

最近分離した各種病原細菌の Doxycycline および他の Tetracycline 剤 に対する感受性について

小酒井 望・猪狩 淳

順天堂大学医学部臨床病理学教室

小栗 豊子

順天堂大学医学部附属順天堂医院中央臨床検査室

1967 年後半から 1968 年 3 月までに各種臨床材料から分離された各種病原細菌類、すなわち肺炎球菌、溶血レンサ球菌、腸球菌、黄色ブドウ球菌、ヘモフィールス、大腸菌、クレブシエラ、緑膿菌、各種嫌気性菌の Doxycycline (DOTC), Tetracycline (TC), Demethylchlortetracycline (DMCT) ならびに他の 2, 3 抗生物質に対する感受性を測定した。また黄色ブドウ球菌を用いて、DOTC および TC の最小発育阻止濃度が、培地の pH あるいは接種菌量によつてどのように影響されるかを実験した。

1. 実験材料および方法

(1) 各種臨床材料から分離された肺炎球菌 50 株、溶血レンサ球菌 84 株、腸球菌 27 株、黄色ブドウ球菌 52 株、ヘモフィールス 27 株、大腸菌 57 株、クレブシエラ 32 株、緑膿菌 35 株、嫌気性菌 30 株（ペプトストレプトコックス 5 株、ペプトコックス 5 株、ベイヨネラ 5 株、ウェルシュ菌 2 株、無孢子グラム陽性球菌 4 株、バクテロイデス 6 株）の DOTC, TC, DMCT, その他 2, 3 抗生物質に対する感受性を測定した。

感受性測定法は日本化学療法学会標準法¹⁾ に準拠し、抗生物質の濃度段階は 100 mcg/ml から 2 倍希釈とした。なお肺炎球菌、溶血レンサ球菌、腸球菌では 5% 羊脱線維素血液加 Heart infusion 寒天、ヘモフィールスでは上記を加熱したチョコレート寒天、その他の好気性菌では Heart infusion 寒天を用いた。また嫌気性菌では 5% 羊脱線維素血液加 Liver veal 寒天を用い、黄燐燃焼法で嫌気的に培養し、結果の判定は好気性菌と異なり 48 時間後に行なつた。

(2) 次に黄色ブドウ球菌 1 株

を用い、液体培地 (Brain heart infusion) を使用して、pH を 6.5~7.7 の範囲で種々変えた場合、および接種菌量を種々に変えた場合について、DOTC および TC の最小発育阻止濃度がどのように影響されるかをしらべた。この場合小試験管に種々の濃度に薬剤を含んだ培地を 3 ml ずつ入れ、それに被検菌の Brain heart infusion 24 時間培養を生理食塩液で種々に希釈したものを 0.1 ml ずつ加え、37°C 24 時間後に結果を判定した。

2. 実験結果

1) 各種病原細菌の感受性

a) 肺炎球菌

50 株の DOTC, TC 感受性, 35 株の DMCT 感受性は表 1 のごとくである。最小発育阻止濃度 (MIC) は DOTC が最も小さく、DMCT がこれについている。なお 2 株の TC 剤耐性菌と考えられる菌が検出された。

b) 溶血レンサ球菌

84 株の DOTC, TC 感受性, 64 株の DMCT 感受性は表 2 のごとくである。MIC は肺炎球菌の場合と同じく DOTC が最も小さく、DMCT, TC の順である。TC 剤耐性と考えられる菌株が多数認められる。

表 1 肺炎球菌の感受性

薬 剤	株 数	MIC											
		≤0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
DOTC	50	15	29	1	3				2				
TC	50		25	18	4	1						2	
DMCT	35		28	3	1	1				2			

表 2 溶血レンサ球菌の感受性

薬 剤	株 数	MIC											
		≤0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
DOTC	84	1	26	12	2	2	3	2	30	5	1		
TC	84		6	22	8	2	1	2	4	11	20	7	1
DMCT	64		9	16	7	2	1		21	5	2	1	

図1 溶血レンサ球菌 84 株における DOTC と TC 感受性の相関

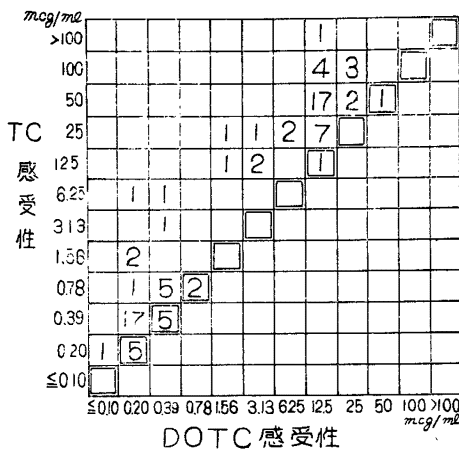


図2 黄色ブドウ球菌 52 株における DOTC と TC 感受性の相関

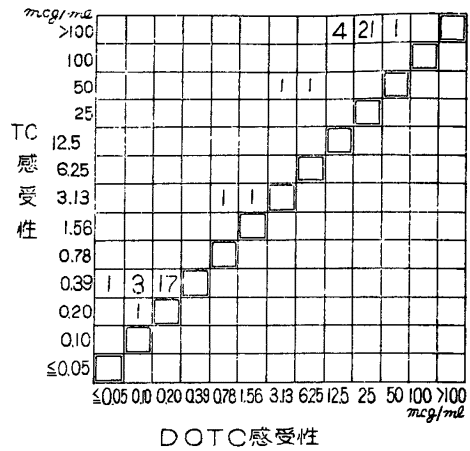


表3 腸球菌の感受性

薬 剂	株 数	MIC									
		≤ 0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
DOTC	27	3					1	9	10	4	
TC	27			3					1	20	3
DMCT	27		2	1				6	2	9	7

表4 黄色ブドウ球菌の感受性

薬 剂	株 数	MIC											
		≤ 0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
DOTC	52	5	17		1	1	1	1	4	21	1		
TC	52		1	21			2				2		26
DMCT	52		20	2		2				2		2	24
PC-G	52	10		1	2	8	4	2	2	3		12	8
EM	52		21	3		1							27
CER	52	19	12	8	13								

表5 ヘモフィールスの感受性

薬 剂	株 数	MIC											
		0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	
DOTC	27			12	13	1	1						
TC	27			5	15	7							
DMCT	27		1	23	3								
AB-PC	27	1		4	16	4	1		1				
EM	27		1	3		9	14						
LCM	27					1	6	17	1	1	1		

なお DOTC と TC 感受性の相関をみると、図1のごとく DOTC の MIC が TC の 1/2 以下のものが多い。

c) 腸球菌

27 株の DOTC, TC, DMCT 感受性は表3に示すごとくで、上記の菌と同じく、MIC は DOTC が最も小さく、TC, DMCT の順である。なお腸球菌の 90% 近くは TC 剤耐性と考えられる。

d) 黄色ブドウ球菌

52 株の DOTC, TC, DMCT それに PC-G, EM, CER 感受性は表4に示すごとくで、DOTC, TC, DMCT の MIC は上記球菌類の場合と同様である。なお DOTC と TC 感受性の相関をみると、図2のごとく、DOTC の MIC はすべて TC の 1/2 以下である。

e) ヘモフィールス

27 株の DOTC, TC, DMCT それに AB-PC, EM, LCM 感受性は表5のごとくである。上記グラム陽性球菌類と相違して DOTC, TC, DMCT の MIC は、DMCT が最も小さく、つ

表6 大腸菌の感受性

薬 剤	株 数	MIC										
		≤0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
DOTC	57			1	14	8	2		2	5	12	13
TC	57			1	11	8	2		3	1	6	25
DMCT	57		1	2	17	2		4			10	21

表7 クレブシエラの感受性

薬 剤	株 数	MIC										
		≤0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
DOTC	32				6	10	2	2	1	3	5	3
TC	32				12	5	1	1	1	1	1	10
DMCT	32			10	5	3	2		2		2	8

いで DOTC, TC の順である。なおヘモフィルスで TC 剤耐性と考えられる菌は見られなかった。

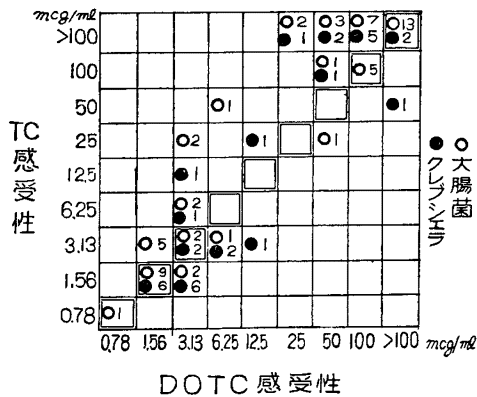
f) 大腸菌とクレブシエラ

大腸菌 57 株とクレブシエラ 32 株の DOTC, TC, DMCT 感受性は表 6, 7 のごとくである。MIC は DMCT が最も小さく, DOTC, TC がこれについている。なお両菌種について DOTC と TC 感受性の相関をみると, 図 3 のごとくで, DOTC の MIC が TC のその 1/2 またはそれ以下のものが比較的多い。しかしグラム陽性球菌の場合と相違して TC の MIC が DOTC の 1/2 以下の菌株もみられる。

g) 緑膿菌

35 株の DOTC, TC, DMCT 感受性は表 8 のごとくで, MIC は DMCT が最も小さく, TC, DOTC の順である。

図3 大腸菌とクレブシエラにおける DOTC と TC 感受性の相関



h) 嫌気性菌

嫌気性菌各種, 合計 30 株の DOTC, TC, DMCT 感受性は表 9 に示すごとくである。全体としてみると, MIC は DOTC が最も小さく, DMCT, TC の順であると考えられる。もちろん嫌気性菌の中でも菌種による相違があるかもしれないが, 検査株数が少ないから詳細は不明である。なお DOTC と TC 感受性の相関をみると, 図 4 のごとく, DOTC の MIC が TC の 1/2 以下のものが 50% である。

2) 培地の pH, 接種菌量との関係

黄色ブドウ球菌を用いた実験では, 培地の pH と MIC の関係は表 10 に示すごとくで, TC, DOTC とともに pH 6.5~7.7 の間では MIC に差はない。pH をもつと低くすると, 抗菌力が増大し, MIC が小さくなると考えられるが, この点については検討していない。

次に同じく黄色ブドウ球菌を用いて, 接種菌量と MIC の関係をしらべた結果は表 11 のごとくで, TC, DOTC

表8 緑膿菌の感受性

薬 剤	株 数	MIC					
		6.25	12.5	25	50	100	>100
DOTC	35			5	2	16	12
TC	35			5	13	14	3
DMCT	35		7	15	11	1	1

図4 嫌気性菌 30 株における DOTC と TC 感受性の相関

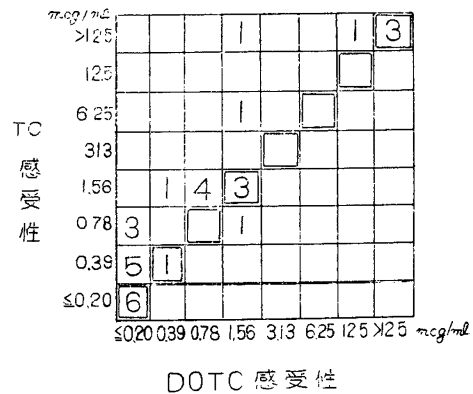


表9 嫌気性菌の感受性

(1) DOTC		MIC							
菌種	株数	≤0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	>12.5
<i>Peptococcus</i>	5	2	1						2
<i>Peptostreptococcus</i>	5	5							
<i>Veillonella</i>	5			1	4				
<i>Cl. welchii</i>	2				2				
無孢子グラム陽性桿菌	4			3					1
<i>Bacteroides</i>	9	7	1					1	

(2) TC		MIC							
菌種	株数	≤0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	>12.5
<i>Peptococcus</i>	5	2			1				2
<i>Peptostreptococcus</i>	5	4	1						
<i>Veillonella</i>	5			1	4				
<i>Cl. welchii</i>	2						1		1
無孢子グラム陽性桿菌	4				3				1
<i>Bacteroides</i>	9		5	3					1

(3) DMCT		MIC							
菌種	株数	≤0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	>12.5
<i>Peptococcus</i>	5	2		1					2
<i>Peptostreptococcus</i>	5	5							
<i>Veillonella</i>	5			2	2	1			
<i>Cl. welchii</i>	2						1	1	
無孢子グラム陽性桿菌	4			2	1				1
<i>Bacteroides</i>	9	5	3					1	

とも接種菌量を少なくすると MIC が小さくなった。

3. 考案

臨床材料から検出される各種病原細菌の DOTC, その他 TC 剤に対する感受性については、最近では STEIGBIGEL ら²⁾の報告があるが、その成績は私どものものとはほぼ同様である。DOTC, TC, DMCT の MIC を比較すると、グラム陽性球菌類では DOTC が最も小さく、DMCT, TC の順であり、とくに DOTC と TC を比較すると、大部分の菌株で DOTC の MIC が TC の1/2以下である。一方、グラム陰性桿菌類では、これら3剤間の MIC の相違はグラム陽性球菌の場合ほどに顕著ではない。むしろ DMCT の MIC が最も小さく、DOTC, TC の順である。DOTC と TC を比較すると、DOTC の MIC が TC の1/2以下のものがかなりあるけれども、同じものあるいは2倍以上のものもみられた。

嫌気性菌に関しては、全体としての傾向は、DOTC, DMCT,

TC の順に MIC が大きくなるように思われるが、各菌種ともに検査株数が少ないから、菌種による差が好気性菌の場合のように存在するかどうかはわからなかつた。なお菌株数を増して検討する必要がある。

DOTC, TC, DMCT 間に MIC では上述のような相違があるが、これら TC 剤間に交叉耐性が認められることは申すまでもない。そして肺炎球菌には少数ながら TC 剤耐性と考えられる菌が検出されており、溶血レンサ球菌では TC 剤耐性菌が多く、腸球菌では大部分が TC 剤耐性である。ヘモフィールスには TC 剤耐性と考えられる菌はないが、他のグラム陰性桿菌では耐性菌がかなり多い。嫌気性菌では TC 剤耐性と考えられる菌はまだ比較的少ない。

次に私どもは pH および接種菌量の MIC におよぼす影響を観察したが、pH 接種菌量は各種抗生物質において MIC 値に影響する重要な因子であることは周知のこ

表10 培地の pH と MIC

薬剤	pH	濃度 MIC (mcg/ml)					
		0	0.025	0.05	0.10	0.20	0.39
TC	6.5	##	##	##	##	-	-
	6.7	##	##	##	##	-	-
	7.2	##	##	##	##	-	-
	7.5	##	##	##	##	-	-
	7.7	##	##	##	##	-	-
DOTC	6.5	##	##	+	-	-	-
	6.7	##	##	+	-	-	-
	7.2	##	##	+	-	-	-
	7.5	##	##	+	-	-	-
	7.7	##	##	+	-	-	-

註 1. 黄色ブドウ球菌を供試菌とし、Brain heart infusion を使用した
 2. 供試菌のブイオン24時間培養の 10⁻³ 希釈を接種、24時間後判定した

表11 接種菌量と MIC

薬 剤	菌 量	濃 度 (mcg/ml)								
		0	0.013	0.025	0.05	0.10	0.20	0.39	0.87	1.56
TC	ブイヨン培養そのまま	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-
	10 ⁻¹	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-
	10 ⁻²	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
	10 ⁻³	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-	-
	10 ⁻⁴	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-	-
	10 ⁻⁵	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
DOTC	ブイヨン培養そのまま	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-
	10 ⁻¹	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-	-
	10 ⁻²	卅	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-
	10 ⁻³	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-
	10 ⁻⁴	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-	-

- 註 1. 黄色ブドウ球菌を供試菌とし, Brain heart infusion を使用した
2. 24 時間後結果を判定した

とである。DOTC と TC をブドウ球菌の場合で比較したところでは, pH に関しては 6.5~7.7 の間では殆んど差はみられなかつた。従がつて pH 7.2 前後の培地を用いて MIC を測定している現在, pH の多少の変動は MIC には影響しないといえよう。しかし TC の場合で知られているように, pH がさらに酸性に傾けば, MIC 値が小さくなることは, DOTC の場合も同様であろう。

一方, 接種菌量は, TC の場合も DOTC の場合も, MIC 値にかなり影響する。従がつて MIC 測定に際しては, 接種菌量をできるだけ一定にすることが必要である。

4. 結 論

私どもは最近分離した各種病原細菌計394株のDOTC,

TC, DMCT, および 2, 3 抗生物質に対する感受性を測定し, また黄色ブドウ球菌を用い, 培地の pH, 接種菌量の DOTC, TC の MIC におよぼす影響を観察して, 次の結論を得た。

1) 肺炎球菌, 溶血レンサ球菌, 腸球菌, 黄色ブドウ球菌では, MIC は DOTC が最も小さく, DMCT がこれにつき, TC が最も大きい。嫌気性菌も大体同様の傾向にあるが, 供試菌株数が少なく, 菌種間の差は明らかでなかつた。一方, ヘモフィルス, 大腸菌, クレブシエラ, 緑膿菌では, TC 剤 3 剤間の差は, グラム陽性球菌ほどではない。菌種, 菌株によつて差

があるが, 傾向としては, MIC は DMCT, DOTC, TC の順に大きくなる。

2) 培地の pH, 接種菌量と MIC の関係については, pH は 6.5~7.7 の間では MIC に差をみながつたが, 接種菌量は小さくなるほど MIC が小さくなることを認めた。

文 献

- 1) 石山俊次, 他: 最小発育阻止濃度測定法の標準化について. *Chemotherapy* 16: 98~99, 1968
- 2) STEIGBIGEL, N. H., et al.: Susceptibility of common pathogenic bacteria to seven tetracycline antibiotics *in vitro*. *Am. J. Med. Sci.* 255: 179~195, 1968

SENSITIVITY OF RECENTLY ISOLATED PATHOGENS TO DOXYCYCLINE AND OTHER TETRACYCLINES

NOZOMU KOSAKAI & JUN IGARI

Department of Clinical Pathology, Juntendo University School of Medicine

TOYOKO OGURI

Clinical Laboratory, Juntendo University Hospital

A total of 394 strains of recently isolated pathogens from clinical materials, *i. e.* pneumococci, hemolytic streptococci, enterococci, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, and several species of anaerobes, were tested for their *in vitro* susceptibility to doxycycline and other-

tetracyclines by a plate dilution method. Among doxycycline, demethylchlortetracycline and tetracycline, doxycycline is most effective *in vitro* to gram-positive cocci, but to gram-negative bacilli demethylchlortetracycline is rather effective than doxycycline. Among three tetracyclines, tetracycline is least effective to almost all species of pathogens.

Minimum inhibitory concentration of doxycycline for one strain of *Staphylococcus aureus* was effected by the size of the inoculum, but not effected by the change of medium pH between 6.5 and 7.7.