症例を臨床細菌学的に解析した。主要抗菌薬に対する感受性を微量液体希釈法で測定した。*Fusobacterium* の同定は、簡易同定キットを用いて、グレード2の同定法を採用した。

成績

Fusobacterium 分離検体を解析した結果、耳鼻科領域感染症由来の12検体12株、口腔外科領域感染症由来の23検体24株、肺胸膜感染症由来の11検体11株、腹腔内感染症由来の42検体42株(実質臓器感染症肝臓由来の4検体4株;胆道感染症由来の12検体13株;その他の腹腔内感染症由来の26検体28株)、皮膚軟部組織感染症由来の19検体20株(頸部、胸部の感染症由来の4検体5株;肛門周囲/外陰部膿瘍の5検体5株;褥そう由来の4検体4株;その他の皮膚軟部組織感染症由来の6検体6株)および剖検材料1検体1株となった。血液、髄液からの分離株はなかった。*Fusobacterium*13株は、*F. nucleatum* 80株、*F. necrophorum* 18株、*F. varium/mortiferum* 9株、*Fusobacterium* spp. 6株と同定された。*Fusobacterium* は、複数菌感染症(2~10菌種)の構成菌として分離された。同時分離菌は材料の種類により異なったが、腹腔内感染症では *Bacteroides* や *Enterobacteriaceae* とともに、それ以外の感染症では *Prevotella* と *Streptococcus* とともに分離される頻度が高かった。*Fusobacterium* 分離例の約45%にそれ以外のβ-lactamase産生菌株の共存が認められた。また、微量液体希釈法で測定した薬剤感受性成績を見ると、β-lactam薬に対して、*Fusobacterium* の多くは高感受性を示したが、耐性側にシフトした株が一部認められた。マクロライドに対して、自然耐性とされる本菌が予想以上に感受性と判定されていた。また、本菌のMICを微量液体希釈法では測定できなかった株が相当数認められた。

考察

Fusobacterium は、臨床細菌学的に重要な無芽胞グラム陰性嫌気性桿菌の一つであると知られている。この菌の分離には熟練した技術が必要で、分担研究者らは分離法の見直しを行い、感染症材料からの本菌の検出率のアップに成功した。今回の検討に

よると、Fusobacterium の分離頻度は、Bacteroides や Prevotella に比べると低率で、今回対象となる第二次医療施設に相当する病院で、一年間に分離できる平均株数は約 20 株程度であった。正しい情報を得るためには、標準化された手法による複数の施設での経年的な研究が必須であると考えられた。

Fusobacterium は、過去の報告のように、横隔膜上部の感染症のみならず、全身の幅広い感染症から分離され、ほとんどは複数菌感染症の形態をとっていた。また、その約半数で β -lactamase 産生性の通性菌(Enterobacteriaceae、Staphylococcus)や他の嫌気性菌(Bacteroides、Prevotella)との共存が確認された。Wadsworth VA センター(米国)で得られている成績(1984-1990 の 5 年間の 113 例)と比較すると、1 年間に分離できる平均株数はほぼ同等であった。また、分離された感染症の解析では、VA センターでは血液と髄液からの分離例が見られたが、今回の分担者らの解析では 1 例も見られなかった。この差は今後の検討課題の一つになると考えられた。

次に、日本化学療法学会が推奨している微量液体希釈法による感受性試験法では、マクロライドに対する感受性が極端に感受性側に判定される傾向にあること、また、この方法では MIC を測定できない株が今回の対象菌株中に相当存在したことから、日常検査法としての Fusobacterium を含めた、いわゆる「気むずかしい嫌気性菌」の感受性測定法には、すでに指摘されているように問題があり、そのあり方を検討し、新しい提案をする必要があると考えられた。

今後、Fusobacterium の寒天平板希釈法による感受性測定、E テストによる感受性測定を行い、耐性度を正確に決定する必要がある。

耐性機構の解析及び迅速簡便検出法に関する研究
分担研究テーマ：β-ラクタマーゼ産生菌の遺伝・生化学的解析と
その迅速簡便検出法に関する研究
北里大医微生物 井上松久、佐藤優子、岡本了一

目的：β-ラクタム薬耐性の主因は、β-ラクタマーゼである。この酵素はそのアミノ酸一次配列の特徴からclass分類されており、各典型的な各酵素は、その基質特異性に対応するβ-ラクタム薬の感受性値やアシドメトリー法の変法である

PCase/Testにより識別できる。しかし、変異型酵素の識別は問題がある。一方、臨床現場で多種類のβ-ラクタム薬の使用に伴い、各classのβ-ラクタマーゼから変異型の酵素によるβ-ラクタム薬耐性菌も分離されてきており、今後の動向が注目される。そこで、当研究課題での研究目的は、変異型β-ラクタマーゼの遺伝・生化学的解析とその産生菌の確実な迅速簡便検出法を確立させることにある。

そこで本年度は、過去2年間に私共が集めた大腸菌および肺炎桿菌の中からCPDXを中心に検査し、その中からプラスミド支配のclass A および C 型β-ラクタマーゼ産生菌を選び、種々の方法にてその遺伝子型を解析した。

[方法] 1) 対象菌株は、大腸菌および肺炎桿菌のうちCPDXのMIC $\geq 2\mu\text{g/ml}$ を示す85株をとした。2) MIC測定は寒天平板を用いて調べた。3) 接合伝達および形質転換は常法に従った。4) 酵素活性はPCGまたはCETを基質としてUV法により求めた。5) TEM, SHV, Toho-1, および Kit-1のプライマーを用いてPCR法により産生遺伝子を検索した。また、class C型酵素については必要に応じてそのDNA塩基配列を調べた。

[結果・考察] 1) 85株について、CTX, CAZおよびCVAを用いたNCCLS法によりESBL産生菌であることを確認された株で、かつPCR法によりTEM産生遺伝子が検出された21株を選択した。この21株についてCPDXを用いて*E. coli* K12×1037由来のNA耐性菌KU2にCPDX耐性の伝達を試み、17株の伝達株を得た。2) この17株について、TEM, SHV, Toho-1, および Kit-1のプライマーを用いてそれぞれの産生遺伝子を検出したところ、TEM: 11株、SHV: 1株、TEM/Kit-1: 2株、TEM/SHV: 3株であった。3) 先ず、TEMのみが検出された11株について、各種β-ラクタム薬およびβ-ラクタマーゼ阻害剤に対するMIC、さらに酵素の基質特性について調べた。その結果、11株を5群に分類した。従って、わが国にも少なくとも5つの異なるTEM型ESBL産生菌が存在することが推定された。4) このうち2つの群から代表株を各1株選び、その塩基配列を決定した結果、TEM-10とTEM-15が同定された。5) このDNA塩基配列の結果を基に、その野生型について現在検討を加えている。6) class C型酵素産生プラスミド1株について調べた。そのDNA解析から *ampC-ampR* を保持していることが判った。かかるデータを集めることで、今後の耐性菌出現の原因とその迅速検出法を種々の方法で確立したい。

各種 ESBL 検出用キットの比較検討に関する研究

東邦大学医学部微生物学教室

石井良和、山口恵三

目的: 私たちは、迅速且つ高感度な基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ(ESBL)に対する検出方法の確立を目指して検討を行っている。最近、数多くの検査機器メーカーあるいは試薬メーカーから、異なる方法で ESBL を検出するためのキットあるいはディスクが市場に出回り、実際に臨床検査の現場で使用されている。本年度のプロジェクトでは、新たな試験方法を確立するための前段階、ならびに現在使用されている試験方法を評価することにより、細菌検査にフィードバックすることを目的として計画した。すなわち、ESBL を含む既知の β -ラクタマーゼを用いて、ESBL 検出用キットあるいはディスクとして現在市販されているものを用いて、それぞれの試験結果の一致性に関する検討を加え、それぞれの試験方法における問題点を確認した。

材料および方法: 供試菌株として、TEM-1、TEM-2、TEM-3、TEM-4、TEM-5、TEM-6、TEM-7、TEM-9、TEM-10、TEM-33、TEM-34、TEM-35、TEM-36、SHV-1、SHV-3、SHV-26、PSE-1、PSE-3、PSE-4、OXA-1、OXA-3、SME-1、NMC-A、CTX-M-2、CTX-M-8、Toho-1、Toho-3 および IMP-1 産生各種菌株を用いた。一方、ESBL 検出用キットあるいはディスクとして、グラム陰性菌薬剤感受性用 VitekII パネル(日本ビオメリュー株式会社)、MicroScan ESBL 確認用パネル(デイドベアリング株式会社)、Etest(AB Biodisk) おおび KB 法ディスク(栄研科学株式会社)を用いた。VitekII および MicroScan については添付された説明書にしたがって使用し、Etest および KB 法ディスクに関しては、McFaland 0.5 に調製した菌液を二価イオン調製済みの Mueller Hinton Agar (Difuco) に塗布後、それぞれのディスクを貼付した。なお、Etest はセフトラジジムおよびセフトキシムの単独およびクラバン酸との合剤、KB 法はそれらに加えてセフポドキシムの単独およびクラバン酸との合剤を使用した。

結果および考察: KB ディスクを用いた場合、非 ESBL および ESBL の判別は 95%以上の精度で行われた。Etest の場合、形成されたファントムゾーンを考慮に入れると、一致率が非 ESBL 95.5%、ESBL 72.2%であった。一方、ファントムゾーンの形成を考慮に入れないと、非 ESBL で 86.4%、ESBL で 90.0%の一致率を示した。MicroScan の場合の一致率は、非 ESBL が 90.9%、ESBL が 95.0%の精度で判定された。VitekII では非 ESBL で 88.2%、ESBL で 95.05 の一致率をそれぞれ示したが、Expert system を併用した場合、非 ESBL の一致率が 90.0%に上昇した。KB ディスク法、MicroScan および VitekII を用いた場合にはほぼ同様の一致率を認めたが、Etest の値が低かった。KB ディスク法でもセフポドキシムの単剤およびクラバン酸との合剤ディスクを用いなかった場合、Etest とほぼ同様の結果となった。したがって、Etest でもセフポドキシムを対象薬剤として採用することが望まれた。今回の発表では、供試菌株が有する既知の耐性遺伝子型と各検査方法における結果との乖離についても討議する。

グラム陰性菌における β -ラクタム薬耐性

荒川宜親 (国立感染症研究所)

20世紀の後半は、各種の有効な化学療法剤や抗生物質などが開発され、細菌感染症の治療が著しく進歩した時代であった。しかし、その反面、1980年代以降、MRSAやVREなどのグラム陽性の多剤耐性菌の出現と蔓延が医療現場で世界的規模で問題となってきた。21世紀は、それらのグラム陽性の耐性菌に加え、肺炎桿菌や大腸菌、Serratia属、Citrobacter属、Enterobacter属などの腸内細菌科に属する細菌、さらに緑膿菌などのブドウ糖非発酵菌群などにおける多剤耐性の進行が懸念されている。

臨床現場で現在最も多く用いられている抗菌薬は広域 β -ラクタム薬であるため、それらに耐性を獲得した細菌、特にグラム陰性桿菌の出現と蔓延は、今世紀の医療にとって大きな脅威となりうる。本シンポジウムでは、オキシイミノセファロスポリン、セファマイシン、カルバペネムなどに耐性を獲得したグラム陰性桿菌における耐性機構について概括する。

A. β -ラクタマーゼの産生による耐性獲得

1. オキシイミノセファロスポリン (第三世代セファロスポリン) を分解する β -ラクタマーゼ

- a. TEM-、SHV-由来ESBL(クラスA β -ラクタマーゼ)
- b. CTX-M-型 β -ラクタマーゼ(クラスA β -ラクタマーゼ)
- c. AmpC型セファロスポリナーゼ(クラスC β -ラクタマーゼ)

現在、セフトジジム(CAZ)やセフォタキシム(CTX)などのオキシイミノセファロスポリン (いわゆる第三世代セファロスポリン) に耐性を獲得した肺炎桿菌や大腸菌などの臨床分離菌は、国内ではまだそれほど一般的ではないものの、各地の医療施設から着実に分離報告されるようになった。それらのあるものは、クラスAの β -ラクタマーゼに属するTEM-型やSHV-型のペニシリナーゼのvariantである、いわゆるESBLを産生する株である。TEM-由来 β -ラクタマーゼには、ESBLとクラブラン酸抵抗酵素(IRT-型酵素)も含めて90種類が登録されており、我々も最近、CAZ耐性大腸菌からTEM-91を発見し登録している。また、SHV-由来酵素も、SHV-28まで登録されており、我々は昨年度、SHV-24を国内分離株から発見し報告した。一方、同じクラスAに属する β -ラクタマーゼで、Klebsiella oxytocaの染色体性 β -ラクタマーゼ (K1、KOXY、RbiAなど) に遺伝的に近いToho-1(≒CTX-M-2)やそれに近縁のCTX-M-型 β -ラクタマーゼ (CTX-M-1~CTX-M-9) を産生する株も世界各国から報告されており、国内でも頻度は低いもののこの種の β -ラクタマーゼが各地から発見されている。

AmpC型セファロスポリナーゼについては後述する。

2. セファマイシンに耐性を付与する β -ラクタマーゼ

- a. AmpC過剰産生、CMY-型 β -ラクタマーゼなど
- b. クラスBメタロ- β -ラクタマーゼ

Enterobacter属やCitrobacter属、Serratia属、緑膿菌などでは、染色体性の誘導型AmpC型セファロスポリナーゼを産生する。通常の産生量では、CERなどに耐性を付与するものの、CMNXなどには耐性とはならない。しかしその過剰産生と膜の変異との相乗効果によると思われるCMNX耐性株なども最近しばしば遭遇するようになった。また、一部の肺炎桿菌や大腸菌では、AmpC型セファロスポリナーゼのvariantであり、CAZなどのオキシイミノセファロスポリンに加えセファマイシンを分解するMOX-1やCMY-型 β -ラクタマーゼ (CMY-1~CMY-8) をプラスミド依存性に産生する株がアジアや欧州で発見されている。MOX-1は我々が1991年に愛知県で分離されたLMOX耐性のK. pneumoniaeから発見したが、1995年に国内で分離されたセファマイシン耐性E. coliの保存株からも、最近、我々は新規のプラスミド性のクラスC β -ラクタマーゼ、CMY-9を発見し登録した。

メタロ- β -ラクタマーゼについては、後述する。

3. カルバペネムを分解する β -ラクタマーゼ