

赤痢菌の重耐性並びに交叉耐性について

中澤昭三・山本泰子

京都薬科大学微生物学教室

楠原 豊・大橋令三・小田正夫

京都府立医科大学微生物学教室

(昭和 36 年 5 月 1 日受付)

本論文の要旨は昭和 34 年 11 月, 第 7 回日本化学療法学会近畿支部総会 シンポジウム“赤痢菌の薬剤耐性”に於て発表した。

はじめに

最近高率で分離される耐性赤痢菌の耐性薬剤の組合せを調べてみると Streptomycin (SM), Chloramphenicol (CP), Tetracycline (TC) の 3 種 (サルファ剤には勿論耐性であり実際は 4 種) 総てに耐性と言うのが最も多く, 耐性赤痢菌の約 70% を占めている。次で SM, TC や SM, CP 又 TC, CP 等の 2 種耐性のもの或は TC 単独の様なものが出現している。しかしながらどう言うわけか CP の単独耐性のものは極めて稀で私共過去 10 カ年間の調査中に於ても全く見出す事は出来なかつた。

さて赤痢菌のこれら 2 種或は 3 種抗生物質耐性獲得の原因として重耐性及び交叉耐性が 1 つの重要な研究課題として考えられる。

今回私共は試験管内人工的耐性菌について各種化学療法剤間の重耐性並びに交叉耐性に関して検討し 2, 3 の基礎的知見を得る事が出来たので, 茲に報告する。

I サルファ剤間及びサルファ剤と抗生物質間の交叉耐性

現在患者より分離される赤痢菌の約 95% 或はそれ以上皆, サルファ剤に高度な耐性を示している事は周知の事実であるが, これらサルファ剤に耐性化する事により抗生物質に対する感受性が如何に変化するかと言う点について, 数種の最新持続性サルファ剤 (Long lasting

第 1 表 Sulfa 剤間の交叉耐性並びにこれに対する抗生物質の感受性

耐性株	化学療法剤	スルファイ	スルファイ	スルファイ	スルファミ	SM	TC	CM	KM
		ソメゾール	ソキサゾール	ソミジン	トキシピリダジン				
原株代 (mcg/cc)		0.78	0.78	1.56	1.56	1.56	3.12	0.78	1.56
S-Isomezole	5 代	4*	4	4	4	1	1	1	1
	10 代	8*	64	16	32	1	1	1	1
	15 代	32*	128	64	64	1	1	1	1
	20 代	256*	256	128	128	1	1	1	1
S-Isloxazole	5 代	4	4*	2	2	1	1	1	1
	10 代	8	64*	32	2	1	1	1	1
	15 代	16	128*	64	8	1	1	1	1
	20 代	128	256*	128	64	1	1	1	1
S-Isomidine	5 代	8	4	4*	4	1	1	1	1
	10 代	16	64	32*	32	1	1	1	1
	15 代	128	128	64*	32	1	1	1	1
	20 代	128	256	128*	128	1	1	1	1
S-Metoxy Piridazine	5 代	8	8	16	4*	1	1	1	1
	10 代	8	64	64	32*	1	1	1	1
	15 代	32	128	64	128*	1	1	1	1
	20 代	128	256	128	128*	1	1	1	1

* 数字は耐性他の倍率を示す。

sulfa drug) により検討を加えた。

即ち *Shigella flexneri* 2a を試験菌とし4種の新サルファ剤各々を稀釈含有せる MUELLER-HINTON 培地 37°C 48 時間を1世代として常法の増量的継代法により試験管内に於て次々と耐性の上昇を調べ、その5代、10代、15代、20代の各世代毎に、名々サルファ剤間の感受性変化及び Streptomycin (SM), Tetracycline (TC), Chloramphenicol (CP), Kanamycin (KM) 等抗生物質に対する感受性変化について常法の寒天平板稀釈法により(但しサルファ剤のみ MUELLER-HINTON 培地)測定した結果、第1表に示す如く、各サルファ剤間には完全な交叉耐性が認められたが、これら各世代に於けるサルファ剤耐性菌に対する抗生物質の感受性変化は全く認められず、原株と同一の感受性を示した。

II. サルファ剤と抗生物質間の重耐性

Iの実験によりサルファ剤耐性化と抗生物質感受性の間には全く関連性がない事が証明されたが、これらサルファ剤耐性菌が抗生物質耐性化に如何なる影響を及ぼすかについてサルファ剤感受性赤痢菌を対照として比較検討した。

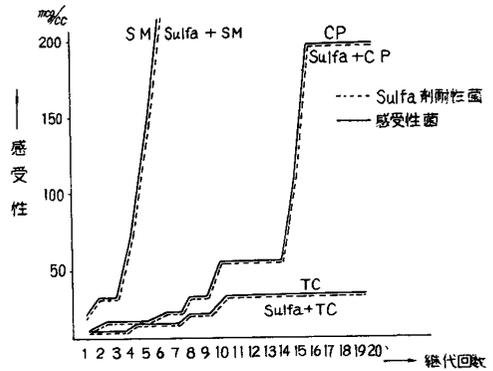
即ちサルファ剤感受性 *Shigella flexneri* 2a と前章で作製したサルファ剤耐性 (Sulfisomezole) *Shigella flexneri* 2a を試験菌とし抗生物質 Streptomycin (SM), Chloramphenicol (CP), Tetracycline (TC) に人工的試験管内耐性化を増量的継代法により 37°C 24 時間を1世代として順次上昇せしめた。その成績は第1図に示す如くである。即ちサルファ剤感受性菌とサルファ剤耐性菌の間には抗生物質耐性獲得上昇に何等差異を認める事は出来なかつた。

これら各抗生物質の耐性化の状態は従来より多くの研究者により報告されている如く、SM に於ける耐性獲得

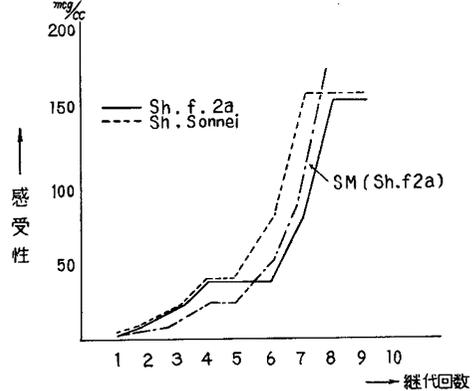
は最も著明で簡単に高度耐性菌が得られ次で CP が段階的に上昇、最も耐性獲得の困難であつたのは TC であつた。

III. 抗生物質間及び抗生物質とサルファ剤間の交叉耐性

オ1図 Sulfa 剤耐性赤痢菌の抗生物質耐性獲得状態



オ2図 赤痢菌の KM に対する耐性獲得状態



第2表 CP 耐性化による赤痢菌の他薬剤に対する感受性変化 (mcg/cc)

菌型 薬剤 継代	<i>Sh. flexneri</i> 2a					<i>Sh. sonnei</i>				
	CP	TC	SM	KM	Sulfa 剤	CP	TC	SM	KM	Sulfa 剤
1	0.78	3.12	3.12	3.12	3.12~6.25	1.56	6.25	6.25	6.25	6.25
5	3.12	12.5	1.56	3.12	3.12~6.25	6.25	6.25	3.12	3.12	6.25
10	12.5	25	1.56	3.12	3.12~6.25	12.5	12.5	3.12	3.12	6.25
15	25	25	1.56	3.12	3.12~6.25	25	12.5	3.12	3.12	6.25
20	25	25	1.56	3.12	3.12~6.25	25	25	3.12	3.12	6.25
25	50	50	1.56	3.12	3.12~6.25	25	50	3.12	3.12	6.25
30	50	50	1.56	1.56	3.12~6.25	50	50	0.39	1.56	6.25
35	50	50	0.78	1.56	3.12~6.25	50	50	0.39	1.56	6.25
40	50	50	0.78	1.56	3.12~6.25	50	50	0.39	1.56	6.25
45	50 (×64)	50 (×16)	0.78	1.56	3.12~6.28	50 (×32)	50 (×8)	0.78	0.78	6.25

第3表 赤痢菌の化学療法剤に対する交叉耐性

耐性株		化学療法剤								Fu
		TC	CP	Poly-B	CoM	SM	KM	Sulf 剤		
単独耐性	Sulfa 剤	1	1	1	1	1	1	256	1	
	TC	8	12	1	1	1/4	1/2	1	1	
	CP	16	200	1	1	1/2	1/4	1	1	
	SM	1	1	1	1	10,000	1	1	1	
	KM	1	1/16	1	1	>32	64	1	1	
重耐性	Sulfa+TC	8	50	1	1	1/4	1/2	64	1	
	Sulfa+CP	8	100	1	1	1/4	1/8*	64	1	
	Sulfa+SM	1	1	1	1	10,000	1	64	1	
	CP+TC	16	50	1	1	1/4	1/12*	1	1	
標準株感受性 <i>Sh. f. 2 a</i>		3.12	0.78	0.15 ~0.31	0.15 ~0.31	3.1~ 6.25	6.25 ~12.5	6.25 ~12.5	12.5	

(1) Poly-B…Polymyxin-B, CoM…Colistin, Fu…Furacin, Sulf 剤…サルファ剤

(2) * 表中数字は耐性化の倍率を示す。但し標準株の感受性は mcg/cc を示す。

IIの実験によりサルファ剤耐性菌及び Streptomycin (SM), Tetracycline (TC), Chloramphenicol (CP) の各抗生物質耐性菌が得られたが、更に最近多剤耐性赤痢菌に有効な抗生物質で Kanamycin (KM) が登場しその期待が大きいため、この KM の耐性獲得について検討し、更にその KM 耐性菌を得る様に試みた。

耐性化は類似の抗生物質と言われる SM と平行して常法の寒天培地による増量の継代法 37°C 24 時間を 1 世代として実施した。試験菌は *Shigella flexneri* 2 a 1 株と *Shigella sonnei* 1 株で SM については前者 1 株のみについて行なつた。その成績は第 2 図に示す如く、対照の SM と比較し特に耐性獲得状態に差異が有る様に思われぬ。すでに結核菌に対する耐性獲得については SM より耐性化が困難な様に報告されているが、菌種の相違によるものであろうか。以上の如くして KM 耐性赤痢菌も得られたのでこれら各サルファ剤、抗生物質耐性菌に対し、他の化学療法剤が如何なる感受性を示すであろうか、と言う事を原株 (感受性株) を対照とし比較検討した。

その成績は第 2 表及び第 3 表に示す如くである。即ち第 2 表の如く *Shigella flexneri* 2 a 1 株及び *Shigella sonnei* 1 株をそれぞれ試験管内で人工的に CP に耐性獲得せしめて行くとその CP の耐性上昇に従つて TC に対しても耐性が上昇して来る事が分る。ここで特に注目すべきはこれら CP, TC に耐性化されるに従つて SM 及び KM に対する感受性が逆に却つて高まつて来る事である。サルファ剤に対しては何等感受性の変化は認められなかつた。更に多くの耐性菌について同様検討し、第 3 表の如く総括する事が出来た。

1) 抗生物質 TC と CP の間には交互の交叉耐性が認められる。そしてこれら TC, CP 耐性菌に対する SM,

KM 等の一連の抗生物質は却つて感受性の増加が認められる。

2) 抗生物質 SM 耐性菌と他の抗生物質間には全く交叉耐性は認められない。又 SM 耐性菌に対し KM は感受性菌と全く同様の感受性を示す。

3) 抗生物質 KM 耐性菌と SM の間には一方的交叉耐性が認められる (結核菌の場合と同様)。そしてこの KM 耐性菌に対し CP の感受性は逆に増強された。

4) 上の 1) 2) の結果は (サルファ剤耐性+TC 耐性), (サルファ剤耐性+CP 耐性), (サルファ剤耐性+SM 耐性) 等の重耐性菌についても同様であつた。

5) CP 耐性菌の上に更に TC 耐性獲得をせしめて (CP+TC) の重耐性菌を作製し, SM, KM の感受性を調べたが, 1) 及び 4) の場合と全く同様感受性の増強が認められた。

6) 以上のこれら抗生物質耐性菌に対するサルファ剤の感受性は原株と全く同様であり, 交叉耐性は認められなかつた。

ま と め

現在患者より分離されるサルファ剤と抗生物質 Streptomycin, Tetracycline, Chloramphenicol の 4 剤耐性菌及びサルファ剤とこれら抗生物質の何れか 2 剤計 3 性耐性菌出現の可能性を試験管内に於ける交叉耐性及び重耐性実験により検討し, 次の如く推定した。

1) Tetracycline と Chloramphenicol の間には交互に完全な交叉耐性が認められるので, これら抗生物質何れか一剤に耐性を獲得すれば, この 2 剤耐性菌が出現する。

2) Streptomycin に対する耐性菌と他の抗生物質或はサルファ剤間には交互に全く交叉耐性が認められないので, SM, TC, CP, 3 剤耐性菌はまず SM 耐性菌が出現

来、その上に1)の如き TC 或は CP の耐性化が行なわれた結果生れた重耐性と考えられる (TC, CP 登場前に SM が多く使用されて来た)。

3) サルファ剤と抗生物質間相互には全く交叉耐性は認められないので、今日のサルファ剤及び抗生物質多剤耐性赤痢菌の出現はまず昭和 20 年より 24 年頃までに生れたサルファ剤、特に Sulfathiazole 耐性菌の上に更に Streptomycin, Tetracycline, 或は Chloramphenicol の耐性化が行なわれた重耐性の結果と思われる。

なお、Tetracycline, Chloramphenicol 耐性菌に対し Streptomycin 及び Kanamycin の感受性が却つて増強される事は興味深く更に患者より分離されるこれら自然獲得耐性赤痢菌について検討を加えたいと思う。

摺筆するに当り、恩師 鈴木成美教授の御指導御鞭撻を厚く感謝致します。又本研究に御協力下さった東京都衛生研究所微生物科 浜田雅博士に深謝致します。

参 考 文 献

- 1) 中沢・薬局, 9:3, 311 (1958)
- 2) 中沢: Chemotherapy 8:119 (1960)
- 3) 中沢: 同誌, 8:127 (1960)
- 4) 鈴木: Chemistry, 15:8 (1960)
- 5) 中渡瀬: 臨床と研究, 28:957 (1951)
- 6) 内藤: J. Antibiotics, 5:404 (1952)
- 7) 小酒井: 医学と生物学, 25:254 (1952)
- 8) 小酒井: 同誌, 30:133 (1954)
- 9) 小酒井: 医療, 8:444 (1954)
- 10) 古屋: 診療と治療, 40:567 (1952)
- 11) 手島: 医学研究, 24:2372 (1954)
- 12) 川島: 日本伝染病学会誌, 29:4, 169 (1955)
- 13) 今井: 同誌, 30:4, 402 (1956)
- 14) 菅野: 日本医事新報, 1682:12 (1956)
- 15) 落合: 同誌, 1735:14 (1957)
- 16) 長岐: 同誌, 1735:14 (1957)
- 17) SZYBALSKI, W. & BRYSON, V.: J. Bact., 64:489 (1952)
- 18) MONNIER, J. J. & SCHOENBACH, E. B.: Antibiotics and Chemotherapy, 1:472 (1951)
- 19) GOCKE, T. M. & FINLAND, M.: J. Lab. Clin. Med., 38:719 (1951)
- 20) FUSILLO, M. H., ROMANSKY, M. J. & KUHN, D. M.: Antibiotics and Chemotherapy 3:35 (1953)
- 21) WRIGHT, S. S. & FINLAND, M.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 85:40 (1954)