

結 論

病院スタッフ及び入院患者の鼻腔からブドウ球菌を分離しコアグラゼ陽性株につき検査を行ない、

1) 6種抗生剤に対する耐性獲得度は、昨年同様PC, SMに高く次いでACM, 以下CM, EMの順でKMは僅少であるが、ACM以外は昨年度よりやや低下の傾向にあり、SMでは約8%の低下を見た。

2) 病院スタッフの中でも、事務関係は昨年同様耐性獲得度は他に比して低かつた。

3) Phage型別試験ではⅢ群が最も多く、次いでⅡ群、Ⅰ群の順で、これは昨年と同様の傾向にあるが本年度はⅣ群の出現、混合群の増加が見られた。

(138) 空中ブドウ球菌に対する1殺菌剤の効果

水野重光・松田静治
斎藤健一・山田主税
順天堂大産婦人科

耐性菌の増加とこれに伴う病院内感染の発生が最近とみに注目され、疫学的究明が要望されており、我々も院内における耐性菌の分布について、感受性、ファージ型の面よりその成績を現在迄、2, 3報告して来たが、環境汚染の増大により院内感染の機会が増すことは当然考えられることである。我々の検索でも多数の人が集合する場所(待合室、看護婦室等)において落下菌の集落数が多く、病原菌の分離率も20名台に認められた。今回はこれに対する対策の一助として空中菌を対象にGlycine, benzalkonium及び塩化フェノール系の殺菌剤による試験管内実験とこれ等を基剤とした空中噴霧剤を作製し、その効果を検討した。

実験成績：黄色菌及びPC, TC耐性のファージ型52の菌と*Escherichia*につき各種殺菌剤の発育阻止試験をheart infusion brothを用いて行ない、使用菌株の24時間培養1白金耳を各濃度に稀釈した培地に接種し、37°C 24時間培養後の発育阻止の最高稀釈を求めたが、菌に対しDimethyl lauryl benzalkonium chloride (DLBC)は5万倍、Dioctyl amino octyl glycine (DAOG), Dodexyl diamino diethyl glycine (DDDG)では1万倍で発育を阻止し、塩化フェノール系ではHexachlavapheneが最も感受性が強く100万倍で発育を阻止した。グラム陰性桿菌ではいずれの薬剤も殺菌効果は弱いことを認めた。次いで各薬剤の接触による殺菌試験を20°Cの水浴中で2.5分～15分迄観察し、DLBCは1万倍10分間で殺菌効果があり、DAOG, benzyl chlorophenolも5,000倍で有効であつた。臨床実験と

しては以上薬剤のうちDLBC, DAOG, chlorophenolをそれぞれ基剤とした殺菌剤を試作し、新生児保育器に対して噴霧実験を行なった結果、いずれも10秒間5ccの噴霧後は集落数に著明な減少がみられた。

結論：以上の殺菌剤による細菌の発育阻止試験並びに空気の清浄効果について検討したが、これ等の薬剤が病室等の消毒に広く応用可能か否かについては今後によくの問題が残される。

(139) 気道内細菌叢の検索並びに検出菌の薬剤感受性について

螺良英郎・岸本進・平尾文男
永木和義・斎木良彦・黒田 稔
大阪大学第三内科
清水浄子・今井登美枝・宮崎セツ
同 中央臨床検査科
高橋久雄・稲井真弥・松田 実
大阪府立成人病センター

肺化膿症を主とする呼吸器感染症の抗生物質療法に際して起炎菌の検出とその感受性の測定が重要であるが、通常喀痰中には正常細菌叢の混在があり、臨床上起炎菌の決定に困難を覚えることが屢々ある。又最近では正常細菌叢に属する一部の細菌、真菌類の感染症も問題となつて来ている。そこで我々は喀痰及び気管支分泌物の細菌学的検索を実施した。実験方法はジャクソン型喉頭直達鏡で十分に展開した喉頭中に消毒した気管支直達鏡を挿入し滅菌気管内捲綿子で主気管支部粘膜を擦過して得た気管支分泌物を血液寒天、スタヒロコッカス培地、喀痰についても同様の培養を実施した。

検査対象は、気管支鏡検査を実施した80例でその大半は血痰、喀痰、咳嗽を主訴とした。又レ線所見では異常のない者28%、気管支鏡所見で異常のない者44%、気管支鏡検査での異常所見としては、発赤、狭窄、膿性分泌物等が主なものであつたが、一般症状、理学的所見、X線所見を総合し、化膿性病変をみとめたものは1例もなかつた。

喀痰、気管支分泌物を血液寒天培地で好気性、嫌気性に培養した結果、検出された細菌の種類及び検出率は、*Micrococcus*属を主に*Streptococcus*, *Staphylococcus*などのグラム陽性菌が大半を占め、各種グラム陰性菌の検出率は、著しく低率であつた。又喀痰と気管支分泌物との間で検出された細菌の種類は大差なく、各種細菌の検出率は、喀痰に比し気管支分泌物は低率であつた。又好気性と嫌気性との間でも著明な差はみとめられなかつた。又検出された細菌を量的に集落数の上から比較する

と、喀痰において、11 コロニー以上の集落をみとめたものは全例であつたのに比し気管支分泌物は約 70% であつた。その他喀痰中に *Staph. aureus* は 35% 11 コロニー以上みとめられたのに比し気管支分泌物では約 8% にすぎず、*Candida albicans* においては喀痰中では 25% 11 コロニー以上検出されたのに比し気管支内では約 4% にすぎなかつた。次に気管支鏡所見の有無から、検出菌種、検出率を主要な個々の細菌について比較すると、喀痰、気管支分泌物共に、無所見者、有所見者との間に著明な差はみとめなかつた。しかし検出菌の量的関係では、気管支鏡有所見者の気管支分泌物中には 11 コロニー以上の大量の集落数を見出した者は 80% であるのに比し、無所見者のそれでは、約 60% と、低率を示している。

以上を要約すると、下部気道粘膜は必ずしも無菌的ではなく、口腔咽頭に見出されるような正常細菌叢に略々一致した各種細菌が存在し、而も比較的高率に見出された点である。

又、気管支鏡有所見者、無所見者共、検出菌種、検出率に大差なく、わずかに菌量においてのみ差をみとめた。このことは、肺化膿症の細菌学的診断に際して、考慮すべきことであり、目下のところ、正常細菌叢の混入なく原因菌を単一に証明することは困難である。而し量的関係からみて、一部の細菌が極めて多量に検出された場合は、意義を生じて来るのではないかと考えられる。現在まで我々のおこなつた検査対象例では、化膿性症状を欠くものであり、むしろ健常者に近い動態を示しているものと考えられる。今後化膿性症状を有する者についてもおこない考察を加えたいと考える。

又、検出された *Staph. aureus* について各種抗生物質の感受性を調べた結果、約 70% が PC-G 7.6 u/ml 以上の耐性を示したのに比し、2.6 Dimethoxyphenyl-PC ではその殆んどが、2.25 mcg/ml の感性を示し、 α -Phenoxyethyl penicillin に対しても 1.8 u/ml 以下が約 90% 感受性であつた。その他の抗生物質に対しては、ディスク法による感受性検査をおこない、SM, KM に僅かに耐性を示した他、殆んどが感性を示した。又、検出された *Streptococcus* についても、PC, Staphicillin, その他の各種抗生物質に対する感受性を調べた結果も耐性を示さなかつた。

(140) 産婦人科領域における嫌気性菌の抗生物質に対する感受性について

真柄正直・網野栄作・井上達也
日本医科大学産婦人科教室

私達は Vf 寒天培地を使用し、ROSENTHAL の培養法を応用して嫌気性菌の耐性検査法について種々検討し、更に婦人性器内嫌気性菌の抗生物質に対する感受性の年次の推移等について調べたので、これの結果について報告する。

1. 基礎的事項についての検討

平板法によつて嫌気性菌の抗生物質に対する感受性を検するに当つて、本法に関与すると思われる諸種の条件について検討した。培地の種類による影響は、同一の被検剤に対する阻止帯内の大きさは H-I 培地の場合最も大きく、次いで M-H 培地、Vf 寒天の順である。寒天濃度、培地量の影響は、寒天濃度の差異による影響は明らかではないが、培地量は形成される阻止帯内の大小に密接な関係が見られる。

接種菌量の影響は、濃厚菌液を使用した場合阻止帯の長さは短縮している。接種方法について検討した結果は、著明な差異は認められなかつたが、重層接種した場合最も鮮明な阻止帯内の形成が見られた。

2. 稀釈法と平板法との比較について

液体培地稀釈法による成績は、同一の菌種に属する菌株が、同一の抗生物質に対して完全に一致した阻止濃度の得られることは少く、約半数では 2~4 倍の濃度差が認められた。稀釈法によつて得られた値を 3 濃度 Disk 法に規定された表現法によつて区分し、これと 3 濃度 Disk によつて得られた結果とを併記した成績は、CM と TC とは両者共全く同一の結果が得られた。しかし、PE, 殊に SM の場合には稀釈法と平板法との間に差異が見られた。4 菌種のそれぞれ 1 株について稀釈法と平板法による成績とを比較した。これによると 3 濃度法と 1 濃度法とは共に稀釈法の結果と略々平行するものであるが、3 濃度法の結果が稀釈法にやや近似した結果を示すものである。これに比較すると感応錠では実際の効果との間に著しい差異があるように思われる。稀釈法と平板法との最低発育阻止濃度の関係は、稀釈法と 3 濃度法では CM と TC とは完全に一致した成績が得られたが、PE と SM では 2~3 倍以上の濃度差を示すものもあつた。また、稀釈法と 1 濃度法では一致した値を示すものは少く、2~3 倍の濃度差の見られる場合が多い。

3. 嫌気性菌の抗生物質に対する感受性の年次の推移

これについて昭和 32 年度と 34 年度の 2 回に亘つて検索し、36 年度については目下検索中である。32 年度に 130 例の新患の膈内から検出した総数 41 株の嫌気性菌の PE, SM, CM, OTC に対する感受性を 3 濃度 Disk によつて検した結果、一般に強い感受性を有し、特に CM と OTC に対してはいずれも最も強い感受性を有するものであつた。34 年度に 525 例から検出された総数 133 株の中の 127 株について感受性を検した結果、球菌類では CM, TC に対して第 1 回の集計成績とほぼ同様強い感受性を有し、比較的抵抗力を示したものは CM に対して *Staphylococcus* の 2 株と、TC に対して *Diplococcus* の 1 株の計 3 株のみであつて、他の殆んど全ての菌株は最も強い感受性を有するものであつた。しかし、PE, SM に対しては CM, TC に比して明らかに感受性の低下している菌株が多い。グラム陽性の桿菌類も球菌類とはほぼ同様の傾向を有し、特に SM に対して感受性の低下しているものが多いのであるが、CM や TC には強い感受性を有するものである。

交叉耐性について調べた結果は、PE と SM との間には 2 重耐性を示すものもあるが、CM と TC、或はこれらと PE, SM との間に多剤耐性を示すことは稀である。

以上、嫌気性菌の耐性検査法について種々検討し、更に年次的推移による嫌気性菌の抗生物質に対する感受性の変異について検索した結果について報告した。

(141) Kanamycin 及び 1314 Th の耐性検査に於けるシリコン被覆スライド培養法 (SSC) の応用

内藤益一・津久間俊次・池田宣昭

中井 準・久世文幸

京都大学結核研究所化学療法部

Kanamycin 及び 1314 Th の静菌力は、卵培地で著しく低下し、又結核菌用の純良な寒天の入手が困難な場合があり、固形培地による耐性検査は必ずしも容易でないため、私共は他の抗結核剤と同様にシリコン被覆スライド培養法で耐性検査を行なつている。その方法は卵培地又は SSC 法で病材より分離した結核菌集落より石油ベンゼン菌液を作り、これに瞬時浸して結核菌を附着させたシリコン被覆スライドを、10% 血清加キルヒナー培地で作った薬剤含有耐性培地に移して培養し、5~7 日後に染色鏡検するか、10~14 日後にそのまま集落数を算定して判定する。本法の利点は培地内薬剤濃度がそのまま培地の力価となること、固形培地と同様又はそれ以上の正確さで定量的判定が出来ること、及び判定に要す

る日数を著しく短縮出来ることにある。

72 株の分離株を血液寒天培地と SSC 法とで行ない、発育不良等は血液寒天の方に多いこと、両者の成績は約 70% に一致することを認めた。本法では KM 及び Th 未使用者よりの分離株は、殆ど 1 mcg 感性を示した。追試を願いたい。

(142) 結核菌の 1314 Th 耐性について

高橋洋一・立花暉夫・青木隆一
阪大堂野前内科

1. 1314 Th (Th) 未使用の肺結核患者分離株 100 株について 1% KH_2PO_4 加小川培地および一部 (43 株) 10% 牛血清アルブミン加 DUBOS 寒天培地を併用して、Th 感受性を検討した。その結果、小川培地では、Th 50 mcg/ml 以上で 100%、25 mcg/ml では 74%、10 mcg/ml では 36% が発育を阻止された。一方 DUBOS 寒天培地では 25 mcg/ml で 100%、10 mcg/ml では 72%、5 mcg/ml では 40% が発育を阻止された。このように DUBOS 寒天培地では小川培地に比して発育阻止濃度がより低くなる傾向を認めたが、KM の場合の如き著明な差は認めず、前者が後者の 1/2 程度であつた。なお INH 耐性株が感受性株に比して Th 感受性が低いという傾向は認めなかつた。

2. 10% 牛血清アルブミン加 DUBOS 液体培地を用い、増量継代法によつて H_{37}Rv 原株、およびその INH 耐性株の Th 耐性を上昇せしめた。また subinhibitory な濃度の Kanamycin, Cycloserine, Sulfisoxazole, PAS をそれぞれ単独併用して、Th 耐性獲得におよぼす他種抗結核剤併用の影響を検討した。その結果、Th 単独では両株とも同様な Th 獲得状況を示し、特に INH 耐性株が INH 感受性原株に比してより速やかに Th 耐性を獲得するという傾向を認めなかつた。

次にいずれの株についても PAS, Sulfisoxazole, Cycloserine 併用によつては Th 耐性遅延効果が認められ、KM 併用によつては著明でなかつた。また、KM および Cycloserine 2 者併用は Th 耐性獲得に対して Cycloserine 単独併用にまさる効果を示さなかつた。

3. このようにして得た両株の Th 100 mcg/ml 完全耐性株の他種抗結核剤 (KM, SM, VM, CS, PAS, Sulfisoxazole, INH, Tib-1) に対する感受性を 10% 牛血清アルブミン加 DUBOS 液体培地を用いて検討した。その結果、Th 耐性株は、それぞれの Th 感受性原株に比して各薬剤に対し著しい感受性の差を認めなかつた。また、INH, Tib-1, SM, PAS については、1% KH_2PO_4

加小川培地を用いても検討したが同様の結果であつた。

(143) 薬剤耐性結核菌の発育力とナイアシントテスト

小川辰次・斎藤直蔵・大谷典子
宮城小枝子・立花嘉子
北里研究所附属病院

研究目的：ナイアシントテスト（以下、N.T.と略す）は、人型結核菌は陽性を示し、その他の抗酸性菌は陰性を示すと称されているが、ある研究者は、人型結核菌でも薬剤耐性等のものは少数ではあるが、陰性を示すと称している。そこで我々は、この疑問を解決するために研究すると共に、通常検査としてのN.T.の実施の仕方につき検討した。

方法：SM, PAS, INHの耐性検査をした390株につき、SM 10 mcg 以上, PAS 10 mcg 以上, INH 1 mcg 以上を耐性菌として、感性菌、耐性菌、感性菌と耐性菌との混合の3種に分け、更に集落数を卍～十の5段階に（卍～卅は無数、+は数えることのできるもの）、発育の度合をa…よいもの、b…普通のもの、c…悪いものの3段階に分けBrCN-Aniline法で検査した。その成績は卍, 卅, +, ±, -に分け記し、+を示したものの一部、±, -のものについては全部につき継代して再検査した。又、BrCN-Aniline法とBrCN-Benzidine法を530株同一材料につき行ない、比較した。

成績：感性菌27株、感性菌と耐性菌の混合161株、耐性菌のみ202株実施したが、その傾向はいずれも同じであつて、集落数の少くなると共に、又発育の度合の悪くなると共に、陽性率が次第に減少した。尚、耐性菌のみについてみると、SM, PAS, INHの耐性菌の間には、異なる傾向は認められなかつた。

これを総括してみると、N.T.が少くとも80%以上陽性を示すのには、aでは卅, bでは卍, cでは卍以上の発育と集落数が必要であり、それ以下では、約その半数が±あるいは-を示すことがわかつた。

次に、初代でN.T.+、±、-を示した71株（これらはいずれも集落数少なく発育も悪いものだけである）を継代して実施すると、1例のみが±を示し、残りの70例はいずれも陽性を示した。これら陽性を示したものの発育はいずれもaあるいはbで集落数も卍～卍のように多いものであつた。±を示した1株のみはcの卍のものである。次に、アニリン法とベンチジン法を種々の程度の発育を示した人型結核菌につき比較した。陽性率はそれぞれ76.6%, 78.3%で大差を認めないが、アニリン法は陽性が黄色であるために培地のマラカイト緑が入る

と±、一の判定がむづかしいこともあるが、ベンチジン法では桃色なので判定が容易であつた。

総括及び考察：N.T.は使用する菌量、即ち培地に発育した集落数及び発育の度合によつて影響される。従つて、人型結核菌らしいものでN.T.(-)を示した場合には継代して菌量を増加して再検査すべきであろう。尚、耐性結核菌でも陰性を示すものは認められなかつた。次に我々は、継代した後陰性を示したのものの中にコルネバクテリアと人型結核菌が共存している例をみた。恐らくこの結核菌の発育が悪かつたのであろうが、N.T.(-)であつても疑わしいものは染色してみると共に、抗酸性菌以外の雑菌の分離を試みる必要がある。N.T.を通常検査に用いるのには、両方法同時に実施することが妥当であろうが、どちらか一方を用いるとすれば、ベンチジン法が適当のように思われる。今後更に多くの例について、通常検査への応用について検討したいと思つている。

(144) 各種薬剤(SM, PAS, INAH)耐性菌に対するカナマイシン耐性の実験

斎藤実・小杉竜雄
北海道赤平市住友赤平礦病院
(院長 柴田正邦博士)

緒言

近年諸種の抗結核薬剤の出現により、結核による死亡率は激減しつつあることは誰しも認めている。1955年梅沢沢夫博士等により発見されたKMが最近抗結核薬剤として認可されたことは洵に喜ばしいことである。我々が結核症を治療するに当つて先ず第1に念頭におかねばならぬこととして、薬剤耐性の問題があり、特にKMに於ては、自然耐性株があり、又短期間使用後容易に耐性を獲得しやすく、SM, PAS, INAH等の耐性の有無によりその使用法は慎重でなければならぬ。

我々は学研肺結核病型分類にて、何れもが重症混合型の胸部レ線像(F)を有し、而もSM, PAS, INAH完全又は不完全耐性菌を殆ど常に排泄している7名の入院患者の結核菌を使用し、KM完全耐性菌を得、そのものがSM, PAS, INAH夫々に対する態度及びそれらの完全耐性菌と不完全耐性菌に於けるKM耐性の消長を見、且つSM, PAS, INAH耐性で而も実験的KM耐性菌がPAS, INAH及びSM, PAS, INAH混合培地に如何に発育してゆくかを検討した。

実験

住友赤平礦病院結核病棟入院患者で、いずれも学研肺

結核病型分類にて重症混合型のレ線像 (F) を有し、而も SM, PAS, INAH 完全又は不完全耐性菌を排泄しているものの喀痰を、1% 小川培地で分離培養した結核菌を用いた。

培地: 1) KM 1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ を含有する 1% 小川培地及び薬剤なしの対照培地

2) SM, PAS, INAH 及び PAS, INAH 混合培地, 即ち SM 1 mcg+PAS 1 mcg+INAH 1 mcg, SM 10 mcg+PAS 10 mcg+INAH 5 mcg, SM 100 mcg+PAS 100 mcg+INAH 10 mcg, PAS 1 mcg+INAH 1 mcg, PAS 10 mcg+INAH 5 mcg, PAS 100 mcg+INAH 10 mcg を含有する 1% 小川培地と薬剤なしの対照培地

KM の継代培養: SM, PAS, INAH 3 者にそれぞれ完全又は不完全耐性のある中の SM 1 mcg, 10 mcg 耐性菌を用いて 1% 小川培地で培養し、その発育菌体をなるべく全部掻き取つて、KM 1 mcg, 10 mcg 含有培地にその 1 白金耳づつを接種し 5 代継代培養する。

SM, PAS, INAH の耐性: 5 代継代培養後、その発育菌体を取り、正確に秤量して 1 mg/cc の菌液を作り、この 1 mg/cc の菌液を滅菌蒸留水で 100 倍希釈してその希釈液の 0.1 cc (10^{-3} mg 相当量) を SM, PAS, INAH 耐性培地に接種し 3~4 週間後判定する。

SM, PAS, INAH 又は PAS, INAH 混合の耐性: SM, PAS, INAH の耐性と同様に接種し判定する。

判定: 対照培地上の菌発育量と略同程度に発育した最高の薬剤含有量をもつて完全耐性とし、それより更に高い濃度の培地に集落が発育したときには、集落発生のおつたところ迄を不完全耐性とよんだ。

菌の発育程度を表わすには次の記号を用いた。(冊) は培地全面に発育を見、集落が全部融合している場合、(冊) は培地表面の 3/4 を占め、集落が殆ど融合している場合、(冊) は培地表面の 1/2 を占め、集落が殆ど融合している場合、(冊) は (冊) より少く、而も集落が多く数えられぬ場合を示し、集落の数えられる場合はその数を附記した。

成 績

薬剤耐性菌中、SM 1 mcg 耐性菌を KM 1 mcg 含有培地に 5 代継代培養し、その後の薬剤耐性状況については、SM 1 mcg 耐性菌では 6 例に於いて (冊) と不変、1 例で多少上昇している。SM 10 mcg 耐性菌では 2 例に於いて (冊) と不変、2 例で多少上昇しているが、残りの 3 例では低下している。100 mcg にては 1 例に於いて (冊) と不変、5 例で上昇し、残りの 1 例では逆に低下している。

PAS 1 mcg にては 2 例に於いて (冊) と不変、1 例で多少上昇し、残りの 4 例では低下している。10 mcg

にては 2 例に於いて (+) 10 コ前後と不変、残りの 5 例では低下している。100 mcg にては 2 例に於いて (-) と (+) といずれも不変、3 例で上昇し、残りの 2 例では低下している。

INAH 1 mcg では、3 例に於いて (冊) と不変、3 例で上昇し、残りの 1 例では低下している。5 mcg では 3 例に於いて (冊) と不変、1 例で (-) と不変、残りの 3 例ではいずれも低下している。10 mcg では 3 例に於いて (冊) と不変、1 例で (-) と不変、他の 1 例で上昇し、残りの 2 例では低下している。

KM 継代培養の結果は、KM 1 mcg では 6 例に於いて (冊)、残りの 1 例は (冊) であり、10 mcg では 3 例に於いて (冊)、残りの 2 例は (冊)、又 100 mcg では 6 例に於いて (+)、残りの 1 例は (-) であつた。

次に薬剤耐性菌中 SM 10 mcg 耐性菌を KM 10 mcg 含有培地に 5 代継代培養し、その後の薬剤耐性状況は、SM 1 mcg では、KM 1 mcg 含有培地継代培養のものと同様であつた。10 mcg では 3 例に於いて (冊) と不変、3 例で上昇しており、100 mcg では 1 例に於いて (-) と不変、3 例で上昇し、残り 2 例では低下している。

PAS 1 mcg にては 1 例に於いて (冊) と不変、1 例で上昇し、残りの 4 例では低下している。10 mcg では 1 例に於いて (+) と不変、2 例で多少上昇し、残りの 3 例では低下している。100 mcg では 3 例に於いて上昇し、残り 3 例で低下している。

INAH 1 mcg では 3 例に於いて (冊) と不変、2 例で上昇し、残りの 1 例では低下している。5 mcg では 3 例に於いて (冊) と不変、1 例で上昇し、残りの 2 例では低下している。10 mcg では 5 mcg の場合と殆ど同様であつた。

KM 継代培養の結果は KM 1 mcg では 6 例すべて (冊)、10 mcg では 5 例に於いて (冊)、残りの 1 例は (冊)、100 mcg では 2 例 (冊)、1 例 (冊)、2 例 (冊)、残りの 1 例は (+) であつた。

次に薬剤耐性菌中 SM 1 mcg, 10 mcg 耐性菌を、それぞれ KM 1 mcg, 10 mcg 含有培地に 5 代継代培養し、その後 SM, PAS, INAH 及び PAS, INAH 混合培地に 1 カ月間培養した成績は両培地に於いていずれも高濃度では全く発育せず、低濃度では若干発育するが極めて少数である。而も継代培養前に INAH の各濃度に耐性のないもの又はあつても少いものは、発育が全くないかあつても極く少数であり、これに反し薬剤完全耐性のものの発育量は、そうでないものより勝っている。

総括及び考按

諸種の抗結核薬剤が相踵いで作られ、我々が患者を治

療する上に非常に楽になつたが、従来の薬剤の耐性問題を無視して新しい薬剤に手をつけることは出来ない。この意味で SM, PAS, INAH 夫々に完全又は不完全耐性のある場合、KM を使用して KM 耐性菌を作り、その耐性の上昇状態をしらべると共に、KM 耐性後の SM, PAS, INAH 夫々の耐性を、KM 耐性前のそれと比較し、諸種の混合培地上での発育を検討することは非常に重大な意義があると考え。最近小酒井氏は KM 耐性検査で小川培地を用いることは「KM の抗菌力が減弱し適当でない」と云い、東村氏は KIRCHNER 寒天培地と 1% 小川培地を比較し 1% 小川培地を推奨しているが、我々も後者を用いて KM 含有培地を作り、継代培養を行なつたが、その耐性上昇については SM 1 mcg, 10 mcg 耐性菌の間に明白な差違があつた。それは 10 mcg 耐性菌では殆ど各濃度で完全に近い耐性を獲得したに対し 1 mcg 耐性菌では多少低下の傾向があり、殊にそれは高濃度で著明である。然し何れも低濃度では殆どが 100% の完全耐性を獲得し 10 mcg の濃度ではやはり過半数が完全耐性を有する様になつてゐる。これに反し 100 mcg という高濃度では殆ど大半が不完全耐性となり而も SM 10 mcg 耐性菌を用いた方が程度は強い。之を % で示すと、SM 1 mcg 耐性菌を使用した場合の KM 1 mcg 耐性菌で (卍) 85.8%, (卍) 14.2%, KM 10 mcg 耐性菌で (卍) 42.8%, (卍) 28.5%, (卍) 28.5%, KM 100 mcg 耐性菌で (+) 85.5%, (-) 14.2%, SM 10 mcg 耐性菌を使用した場合の KM 1 mcg 耐性菌で (卍) 100%, KM 10 mcg 耐性菌で (卍) 83.4%, (卍) 16.6%, KM 100 mcg 耐性菌で (卍) 33.2%, (卍) 16.6%, (卍) 33.2%, (+) 16.6% であつた。柳沢氏によれば「KM の耐性上昇は 1 mcg 耐性菌が発育菌の 75% 以上を占めるのは継代培養で 3 代目であり、10 mcg 耐性菌が発育菌の 75% 以上を占めるのは 4 代目である」と云つてゐるが、我々の実験では SM 1 mcg, 10 mcg 耐性菌を使用し、之等のものは PAS, INAH にも完全又は不完全耐性があり、必ずしも柳沢氏の成績と同一視すべきものではない。然し 5 代継代培養後、SM 10 mcg 耐性菌を用いたものは KM 1 mcg, 10 mcg, 100 mcg 殆どが 75% ((卍) を 75% とすると) 以上を占めてゐるに反し、SM 1 mcg 耐性菌を用いたものは、KM 1 mcg, 10 mcg で殆どが 75% 以上を占めてゐるが、100 mcg では極く少く、肉眼で計算出来る程度であつた。SM 微量接触による SM 耐性上昇の研究が多数ある如く、KM に於てもその耐性獲得に関しては種々不明の基礎的因子があるのであろう。塩田氏は各病巣内結核菌の薬剤耐性に差のあることを指摘し、「特に SM の場合、低耐性菌は高耐性菌に比しその傾向が強く浮動性がある」と云つ

ているが、我々の実験に於てはそうした傾向は認められなかつた。KM も SM と同様 10 mcg 耐性のものは 1 mcg 耐性のものより 100 mcg 耐性素質を有する菌を多く含むことによるのか、或は SM の耐性が高度になればなる程、それにつれて KM の完全耐性も得やすい様になるのかの結論は簡単に下せない。又 SM, PAS, INAH 特に SM, PAS の耐性如何との相関関係は見出すことは出来なかつた。然し何れにせよ、KM は耐性を獲得し易いと言ひ得るし、このことは治療上大いに考えなければならぬ点である。

次に SM, PAS, INAH 耐性菌中、SM 耐性菌は同濃度 KM によりその耐性を得た後、KM 1 mcg, 10 mcg という低濃度では前回の SM 1 mcg の耐性状態はあまり変化をうけず、SM 100 mcg の耐性状態は寧ろ上昇の傾向があり、又 SM 10 mcg のそれは両者の中間的傾向を示している。これはとりもなおさず KM 低濃度では SM 耐性菌に対してその耐性に影響を与える代謝系に異常をおこし得ないものであり、PAS 耐性の本質たる発育遅延、而して何回かの選択を繰返して得られる耐性、或は INAH の長期間に亘つてのはげしい動揺性の耐性、而も高度完全耐性となり難く且つ完全耐性のものでも著明に耐性が低下し時に感性となることがあるの に比較し、SM 耐性、特にその高濃度耐性は強固なものであり、KM という強力な薬剤により侵襲をうけても猶前回の耐性にはあまり影響がないといえる。

又 PAS, INAH 耐性菌の場合は、何れも KM 侵襲に対して非常に影響を受け易く、特に PAS に於ては (卍) という耐性でも変化を受け易く、且つ 1 mcg, 10 mcg, 100 mcg の各濃度の耐性でも変化をうけた。然し低濃度耐性では多少低下の傾向を有しており、反面 INAH に於ても、変化は各濃度耐性で見られ、特に 5 mcg, 10 mcg で多少低下の傾向を示している。然し之等は KM という薬剤自体に負うところよりも寧ろ PAS, INAH の耐性菌の本質に原因する様に考えられる。

次に SM, PAS, INAH 及び PAS, INAH 混合培地での成績について、東村氏は「2 重又は 3 重培地に於ける耐性は各薬剤の作用が独立に作用する結果による」と云い、大藤氏は「2 者耐性菌中の真の 2 重耐性菌含有率は、SM, INAH 又 SM, PAS 又 PAS, INAH の平均は 4~19% である」と云つてゐるが、我々の 2 重又は 3 重培地では之と多少違つて、SM, PAS, INAH 夫々に耐性で、而も KM 耐性を有している菌を接種したものであり、SM, PAS, INAH 又は PAS, INAH 混合培地に発育する共通耐性菌は、必ずやその途中に於て何等かの形で影響をうけるのではないかと推測される。現に東村氏は「PAS 耐性株では耐性菌から感性菌に逆変異す

るか、又は耐性菌の遺伝子型はそのまま表現型のみが低下していることにより、INAH 耐性株についても PAS の場合程著明でないが類似の現象が見られる」と云っているが、我々の混合培地では INAH に於て最も著明であり、継代培養前各濃度に於てその耐性のないもの又はあつても少ないものは発育が全くないか又はあつても極く少数であつた。而も各培地の高濃度では全く発育せず、低濃度に於て若干発育するというのも、各薬剤完全耐性のものの発育量がそうでないものより勝つていているということも興味ある問題であり、この発育菌は非常に%の少ない共通耐性菌であり、その生存期間が他のものより短い傾向にもよると思うが、その主たるものは KM を含めた各種薬剤 (SM, PAS, INAH) の侵襲によるものであろう。

以上の事実より我々が結核症治療に当り SM 耐性菌に対しては、KM, PAS 又は KM, INAH 或は KM, PAS, INAH 併用を施行し、SM, PAS 又は SM, INAH 又は SM, PAS, INAH 耐性菌に対しては、KM, PAS, INAH 併用を行ない、特に後者の場合は副作用のおこらない範囲での KM の大量投与が望ましいと考える。

結 語

胸部レ線上学研肺結核病型分類にて重症混合型であり、而も SM, PAS, INAH それぞれに完全又は不完全耐性菌を常時排泄している7名の入院患者の菌を用いて次の実験を行なつた。即ちその中の SM 1 mcg, 10 mcg 耐性菌を、KM 1 mcg, 10 mcg 含有 1% 小川培地にそれぞれ5代継代培養し、KM 耐性を得たこれらの菌を SM, PAS, INAH 又は PAS, INAH 混合培地及び SM, PAS, INAH それぞれの単独培地に1カ月間培養し、KM 耐性前のそれと比較したところ、

1) KM 耐性の上昇は SM 10 mcg 耐性菌では、各濃度で殆ど完全耐性に近い耐性を獲得し、1 mcg 耐性菌では多少低下の傾向があり、且つ高濃度では著明である。然しいずれも低濃度では殆どが 100% の完全耐性を獲得し、10 mcg の濃度では過半数が完全耐性となり、100 mcg の濃度では大半が不完全耐性を有し、而も SM 10 mcg 耐性菌を用いた方が強度は大である。

2) 混合培地での発育は継代培養前各濃度で耐性のないもの又は軽度のものは発育が全くないか極く少数であり、INAH の場合最も著明であつた。而も各培地の高濃度では全く発育せず、低濃度に於いて若干発育した。又各薬剤完全耐性のものの発育量がそうでないものより多少勝つていている。

3) SM, PAS, INAH それぞれ単独培地では継代培養前の SM 1 mcg の耐性状態は変化をうけず、SM 100 mcg のそれは寧ろ上昇の傾向があり、SM 10 mcg のそ

れは2者の中間である。PAS, INAH 耐性菌は非常に影響をうけ易く、特に PAS では(卅)という耐性でも変化をうけ、1 mcg, 10 mcg, 100 mcg の各濃度、特に低濃度耐性では、多少低下の傾向を示し、INAH でも変化は各濃度で見られ、特に 5 mcg, 10 mcg で多少低下の傾向を示す。

4) 以上の事実より SM 耐性菌に対しては、KM, PAS 又は KM, INAH 又は KM, PAS, INAH 併用を施行し、SM, PAS 又は SM, INAH 又は SM, PAS, INAH 耐性菌に対しては、KM, PAS, INAH 併用を行ない、特に後者の場合は副作用のおこらない範囲で KM の大量投与がよいと考える。

最後に恩師山田豊治教授の御校閲を深謝する。

(145) ブドウ球菌に対する oleandomycin-chloramphenicol の併用による耐性獲得阻止の基礎実験

森 邦 義・小酒井 望

順天堂大学医学部臨床病理学教室

細菌感染症に対する抗生物質療法の普及に伴なつて菌が耐性を獲得することはさげられないが、この耐性獲得を阻止するため抗生物質の2ないし数剤の併用療法が行なわれている。

殊に結核化学療法においては耐性獲得阻止のための併用療法が常識となつている。しかし結核のみでなく慢性感染症や亜急性感染症に抗生物質を使用する場合、その抗生物質を単独投与すると早晚耐性を獲得し治療効果の消失を来すことが少くない。

最近ブドウ球菌感染症の増加が注目されているが、先に私共はブドウ球菌を用いて Chloramphenicol, Oleandomycin, Kanamycin, Neomycin 4 種抗生物質のうちの2剤の組合せについて試験管内で併用効果を検討し、いずれの組合せでも効果を認めた。そこで併用効果の認められる組合せの場合に、はたして耐性獲得阻止が可能であるか、どうかについて試験管内実験を行なおうと考え、まず Chloramphenicol と Oleandomycin の組合せによる実験を試みた。

実験材料及び実験方法

使用した菌株はブドウ球菌感染症より得た Coagulase 陽性黄色ブドウ球菌約 15 株でマンニトを分解し溶血能を有する株である。

実験方法は2種抗生物質の組合せの場合の薬剤濃度は 25.0, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.20 及び 0 mcg/ml の2倍稀釈系列でこれら濃度がすべて組合わ

されるようにグイオン 5 cc 中に含有させ、それに供試菌株のグイオン 18 時間培養の 0.05 ml を接種し、37°C 24, 48, 72 時間培養し、肉眼的に菌の発育の有無を観察し、次いで同じ濃度の組合せ試験管 1 組 (49 本) を用意し、それぞれ同じ濃度の組合せ試験管へ 0.05 ml ずつ旧培養を移植した。そして同時に 72 時間経過した旧培養試験管からその 1 滴ずつを薬剤を含まないグイオン培地に移し、24 時間培養し、Chloramphenicol, Oleandomycin について耐性検査を行なった。このような方法で 2, 3 代継代すると、同一濃度の薬剤の組合せに 9 日ないし 12 日間接触することになる。耐性測定法は Chloramphenicol 及び Oleandomycin のそれぞれ 25.0, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39 及び 0 mcg/ml を Heart Infusion 寒天平板に含ませ、1 mm 内径の白金耳でグイオン培養から画線塗抹し、37°C 18 時間培養後菌の発育を認めた最高濃度をもつて耐性を表わした。

実験結果

主な 5 株の結果は次のようになる。菌株 No. 5 は静菌作用から見れば併用効果の認められる例で、3 日間の培養では感受性に殆んど変化はないが、2 回継代後は Chloramphenicol, Oleandomycin 双方の比較的高濃度の組合せにおいて 4 倍程度の感受性の低下を示している。

No. 6 では第 1 代即ち 3 日間の培養で Oleandomycin に 4 倍程度の感受性の低下を示したところが一部あるが、2 回継代後の感受性の変化は No. 5 と同じ傾向を示している。

No. 7 は第 1 回の耐性検査の場合と第 2 回目の場合感受性には大した変化が見られなかつたが、第 3 回の耐性検査では、Chloramphenicol の高濃度の部分に 4 倍程度の感受性の低下が認められ、又 Oleandomycin に対しても一部に 4 倍程度の低下が見られている。

No. 29 は 12 日間薬剤を接触させた例で、即ち 3 回継代を行ない、途中耐性検査を 4 回行なつた。第 1 回より 4 回まで併用効果が認められたが、耐性検査 (12 日間薬剤接触の場合) では感受性に大した変化のなかつた例である。

No. 11 でも前者と同様に 12 日間培養したが、第 1 回耐性検査では感受性に変化が見られなかつたが、第 2, 3 回耐性検査では Chloramphenicol の比較的高濃度のところに 4 倍程度の低下が見られ、第 4 回検査では殆んど組合せに 4 倍の感受性の低下を認め、これに対し Oleandomycin には 2 倍程度の感受性の低下しか見られなかつた。

結 語

私共は菌の抗生物質に対する耐性獲得阻止に関する基礎実験の 1 方法を考案し、ブドウ球菌を用いて Chloram-

phenicol, Oleandomycin の組合せについて実験した。この両剤の組合せは併用効果を示すけれども、菌の発育を許すような濃度の組合せでは、菌がいずれかの薬剤又は両剤に軽度ながら耐性を獲得することはまぬがれなかつた。

追加, 質問および回答

(5 追加) 御荘 基信(大阪市大自羽外科)

コーチゾンにより前処置された腹腔内感染マウスに対する化学療法を実験的に検討した。

あらかじめコーチゾンを 1 週間漸減的に投与されたマウス群と生理食塩水のみで前処置されたマウス群とに、実験的腹腔内感染を起させ、これに対して抗生物質を投与したところ、コーチゾン投与マウス群において生存率が劣るとの成績をえた。また、コーチゾン投与マウス群には対照群より大量の抗生物質投与を必要とした。

このように、感染前のコーチゾン投与は感染症の化学療法に対して悪影響があるとの印象をうけている。

(6 追加) 添田 百枝(防衛庁技術研究本部第 2 研究部, 自衛隊中央病院研究部)

1) 可溶性 Trichomycin は毒性が少ない。即ち、マウス腹腔内注射で 1,000 u/mice が 50 LD。

2) Trichomycin rivanol salt は毒性が可溶性 Trichomycin よりもう少し少なくなる。即ち、マウスの腹腔内注射で 1,280 u/mice 50 LD。

(10 質問) 堂野前維摩郷 (阪大三内)

1) 就労は普通勤務か軽業の下か。

2) 帰宅後の生活指導とその実施状況について。

(10 回答) 清水 寛(肺疾患研究会)

就労下の患者のうちに、相当数の弱小企業工場の労働者を含んでおり、入院即ち失業という例も少くないので、かなり大きな空洞を有する者でも外来治療を行なわざるを得なかつた。従がつてその化療中の作業度なども、治療開始前より必ずしも軽減されたとは言い兼ねる。

家庭に帰宅してからの生活状態も、過労を防ぐということがやつとで、通常生活を営んでいたものである。但し、薬剤の服用については、毎月 1 回の諸検査時に指導しているので、その点は充分であつたと思う。

(12 追加) 1314 TH による肺結核化学療法

沢崎博次・堀江和夫(関東通信病院結核科)
対象は初回例 9, 耐性例 7 である。