

Sulfamethoxazole-Trimethoprim 合剤に関する基礎的, 臨床的研究

大久保侃・岡本緩子・牧野純子

関西医科大学第一内科

I 緒 言

パラミノ安息香酸から2水素葉酸への合成を阻害する sulfamethoxazole (以下 SMX) と, 2水素葉酸から4水素葉酸への代謝を阻害する trimethoprim (以下 TMP) とを配合した合剤¹⁾は, グラム陽性菌および陰性菌に対して広い抗菌スペクトルを持ち^{2~4)}, その抗菌力はそれぞれ単独の場合にくらべて著明な相乗的増強がみとめられており, また諸外国ではすでに各種の感染症に用いられ, その有効率は70%を上まわっている^{5)~7)}。

われわれはこの合剤(以下 ST 合剤)の病巣分離菌に対する抗菌力, ならびにそれぞれ単独の抗菌力を測定するとともに, 合剤投与時の体液中 TMP 濃度の測定についての検討を行ない, また, 臨床例についての効果をも検討したので報告する。

II 感受性検査

1) 測定方法

感受性測定には寒天平板希釈法を用い, 肉眼的に菌の発育が完全に阻止された最低濃度(MIC)をもつて感受性を表現した。

菌株の1白金耳を MUELLER-HINTON broth 10 ml に入れて18~20時間培養し, その培養液を滅菌生食水で100倍に希釈して検定菌液とした。

感受性測定培地としては MUELLER-HINTON agar に凍結溶血馬血液を7.5%加え, これにそれぞれ計算した量の薬剤液を添加して平板としたものを用い, これに上記の菌液1白金耳を画線塗抹した。

薬剤希釈液調製法としては, SMX 10 mg を可及的少量の 1/8 N NaOH に溶解し, これを磷酸緩衝液(N/10, pH 7.2)で1000 mcg/ml とし, また TMP は 4/100 N の HCl で溶解して後同じく緩衝液で希釈し, 用に臨んでこれらを測定培地に加えた。

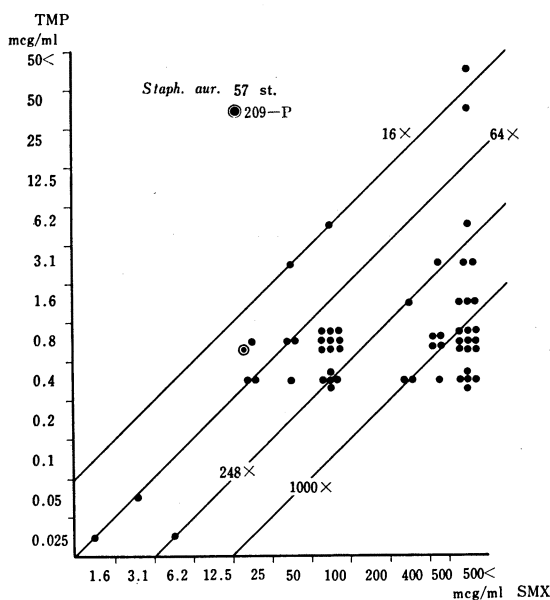
2) SMX, TMP のそれぞれ単独の MIC

Staphylococcus aureus 209 P 株の MIC は TMP 0.8 mcg/ml, SMX 25 mcg/ml であった(表1)。

臨床分離の *Staphylococcus aureus* 57 株(図1)の TMP 感受性は, その25株が0.8, 16株が0.4, 2株が

表1 MIC of standard strains

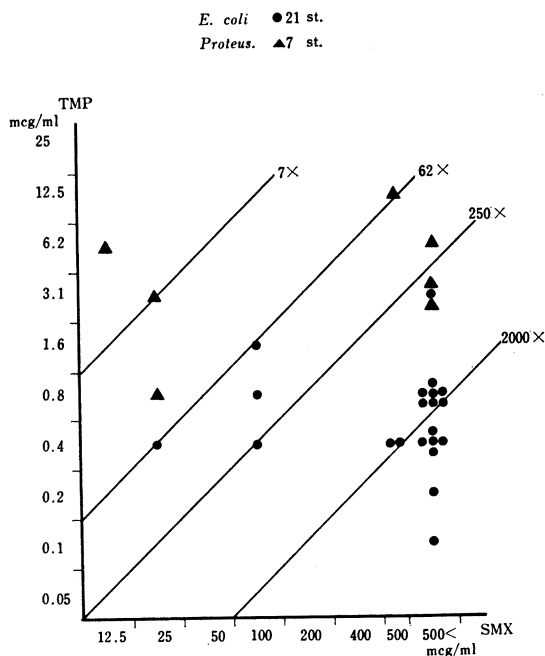
	SMX	TMP	ST(20:1)
<i>Staph. aur.</i> 209-P	25.0	0.8	1.6
<i>Bac. subt.</i> 219	6.2	0.1	1.6
<i>Sarc. lutea</i>	0.4	0.025	1.6
<i>B. pumilus</i> 3813	6.2	0.012	0.05
" 12086	6.2	0.05	0.05
" 12087	6.2	0.025	0.05
" 12088	6.2	0.05	0.05
" 12089	6.2	0.05	0.1

図1 MIC of TMP and SMX (Each alone)
(*Staphylococcus*)

0.025 mcg/ml であり, SMX 感受性は57株中46株が100 mcg/ml 以上で, そのうち22株が500 mcg/ml 以上であつた。

Escherichia coli 21株(図2)は TMP に対して0.4 mcg/ml の MIC のものが9株, 0.8が8株で, SMX に対しては20株が100 mcg/ml 以上(17株が500 mcg/ml 以上)で1株のみが25 mcg/ml であつた。

図2 MIC of TMP and SMX (Each alone)
(*E. coli* and *Proteus*)



Proteus 7株(図2)のTMPに対するMICは12.5~0.8mcg/mlの間にあり, SMXには4株が500mcg/ml以上, 他の3株が12.5~25mcg/mlであった。

Klebsiella 27株(図3)のTMPに対する感受性は, そのうち11株が3.1mcg/ml, 9株が6.2mcg/mlで, すべてが0.8~12.5mcg/mlの間にあり, SMXには27株全部が50mcg/ml以上で, うち21株が500mcg/ml以上の耐性であった。

なお, TMPの濃度測定に適しているとされる *Bacillus pumilus* 6株のMICは(図3), TMPに対して0.05mcg/mlが3株, 0.025, 0.012, 0.006以下が各1株ずつで, SMXには5株が6.2, 1株が12.5mcg/mlであった。

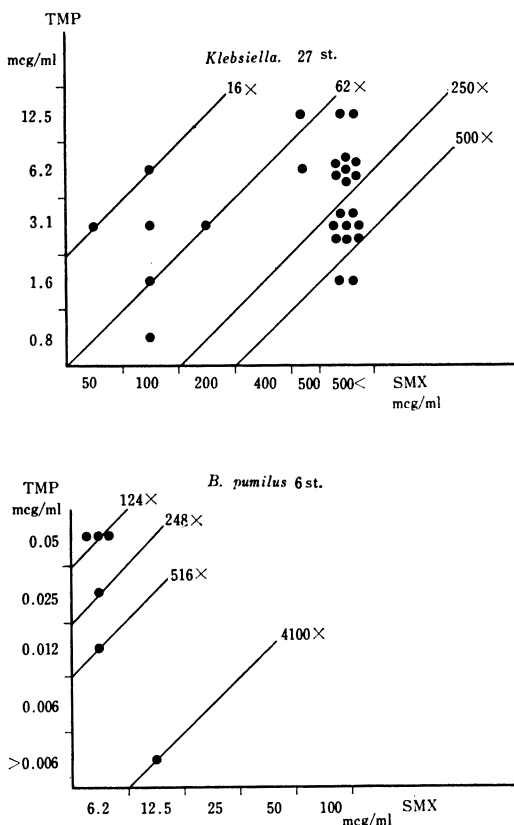
図1~3で, 斜線はSMXのMICとTMPのMICとの比を示す。

そのほか, 若干の体液中濃度測定用菌株の感受性は, 表3のように *Bacillus subtilis* 219株はTMPに0.1mcg/ml, SMXに6.2mcg/mlで, *Sarcina lutea*はTMPに0.025, SMXに0.4mcg/mlであった。

3) SMX, TMP各単独のMICの比をそれぞれ混合比とした合剤のMIC

表2, 3に示すように, SMX, TMPそれぞれ単独のときのMICから比率を算出し, その比率で混合した場

図3 MIC of TMP and SMX (Each alone)
(*Klebsiella* and *B. pumilus*)



合の合剤によるMICを測定した。なお, SMXのMICが500mcg/ml以上の場合は1000mcg/mlとして比率を算出した(ただし表中×印のものは, この比と異なる)。

Staphylococcus aureus (表2, 図4)について, 合剤のMIC(両者の濃度の合計)とTMP単独のMICとを比較すると, ほとんどすべてが前者のほうが高い。*Klebsiella*, *Proteus*, *Escherichia coli* (表3, 図5)でも同様, 合剤のほうがTMP単独よりMICが高い。

次に, これら合剤のMICをSMX単独MICと比較すると, *Staphylococcus aureus*については(図6)混合の方が3段階以上低いMICを示し, *Klebsiella*, *Proteus*, *Escherichia coli*については(図7), 混合の場合でも100mcg/ml以上のものが多いが, やはり混合のほうが数段階低い傾向が見られる。

以上のようにSMXとTMPとの混合の場合, 両剤の合計濃度であらわしたMICは, SMX単独のMICよりも著しく低く, TMP単独よりは高い傾向がみられる。この場合, TMPの合剤中濃度は一般に極めて少量

表2 MIC

Staph. aur.

No.	SMX	TMP	Ratio	ST	No.	SMX	TMP	Ratio	ST
F 2.	500<	0.8	1250	100	#11.	50	0.4	125	3.1
F 3.	500<	1.6	625	100	#12.	400	0.4	1000	25
F 5.	500<	3.1	320	3.1	#13.	3.1	0.05	62	0.2
F 8.	500<	3.1	320	50	#14.	100	0.8	125	25
F 9.	500<	0.8	1250	50	#15.	100	0.8	125	12.5
F10.	500<	0.8	1250	50	#17.	100	0.4	62	100 ×
F11.	500<	0.8	1250	50	#18.	100	0.8	125	3.1
F13.	500<	1.6	625	25	#20.	100	0.8	125	3.1
F15.	500<	1.6	625	50	#23.	500	0.4	1250	100
# 2.	500	0.8	625	50	#26.	1.6	0.025	64	0.025
# 4.	500	0.8	625	50	#28.	500<	0.8	1250	100
# 5.	500<	0.8	1250	50	#31.	500	0.8	625	50
# 6.	500	0.8	625	25	#34.	500<	0.8	1250	100
# 7.	100	0.8	125	12.5	#35.	50	0.8	125	3.1×
# 8.	100	0.8	125	12.5	#36.	50	0.8	125	0.8×
# 9.	500<	0.8	1250	100	#37.	25	0.4	62	3.1
#10.	100	0.8	125	12.5	#38.	25	0.4	62	3.1
209P.	25	0.8	62	3.1×	#39.	100	0.8	125	0.8

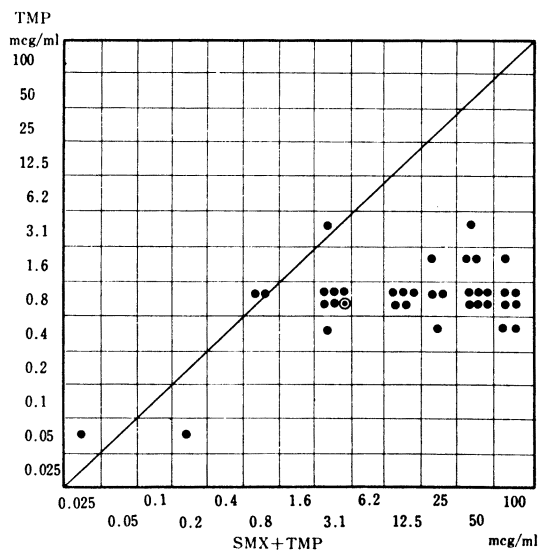
F : 藤沢薬品より入手した菌株

: 関西医大中検の菌株

図4 MIC of TMP alone and SMX-TMP
(Mixed at the ratio of each MIC)
(Staph. aur.)

TMP : SMX+TMP

Staph. aur. 36 st. (209P : ●)



であるから、SMX 単独の MIC と、合剤の MIC 中 SMX 量を算出した値との比較を行なつても、上記の成績と大差はない。

TMP 単独の MIC と、合剤 MIC 中の TMP 量を計算した値との比較を行なうと、図8のように、1株を除き、すべて合剤にしたほうが TMP は3, 4段階以上の少量で菌の発育を阻止する。

4) SMX と TMP を 20 : 1 に混合した場合の MIC

以上の成績は SMX と TMP とをそれぞれ単独時の MIC の比率から混合比を決めて混合した場合のものであるが、混合比を一律に 20 : 1 に統一して行なつた成績は次のとおりである。この場合、合剤の MIC は両者の濃度の合計で表わす。

Staphylococcus aureus 56株については(図9), 合剤の MIC は 3.1 mcg/ml が29株, 1.6 mcg/ml が11株, 0.8 mcg/ml が8株で、TMP 単独の MIC にくらべて1段高いもの9株, 2段高いもの18株, 3段高いもの13株で、合剤の方が低いのは5株にすぎず、両者一致するのが11株であつた。なお、*Staphylococcus aureus* 209-P (●印) は TMP 単独で 0.8 mcg/ml, SMX 単独で 25 mcg/ml, 20 : 1 の混合で 1.6 mcg/ml であつた。

Klebsiella 26株は(図10), 20 : 1 合剤の MIC はすべてが 3.2~50 mcg/ml の間にあり、TMP 単独の MIC より低いものが2株、一致するもの5株、1段高いもの

表3 MIC

*Klebsiella**E. coli*

No.	SMX	TMP	Ratio	ST	No.	SMX	TMP	Ratio	ST
F 4.	500<	12.5	80	50	63.	500<	0.8	1250	100<
F 5.	500<	1.6	625	100<	64.	500<	0.8	1250	100<
F 6.	500	12.5	40	6.2	66.	500<	0.8	1250	100<
F 7.	500<	3.1	320	100<	68.	500<	0.8	1250	12.5
F 9.	500	6.2	80	6.2	70.	500<	0.8	1250	100<
F10.	500<	3.1	320	100<	74.	500<	0.8	1250	100<
F11.	500<	3.1	320	100<	78.	500<	3.1	320	100
F12.	500<	3.1	320	100<	573.	100	0.8	125	1.6
F14.	500<	3.1	320	100<	<i>Proteus</i>				
F16.	500<	1.6	625	100<	2.	500<	3.1	320	100<
F19.	500<	3.1	320	100<	6.	500	12.5	40	100
#1.	100	0.8	125	12.5	7.	500<	3.1	320	100<
#3.	500<	3.1	320	100<					
#7.	500<	12.5	80	100<					

F: 藤沢薬品より入手した菌株

#: 関西医大中検の菌株

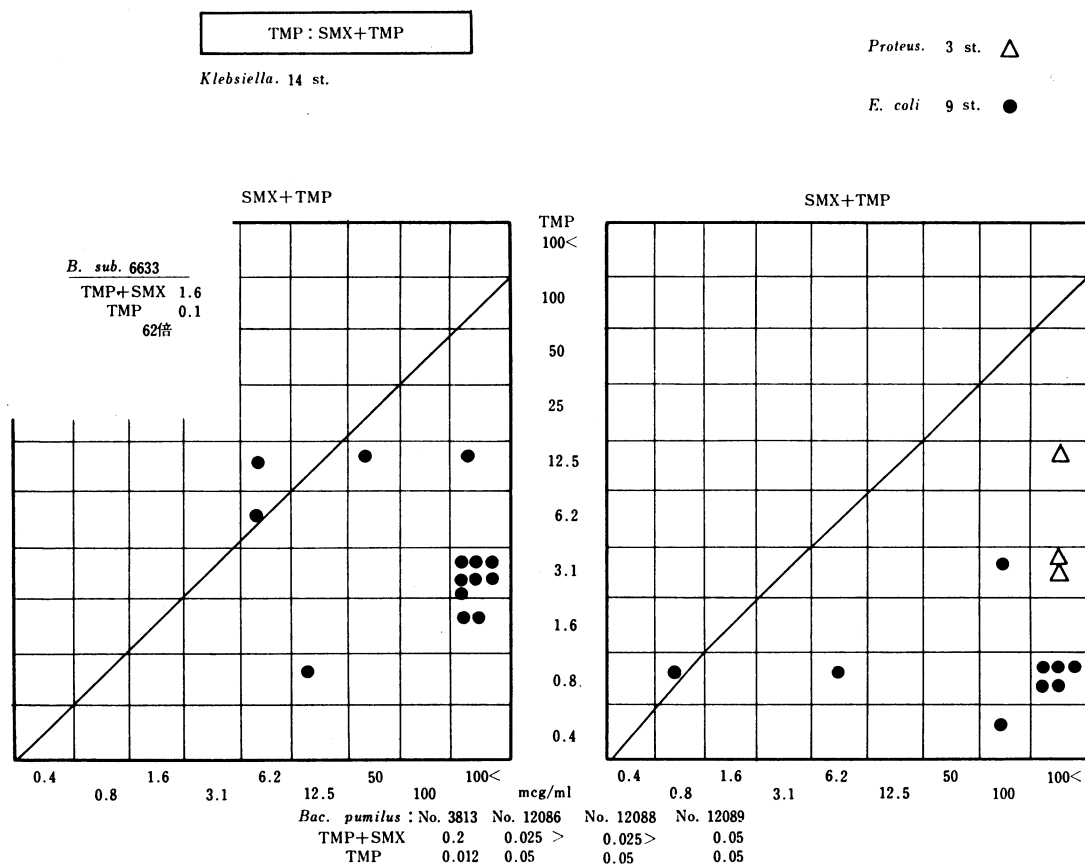
図5 MIC of TMP alone and SMX-TMP (Mixed at the ratio of each MIC) (*Klebsiella*, *Proteus* and *E. coli*)

図6 MIC of SMX alone and SMX-TMP
(Mixed at the ratio of each MIC)

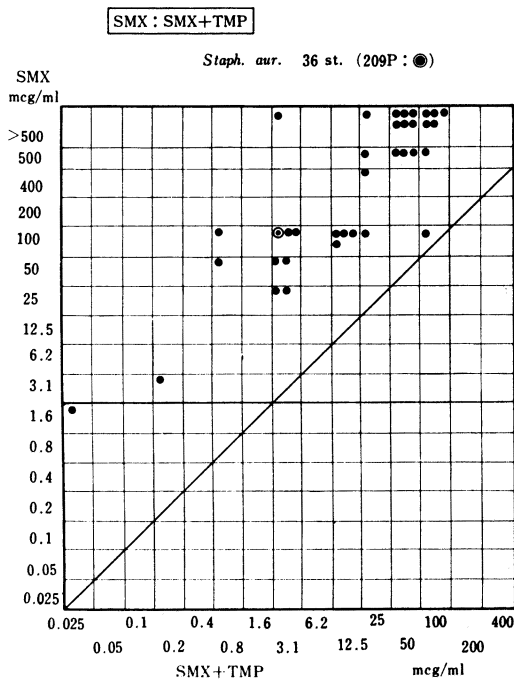


図7 MIC of SMX alone and MIC of SMX-TMP
(Mixed at the ratio of each MIC)

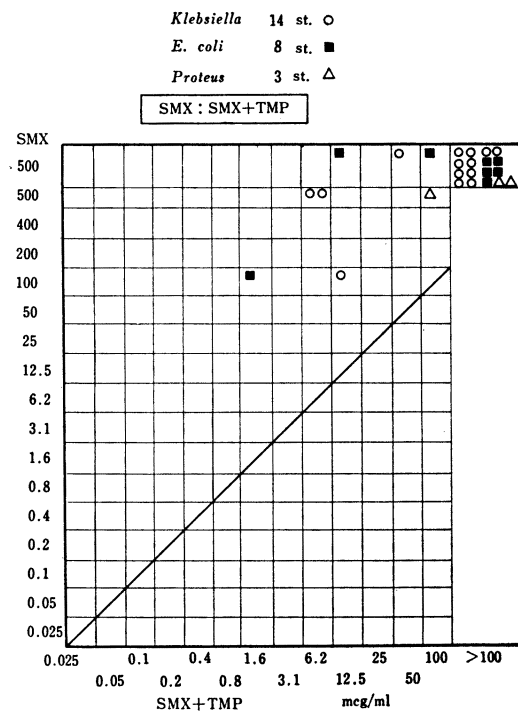


図8 MIC of TMP alone or in mixture

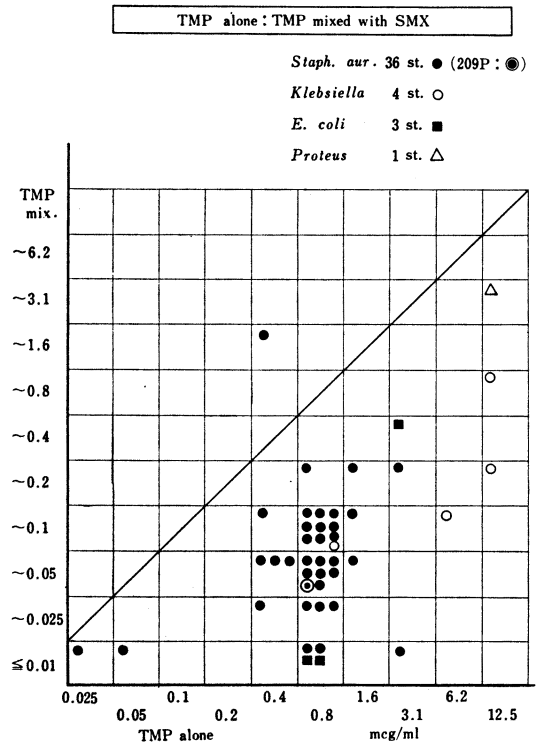


図9 MIC of TMP and SMX-TMP (20 : 1)
(*Staph. aur.*)

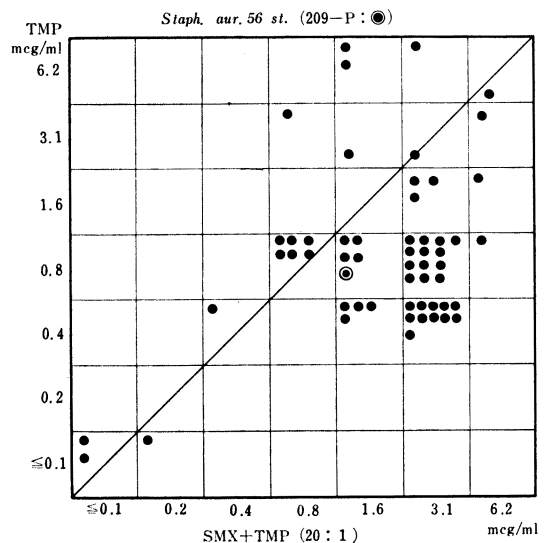
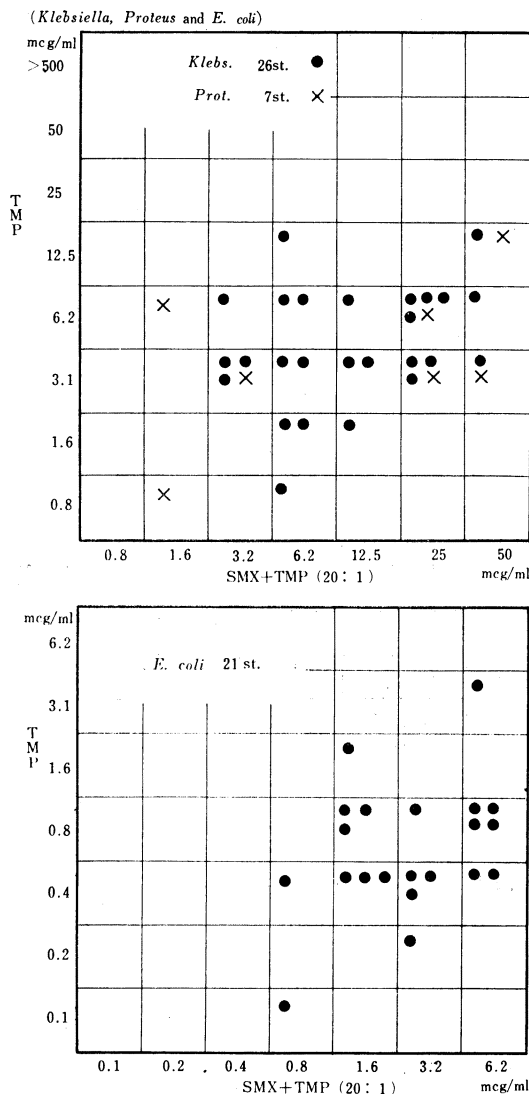


図10 MIC of TMP and SMX-TMP (20:1)



3株, 2段高いもの9株, 3段高いもの5株, 4段高いもの1株であった。

Proteus 7株でも(図10) 1株を除いてTMP単独の場合よりMICが高くなり, 4株が25~50mcg/ml, 3株が1.6~3.2mcg/mlであった。

Escherichia coli 21株では(図10), TMP単独のMICよりも1株を除いてすべてMICが高くなる。

以上のように, 20:1混合時のMIC(両者濃度の合計で表わす)はTMP単独のMICよりも大多数の菌株で高い。この場合にも, 上記3)の実験の場合と同様, 合剤中のTMP量で比較すれば, TMP単独のときよりも全株について抗菌力の著明な増強がみられるということが出来る。すなわち, TMPの抗菌力がSMXの添加によって著しく強力となるということを実証する成績である。

III TMPの体液中濃度測定についての検討

ST合剤を内服した場合の血液, 尿その他体液中濃度の測定には, 両者を別々に測定せねばならず, TMPの生物学的測定にはSMXをパラアミノ安息香酸(PABA)で不活化する必要がある。

われわれはこれについて若干の検討を行なった。

方法: a) 測定法——帯培養法⁸⁾

b) 検定菌——*Bacillus pumilus* 3813 (MICはTMP 0.012, SMX 6.2, 20:1の合剤 0.05mcg/ml)

c) 培地——heart infusion agar

d) 検定菌液の調製——ブイオン10mlに2白金耳の検定菌を18~20時間培養し, その1mlをheart infusion agar 10mlに混合し, 測定板に流した。

e) PABA混合培地の調製——PABAを1/8NのNaOHで溶解して10mg/ml溶液とし, 培地のPABA含有量が100, 250, 500mcg/mlとなるようにheart infusion agarに混じた。この場合, PABAの量が多くなるにつれて培地のpHはアルカリ側に傾く。すなわちPABA 500mcg/mlの培地のpHは8.2, 250mcg/mlのものは7.8, 100mcg/mlのものは7.6(非含有培地は7.2)であった。

f) 標準薬剤溶液の調製——TMPは少量の4/100N HClで, SMXは少量の1/8N NaOHで溶解し, これらを磷酸緩衝液(1/10N, pH 7.2)で希釈し, TMP 200mcg/mlの溶液とSMX 8000mcg/mlの溶液とを作り, 後者はさらに倍数希釈して4000, 2000, 1000mcg/mlの溶液を作り, これらを下記のように混合して標準液を作り, 阻止帯の長さを比較検討した。この場合, SMXの量が多くなるほど標準液のpHはアルカリ側に傾く。

混合比	使用原液(各1mlづつ)	希釈倍数			
		1×	2×	4×	8×
40:1	SMX 8000mcg/ml	100	50	25	12.5
	TMP 200mcg/ml				
20:1	SMX 4000mcg/ml	100	50	25	12.5
	TMP 200mcg/ml				
10:1	SMX 2000mcg/ml	100	50	25	12.5
	TMP 200mcg/ml				
5:1	SMX 1000mcg/ml	100	50	25	12.5
	TMP 200mcg/ml				

成績: 図11のように, PABAを加えない培地ではSMXの量が多いほど阻止帯は長い。図12はPABA 200mg/L含有培地での成績で, SMXの量による阻止帯の差は縮小しているが, 10:1以上ではなおTMP単独の場合とかなりの差がある。図13のようにPABA 700mg/Lではよく一致する。図14はPABAの含有量が

図 11 Length of inhibition zones produced by mixtures with different amounts of SMX

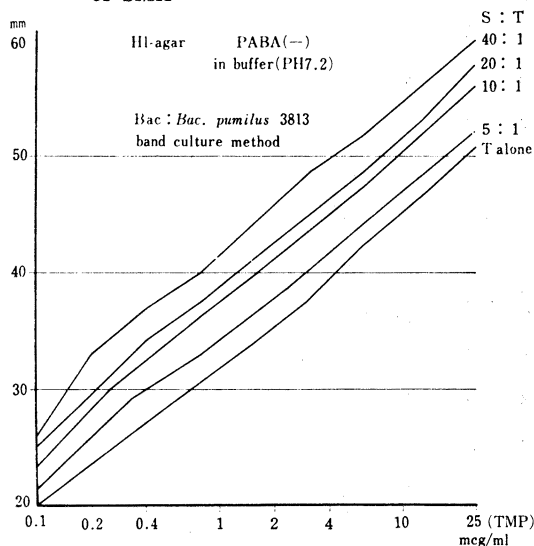


図 12 Length of inhibition zones produced by mixtures with different amounts of SMX in HI agar with 200mg/L PABA

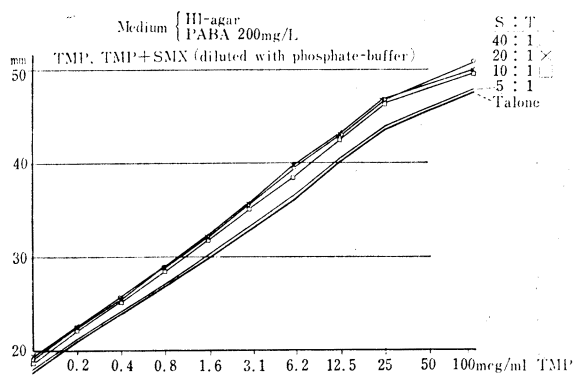


図 13 Length of inhibition zones produced by mixtures with different amounts of SMX in HI agar with 700mg/L PABA

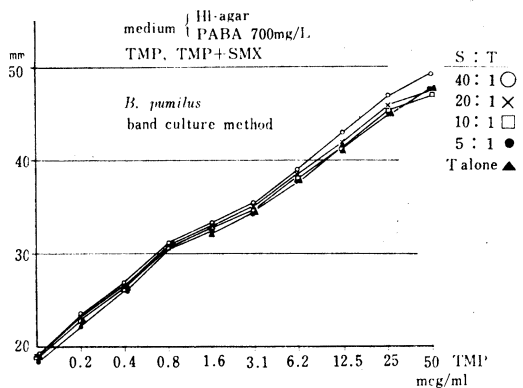
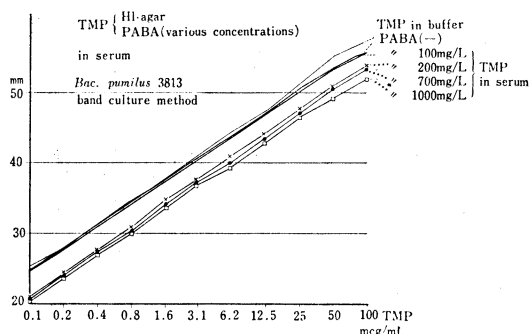


図 14 Length of inhibition zones produced by TMP serum solutions in HI agar with different amounts of PABA



100, 200, 700, 1000mg/L の培地について、TMP 単独の血清希釈液の阻止帯を見た成績であるが、PABA の量が多いほど TMP の阻止帯が短縮することを示している。

このように、ST 合剤投与後の体液中濃度測定には、種々の問題があり、PABA の量（培地の pH に対する影響を含めて）、標準液の混合比など、因子の数多くて複雑である。

ST 合剤投与後のヒトの血清、尿、ウサギの血清について TMP 量の測定を試みたが、どの標準液を用いるかにより、また PABA の含有量をいかにするかによってその測定値は大きく変動した。その際に判明したことは、血清では PABA 100mcg/ml 含有培地ですでに測定値が低くなるが、尿（緩衝液で 20 倍希釈）では 500mcg/ml の PABA ではじめて測定値が落ちる。これは尿中の SMX 濃度が高いためかと考えられる。また、ウサギ血清は PABA 含有培地ではとくに阻止帯の境界がぼける傾向があり、ことに PABA が多いほどこのことが顕著であつたという事実である。

IV 臨床成績

ST 合剤（5:1 の合剤、1錠中 SMX 400mg, TMP 80mg 含有）を、35 例の症例に使用した（表 4）。その症例は、気道感染 16 例（急性扁桃炎 3、慢性扁桃炎 2、咽喉炎 2、肺炎 1、急性気管支炎 2、慢性気管支炎 6）、尿路疾患 9 例（尿管結石を持つ腎盂膀胱炎 1、膀胱炎 2、急性腎盂腎炎 5、慢性腎盂腎炎 1）、急性大腸炎 2 例、リンパ節炎 2 例、トキソプラズマ症 2 例、その他、下腿静脈炎、外耳癰、歯齦炎、感冒の各 1 例、計 35 例である。1 回量 2 錠を朝夕 2 回、計 4 錠とし、投与日数は 3～23 日である。

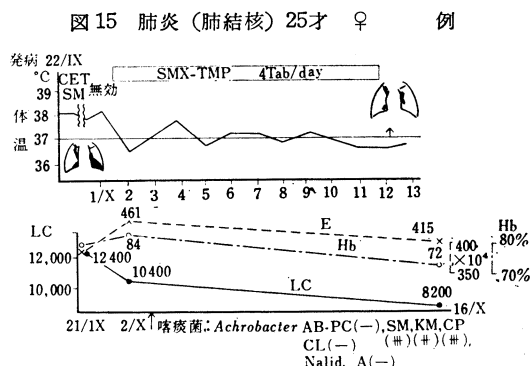
有効と判定されたのは急性扁桃炎 3 例、急性気管支炎 1 例、慢性気管支炎 4 例（うち、やや有効 2 例）、肺炎

表4 Clinical trials

	氏名	年齢	性	病名	投 1日	与 日数	量 総量	効 果	副 作 用
1		27	♂	急性扁桃炎苔(+)	2T×2	8	32T	有	—
2		48	♂	急性扁桃炎	2×2	4	16	有	—
3		24	♂	急性扁桃炎	2×3	4	24	有	—
4		26	♀	慢性扁桃炎 甲状腺機能亢進症	2×2	3	12	—	食思不振
5		24	♂	慢性扁桃炎	2×2	8	32	—	—
6		28	♂	急性咽頭炎	2×3	4	24	一再	—
7		43	♀	慢性咽頭炎	2×2 2×3	15 7}	102	—	口角炎 舌炎
8		78	♂	急性気管支炎	2×2	3	12	有	—
9		45	♂	急性気管支炎	2×3	4	12	来院せず 不明	—
10		39	♀	慢性気管支炎	2×2	8	32	有	—
11		26	♀	慢性気管支炎	2×2	4	16	やや有	—
12		34	♀	慢性気管支炎	2×4	9	72	やや有	—
13		74	♂	慢性気管支炎	2×3	4	24	不明	—
14		27	♀	喘息様気管支炎	2×2	9	36	有	—
15		74	♀	慢性気管支炎	2×2	7	28	—	—
16		25	♀	肺炎	2×2	11	44	有	(貧血?)—
17		21	♂	感冒	2×2	5	20	?	—
18		24	♀	急性腎盂腎炎	2×3	10	60	有	—
19		31	♀	急性腎盂腎炎	2×2	7	28	有	(貧血?)—
20		21	♀	急性腎盂腎炎	2×3	11	66	有	—
21		51	♀	急性腎盂腎炎	2×2	7	28	有	—
22		29	♀	急性腎盂腎炎	2×2	10	40	有	—
23		61	♀	慢性腎盂腎炎	2×2	使用中		有	—
24		21	♀	腎盂膀胱炎(尿管結石(+))	2×2	5	20	有	—
25		27	♀	膀胱炎 貧血	2×2	10	40	有	—
26		22	♀	膀胱炎	2×2	5	20	有	—
27		22	♀	急性大腸炎	2×3	4	24	有	—
28		72	♂	急性大腸炎	2×2	7	28	—	—
29		39	♂	右下腿静脈炎	2×3	8	48	有	—
30		32	♀	急性外耳癰	2×3	3	18	? 自潰	—
31		20	♀	リンパ節炎(両顎下)	2×3	23	138	有	胃痛, 嘔気, 舌炎
32		22	♂	リンパ節炎(両顎部)	2×2	2	8	?	—
33		35	♂	中心性網膜炎(疑トキシプラズマ)	2×2	使用中		?	食思不振
34		23	♀	中心性網膜炎(疑トキシプラズマ)	2×2	使用中		?	食思不振
35		30	♀	歯 齦 炎	2×2	5	20	有	—

1例, 急性腎盂腎炎5例, 膀胱炎2例, および慢性腎盂腎炎, 結石を伴う腎盂膀胱炎, 急性大腸炎, 下腿静脈炎, リンパ節炎, 歯齦炎の各1例, 計22例である。判定不能の例が7例あるが, このうちトキソプラズマ症の2例は投与後血清抗体価の低下を認めたが臨床効果を認めるには至らなかったものである。無効と判定されたのは6例(慢性扁桃炎2, 急性咽頭炎1, 慢性咽頭炎1, 慢性気管支炎1, 急性大腸炎1)であつた。今, かりに判定不能例を除いて全症例についての有効率を算出するならば, 27例中22例有効で81.5%となる。以上の症例は重症例が少なく, 重症例に対する効果を云々するに至らないが, これらの症例について見る限り, 満足すべき成績と考えられる。

図15に, 肺結核のある患者に起つた急性肺炎が本合剤の投与によつて順調に治癒した経過を示す。



副作用と考えられるものとして, 20日間以上投与した2例に舌炎および口角炎, あるいは舌炎と胃痛, 嘔気をきたした。これは本剤が, 異なる点で葉酸代謝を阻害する2剤の合剤であることから予期しうる副作用であり, 長期連用に際しては注意すべきであろう。そのほか3例に食思不振をみた。本剤には上記と同じ理由から, また, サルファ剤を含むことから, 血液障害をきたす可能性がある。われわれの症例でも2例に投与後若干の貧血をみた例がある(うち1例は図15の例)が, これらは感染性貧血として説明できるものであつた。しかし, 将来, 本剤が普及する場合には血液障害についても注意する必要があると考えられる。

V 総 括

SMX と TMP との合剤について基礎的ならびに臨

床的な検討を行なつた。その結果を総括すると次のようである。

- 1) SMX と TMP とを混合すると, それぞれ単独の場合よりも試験管内抗菌力が増強され, 多くの場合, 著明な相乗効果がみられる。
- 2) SMX と併用の場合, TMP の体液中濃度の生物学的測定には, PABA を培地に加える必要があるが, これについては種々問題が多い。
- 3) 臨床例に本合剤を使用し, 高い有効率を得た。ただし, 長期連用する場合には副作用に注意する必要がある。

文 献

- 1) HITCHINGS, G. H. *et al.*: Adv. Enzym, Biochem. 27: 417, 1965
- 2) DARRELL, J. H. *et al.*: Trimethoprim: laboratory and clinical studies. J. Clin. Path. 21: 202, 1968
- 3) BUSHBY, S. R. M. *et al.*: Trimethoprim, a sulphonamide potentiator. Brit. J. Pharm. Chemoth. 33: 72, 1968
- 4) BÖHNI, E.: Vergleichende bakteriologische Untersuchungen mit der Kombination Trimethoprim/Sulphamethoxazol *in vitro* und *in vivo*. Chemotherapy, Suppl. 14: 1, 1969
- 5) REEVES, D. S. *et al.*: Trimethoprim-sulphamethoxazole: comparative study in urinary infection in hospital. Brit. Med. J. 5643: 541, 1969
- 6) HUGHES, D. T. D. *et al.*: Trimethoprim and sulphamethoxazole in the treatment of chronic chest infections. Chemotherapy 14: 151, 1969
- 7) BLOEDNER, C. D.: Die Behandlung akuter Schübe der chronisch rezidivierenden Bronchitis mit Ro 6-2580. Chemotherapy, Suppl. 14: 44, 1969
- 8) 大久保 潤: 内科宝函 2: 906, 1955

FUNDAMENTAL AND CLINICAL STUDIES ON TRIMETHOPRIM COMBINED WITH SULFAMETHOXAZOLE

HIROSHI OKUBO, YURUKO OKAMOTO and JUNKO MAKINO

First Department of Internal Medicine, Kansai Medical School

1) The *in vitro* anti-bacterial activity of trimethoprim (TMP) against clinically isolated organisms (*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, *Proteus* and *Escherichia coli*) was found to be markedly intensified by the coexistence of sulfamethoxazole (SMX).

2) Some studies were made on the biological assay of TMP using the "band culture method" (test organism: *Bacillus pumilus*). PABA added to the assay media in order to eliminate the activity of coexistent SMX was found to affect the length of the inhibition zones produced by TMP.

3) Clinical trials: Thirty-five cases, including 16 of respiratory tract infections, 9 of urinary tract infections, two each of toxoplasmosis, colitis and lymphadenitis, one each of phlebitis, oto-furuncle, gingivitis and common cold, were treated with SMX-TMP combination product (2 tab. $\times$ 2 daily, each tablet containing 400 mg SMX and 80 mg TMP). The treatment yielded satisfactory results in 9 cases of respiratory tract infections, 9 of urinary tract infections as well as in 4 of the remainder; while it failed in 6 cases. The clinical results were undeterminable in 7 cases, although, in two toxoplasmosis cases among them, antibody titer of their sera lowered after the treatment.

As for the side effects of the drug, glossitis and perleche were found in two patients who received the treatment more than 20 days. Three complained of anorexia. Although two patients showed anemia after the treatment, it was explainable as due to the infection.