

グラム陽性菌の Kanamycin に対する感受性について

三 橋 進

群大医学部微生物学教室

(昭和 37 年 10 月 1 日受付)

Kanamycin (KM) は梅沢等¹⁾ によつて発見された抗生剤で、結核菌に対しすぐれた治療剤とされておる。本邦においては結核以外に KM が使用された例が比較的少い為に、病巣由来のグラム陽性、陰性の細菌の KM に対する感性的態度を広く調査しておくことは、今後出現するであろう KM 耐性菌の疫学的、遺伝学的研究の重要な資料を提供するものと思われる。化学療法研究班において企画された研究の一端として、全国各地で分離されたグラム陽性菌の KM に対する感性的態度を調査し、筆者がこれを集計する機会を得たのでここに報告する。

材料並びに方法

菌株：全国 33 の各科医局、研究室において病巣から分離されたグラム陽性菌（ブドウ球菌、肺炎球菌、連鎖球菌）を用いた。1 医局が 1959～62 年迄に分離されたものを測定した他は、1961～62 年にかけて分離された菌株が用いられた。参加された各医局、研究室の詳細は下記の通りで、その専門別は表 1 に示した。

表 1 資料を集めた研究機関の各科別分類

内 科	12
外 科	3
皮 膚 科	3
小 児 科	3
産 婦 人 科	3
眼 科	4
泌 尿 科	3
微生物学科	2
計	33

北大内科（鳥居）、関西医大内科（大久保）、阪大内科（堂野前）、京都府医内科（徳田）、伝研内科（北本）、慶大内科（三方）、名大内科（青山）、慈大内科（上田）、昭和医大内科（川上）、大阪市立大内科（塩田）、東大内科（上田）、東大内科（吉利）、慶大外科（島田）、東大外科（清水）、名古屋市医大外科（柴田）、金沢大皮膚科（福代）、岡山大皮膚科（谷奥）、九大皮膚科（樋口）、慈大小児科（国分）、昭和医大小児科（中沢）、長崎大婦人科（三谷）、順天堂大産婦人科（水野）、日本医大産婦人科（真柄）、東北大眼科（桐沢）、東大分院小児科（藤井）、

九大眼科（生井）、熊本医眼科（徳田）、新潟大眼科（三國）、久留米大泌尿科（重松）、大阪医大泌尿科（石神）、東大泌尿科（市川）、東邦医微生物（桑原）、群大微生物（三橋）の 33 医局及び研究室であつた。

感受性：KM を含む平板希釈法によつた。ディスク法によつて測定されたデータもあつたが、今回は平板希釈法によつて測定されたもののみ集計した。希釈系列の多少異なるものも含まれておつたが、腸内細菌研究班法によつてきめられた希釈系列を用いて集計した。

結 果

ブドウ球菌の KM 感受性：1,667 株のブドウ球菌の KM 感受性値の分布を図 1 に示した。1.6 $\mu\text{g/ml}$ に頂点を示す 1 つの屹立した一峯性の分布である。耐性菌が多く分離されない為、耐性と感性的との限界をつけ難い。1.6 $\mu\text{g/ml}$ を軸として対照の山を点線で描くと、点線と

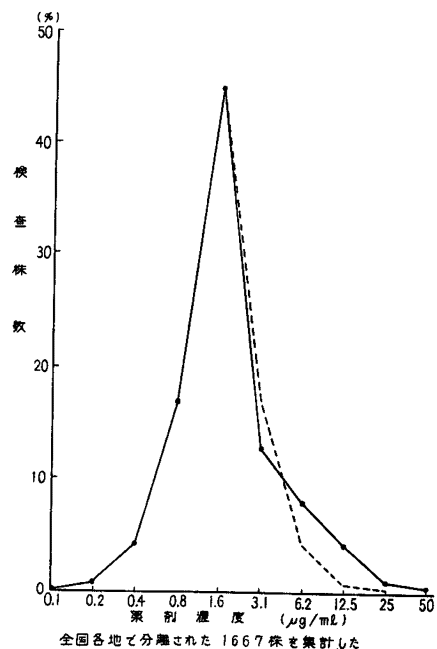


図 1 ブドウ球菌 KM 感受性値の分布

実線と交叉した部分が得られる。交叉した部分の動き、即ち今後 KM の使用頻度の増加と共に KM 耐性菌がいかに増加し、感性的と耐性的との分布がいかなる型式をと

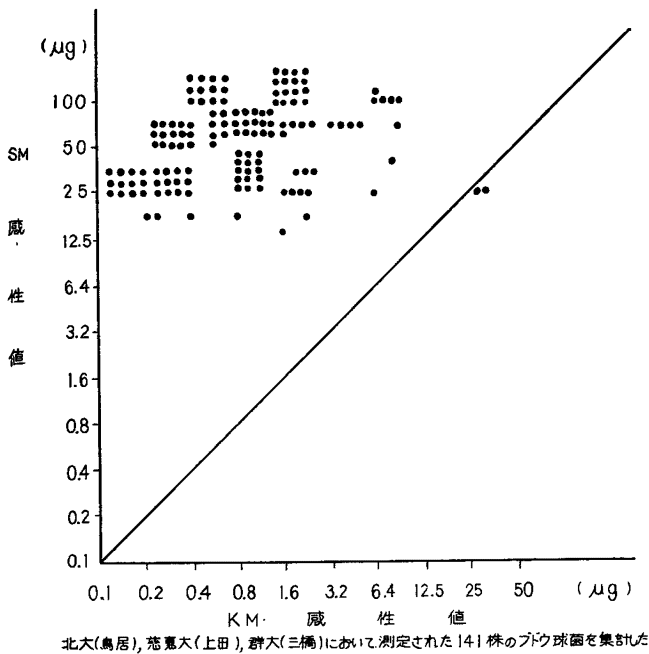


図2 SM 耐性ブドウ球菌 (141株) の KM 耐性

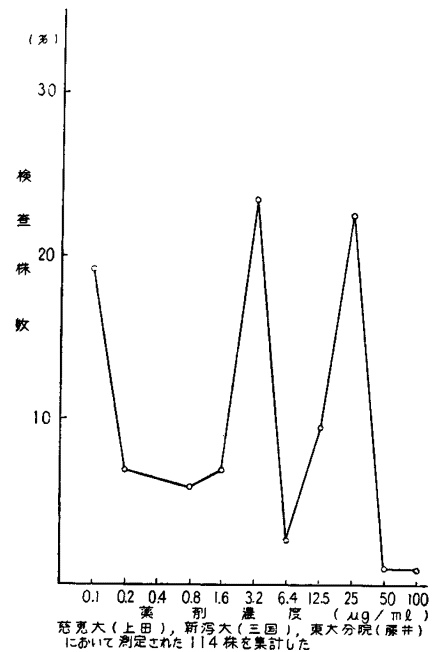


図3 肺炎球菌の KM 感受性値

るか注目すべき課題である。

KM 耐性と SM 耐性との間に交叉耐性のあることが梅沢²⁾ によって報告されておる。KM 耐性, SM 耐性が同時に測定された 141 株についての KM と SM 耐性との関係を図2に示した。

図に示す如く, SM 耐性ブドウ球菌は必ずしも KM と交叉耐性を示さない。病巣から分離される KM 耐性ブドウ球菌と SM 耐性との関係は今後の課題である。調査された 1,667 株のブドウ球菌の中, 抗生剤又はスルホンアミド剤 (SA) の単剤又は多剤に耐性ブドウ球菌を集め, その KM 感性値を表2に示した。単剤又は多剤

に耐性ブドウ球菌 572 株中, 明瞭に KM に耐性と思われるものは僅かに 38 株であった。

肺炎球菌の KM 感受性: 分離測定された 114 株の結果を図3に示した。

KM 感受性の分布は 6.4 µg/ml に谷を示す二峯性の分布であることが分る。ブドウ球菌の KM 感受性の分布 (図1) と比較して肺炎球菌の場合は明瞭に KM 耐性菌と思われる分布のみられる点興味深い。

連鎖球菌の KM 感受性: 東大分院及び慶応附属病院において分離, 測定された 49 株の結果を集計し, 表3に示した。表に示すごとく, 連鎖球菌のすべては KM に耐性であることが明らかである。

表2 KM 以外の薬剤耐性ブドウ球菌と KM 耐性との関係

単剤又は多剤耐性株数	研究機関名	KM 感性値 (µg/ml)
10	東大 (吉利)	S.
17	順天堂大 (水野)	S.
29	伝研 (北本)	25~50 (6株)
26	名市大 (柴田)	S.
77	新潟大 (三国)	10 (2株)
31	京府医大 (徳田)	12.5 (1株)
33	阪大 (堂野前)	12.5 (20株)
30	慶大 (石井)	12.5 (4株)
19	北大 (鳥居)	25 (5株)
300	群大 (石原, 三橋)	S.

S.: sensitive

表3 連鎖球菌の KM 感性値

菌名	KM 感性値 (µg/ml)			
	12.5	25	50	100
<i>Streptococcus hemolyticus</i>	2	3	2	13
" <i>sanguis</i>				10
" <i>bovis</i>				10
" <i>salivarius</i>				1
" <i>equinus</i>				1
" <i>viridans</i>				7
計	2	3	2	42

東大分院 (藤井), 慶大内科 (三方) によって分類された 49 株を集計した。

表4 多 剤 耐 性 菌 出 現 の 時 期

分離時期	分離場所	菌 型	例 数	耐 性 パ タ ン	報 告 者
1955 年	東京(香港)	<i>Sh. flex.</i> 4a	1	TC. CM. SM. SA	北 本 治
1956 年 8 月	東 京	<i>Sh. flex.</i> 2b	51 (集団発生)	TC. CM. SM. (SA)	小 張 一 峰
1957 年 6 月	東 京	<i>Sh. flex.</i> 1b	3	TC. CM. SM. (SA)	長 岐 佐 武 郎
		" 2b	2	"	
1957 年	東 京	<i>Sh. flex.</i> 1b	1	TC. SM. SM. (SA)	小 張 一 峰
		" 2a	3	"	
		" 2b	2	"	
		" 3a	1	"	
		" 3a	1	"	
		" V. Y.	1	"	
1957 年 9 月	名 古 屋	<i>Sh. flex.</i> 3a	66 (集団発生)	TC. CM. SM. SA	落 合 国 太 郎
1957 年 10 月	東 京	<i>Sh. flex.</i> 2a	24 (集団発生)	TC. CM. SM. (SA)	上 田 撥 一, 他
1957 年 12 月	群 馬	<i>Sh. flex.</i> 3a	80 (集団発生)	TC. CM. SM. SA	松 山, 原 田
1957 年 12 月	群 馬	<i>Sh. flex.</i> 3a } <i>E. coli</i>	2	TC. CM. SM. SA	原 田, 三 橋
1958 年 11 月	群 馬	<i>E. freundii</i> } <i>E. coli</i>	1	TC. CM. SM. SA	原 田, 三 橋
1958 年 11 月	群 馬	<i>E. coli</i> } <i>Sh. flex.</i> 2a	1	CM. SM. SA	原 田, 三 橋

例数の下に一のあるものは 2 種の多剤耐性菌重複保菌者
(SA) : SA 耐性が測定されておらない

総括並びに結論

結核菌, プドウ球菌, 赤痢菌は薬剤耐性化の傾向が強く, 臨床, 疫学, 細菌遺伝学上多くの問題を提示している。

北本等³⁾によつて 1955 年 CM, TC, SM, SA の 4 剤耐性赤痢菌が報告され, 多剤耐性は临床上, 疫学上多くの興味を惹かれた。1956 年より 1957 年 10 月にかけて小張⁴⁾, 長岐⁵⁾, 落合⁶⁾, 上田等⁷⁾によつて, 多剤耐性赤痢の散発的流行例が報告された(表4)。1957 年 12 月筆者等^{8), 9)}も群馬において CM, TC, SM, SA 耐性赤痢の 100 名に近い集団発生例を経験し, その患者より CM, TC, SM, SA 耐性大腸菌を検出した。1958 年 CM, TC, SM, SA 耐性赤痢患者より 4 剤耐性 *E. coli* と *E. freundii* が検出され, 又, CM, SM, SA 耐性赤痢患者より 3 剤耐性 *E. coli* が検出された。従つて多剤耐性は腸内細菌科に属する菌に広くみられる現象と考え, 多剤耐性大腸菌の調査を進めると共に, 多剤耐性大腸菌, 赤痢菌の細菌遺伝学的研究を開始した。

1959 年 11 月落合等¹⁰⁾及び秋葉等¹¹⁾によつて多剤耐

性が赤痢菌, 大腸菌の混合培養によつて相互に伝達されることが報告された。しかしその機構は不明であつた。

1960 年 1 月秋葉等によつて混合培養法による耐性伝達は接合によるものであらうと想定された¹¹⁾。

筆者等^{9), 12)}もこれらの実験を追試確認すると共に, それ迄に形質転換, 形質導入の実験がすべて否定的であつたので, New York で師事した DAVIS 等によつて考案されたシャンペランを中央においた混合培養管を使用し, 1960 年 1 月耐性伝達は, 菌と菌との接触を必要とする接合であることを結論した。

渡辺等¹³⁾によるブレンダー実験によつても耐性伝達は接合によることが更に確認された。更に渡辺等によつて伝達性の耐性因子はエビリゾーム性のものであらうと予想された。

筆者等¹⁴⁾は多剤耐性が保存中, 比較的高頻度で脱落して菌は感性化すること, アクリフラビン処理によつて容易に消失し感性化する事実から, 耐性伝達因子(R)の存在を予想した¹⁵⁾。

多剤耐性大腸菌の疫学的調査から, 多剤耐性大腸菌が

結核入院患者に高率に発見されることが判明したので、KMが多量に使用される重症結核患者の糞便内におけるKM耐性菌の調査を行なった¹⁶⁾。40%の割合でKM耐性 *E. freundii* が分離され、その耐性パターンはKM, KM. SM, KM. SA, 又はKM.SM.SAであつたが、伝達性のあるKM耐性、即ち因子にくみこまれたと思われるKM耐性は発見されなかつた。

ブドウ球菌は多剤性化の傾向強く、特に院内感染菌の問題で強い関心が寄せられておる。本邦においては小酒井等¹⁷⁾によつて全国国立病院を中心としたブドウ球菌の耐性及びファージ型別調査が実施された。

筆者等も群馬第一外科(石原)において分離されるもの、及び群馬県内の国立、公立病院にて分離されるブドウ球菌の耐性パターン及びファージ型別を行なつて、SA.PC, SM.SA.PC, TC.SA.PC, TC.CM.SA.PC等の多剤耐性菌が極めて多いことを報告した¹⁸⁾。しかるに1961年分離された耐性ブドウ球菌300株のすべてがKM感性であつた。従つてグラム陽性菌のKM耐性が如何に出現するかを調査することは、耐性菌出現の機構を理解するために疫学上、細菌遺伝学上極めて重要な問題と考えられる。ここに化学療法研究班の試みで、グラム陽性菌のKM耐性が調査される機会が与えられ、その得られた結果の一部をまとめた。既にGOUREVITCH¹⁹⁾等によつてpenicillin, streptomycin, tetracycline, erythromycin, oleandomycin, novobiocin耐性のブドウ球菌がKMに感性であることが報ぜられておる。又SM耐性の *E. coli*, SM耐性の *Mycobacterium* 607は共にKMに感性であるが、KM耐性の *E. coli* 及びKM耐性の *Mycobacterium* 607は共にSM耐性でKMとSMとの間には一方向の交叉耐性があることが報告されておる。

結 論

1) 全国各地で病巣から分離されたブドウ球菌のKM感性値を測定し、その分布は1.6 µg/mlに峯を有する一峯性の山を示す。明瞭にKM耐性と思われるブドウ球菌も分離されておるが、全般的にみて殆んどブドウ球菌は感性株であつた。

2) SM耐性ブドウ球菌は必ずしもKMに対し交叉耐性を示さない。

3) 単剤又は多剤耐性ブドウ球菌572株中KMに耐性と思われる株は僅か38株に過ぎなかつた。

4) 肺炎球菌は感性株と耐性株との2群に分けられ、3.2 µg/ccと25 µg/ccとの2つに峯をもつ二峯性の分布を示した。

5) 連鎖球菌のすべてはKMに耐性であつた。

菌株を分離、その耐性を測定し、集計の機会を与えられた各科の諸先生に深甚の謝意を表します。諸先生方と会合し、データを討議する機会なく纏めた為、結論、討議等に関しましてその責は筆者にあることを追記致します。

文 献

- 1) UMEZAWA, H., et al.: J. Antibiotics, Ser. A **10**, 181, 1957.
- 2) UMEZAWA, H.: Ann. Rep. Jap. Soc. Tuberc. No. 5, 1, 1960.
- 3) 北本治, 他: 伝染病学会誌, **30**, 403, 1956.
- 4) 小張一峰: 最新医学, **12**, 133, 1957.
- 5) 長岐佐武郎, 他: 日本医事新報, No. 1735, 14, 1957.
- 6) 落合国太郎, 他: 伝染病学会誌, **32**, 220, 1958.
- 7) 上田撥一, 他: 日本医事新報, No. 1783, 7, 1958.
- 8) 松山, 原田, 他: 日本医事新報 No. 1795, 22, 1958.
- 9) MITSUHASHI, S., et al.: Jap. J. Exp. Med., **30**, 179, 1960.
- 10) 落合国太郎, 他: 日本医事新報, No. 1816, 34, 1959.
- 11) 秋葉朝一郎, 他: 日本医事新報, No. 1866, 46, 1960.
- 12) 原田賢治, 他: 細菌学誌 **16**, 6, 1961.
- 13) 渡辺力, 他: 医学と生物学, **56**, 98, 1960.
- 14) MITSUHASHI, S., et al.: Nature, **189**, 947, 1961.
- 15) 三橋進: 科学, **30**, 628, 1960.
- 16) EGAWA, R., et al.: Gunma J. Med. Sci., **10**, 67, 1961.
- 17) 小酒井望, 他: 最新医学, **16**, 2997, 1961.
- 18) 三橋進, 橋本一, 他: 第8回ブドウ球菌研究会(1961年11月前橋), 文部省班研究報告書(石原)
- 19) GOUREVITCH, V., et al.: Antibiotics and Chemotherapy **8**, 149, 1958.