

第16回日本化学療法学会総会 一般講演 II

期 日 昭和 43 年 5 月 10, 11 日

会 場 東京都日本都市センター

会 長 石 山 俊 次 (日大教授)

第2群 作用機序

(173) 化学療法的活性をもつ生体成分の研究 (その 7)

Antivirin の作用機序 (2) (Eclipse phase における Antivirin の作用態度)

瀬戸淑子・戸根木尚子・豊島 滋

慶応大学・薬化学研究所

Antivirin は Interferon-Inducer を加えることなく、しかも生活細胞から生産される高分子抗ウイルス性物質である。その性質は Interferon とは異なり、熱に安定であり、蛋白分解酵素にも抵抗性の強い特徴的蛋白である。そこで、この2つの Antivirin 特性を利用して Antivirin の精製と本体の検討を行なうとともに作用機序を検討した。

Antivirin の精製の研究において最大の隘路は、出発材料である大量の粗 Antivirin を得るために非常に莫大の細胞培養液を必要とすることであり、aggregation により失活をまねき易いため、その濃縮精製操作は極めて困難である。そこで、我々は精製操作に Antivirin 特性を利用することを試みた。Native Antivirin を Sephadex G-200 によりゲル濾過すると常に3つの active peaks が得られる。この3つの peak の分子量は 30 万、10 万、5 万に相当する。また、硫酸沈澱部分より得られる活性部分、及び sucrose-density gradient centrifugation により得られる活性部分も分子量約 5 万であった。しかしながら、Trypsin 処理後にゲル濾過を行なうと Total activity は変わらないのにも拘わらず3つの peak は消失した。その活性は透析により除去されることもない。従がつて、Antivirin は native には分子量約 5 万の protein であり、それは active element と stabilizing element の結合したものか、或いは active element の集合したものではないかと考えられる。

このような Antivirin の作用部位は、ウイルスの細胞内再生過程の初期にある。Polio type 1 mahony 株と Hep No. 2 cells の system を用いて、その作用の Time course を検討した。その結果、感染後 4 hrs から 5 hrs の間に最も著明に作用した。この時期の virus-induced RNA 合成も抑制される。従がつて、ウイルス感染後、

eclipse phase からウイルスの立上りにかけて、ウイルス合成に関係のある factor を阻害しているものと考えられる。

(174) 化学療法的活性をもつ生体成分の研究 (その 8)

Antivirin の作用機序 (3) (ウイルス核酸をめぐる Antivirin の作用態度)

戸根木尚子・瀬戸淑子・豊島 滋

慶応大学・薬化学研究所

昨年の本総会で AV はウイルス感染後再生初期の段階に阻止作用を示すことを報告した。今回はウイルス RNA の形成に対する AV の Effect について報告する。Viral infectious RNA の形成に対する AV の Effect の Time course を検討した。Cell に polio MEF₁ strain を mol=2 で Actinomycin D 作用下で 60' 吸着させ、PBS で3回洗い、AV or PBS を加え一定期間 incubate する。Infected cell から infectious RNA を phenol で抽出する。

以上のように抽出した infectious RNA の Assay は RNA を 2 M MgSO₄ で希釈し、cell に inoculate する。12~15 分吸着し、PBS で1回洗い agar overlay し count する。感染後 1~5 hr では infectious RNA は検出されないが、6 hr では 99.5% 以上の阻止作用を示し、18 hr では 48.1% の阻止をしている。

次にラベルプレカーサーによる Viral RNA の形成の Effect を検討した。Cell に Act D の作用下で MEF₁ を mol=2 で 60' 吸着させ、AV or PBS と ³H-Uridine 2 μc/bottle 加え 17 hr incubate する。Viral RNA を抽出し、PFU 測定と count する。PFU では 47.9% の阻止を示し、単位 RNA 当りの cpm では 38.1% の阻止を示している。

ラベルプレカーサーによる RNA 形成への AV の Effect の Time Course を検討してみた。Cell に MEF₁ を mol=3 で Act D の作用下で 60' 吸着する。そして AV or PBS を加え一定期間 incubate する。そして 30' ³H-Uridine を pulse-label する。そして infected cell を RSB に suspend し、homogenize し、800 g, 10 分遠心し、その上清に 0.5% SDS を加え、再び 800

g, 10分遠心し, その上清を15~30% Sucrose linear gradient centrifugationする。各fractionについてcountする。感染後1hr, 2hrではVirus RNAの形成へAVは阻止作用を示さないが, 3hr, 4hrではVirus RNA形成へ阻止作用を示している。

AVのIntact cellへのEffectを検討した。Hep #2 cellではTrypsin処理してSingle cellとしAV or PBSを作用させ, 37°C 1hr incubateし, ³H-Uridineを30' pulse-labelする。

SCHMIDT-THANNHAUSER-SCHNEIDERの方法でRNAを分画して, ³H-Uridineのとりこみをcountする。またEHRlich cellではマウスに接種後7日目に腹水をharvestし, ZEY's SolutionにsuspendしHep #2 cellと同様に, 操作する。

Hep #2 cellではAVは, 阻止作用を示さず。

EHRlich cellでは約50%の阻止を示す。

以上の結果からみると, AVはウイルスの感染していないintact Hep #2 cellのRNA合成には, なんらのEffectをもっていないのかかわらず, このCellにウイルスが感染すると, そのVirus RNAの合成が明確に阻止される。さらにVirus RNAとVirus proteinのAssemblyとmaturationのprocessに対するAVのEffectを検討しているが, 次の機会に報告する。

(175) 化学療法的活性をもつ生体成分の研究 (その9)

Antivirin Eの抗ウイルス性について

藤田晴久・豊島 滋
慶応大学・薬化学研究所

昨年の本大会で私共はエーリヒ細胞を接種したマウスの腹水中に腫瘍抗体と異なる抗腫瘍活性を見出し, そのものにAntivirin E (以下AV-E)と仮称して報告した。今回はAV-Eの抗ウイルス性についてその性状及び作用部位について報告する。腹水を炭末処理し, 酸性エタノールで溶出, 電気泳動的にSingle peakの分画を部分精製AV-Eとした。AV-Eの抗ウイルススペクトルはRNA系のpoliovirus 1型, 2型, 3型及びDNA系のvacciniavirusに対しては90%以上の抑制を, またAdenovirus 1型, 12型に対してはless sensitiveであった。このことはAV-EがRNA系ウイルスにもDNA系ウイルスにも抑制効果をもつことを示している。次にAV-Eを12~36% sucroseのdensity gradient分析を試みたところOD₂₈₀で2つのpeakが得られ重いほう(p-1)はlysozymeよりやや分子量が大きく軽いほう(p-2)はBovine albuminとほぼ同じもので,

2つのpeakにpoliovirus MEF₁に対して抗ウイルス活性が認められた。

AV-Eの酵素分解に対する影響ではtrypsinで完全に失活され, DNase, RNaseでは失活を受けないことからAV-Eはタンパク質性のものである。

AV-EのpH安定性については25°C 60分の条件下では中性で最も安定であり, 熱安定性では37°C 60分の条件下で約50%の失活が認められた。

次にAV-Eの作用部位についてHep #2 cellsとpoliovirus MEF₁の系で検討したところ, ウイルス吸着, 及び遊出には影響がなく, ウイルス感染後の比較的初期, すなわちVirus RNAの合成されるstageに最も強い抑制作用のあることが認められた。

以上の如くAV-Eはタンパク質性のものでその本体はlysozymeよりやや重い分子量のものでAlbuminとほぼ同一の分子量のものから成り, 易熱性でpH中性で安定であり, 抗ウイルススペクトルはRNA系及びDNA系のウイルスに対して活性があり, また作用部位はVirus RNA合成されるstageに最も強い抑制作用が認められた。

(176) 試験管内におけるN',N'-anhydrobis-(β-hydroxyethyl) biguanide hydrochloride (ABOB) のパラインフルエンザウイルス抑制作用

北本 治・飛田 清毅
東京大学医科学研究所・内科

細胞培養系におけるABOBのパラインフルエンザウイルス抑制作用について調べた。

実験に用いたウイルスは, パラインフルエンザウイルス3型の患者分離株で, これを数回サル腎初代細胞で継代し, 10^{7.0} TCID₅₀/0.2 mlのtiterのものを得たので, これを実験に使用した。細胞は主としてHEp-2を用いたが, 赤血球凝集素価をみるときに限り, 初代サル腎細胞を使用した。また, ABOBは1.0 mg/mlあるいはそれ以下の濃度であれば, 6日間の培養でみる限り, 細胞に対する毒性はみとめられないので, 1.0あるいは0.5 mg/mlで使用した。

まず, HEp-2細胞での感染性ウイルスの産生が, ABOBによつてどの程度抑えられるかをみるために, ウイルス接種の24時間前に, 細胞層に0.5 mg/mlのABOBを投与しておき, ついで同じ濃度にABOBを含む10^{8.0} TCID₅₀のウイルス液を接種, 1時間吸着させたあと, ABOBを含む培養液で培養をはじめ, ウイルス吸着終了直後, 2日後, 4日後の3つの時点でウイルス

を収獲、各々の感染価を、同じく HEp-2 細胞を用いて、モルモット赤血球吸着法でしらべ、対照と比較してみると、2 日目で 1.5、4 日目で 1.0、10 g 単位の抑制がみとめられた。

次に、このウイルスのサル腎初代細胞の中での赤血球凝集素の産生を、ABOB がどの程度抑えるかをみると、ウイルス接種の 24 時間前から 0.5 mg/ml の ABOB が投与されてある場合、6 日後に 4~8 倍の凝集素価の抑制がみとめられた。ウイルス接種の 24 時間後に ABOB を投与しても、ある期間培養をつづけると、結局は対照に較べて、赤血球凝集素価の産生は抑えられた。

また、パラインフルエンザウイルスは、アクチノマイシン D で、宿主細胞の RNA の合成をとめておいても、その細胞質内で、アクチノマイシン D に全く影響されずに増殖することが知られているので、ウイルス接種の 1 時間前から、これの 2 mcg/ml を投与して HEp-2 細胞の RNA の合成をとめておき、そこに、すべての細胞が同時に且つ一様に感染するような濃度のウイルスを接種し、ウイルスによる RNA 合成の程度を、トリチウムウリジンの cell-virus complex への取り込みの程度を指標としてみてみると、あらかじめ 1.0 mg/ml の ABOB で処理してあるほうが、そうでないものにくらべて、トリチウムウリジンの取り込みは、あきらかに少なかった。

ABOB は、このウイルスを直接不活化したり、ウイルスの細胞への吸着から侵入の過程を阻害する作用をもたないので、以上の成績から、ABOB はこのウイルスの RNA 合成を primary に抑制し、そのため感染性ウイルスや赤血球凝集素の生産が抑えられるものと考えられる。

(177) コリスチンの作用機構、とくに大腸菌の膜構造におよぼす影響

中島久二瑛・川俣 順一

大阪大学微生物病研究所化学療法

菅沼 淳・原 一仁・岸田綱太郎

京都府立医科大学微生物

コリスチン (ポリミキシン E) (「col」) はグラム陰性菌の菌体表層に作用し、その膜構造を変化せしめることが従来より知られているが、我々は大腸菌を用いてその作用機構を研究し、「col」が菌体表層に局在するリボヌクレアーゼ I やアルカリ性フォスファターゼの如き“表在酵素”を低濃度作用下 37°C で、その大部分を培地へ短時間内に遊離せしめることを見出し、しかも培地内のリボヌクレアーゼ I が細胞 RNA を分解し、260 mμ に極

大吸収を示すリボ化合物を遊離せしめる原因となることをリボヌクレアーゼ I 欠損株を用い明らかにした。さらにこれらの現象は大腸菌の細胞壁や細胞質膜に対し、ポリミキシン系抗生物質が特異的に作用することに基づくことを、「col」存在下に大腸菌がリゾチーム感受性に変化することや“スフェロプラスト”が 0.5 M ショ糖溶液中においても低濃度の「col」により、容易に溶菌することから明らかにした。またこのような膜構造の形態学的変化として、細胞壁外層に膜構造を有する“Bleb”が出現することを電顕を用いて観察し本学会においてもすでに報告した。

今回はニトロソグアニジン処理により *E. coli* B から分離した「col」耐性株について行なつた「col」の大腸菌表層の膜構造に対する作用を中心に報告する。

大腸菌「col」耐性株に耐性濃度以下の「col」を 37°C で作用せしめても、1) “Bleb”の形成は観察されない。2) 同時に菌体外への UV-吸収物質や“表在酵素”の遊離は検出されない。3) 大腸菌のリゾチーム感受性の変化もみとめられない。4) ³H-標識「col」の 37°C における菌体内分布を検討すると、耐性化になることにより細胞壁、細胞質膜、リソソーム画分への分布の比率には感受性菌とほとんどかわりがないが、菌体そのものへの ³H-「col」の結合が著しく減少することから、耐性化により主として「col」の菌体内への透過が阻害されると考えられる。

以上の実験から「col」の作用により起る菌体表層の変化は細胞壁の外層に変化が起るものと推定される。ついで T 系ファージの細胞壁上のレセプターがかなり明らかになっているので、これを利用して細胞壁の変化を検討した。あらかじめ「col」を 5 μg/ml 37°C 10 分間大腸菌 B 株に作用し、M. O. I. = 0.1 で 5 分間ファージを吸着せしめ、クロロホルム処理により未吸着ファージ数を測定すると、T₃、T₄、T₇ の如きリポ多糖類 (LPS) をレセプターとするファージの吸着は著しく阻害された。また T₂、T₆ の如きリポたんぱく (LP) に吸着するファージも阻害されたが、比較的その吸着阻害が弱かった。T₅ ファージの吸着は対照ならびにファージ吸着後「col」を作用せしめたときと同様、吸着阻害がみとめられなかった。また 2°C の低温下でも T₄ ファージの吸着は「col」により阻害された。これらの事実から、ポリミキシン系抗生物質は細胞壁の外層、おそらく LPS 層に作用しつつ菌体内へ浸透し、細胞質膜に達し透過性の変化をもたらし、細菌の生存に必須の物質の崩壊や遊離をもたらす、遂に菌を死滅せしめるものと考えられる。

(178) ポリミキシンの作用機作に関する
電子顕微鏡的研究 (第3報)小池聖淳・飯田恭子
九州大学医学部細菌学教室

われわれは前報で、グラム陰性桿菌に対する polymyxin 類抗生物質 (polymyxin B, colistin) の作用機作について電顕的に観察し、polymyxin の primary action は cell wall の outer layer に突起を生ぜしめ、次に cytoplasmic membrane を部分的に断裂、破壊せしめることを報告した。今回は cell wall の outer layer のいかなる部分に polymyxin の作用点があるのかを明らかにすることを試みた。

方法：用いた菌は、*E. coli* B 及び *E. coli* O 113 (東北大・福士博士より分与) である。

1. 細胞壁より脂質層の抽出：WESTPHAL に従がい phenol water(1:1) で抽出後、aqueous phase より lipopolysaccharide(LPS) の精製をした。

2. 精製 LPS に対する polymyxin の作用：精製 LPS を電顕メッシュにとり、100 $\mu\text{g/ml}$ polymyxin に、膜面を液面に対向するように浮べ、10分、30分処理後、PTA にて negative staining を行なった。

3. T系 phage の吸着 polymyxin B, colistin, 各各 10 $\mu\text{g/ml}$ にて 10^8 cell を 37°C, 10分処理後、T系 phage(MOI, 1~10 になるように)を加え、37°C, 10分吸着後、chloroform 処理後、未吸着 phage を plaque count した。また、電顕用とし、polymyxin 処理菌、または未処理菌に対し、T 2 を MOI, 200 に加え、37°C, 10分後、固定、包埋した。また、その逆に、T 2, T 4 を MOI, 200 に加え、10分吸着後、PLB 処理を行ない、10分後、固定、包埋した。

結果：1) 精製 LPS は幅 50~60 Å の特有な LPS polymer の紐状構造が見られるが、polymyxin 処理後では、10分で殆んどこの構造をみることができず、30分では全く見られなくなる。

2) T系 phage の吸着は、polymyxin, colistin 処理菌では T 1, T 2, T 6 は無処理菌に比し、やや低下するが、40~80% の吸着が見られるのに比し、T 3, T 4, T 7 は吸着率は 0 である。電顕的には T 2 は polymyxin 突起の無い部分に不可逆吸着像を示した。

考察及び総括：以上の事実から、polymyxin のグラム陰性桿菌の細胞壁に対する作用機作は、LPS を溶解変性せしめ、細胞壁に突起を作らせ、T系 phage の receptor としての機能を失わしめ、その結果、透過性を高めることが考えられる。

(179) アデノウイルスの化学療法に関する研究

光内極司・加地正郎
九州大学柳瀬内科

各種の Biguanide 誘導体及びその他の化合物について Adenovirus に対する抑制作用の primary screening を行ない、その成績の一部は本学会西日本支部総会において、すでに報告しているが、今回は IDU について Adenovirus 型 3 小糸株—HeLa 細胞系で著明な効果を認めたので報告する。

まず Dose response をみてみると、IDU 6.25 mcg/ml の存在は Adenovirus 型 3 小糸株の増殖にほとんど影響はなく、CPE, HA 価、感染価ともに virus control と差がないが、12.5 mcg/ml から次第に差が出はじめ、100 mcg/ml では Virus 感染 120 時間後には HA 価で 27、感染価で 10^5 TCID₅₀ の低下がみられた。200 mcg/ml 以上では Hala 細胞に cell toxicity がみられ、従がつて化学療法係数は 8 となつた。

補体結合反応は 3 型の回復期血清及び 8 型の免疫血清を用いて、KOLMER の微量法で行なつたが、IDU 100 mcg/ml の存在下では virus 感染 120 時間後の LF 抗原価は virus control とくらべて約 4 倍の低値を示した。

IDU 100 mcg/ml, 50 mcg/ml の存在下で virus 感染後、時間の経過とともに CPE, HA 価、感染価がどう変化するかを調べたところ、感染後 24 時間までは、virus control と全く変らないが、36 時間より次第に差が出はじめ、120 時間後には著明な差がみられた。

さらに IDU を virus 感染後何時間までに加えると virus 抑制作用があるかを調べたところ、24 時間までに加えると、0 時間に加えたものと同じくらいに virus 抑制を示すが、36 時間後に加えてもなお若干の差がみられた。

次に IDU 50 mcg/ml を 0 時間に加えておいたものを 36 時間後に除くと、72 時間後には virus control とほとんど差がないほど CPE, HA 価の感染価が上昇した。

IDU の作用機序を調べるため contact test を行なつたが、virus control と差がなく、IDU は virus を直接殺す殺ウイルス剤でないことが確かめられた。また吸着阻害でないことも確かめられた。さらに Thymidine を加えて IDU により抑制された virus の感染が回復するかを調べたところ、Thymidine 約半量で IDU の virus 抑制効果は完全に消失した。また Thymidine を virus 感染後何時間までに加えると virus 感染が回復す

るかを調べたところ、36 時間までに加えると完全に回復し、48 時間後でも著明な回復を示した。

以上のことから IDU の Adenovirus 抑制作用は、直接ウイルスを殺すものでも、吸着阻害でも、侵入阻害でもなく、DNA の合成阻害にあることが示唆される。一般に IDU の DNA virus に対する抑制の作用機序としては、IDU が Thymidine と競合して、virus DNA にとりこまれ DNA-Iodouracil となり分裂力、感染力がなくなるいつぼう、正常の Thymidine から、DNA-Thymine に至る過程をも抑制することが考えられているが、Adenovirus においても同様のことが考えられる。なおこの点については続けて検討して行きたいと思う。

第3群 感受性 I

(180) 臨床応用を目的とした感受性ディスク法の研究 (第36報)

感受性ディスク法測定精度検討法の問題点について

金 沢 裕・倉 又 利 夫

新潟鉄道病院

感受性 Disc 法の測定精度検討法についての問題点をとり上げてみたい。

Disc 法の感受性の表現は習慣的に +, - などが用いられているが、その基準は一定したものであろうか。1 例として PC-G の 卍 に相当する境界濃度についてみると、Tunerall 11 の 0.1 から B. B. L. および Difico Disc の 2 と 20 倍も幅があり、学者により、また同一学者でも年により異なり一定していない。また同一ディスクについても、たとえば 3 濃度法の 卍 に相当する境界 MIC は現在使用されている濃度改正の基礎となつた村山博士 J. Antibiotics, Ser. A 12(4) 1961 の成績と、桑原教授の指導で行なわれた三宅博士 Chemotherapy 15(6) 1967 の成績とは 5~10 倍も大きな差異を示している。また +, - などの境界 MIC は 1 濃度法では明記されているが、3 濃度法では示されてなく、その幅は 3 濃度法ではせまく、1 濃度法では広く区分されている。したがつて方法の良否は別としても、3 濃度法では卍にふくまれる幅が広いから、その部の再現性はよいわけであり、3 濃度法ではあまい判定に、1 濃度法ではこれに比してからい判定になる。また判定区分の境界 MIC にあたる菌株の成績は再現性の悪いほうが正しいことさえある。以上のことから +, - のレベルで Disc 法の一貫度、再現性を比較しても無意味であり、世界共通の基準単位である MIC レベルで検討してはじめて意味のあることが理解される。

しかし Disc 法による MIC の測定、すなわち阻止円の大きさから MIC を推定する 1 濃度方式が果して可能であろうか。桑原教授の指導で三宅博士により Disc 径と基礎的検討が行なわれたが、その成績では阻止円直径と MIC の高度の相関性が一見してよみとられた。これについて推計学的に検討すると、いずれも 99.9% 以上の信頼度で、すなわち化学的定量法にも近い相関があり、したがつて 1 濃度方式が研究室レベルで充分成立することが示された。また第 13 回東日本化学療法学会シンポジアムの研究課題として、藤井、桑原教授の企画で全国的な規模で、同一菌株について、キシャク法とディスク法の MIC 値が集計され、その成績が参加機関に配布され自由な検討にゆだねられた。このデータを推計学的に処処してみた。1) 測定の正確度 Precision の検討では 4 菌株、6 薬剤の組合せ 24 ケース中、Disc 法 MIC 平均値がキシャク法平均値信頼区間に含まれ、すなわちよく一致したものが 22、含まれなかつたが有意差のないものが 1、有意差をもつて不一致が 1 で、この有意差をもつて不一致の 1 ケースは個数の多いデータからキシャク法の実験誤差にもとづくことが明らかにされた。2) 両方法の再現性 Reproducibility の検討を分散比で算定すると、全 24 ケース中 23 ケースには有意差はなく、1 ケースでは有意差をもつて Disc 法のほうが再現性のよい成績であつた。すなわち Disc 法でキシャク法 MIC を推定しえないという成績は全く得られず、むしろ 1 濃度方式で 0.048~100 の広い範囲にわたつてキシャク法に劣らぬ精度で MIC を推定しえたことが明らかにされた。

(181) 現行ディスク法の実態と限界

小 池 聖 淳・飯 田 恭 子

九州大学細菌学教室

福岡臨床細菌研究会

現行の常用ディスク法では 1 濃度、3 濃度法により、成績の不一致をみることがかなりの頻度で発生し、このため、検査成績を臨床治療に反映させることに支障を来すことが間々あることが経験されている。吾々は現行ディスク法の臨床検査室での実施にあつて、その実態を把握することが、その精度を高めるために必要であるため、次のことを試みた。

患者より分離、同定された黄色ブドウ球菌 11 株、大腸菌 11 株、肺炎桿菌 6 株、プロテウス菌 4 株、緑膿菌 5 株に一連番号をつけ、また、各技術者の技術精度をみるために各菌種の中の 1 株は 5 本に分けて異なつた番号をつけ、これを福岡市内の 9 病院臨床検査室に送り、予じめ用意した同一ロットの培地、PC, SM, KM, CM, TC,

EM, LM, OL, CL, CER の 10 種の薬剤の 3 濃度用ディスク、1 濃度用ディスクを用いて、一定の菌接種法により接種し、それぞれのディスク判定法により判定を行なった。また、上記 50 種の菌の感受性は寒天稀釈法により別に MIC を判定し、それぞれの成績と比較され、1 濃度法、3 濃度法の実用精度、再現性が検討された。

結果：1) ディスク法の精度の検討：寒天稀釈法による MIC 値を 1 濃度法の判定基準に従がい、一、十、十、卅に判定し、これを標準として、1 濃度、3 濃度ディスク法のそれぞれの判定と比較した結果、それぞれ 4,500 回の判定の中で、3 濃度は寒天稀釈法の判定と一致したものが、3,265 (72.5% ± 0.067)、1 濃度は 2,944 (65.4% ± 0.071) であり、やや 3 濃度のほうが精度は良い。これを薬剤別にみると、SM, KM, CL は明らかに 3 濃度が優れているが、CM は 1 濃度がやや良好である。その他は大差がない。

2) ディスク法の再現性：50 株の菌株のうち、それぞれの薬剤に対し、9 施設が同一判定をつけたもの(再現率 9/9)を、3 濃度と 1 濃度とで比較すると、3 濃度法では 52.2% であるに反し、1 濃度法は 29% であり、その内容をみると 3 濃度法では (卅) 107, (一) 154 であるのに対し、1 濃度は (卅) 22, (+) 1, (一) 122 で、薬剤抵抗性菌に対しては一般によく一致した成績を示す。しかし両法とも (+), (十) で表現されるべきものは殆んどなかつた。このことは、中等度感受性菌をこれらの方法で選択することは、極めて精度が悪く、その得られた成績は信頼度が薄いことを意味する。

3) 同一術者による同一菌株の再現性：*Staph.*, *E. coli*, *Klebsiella* の同一菌株を番号を異にして、それぞれ 5 検体とし術者に配布し、5 検体とも一致した薬剤感受性を示したものの分布を見ると、9 施設中、3 濃度での的中率は、79.6% ± 10.49 と 1 濃度では 63.6% ± 10.44 の差を認めるが、F 検定の結果、3 濃度法と 1 濃度法に有意の差はなかつた。

以上のことから、3 濃度法と 1 濃度法の精度については差は認められないが、再現性においては 3 濃度法が極めて優れているが、中濃度ディスクの実用性は全くない。

(182) 血中および尿中濃度の点から検討した尿中菌の薬剤感受性

小林 章 男

千葉大学医学部中央検査部

尿路感染症の化学療法にあつて、抗菌剤の血中濃度より、尿中濃度のほうが重要であるといわれている。現

在広く行なわれているディスク法では測定濃度範囲が狭く、尿路感染症治療の薬剤選択に際し誤りをおかすおそれがある。さらにディスク法で (卅) 感受性を示す薬剤が 2 つ以上あるとき、どの薬剤を採用すべきかとまどう。本実験はこれらの問題を解明し尿路感染症治療を全く細菌側から探究しようとした。

本実験では当検査室で最も感受性率のよかつた Colistin, Kanamycin, Nalidixic acid と Cephaloridine を使い、これら薬剤の常用量投与によつてえられる平均血中および尿中濃度を各々 CL 2,100, KM 2,100, ND 2,40, CER 2,200 mcg/ml とえらび、これらの濃度を寒天培地(15 ml)内で細菌尿 0.2 ml と作用させ、48 時間培養後菌数を算え、原尿のそれと比較した。この際寒天培地の pH は検体尿の pH と同じくした。これらの結果をディスク法による感受性成績と比較検討した。

KM ではディスク法で (卅) 感受性の検体のうち半数は血中、尿中濃度で菌数を著しく減少せしめ (10^{-5} 以下)、半数は尿中濃度のみで著減が認められた。(一) の検体 20 例中 2 例に尿中濃度で $10^{-6} \sim 10^{-3}$ に減菌させられたものがあつた。他はすべて尿中濃度でも無効であつた。CL ではディスク法で (卅) を示す 36 例中 1 例に尿中濃度でも全く無効のものが認められ、2 例に菌減少が $10^{-3} \sim 10^{-5}$ に止つた。(一) を示したものの 7 例は全例尿中濃度でも無効であつた。ND ではディスクで (卅), (十), (+) を示したものでも、尿中および血中濃度での菌数減少にはさしたる差がみられなかつた。(一) を示した 22 例中 6 例では尿中濃度で菌減少が 10^{-5} 以下に及んでいた。CER では同様 (卅), (十), (+) を示した検体中、血中および尿中濃度での菌減少には差がなく、かなり有効であつた。(一) を示した 17 例中 7 例は尿中濃度で 10^{-5} 以下に菌を減少せしめ、他はほとんど尿中濃度でも無効であつた。すなわち ND と CER のディスク (一) を示したものは、直接感受性の成績で矛盾を示すものが多かつた。

10^5 以上の菌数を含む尿 40 検体の実際の菌数と pH を調べると、菌数の上限は $1 \sim 2 \times 10^8$ /ml で、pH は 4.8 から 8.6 に及んでいた。pH 5 附近を示す検体は全体の約 30% をしめていた。

1×10^8 /ml の *E. coli* (大谷株) を含むブイヨンに CL, KM, ND を各々尿中濃度の範囲まで種々加え、37°C 4 時間振盪培養し抗菌力を比較した。その結果 CL > KM > ND の順に菌を減少せしめる力がつよいことが判明した。同様の培養様式を用い KM, CL の pH 5 と pH 7 における抗菌力の差を各々調べたところ、KM では pH 5 において $10 \sim 10^2$ だけ菌減少が劣ることが認められた。CL ではこれに反し、低濃度 (M.I.C.) では pH 5 でか