

Aminodeoxykanamycin に関する基礎的研究

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

順天堂大学附属順天堂医院中央臨床検査室

私どもは最近臨床材料から検出された各種病原細菌の Aminodeoxykanamycin (AKM) 感受性を測定し, Kana-mycin (KM) と抗菌力を比較し, さらに本剤の抗菌力に対する接種菌量, 培地の pH などの影響を実験したので報告する。

I. 実験材料および方法

1) 臨床材料からの分離菌の感受性検査

1968 年後半に各種臨床材料から分離された下記菌種 425 株の KM, AKM 感受性を平板希釈法によつて測定した¹⁾。

肺炎球菌	36 株
溶血連鎖球菌	29 株
腸球菌	40 株
黄ブドウ球菌	133 株
<i>Haemophilus</i>	53 株
<i>E. coli</i>	36 株
<i>Klebsiella</i>	30 株
<i>Enterobacter</i>	10 株
<i>Citrobacter</i>	7 株
<i>Serratia</i>	1 株
<i>Proteus</i>	1 株
<i>Morganella</i>	2 株
<i>Rettergerella</i>	2 株
<i>Pseudomonas</i>	19 株
<i>Peptococcus</i>	9 株
<i>Peptostreptococcus</i>	4 株
嫌気性無孢子グラム陽性桿菌	10 株
<i>Veillonella</i>	2 株
<i>Bacteroides</i>	1 株

これらの菌種のうち, 肺炎球菌, 溶血連鎖球菌, 腸球菌の場合は 5% 半脱線維素血液加 Heart Infusion 寒天を, *Haemophilus* の場合は上記血液寒天を加熱したチョコレート寒天を, 黄色ブドウ球菌, 腸内細菌および緑膿菌の場合は Heart Infusion 寒天を用いた。嫌気性菌の場合は 5% 半脱線維素血液加 Liver Veal 寒天を用い, 黄燐燃焼法で嫌氣的にし, 培養 48 時間後に結果を判定した。

測定時対照として用いた黄色ブドウ球菌 209P 株の感受性は次のとおりであつた。

	KM 感受性	AKM 感受性
血液寒天の場合	0.78 mcg/ml	0.39 mcg/ml
チョコレート寒天の場合	1.56 mcg/ml	0.78 mcg/ml
Heart Infusion 寒天の場合	0.78 mcg/ml	0.39 mcg/ml
血液加 Liver Veal 寒天の場合	12.5 mcg/ml	6.25 mcg/ml

2) 黄色ブドウ球菌に対する抗菌力に及ぼす接種菌量と培地 pH の影響

臨床材料から分離した黄色ブドウ球菌 1 株について, 液体培地 (Brain Heart Infusion) を用いて, 接種菌量により, また培地の pH により抗菌力がどのように影響されるかをしらべた。

小試験管に KM または AKM を一定濃度に含有させた Brain Heart Infusion を 3 ml ずつ入れ, それに黄色ブドウ球菌の Brain Heart Infusion 18 時間培養を生理食塩液で一定倍数に希釈したものを 0.1 ml ずつ接種し, 24 時間培養後に菌の発育の有無を肉眼的に判定し, 接種菌量と抗菌力の関係をしらべた。次に pH を 5.5~7.5 に修正した Brain Heart Infusion に KM または AKM を一定濃度に含有させ, 小試験管に 3 ml ずつ分注し, それに黄色ブドウ球菌の Brain Heart Infusion 18 時間培養を, 生理食塩液で 1,000 倍に希釈したものを 0.1 ml ずつを接種し, 24 時間培養後に菌の発育の有無を肉眼的に判定し, pH と抗菌力の関係をしらべた。

3) 大腸菌に対する抗菌力に及ぼす pH の影響 (健康成人尿における実験)

著者の 1 人, 猪狩のすでに報告している方法によつた²⁾。すなわち, 健康成人尿を沸騰水中で 30~40 分滅菌し, 100 ml ずつ三角フラスコに分注, pH を 6, 7, 8 に修正した。次に KM または AKM の滅菌精製水溶液を 1 ml 加え, 5 mcg/ml, 20 mcg/ml, 50 mcg/ml にそれぞれ最終濃度になるようにした。さらに従来, 猪狩が同種実験に使用している *E. coli* 高柳株の Brain Heart Infusion 18 時間培養を滅菌生理食塩液で適宜希釈し, その 1 ml を加えた。三角フラスコは 37°C の恒温槽に入れ, 4 時

間ごとにその 1 ml をとり、定量培養法により生菌数を算定した。

II. 実験結果

1) 臨床材料から分離した各種病原細菌のKM, AKM 感受性

肺炎球菌, 溶血連鎖球菌, 腸球菌, 黄色ブドウ球菌の KM; AKM 感受性は表 1 のとおりである。また KM, AKM 感受性は図 1 のとおりである。

MIC 値からみると, AKM は KM と同じか, あるいは 1/2 以下で, AKM の MIC 値が KM のそれよりも大きいものは 1 株もなかった。

供試した肺炎球菌, 溶血連鎖球菌は, すべてディスク法 (3 濃度ディスク) で PC-G, AB-PC, EM に 卍 であったが, KM, AKM に対しては MIC 値が大きい。また腸球菌は各種抗生物質に耐性のものが多かったが, KM, AKM に対しても一般に MIC 値が大きい。黄色

図 1 好気性グラム陽性球菌における KM, AKM 感受性の相関

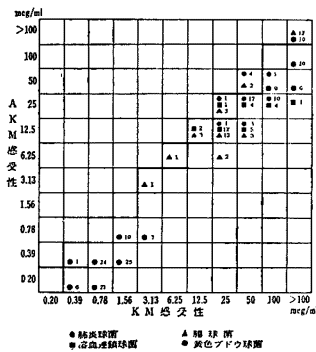


表 1 好気性グラム陽性球菌

菌種	株数	薬剤	MIC (mcg/ml)												
			≤0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
肺炎球菌	36	KM										2	23	11	
		AKM									3	28	5		
溶血連鎖球菌	29	KM									2	13	9	4	1
		AKM									19	10			
腸球菌	40	KM						1	1	3	18	5		12	
		AKM						1	3	19	3	2		12	
黄色ブドウ球菌	133	KM			7	45	35	1						9	36
		AKM		27	50	11							15	20	10
計	238	KM			7	45	35	2	1	5	33	37	24	49	
		AKM		27	50	11		1	3	41	41	22	20	22	

ブドウ球菌も各種抗生物質に耐性のものが多かったが, KM, AKM に対しては, 感性のものと耐性のものの 2 群に分けられる。KM 感受性 100 mcg/ml 以上のもの 45 株 (33.8%) はすべて AKM 感受性 50 mcg/ml 以上であった。

Haemophilus 53 株の, KM, AKM 感受性と, その相関は表 2, 図 2 のとおりである。MIC 値は AKM は KM と同じか, その 1/2 であった。本菌属の中には, KM 耐性と考えられる菌株は検出されていない。

次に腸内細菌および緑膿菌の KM, AKM 感受性とその相関は表 3, 図 3 に示すとおりである。これらの菌でも AKM の MIC 値は KM と同じか, その 1/2 以下である。そして菌株数の少ない菌属, 菌種は別として, 腸内細菌では KM, AKM 感受性は, とともに MIC の比較

表 2 *Haemophilus*

株数	薬剤	MIC (mcg/ml)							
		≤0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	
53	KM			7	9	37			
	AKM		3	5	15	30			

図 2 *Haemophilus* における KM, AKM 感受性の相関

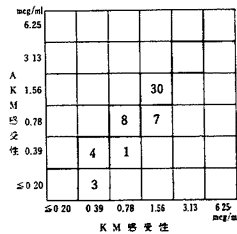
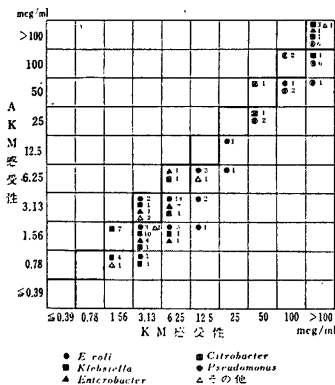


表3 腸内細菌および緑膿菌

菌種	株数	薬剤	MIC (mcg/ml)									
			≤0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
<i>E. coli</i>	36	KM				6	21	6	2		1	
		AKM		1	7	22	4	1		1		
<i>Klebsiella</i>	30	KM			11	14	1					4
		AKM		7	18	1					1	3
<i>Enterobacter</i>	10	KM				5	4					1
		AKM			5	3	1					1
<i>Citrobacter</i>	7	KM				2	2			2		1
		AKM			2	1	1		1	1		1
<i>Serratia</i>	1	KM						1				
		AKM					1					
<i>Proteus</i>	1	KM				1						
		AKM			1							
<i>Morganella</i>	2	KM			1							1
		AKM		1								1
<i>Reitgerella</i>	2	KM				2						
		AKM				2						
<i>Pseudomonas</i>	19	KM								2	4	13
		AKM							2	3	8	6
計	108	KM			12	30	28	7	2	4	5	20
		AKM		9	33	29	7	1	3	5	9	12

図3 腸内細菌および緑膿菌における KM, AKM 感受性の相関



的の小さいところと、50~>100 mcg/ml あたりの大きいところに分布している。なお緑膿菌は腸内細菌と感受性分布が異なり、19株すべて25~50 mcg/ml 以上であった。

最後に無孢子嫌気性菌各種類の KM, AKM 感受性と

その相関は、表4、図4のとおりである。無孢子グラム陽性桿菌1株を除いて、上述の好気性菌と同じく、AKMのMIC値はKMと同じか、その1/2以下であった。なおMIC値は好気性菌とくらべ、一般に大きく、著しく感性和と考えられる菌株は見られなかった。

2) 黄色ブドウ球菌に対する KM, AKM の抗菌力におよぼす接種菌量と培地 pH の影響

接種菌量と MIC 値の関係は表5に示すとおり、KM, AKM ともに接種菌量が少ないほど MIC 値が小さくなる。

培地 pH と MIC 値の関係は表6に示すとおり、pH 5.5 から pH が大きくなるに従つて、MIC 値が小さくなる。その傾向は KM も AKM も同様である。

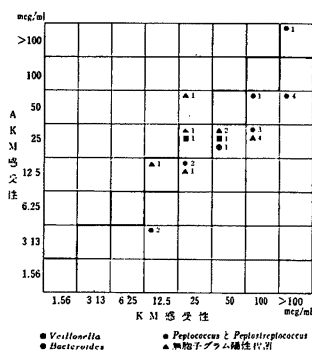
3) 大腸菌に対する KM, AKM の抗菌力に及ぼす pH の影響 (健康成人尿における実験)

KM の場合は図5、AKM の場合は図6のとおりである。KM の場合は 5 mcg/ml で、pH 8 の場合が pH 6, 7 の場合にくらべて、明らかに菌の発育が抑制された。また 20 mcg/ml では、pH 7, 8 の場合は4時間後に加え

表4 嫌気性菌

菌種	株数	薬剤	MIC (mcg/ml)										
			≤0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
<i>Peptococcus</i>	9	KM						2	1			3	3
		AKM				2		1	2	4			
<i>Peptostreptococcus</i>	4	KM							1			1	2
		AKM						1	1	1			1
無孢子グラム陽性桿菌	10	KM						1	3	2		4	
		AKM						2	7	1			
<i>Veillonella</i>	2	KM							1	1			
		AKM							2				
<i>Bacteroides</i>	1	KM									1		
		AKM								1			
計	26	KM						3	6	4		8	5
		AKM				2		4	13	6			1

図4 嫌気性菌における KM, AKM 感受性の相関



た菌が 100/ml 以下に減少したのに対し、pH 6 の場合は 12 時間以後に菌の増殖が認められた。すなわちアルカリ側で KM の抗菌力が增強されることがわかる。

AKM の場合は KM の場合とくらべて、接種菌量が多いが、5 mcg/ml で pH 8 の場合には、4 時間後にすでに加えた菌が 100/ml 以下に減少したのに、pH 6 では 16 時間後までほとんど菌数に変化はなかつた。pH 7 では一度減少した菌数が 12 時間後から再び増加している。AKM は KM よりも抗菌力が強く、KM 同様アルカリ側で抗菌力が增強された。KM, AKM ともにアルカリ側で抗菌力が增強されることは、上述の培地を用いた黄色ブドウ球菌の実験の結果と一致する。

なおこの実験結果から KM も AKM も供試した大腸菌に対し、殺菌的に作用すると考えられる。

III. 考 察

私どもは最近臨床材料から分離した好気性ならびに嫌気性病原細菌の KM および AKM 感受性を測定したところ、ほとんどすべての菌株において AKM の MIC 値は KM と同じか、その 1/2 以下であり、AKM が KM にくらべてより強い抗菌力を持つことがわかる。また黄色ブドウ球菌、大腸菌各 1 株について、液体培地あるいは健康成人尿を用いた実験結果からみると、KM, AKM ともに pH の値が大きくなるに従って抗菌力が增強されることがわかつた。また試験管内では接種菌量が少なくなるほど MIC 値が小さくなることは、KM も AKM もほぼ同様である。

肺炎球菌、溶血連鎖球菌、腸球菌、緑膿菌、嫌気性菌は KM に対する感受性が低いこと、黄色ブドウ球菌、腸内細菌、*Haemophilus* は本来は KM に感性であつたが、最近黄色ブドウ球菌、腸内細菌には耐性菌が増加して来たことは、よく知られているところである。私どもの今回の成績も同じ傾向を示している。AKM は KM にくらべて、倍以上の抗菌力を示す場合もあるが、KM 耐性菌はやはり AKM にも耐性と考えるを得ないであろう。

次に健康成人尿中における大腸菌の増殖に対する KM および AKM の抗菌作用が、尿の pH によって受ける影響を観察したのは、尿路感染症の化学療法の基礎実験として、著者の 1 人 猪狩が行なっている研究^{2,3)}の一環であるが、この実験結果からみると、尿路感染症に KM を投与する場合には、KM の抗菌力を強めるために、尿

表5 接種菌量と MIC (黄色ブドウ球菌による実験)

	接種菌量	薬 剤 濃 度 (mcg/ml)										
		0	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50
KM	ブイヨン培養そのまま	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	10 ⁻¹	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	10 ⁻²	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	10 ⁻³	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	10 ⁻⁴	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	10 ⁻⁵	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
AKM	ブイヨン培養そのまま	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	10 ⁻¹	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	10 ⁻²	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	10 ⁻³	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	10 ⁻⁴	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	10 ⁻⁵	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍

— は肉眼的に菌の発育を認めないもの、十、卍、卍 は菌の発育の程度を示す

表6 培地 pH と MIC (黄色ブドウ球菌による実験)

	pH	薬 剤 濃 度 (mcg/ml)										
		0	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50
KM	5.5	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	6.5	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	6.8	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	7.2	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	7.5	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
AKM	5.5	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	6.5	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	6.8	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	7.2	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	7.5	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍

— は肉眼的に菌の発育を認めないもの、十、卍、卍 は菌の発育の程度を示す

の pH をアルカリ側に傾けるようにすることが必要であろう。AKM を尿路感染に使用するに当つても、KM と同様尿の pH をアルカリ性に傾けることによつて抗菌力が増強されるであろう。そして AKM の投与量は KM よりも少なくすむはずである。

IV. 結 論

私どもは AKM に関する基礎的研究として、KM と比較しながら、臨床材料から最近分離した各種病原細菌の感受性を測定し、さらに黄色ブドウ球菌を用い、接種

図5 尿中の大腸菌の増殖に対する KM の作用

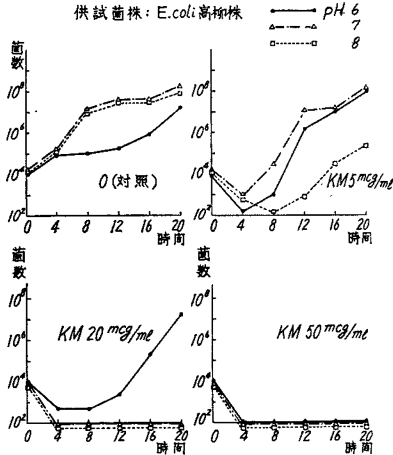
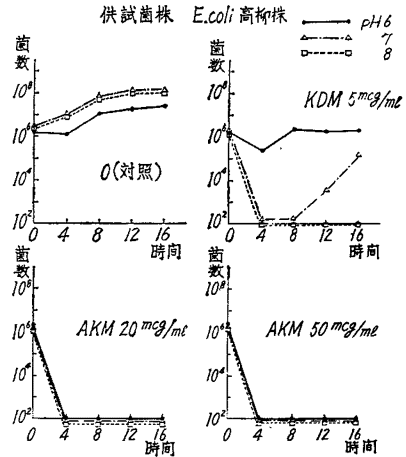


図6 尿中の大腸菌の増殖に対する AKM の作用



菌量、培地の pH の抗菌力に及ぼす影響、また大腸菌を用い、健康成人尿中でのその pH の抗菌力に及ぼす影響を観察した。

1) 臨床材料から分離した各種病原細菌 425 株のほとんどにおいて、AKM の MIC は KM のそれと同じか、 $1/2$ 以下で、AKM は KM よりも強い抗菌力を有する。

2) AKM は KM と同様、接種菌量の減少とともに MIC 値が小さくなり、また pH が酸性側からアルカリ側に傾くに従ってその抗菌力が増強する。

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) 猪狩 淳, 他: 尿路感染症の化学療法に関する基礎的研究, 第 2 報。Jap. J. Antibiotics 21, 118~123, 1968
- 3) 猪狩 淳, 他: 尿路感染症の化学療法に関する基礎的研究, 第 3 報。Jap. J. Antibiotics 21, 354~357, 1968

BASIC STUDIES ON AMINODEOXYKANAMYCIN

NOZOMU KOSAKAI & JUN IGARI

Department of Clinical Pathology, Juntendo University School of Medicine

TOYOKO OGURI

Clinical Laboratory, Juntendo University Hospital

A total of 425 strains of recently isolated pathogens from clinical materials, *i.e.* *Pneumococci*, hemolytic *Streptococci*, *Enterococci*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus*, *Escherichia* and other enteric bacteria, *Pseudomonas*, and several species of anaerobes, were tested for their *in vitro* susceptibility to aminodeoxykanamycin (AKM) and kanamycin (KM) by a plate dilution method. AKM was more effective *in vitro* than KM.

Minimum inhibitory concentration of AKM or KM for one strain of *Staphylococcus aureus* was affected by the inoculum size and pH of the medium.

In human urine the antibacterial activity of AKM or KM for one strain of *Escherichia coli* was also affected by pH of urine. Antibacterial activity of both drugs was more effective in alkaline medium.