

Sulfa 剤の試験管内抗菌力と感染防御効果の相関 II

マウス実験感染における防御効果と MIC との関連性について

野 藤 隆 夫
東邦大学医学部微生物学教室

(昭和 47 年 4 月 18 日受付)

ま え が き

前報において、Sulfa 剤の MIC は接種菌量によつて大きく変動し、菌量の多い場合はすべての菌が耐性と判定されるが、接種菌量を一定レベル以下に下げることによつて感性和耐性の株が明瞭に区別でき、同時に比較的可再現性のある感受性値が得られること、さらに、このような MIC の変動する現象を解明する目的で薬剤含有培地における菌増殖曲線につき解析したところ、接種菌量の多少にかかわらず菌は同程度の障害作用を受けていることがわかり、MIC の変動は薬剤の作用のあらわれない培養初期の菌の発育を肉眼で判定するために起る見かけ上の変化にすぎないことなどを明らかにし報告した(第1報)。

ところで、このような特徴をもつ Sulfa 剤の *in vitro* 抗菌作用が治療効果にどのようなかたちで反映されるのか、その一端を知る目的で今回はマウスの実験感染症に対する Sulfa 剤の感染防御効果と攻撃菌量との関係を調べ、さらに感染菌株の Virulence などの factor を考慮に入れながら防御効果と MIC との関連性を検討したので、以下にその大要を報告する。

実験材料および方法

薬剤：主として Sulfamonomethoxine を使用し、一部の実験には Sulfadimethoxine も使用した。

感染菌株：S. pyogenes G 36 M 5 および No. 3, E. coli NIHJ, E-11, E-41, E-43 および E-49, K. pneumoniae 3 K 25, 15 C および 3 K 37, Shigella 3-S, 3-S(R) No. 11 および No. 25, Pr. mirabilis 1287 および 25' の計 5 菌種 15 株を使用した。

以上の菌株は教室保存株のうちから、マウスに対する Virulence が強く、感性株から耐性株まで種々の感受性値を示すものが含まれるように選ばれたものである(ただし S. pyogenes No. 3 は弱毒株の代表として使用した)。これらの菌株は 0.5% 普通寒天高層培地に穿刺または 5% ウサギ血液加 Brain Heart Infusion 寒天斜面培地に培養して保存し、実験の前に数回マウス通過を行ない、普通寒天または血液寒天培地に分離し、正常な集落を実験に供した。

実験動物：ddY 系♂, 4週+3日齢, 体重 20~22 g のマウスを使用した。

これらの動物は室温 25±2°C, 湿度 60±10% の環境下で飼育し、日本配合飼料 K. K. 製固型飼料 (CE-2) と水道水を与えた。

使用菌株のマウスに対する Virulence 測定：Yeast extract を 0.5% 加えた Heart Infusion broth に 37°C, 20 時間培養した菌液を、S. pyogenes はブイヨン・生理食塩液混合液 (1:4) で、その他の菌の場合は 2.5% Mucin 液で 10 倍希釈し、それぞれマウスの腹腔内に 0.3 ml 接種した。Mucin は和工純業工業製の Mucin, gastric W-1701 を使用した。

感染防御効果の測定：Virulence 測定の場合と同様の方法で感染したマウスに 5% アラビヤゴム水溶液に懸濁した薬剤を菌接種 30 分後に 1 回経口投与し、5~10 日間観察して各群の生残率を求め BEHRENS-KÄRBER の方法に従がつて ED₅₀ を算出した。なお、接種菌液は調製毎に寒天平板混釈法で生菌数を測定し、接種生菌数を確認した。

MIC の測定：第1報において設定した方法で行ない、培養原液と 100~1,000 倍希釈菌液の 2 つを接種菌液としそれぞれの MIC を測定した。

臓器内生菌数の測定：臓器内の生菌数は臓器を磨碎し、希釈液について平板混釈培養を行なつて測定した。すなわち、感染したマウスを心臓から全採血を行なつて殺し、臓器を無菌的にとり出して秤量し、その重量の 3 倍量の滅菌生理食塩液に浮べ一定回転数のホモジナイザーで 2 分間磨碎し、ブイヨン・食塩混合液を加えて 10 倍階段希釈を行ない、各希釈液の 1 ml を平板混釈培養し、24 時間後発生した集落を数え、もとの浮遊液の菌数を算定した。

実験成績

1) 攻撃菌量と ED₅₀ の関係

教室保存株の中からマウスに対する Virulence, Sulfa 剤感受性等の factor を考慮して適当に選ばれた 16 菌株につき、第1報で提示した方法に従がつて少量菌および大量菌接種の 2 点における MIC およびマウスに対す

表1 マウス実験感染に対する Sulfa 剤の効果

菌 株	感受性パターン** MIC(mcg/ml)	MLD (cells/ mouse)	攻撃菌量 (cells/mouse)						
			10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁴	10 ³	
			ED ₅₀ (mg/kg)						
<i>S. pyogenes</i> G 36 M 5*	200~1.56	5×10 ¹	>200				2.2	2.2	≤2.2
" No. 3*	200~1.56	1×10 ⁷	>200						
<i>Pr. mirabi.</i> 1287	>200~1.56	6×10 ⁴	>200	<12.5	2.2	1.8	≤0.9		
<i>E. coli</i> NIHJ	>200~6.25	6×10 ⁵	>200	>200	22.0	7.0			
" E-11	>200~6.25	3×10 ³	>200	>200	27.7	8.6	7.0	4.4	
<i>K. pneumo.</i> 3 K-25	>200~3.12	2×10 ⁴	>200	>200	7.0	7.0	≤1.8		
" 15 C	>200~6.25	1×10 ⁴	>200	>200	11.0	8.5	4.0		
<i>Shigella</i> S-3	>200~100	9×10 ³	>200	>200	≥84.2	27.8	≤17.5		
" S-3 R	>800~800	6×10 ⁴	>200	>200	56.3	17.7			
<i>K. pneumo.</i> 3 K-37	>800~800	3×10 ⁵	>200	>200	≤22.0	≤13.8			
<i>E. coli</i> E-41	>1,600~>1,600	<3×10 ⁵			>400				
" E-43	>1,600~>1,600	<3×10 ⁵			>400				
" E-49	>1,600~>1,600	<3×10 ⁵			>400				
<i>Shigella</i> No. 11	>1,600~>1,600	<1×10 ⁵			>400				
<i>Pr. mirabi.</i> 25'	>1,600~>1,600	<3×10 ⁵			>400				

ddY 系雄マウス (20~22 g) 2.5% Mucin 加腹腔内感染, 30 分後 Sulfamonomethoxine 1 回経口投与
* Mucin (-), ** 高接種菌量の MIC—低接種菌量の MIC

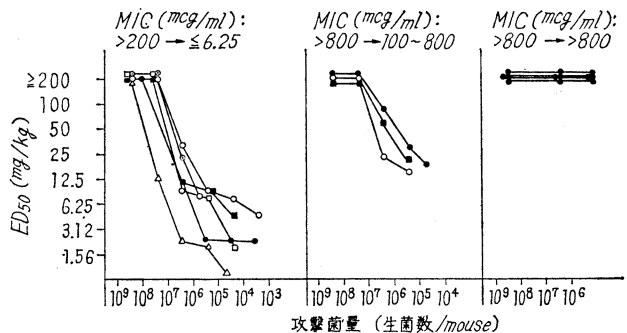
る MLD を測り, MLD の2倍以上各段階の攻撃群の ED₅₀(mg/kg) をそれぞれ求めた。表1はその成績を整理したものである。

感性株についてみると, まず *S. pyogenes* の場合, G 36 M 5 は強毒株であるが, 攻撃菌量によって ED₅₀ が大きく変動している。すなわち, 10⁸ 個の菌を攻撃した場合, 全く効果が認められていないが, 攻撃菌量を 1/1,000 に下げると急激に著しい効果が現われた。その中間である 10⁶~10⁷ 個の菌量のところでは明確な Dose-Response が認められなかつた。この場合の死亡例はいずれも, いわゆる 2 次敗血症によるものと思われ, 薬剤非投与群が 2~3 日で死亡するのに対して薬剤投与群では 3.12~200 mg/kg の投与領域にわたつて 5~8 日目に死亡するものがほとんどであつた。No. 3 株は弱毒株で G 36 M 5 株の 1/100,000 以下の毒力のものであるが, 強毒株の場合と同様に攻撃菌量の多いところでは薬剤の効果はほとんど現われていない。次に *E. coli* についてみると, 攻撃菌量の多いところでは効果がほとんど認められていないが, 10⁶/mouse 附近から急激に効果が認められはじめ, 以下菌量を下げると従がつてわずかずつ効果の上昇がみられる傾向にあつた。E-11 株と NIHJ 株は Virulence において 1,000 倍以上の差があるが感染防御効果のパターンはほ

とんど同じであつた。*K. pneumoniae* 3 K 25 および 15 C 株においても *E. coli* と同様の傾向がみられており, 攻撃菌量が 10⁶/mouse のところで急激に著しい効果がみられた。3 K 25 株と 15 C 株はマウスに対する Virulence がほとんど同じで *in vitro* の MIC は 3 K 25 株が 1 段階低い値を示すが, ED₅₀ もこれと平行して, 3 K 25 株においてやや低く現われる傾向にあつた。*Pr. mirabilis* 1287 は Sulfamonomethoxine に対して *in vitro* で感受性の高い株であるが感染防御効果も同様に強く現われている。

In vitro の MIC が 100~800 mcg/ml の, いわゆる

図1. 攻撃菌量と感染防御効果の関係



中間耐性株についてみると、感性株の場合と同様の傾向がみられ、攻撃菌量の低いところで比較的強い効果が認められた。しかし、この感受性の領域に入る菌株において、少なくとも今回の実験例では MIC と ED₅₀ の間に相関性が認められていない。すなわち、*Shigella* S-3 は 100 mcg/ml、*Shigella* S-3(R) および *Kl. pneumoniae* 3 K 37 はともに 800 mcg/ml の MIC を示すが、その ED₅₀ は逆に *Shigella* S-3(R) あるいは *Kl. pneumoniae* 3 K 37 が *Shigella* S-3 より低い値を示しており、感性株の場合とは異なった成績が示された。

E. coli E-41 以下 5 株は 1,600 mcg/ml 以上の MIC を示す高度耐性株であり、表から明らかなように 10⁶/mouse の攻撃菌量のところでも効果は全く認められなかった。

以上の実験に使用した菌株を *in vitro* の MIC から 3 つのグループに分け、攻撃菌量と ED₅₀ の関係を見ると図 1 のようになる。接種菌量を少くしたときの MIC が 6.25 mcg/ml 以下の菌株では菌種に関係なくいずれも 10⁶/mouse 附近の攻撃菌量をさかいとして ED₅₀ の急激な低下が起り、以後ゆるやかに下がって行く傾向を示した。いつぱう、MIC が低 接種菌量でも 1,600 mcg/ml 以上の高度耐性株は攻撃菌量を下げても効果は全く認められないが、接種菌量を少くすれば 100~800 mcg/ml となる、いわゆる中間耐性株では感性株の場合と同様に、攻撃菌量の低いところで比較的急激に ED₅₀ の低下する現象がみられた。

2) ED₅₀ と MIC および Virulence との関連性

表 1 の測定値につき各攻撃菌量毎に ED₅₀ と MIC の関係および ED₅₀ と Virulence の関係を見ると、図 2 および図 3 のようになる。これから明らかなように、感性株では攻撃菌量が 10⁶/mouse 以下になると、各試験菌株とも同一菌量で攻撃した場合に ED₅₀ と MIC の間に相関性が認められるようになる。いつぱう、ED₅₀ と Virulence の間には相関性は全く認められていない。すなわち、少なくとも今回の実験条件のもとでは、ED₅₀ は MIC と攻撃菌量によって規定されており、菌の毒力はほとんど関与

していないことがわかった。このことは、例えば薬剤間の治療効果を数種の菌株と比較するような場合の実験条件の設定に重要な問題を提起していると思われる。

3) 攻撃菌量の差による感染防御効果と臓器内生菌数

上記と同様の実験条件において、大量および少量菌で感染したマウスの臓器内生菌数に及ぼす Sulfa 剤の影響を図 4 に示した。感染菌株には *Kl. pneumoniae* 3 K 25

図 2 感染防御効果と MIC の関連

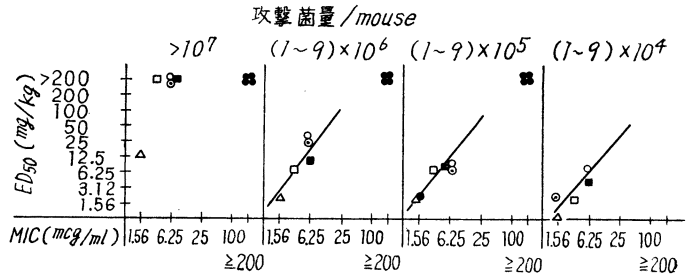


図 3 感染防御効果と Virulence の関連

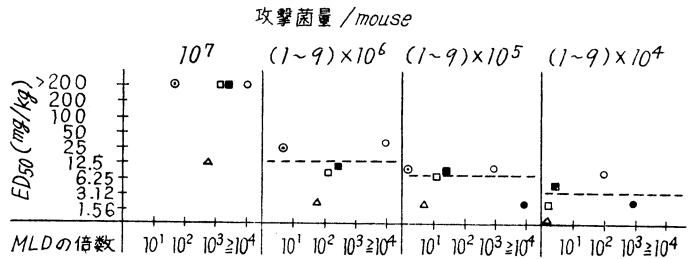
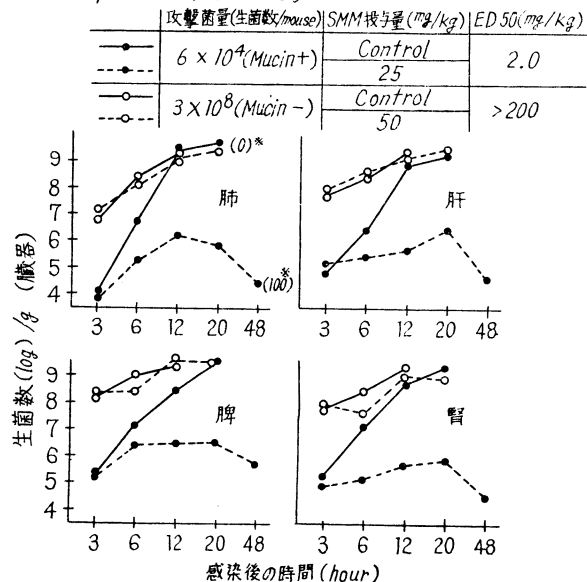


図 4 攻撃菌量の差による感染防御効果と臓器内生菌数 (*K. pneumoniae* 3K25)



* 生存率(%)

を使用し、攻撃菌量は 10^8 と 10^4 /mouse の2段階とし、Sulfamonomethoxine の 25~50 mg/kg 投与群と非投与群の臓器内生菌数をそれぞれ経時的に測定した。

図から明らかなように、攻撃菌量の多い場合は薬剤の影響はほとんどみられず非投与群と同様の菌増殖が起っており、20 時間前後で全例死亡するに対して、攻撃菌量の少ない場合は、薬剤投与によつて著明な菌増殖の抑制がみられ、このような条件では全例生残している。なお、このような実験条件での死亡例はすべて1次敗血症によるものであつて、各臓器ともほとんど一様に菌の増殖が起つていた。

考 察

実験感染に対する Sulfa 剤の効果については、マウスに対して病原性の強い溶連菌あるいは肺炎球菌を試験菌として、マウスを用いた感染防御実験が一般に慣用されてきた。ブドウ球菌あるいは一般の腸内細菌などに対する化学療法剤の効果判定法としては、ブドウ球菌の場合、静脈内接種による腎膿瘍と生菌数をみる方法¹⁾、皮下接種による局所の膿瘍でみる方法²⁻⁴⁾、マウスの腎皮質に直接菌を穿刺感染させる方法⁵⁾、腸内細菌、緑膿菌などの静脈内接種による Pyelonephritis を指標とした方法^{6,7)}、あるいは尿路系に直接感染させる方法^{8,9)} など数多くの優れた研究が報告されている。しかし、これらの方法は特殊な感染様式でみたものであり、薬剤の特徴を究明する上には有用であるが、それ以前に行なうべき一般的な方法として腹腔内接種による敗血症を指標とした方法で *in vivo* 効果を解析して行くことも重要であると考える。しかし、一般の病原性の弱い菌種では、この方法では感染成立に多量の菌接種を必要とし、とくに接種菌量が Sulfa 剤の抗菌力に大きく影響し、しかも静菌的に作用するような薬剤の治療効果判定のモデル実験としては不都合な面があり、かならずしも薬剤の効果が正当に評価されるとは考えられない。

化学療法剤の効果を実験感染動物を用いて測定する場合、Sulfa 剤においては特に、できるだけ少量の接種菌量で動物に感染症を成立させる必要がある。本実験ではこの点に関し、教室保存の *S. pyogenes*, *E. coli*, *Kl. pneumoniae*, *Shigella*, *Proteus* など数百株につき、マウスに対する Virulence と *in vitro* の MIC を調べ、Virulence が強くかつ感性株から耐性株まで種類の感受性を示すものが含まれるように適当に試験菌株を選択した。*S. pyogenes* 以外の菌株は Mucin と併用することによつて、Mucin 無添加の場合の 1/1,000~1/100,000 の菌量でマウスを敗血症死させることができた。

Mucin による菌の Virulence 増強作用の本体については、まだ完全に明らかにされたわけではないが、一般

に生体防御能を低下させる方向に働いて菌自体には作用しないといわれている¹⁰⁻¹⁵⁾。

Mucin の併用によつて感染像が複雑になり、感染の解析を困難にすることが考えられるが、病原性の弱い菌によつて感染が起こる場合は種々の因子が関与しており、とくに生体の防御機能の低下をきたすような種々の条件が重要な要因として働いていることが考えられ、その意味では Mucin の併用は健康動物を多量の菌で攻撃して死亡させる方法よりは自然感染に近い方法であるとも考えられる。いずれにしてもマウスに対してもともと菌力の弱い Gram 陰性桿菌やブドウ球菌などを用いる場合、少量の菌接種でマウスに実験的感染症を成立させ、化学療法剤の *in vivo* 効果を解析するに Mucin 添加はきわめて有用な方法であるといわねばならない。

E. coli, *Shigella*, *Proteus*, *Ps. aeruginosa*, *Corynebacterium*, *Neisseria* などを試験菌とした Mucin 併用感染動物に対する Sulfa 剤の感染防御あるいは治療実験については以前から多数の報告がある¹⁶⁻²⁴⁾。しかし、これらの実験は、その実験条件がかならずしも一定しているとはいえず、とくに攻撃菌量について考慮されていないものが多いため、薬剤間の効力、菌種、菌株間の *in vivo* 感受性の比較は実験者によりかならずしも一定した値が得られているとはいえない。最近では、Gram-positive および Gram-negative の数種の菌での Mucin 併用感染マウスで合成 Penicillin の効果を比較した HOPPER らの実験^{25,26)}、あるいは、緑膿菌対マウスの組み合せで化学療法剤についての基礎的検討を行なつた小林の実験²⁷⁾ など、*in vivo* 効果判定法としてきわめて緻密で精度の高い報告がみられる。しかし、これらは同一菌株での薬剤間の効力の比較には優れた方法といえるが、菌種あるいは菌株間の *in vivo* での感受性の正確な比較測定、解析までは論及されていないように思われる。

今回の実験成績に示されたように、Sulfa 剤について攻撃菌量によつて ED₅₀ が大きく変動し、薬剤の効果は攻撃菌量が 10^6 /mouse 以下のところではじめて著明に現われてくることが認められた。攻撃菌量が多い場合は、いずれの菌株も全く効果がみられないか、あるいは効果があつても明確な Dose-response がみられていない。このように、攻撃菌量の多いところで効果の激減する現象、それは多種多様な病像を示す臨床治療例の一面を現わしているかも知れないが、少くとも実験的に Sulfa 剤の効果を評価する場合に、このような条件のもとで測定された薬剤の効果はひじょうに不正確か、あるいはまったく意味のない数値として得られる恐れのあることを示している。

攻撃菌量と効果の関係から得られた測定値をもととし

て、ED₅₀ と MIC および ED₅₀ と Virulence の関連性を検討した結果、一部の例外を除いて、攻菌量が約 10⁶/mouse 以下のところで ED₅₀ は *in vitro* の MIC と相関性が認められ菌の Virulence にはほとんど影響されていないことがわかつたのは本実験での大きな収獲である。従来の測定法では試験菌株の Virulence に合せて攻撃菌量を決定したものが多く、そのような方法で行なうと、例えば、Virulence が弱く薬剤感受性が強い株と、その逆の関係にある他の菌株の *in vivo* での効果を同時に測定した場合に、薬剤感受性の弱い株が強い株よりも *in vivo* では、より有効であつたというような、まことに奇妙な現象の起こることが考えられ、菌株間での ED₅₀ の比較はほとんど意味のないものとなる。

なお、MIC が 100~800 mcg/ml の中等度耐性株では攻撃菌量の低いところで比較的高い感染防御効果が示され、また MIC と ED₅₀ の間の相関性が不明確であつた。そこで、このような中等度耐性株がほかにも存在するかどうかを知るために、まず教室保存の *E. coli*, *Klebsiella*, *Shigella* 数百株につきスクリーニングを行なつたが、すべて 50 mcg/ml 以下の感性株か、あるいは 800 mcg/ml 以上の高度耐性株にわかれ、上記のような中等度耐性株は他にみあたらなかつた。従がつて、本実験に使用した株は患者材料からはごくまれにしか分離されない特殊な株であると思われ、このものの特性については別の機会に報告したいと考える。

以上のことから、化学療法剤の感染防御実験を行なう場合、測定値に影響を及ぼす因子としては種々のものが考えられるがとくに攻撃菌量は重要であり、高および低攻撃菌量 (Sulfa 剤の場合 10⁶/mouse 以下) の2点以上で、しかも菌株の Virulence にとらわれないで、同一菌量で感染させることが薬剤の性格の把握と、より正確な測定値を得るための必要条件であると考え。従来、この種の実験は単に効果があつたか、なかつたかという定性的な感じの強い傾向があつたが、ここ数年来、実験動物の質の向上および飼育管理、実験施設にはめざましい進歩がみられており、単なる定性反応の域を脱した、より精密な解析の可能な時期に至つていると考える。

結 論

S. pyogenes, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Shigella*, *Proteus* のうちより比較的病原性が強く、耐性株から感性株まで、種々の感受性値を示すものが含まれるように選ばれた 16 株を試験菌株として、腹腔内接種による敗血症死を指標としたマウスの実験的感染症に対する Sulfa 剤の感染防御効果を調べた。

感性株の場合、攻撃菌量によつて感染防御効果が著しく変動し、約 10⁶/mouse 以下の攻撃菌量のところで著

明な効果が現われた。この現象は、MIC 100~800 mcg/ml の株においても、ある程度認められたが、高度耐性株では、攻撃菌量を下げても効果はまったくみられなかつた。

攻撃菌量が約 10⁶/mouse 以下のところで、各試験菌株とも同一菌量で攻撃した場合に MIC と ED₅₀ の間には、一部の例外を除いて、相関々係が認められた。すなわち、感染防御効果は攻撃菌量と MIC によつて規制されており、菌の Virulence にはほとんど影響されていない。

以上の成績から、Sulfa 剤の感染防御実験を行なう場合、攻撃菌量と防御効果の關係に充分留意する必要がある、可能な範囲で数段階の攻撃菌量における ED₅₀ の推移をとらえ、また菌株間の ED₅₀ の比較は同一攻撃菌量のところで行なうことが、薬剤の性格を知り、精度の高い解析を進める上に必要な条件であると考え。

稿を終るに臨み、御指導と御校閲を賜つた桑原教授ならびに直接御指導と御校閲を賜つた五島教授に衷心より感謝の意を表するとともに、終始、適切なる御助言と御協力を頂いた堂ヶ崎助手および教室員各位に深く感謝致します。

文 献

- 1) 松本卓司：ブドウ球菌感染マウスを用いた実験的療法に関する研究。Chemotherapy 11: 312~320, 1963
- 2) 田所一郎：ブドウ球菌のマウス皮下感染実験法。Modern Media 4(13): 24~32, 1967
- 3) 小此木丘, 五十嵐勇, 福田邦昭：ブドウ球菌の感染に関する実験的研究, 特に小量菌によるマウス皮下膿瘍の形成について。ibid. 4(13): 33~34, 1967
- 4) 大蘭 卓, 矢野邦一郎：マウス皮下感染を利用する抗生物質のスクリーニング。ibid. 4(13): 35~40, 1967
- 5) 黒坂公生, 長谷川紀子：ブドウ球菌腎内接種による化学療法剤検討への試み。第18回日本化学療法学会東日本支部総会 1971, 10, 5
- 6) FITZPATRICK, F. K.: Pyelonephritis in the mouse. I. Infection experiment. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 123: 336~339, 1966
- 7) FITZPATRICK, F. K. & J. BLADZINSKI: Pyelonephritis in the mouse. III. Therapeutic experiments. ibid. 127: 1180~1185, 1968
- 8) RITZERFELD, W.: V. PRÁT, L. KONÍČKOVÁ & H. LOSSE: Die antibiotische Wirkung von Gentamycin bei der experimentellen akuten *Escherichia coli*-Pyelonephritis. Int. J. Clin. Pharmacol. 1, 3: 254~258, 1968
- 9) PRÁT, V.: L. KONÍČKOVÁ, W. RITZERFELD & H. LOSSE: Carbenicillin und Gentamycin bei der experimentellen *Pseudomonas*-Zystitis.

- ibid.* 2:3 : 213~216, 1969
- 10) NUNGESTER, W. J.: L. F. JOURDONAIS & A. A. WOLF: The effect of mucin on infections by bacteria. *J. Infectious Diseases* 59 : 11~21, 1936
 - 11) MILLER, C. P. & R. CASTLES: Experimental meningococcal infection in the mouse. *ibid.* 85 : 263~279, 1936
 - 12) MC LEOD, CH.: The mode of action of mucin in experimental *Meningococcus* infection. II. The effect of mucin upon the defense mechanism of the mouse. *Am. J. Hyg. Sec. B.* 34 : 51~63, 1941
 - 13) ERCOLI, N.; M. N. LEWIS & E. HARKER: Aggressin-like character of gastric mucin. *Proc. Soc. Exptl. Biol. & Med.* 59 : 273~278, 1945
 - 14) SCHERR, G. H.: The role of mucin in enhancing the infectious process. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 106(2) : 680~682, 1963
 - 15) DEWITT, C. W.: Differential effect of hog gastric mucin on properdin and host resistance to infection. *J. Bact.* 76 : 631~639, 1958
 - 16) BUTTLE, G. A. H.; H. J. PARRISH, M. MCLEOD & D. STEPHENSON: The chemotherapy of typhoid and some other non-Streptococcal infections in mice. *Lancet* 232 : 681~684, 1937
 - 17) COOPER, F. B.; P. GROSS & M. LEWIS: Sulfonamide therapy of experimental peritonitis due to *E. coli*, *B. proteus*, and *B. Pyocyaneus*. *Proc. Soc. Exptl. Biol. & Med.* 36 : 774~776, 1939
 - 18) KLINEFELTER, H. F.: Sulfadiazine: Effect on *E. coli* infections in mice. *ibid.* 46 : 591~593, 1941
 - 19) BLISS, E. A.: W. H. FEINSTONE, A. W. GARRETT & P. H. LONG: Sulfapyridine and sulfanilamide in experimental pneumococcal, meningococcal, Welch bacillary and Friedländer's bacillary infections in mice. *ibid.* 40 : 619~621, 1939
 - 20) COOPER, M. L. & H. M. KELLER: Sulfanilamide, sulfapyridine and sulfathiazole and experimental infections in mice due to *Shigella paradysenteriae* Fleßner. *ibid.* 45 : 111~114, 1940
 - 21) FISK, R. T. & L. BLAKELY: The mouse-protection-test potency of antimeningococcus sera and sulfanilamide for freshly isolated strains of *Meningococci*. *Am. J. Hyg. Sec. B.* 33 : 9~16, 1941
 - 22) COHN, A. & L. R. PEIZER: Further studies of the experimental *Gonococcus* infection in mice and their protection by sulfanilamide. *J. Infectious Diseases* 63 : 77~80, 1938
 - 23) GRIFFITTS, J. J.: Laboratory studies of the effect of sulfonamide drugs on *Vibrio cholerae*. *Public Health Repts.* 57 : 814~818, 1942
 - 24) SINDBJERG-HANSEN, V.: Studies over den infektions-fremmende virkning of mucin paa svagtpatogene bakterier. Einar Munksgaard, Copenhagen, 1943
 - 25) HOPPER, M. W.; J. A. YURCHENCO & G. H. WARREN: Duration of therapeutic activity of aminoalicyclic penicillins against bacterial infections in mice. *Antimicr. Agents & Chemoth.* 597~601, 1967
 - 26) YURCHENCO, J. A.: M. W. HOPPER & G. H. WARREN: Therapeutic activity of aminoalicyclic penicillin in bacterial infections in mice. *Antimicr. Agents & Chemoth.* 602~608, 1967
 - 27) 小林富二男: マウスの実験的緑膿菌感染症における化学療法剤の評価。 *Chemotherapy* 19 : 153~157, 1971

STUDIES ON THE CORRELATION BETWEEN *IN VITRO* AND *IN VIVO* ANTIBACTERIAL ACTION OF SULFONAMIDE. II

Investigations in Some Experimental Infections in Mice

TAKAO NOTO

Department of Microbiology, School of Medicine, Toho University

Several strains of *S. pyogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Shigella* and *Proteus* which were determined for both the degree of virulence to the mouse and sensitivity *in vitro* to the sulfonamides were used for the present studies. Using these pathogens, therapeutic activities of the sulfonamides were investigated in mice infected by the intraperitoneal route with a variety of challenge doses.

In sensitive strains, it was found that levels of ED_{50} had changed remarkably by challenge dose of the infected strains and a therapeutic effect of the drug was obtained clearly when below 10^6 viable cells per mouse had been challenged.

Such results as above mentioned were also observed, to a certain degree, on strains sensitive to the drug in the level of 100~800 mcg/ml, but for high resistant strains, scarcely any therapeutic effects were observed, even when the challenge doses were very small.

When a certain level of challenge dose less than 10^6 viable cells per mouse was used in all test cultures and the therapeutic effects were compared with each other definite correlation was observed between MIC and ED_{50} with only a few exceptions. That is to say, degree of the therapeutic effect was dependent mainly on levels of the MIC and challenge dose of the test strain, and then it would seem that there is no remarkable influence of virence of the strain to the effect of the drugs.