

Sulfamethoxazole-Trimethoprim 合剤の小児科領域における基礎的・臨床的検討

藤井良知・紺野昌俊・生方公子

帝京大学医学部小児科

この数年来, sulfamethoxazole と trimethoprim の合剤についての基礎的, 臨床的検討が海外の文献に多くみられている。その配合理由としては, 本来葉酸合成を阻害する sulfamethoxazole (以下 SMX と略する) と葉酸還元酵素を阻害する trimethoprim (以下 TMP と略す) とを配合することによって細菌の生存に必要な葉酸代謝経路を二重に阻害して抗菌力の相乗的増大をはかるのであるという^{1, 2)}。

最近, 私達も, この合剤について検討する機会を得たので, 小児科領域に関係を有する基礎的, 臨床的の検討成績について報告する。

抗 菌 力

まず, 小児の膿胸および急性気道感染症より分離したコアグラゼ陽性ブドウ球菌 50 株と小児の急性消化不良症の糞便より分離した大腸菌 48 株の SMX と TMP

図1 臨床分離 *Staph. aureus* 50株における
TMP, SMX の MIC 分布

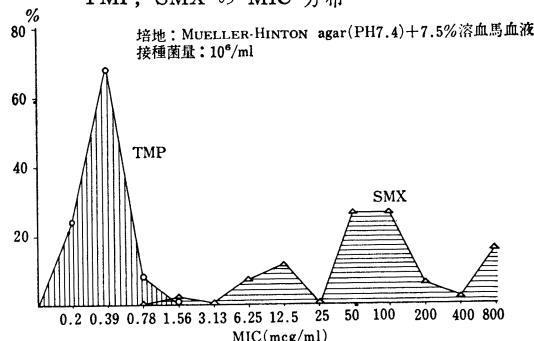
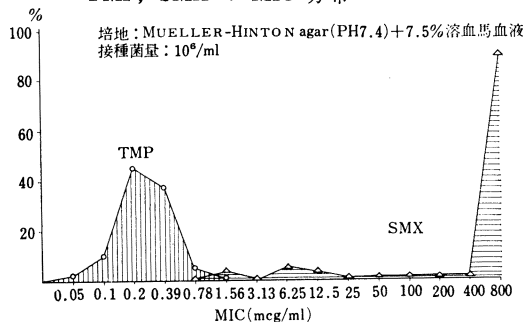


図2 臨床分離 *E. coli* 48株における
TMP, SMX の MIC 分布



に対する感受性を ST 合剤研究会, MIC 測定法のための委員会³⁾にしたがつて測定した。測定結果は図 1, 2 に示したとおりである。すなわちブドウ球菌では TMP に対する感受性は大部分の菌は 0.39 mcg/ml で, ほぼ, その両側に正規分散する分布を示している。本菌に対する SMX の MIC は約半数の株では, 50~100 mcg/ml の所に分布を示しており, その他にそれぞれ 1.56 mcg/ml, 12.5 mcg/ml および 800 mcg/ml またはそれ以上に MIC を示す株も存在していた。大腸菌に対する TMP の MIC では 0.2~0.39 mcg/ml の株が大部分である。SMX は, ほとんどの菌に対して 800 mcg/ml 以上の MIC を示しており, その他に 1.56 mcg/ml, 6.25 mcg/ml 付近の MIC を示す株がごく少数あつた。

次に, 試験管内抗菌力の相乗効果をみる目的で, 表 1 に示すような SMX と TMP が種々の濃度で含有された培地を作り, その上に抗菌力測定の際と同様の方法で, 前記のブドウ球菌 50 株と大腸菌 48 株を接種して, そこに発育した菌の株数を集計した。この成績によると SMX または TMP 単独では菌の発育が認められた濃度でもそれぞれに MIC 以下の濃度の TMP または SMX を配合すると発育が抑制される菌株が多い。すなわち試験管内では相乗効果があるものと理解される。

なお判り易くするために上記の成績をまとめると図 3, 4 のようになる。ブドウ球菌, 大腸菌とも SMX に対する MIC で大別すると A, B, C の 3 群に分けるこ

図3 SMX, TMP 両剤の種々の濃度段階における
発育阻止パターン

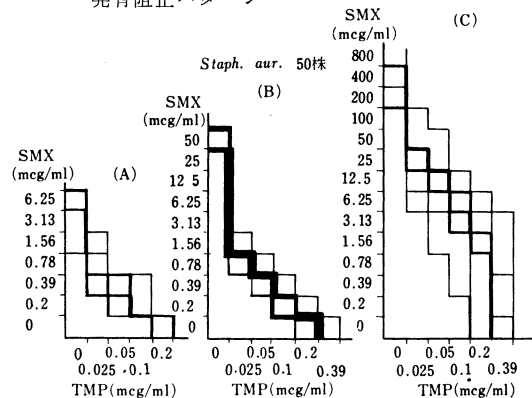
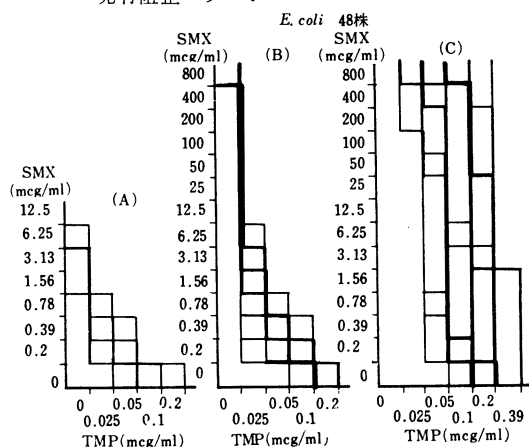


表1 SMX, TMP 両薬剤の種々の濃度段階における発育阻止効果
 培地: MUELLER-HINTON agar (pH 7.4)+7.5%溶血馬血液 接種菌量: 10^6 /ml
Staph. aur. 50株 *E. coli* 48株

SMX (mcg/ml)	800	400	200	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.2	0
TMP (mcg/ml)	0	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39								
4														
9														
10														
13	1													
26	1	1												
39	8	1												
39	11	8	1											
45	12	11	6	1										
49	13	12	9	2	1									
49	16	12	12	7	1									
50	35	15	13	10	1									
50	45	37	17	11	2									
50	49	48	30	12	2									
50	50	50	50	38	4									

SMX (mcg/ml)	800	400	200	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.2	0
TMP (mcg/ml)	0	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39								
37														
23														
15														
7														
2														
42														
26														
20														
15														
3														
42														
27														
22														
15														
3														
42														
27														
23														
15														
7														
44														
28														
23														
16														
7														
47														
31														
23														
17														
8														
47														
35														
24														
17														
10														
2														
48														
38														
26														
17														
10														
2														
48														
43														
33														
18														
10														
2														
48														
45														
38														
25														
10														
2														
48														
48														
47														
42														
20														
2														

図4 SMX, TMP 両剤の種々の濃度段階における発育阻止パターン



とができ、3群とも SMX 単独で菌の発育を阻止する濃度よりはるかに低い濃度で TMP を配合することにより菌の発育を阻止しているが、C群の場合には相乗効果はあるというものの、その有効濃度は生体内で達し得る活性濃度よりは、かなり高い濃度であると考えられ、これらの菌に対しても、臨床的に有効であることは、考え難い面も存在する。

SMX と TMP の相乗効果を殺菌効果の上から確かめる目的で、SMX と TMP が種々の濃度に配合された液体培地を作製して、その中に菌を接種し、37°C で培養、経時的に菌数を測定した。図5、6にはブドウ球菌の増殖曲線を示す。液体培地として Mueller-Hinton broth (Difco) に7.5%の溶血馬血液を加えたものを使用した。肉眼による菌の増殖で判定すると、図に示すように寒天培地上に判定したものとの間に大きな差を生ずる。このような現象は、抗菌性物質、殊に静菌的作用の強い物質におけるこの種の実験でよくみられる現象であるが、接種菌量をもつと減少しても、ほぼこれに

図5 *Staph. aureus* (No. 3644株) の増殖曲線

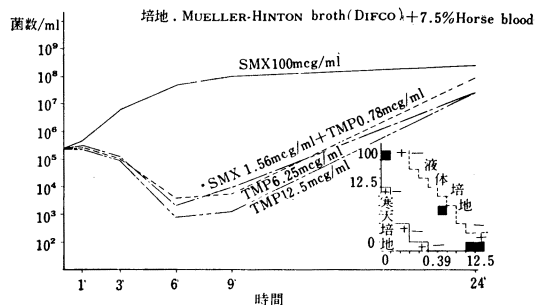
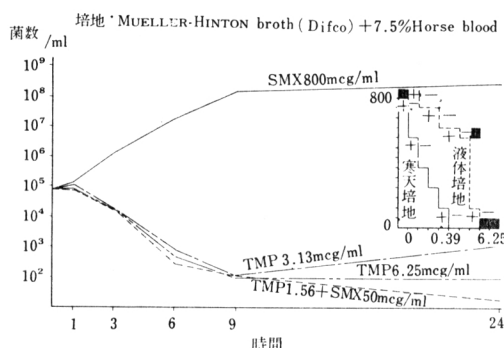


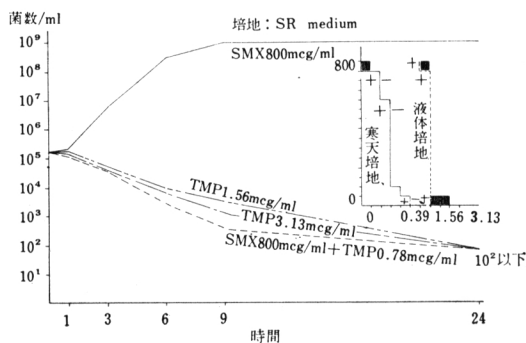
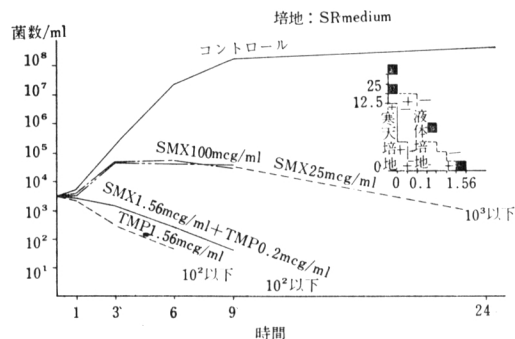
図6 *Staph. aureus* (No. 144株) の増殖曲線

近い成績が得られることから考えると、SMX, TMP 両物質の殺菌作用はそれ程強いものとは思われない。ことにTMPの抗菌力は実験に用いた *Staphylococcus aureus* No. 3601, No. 3644 株寒天培地上では 0.39 mcg/ml のMICを示したが、液体培地上ではNo. 3601株は3.13ないし6.25 mcg/mlで菌の発育がかなり阻止されているのに対し、No. 3644株では12.5 mcg/ml以上の濃度でも菌の発育をみており、前者の菌は、SMXに対しては800 mcg/mlと耐性であり、後者の菌はSMXに対しては12.5 mcg/mlと感性であることをあわせ考えると、SMX耐性菌と感性菌の栄養要求性ないしは酵素系の相違によるものと考えられ、興味ある現象である。

このような現象は、図7, 8に示した大腸菌の際にも、ほぼ類似してみられている。

いずれにしても、このような現象は見られるとはいうものの、図に黒くぬりつぶした濃度でしらべた経時的な菌の増殖曲線の上では両者の配合は、単独で作用させた濃度より低濃度で、かなりの殺菌効果は認められている。

寒天培地と液体培地上における菌の発育に著明な差が生じたことから、大腸菌の増殖曲線をしらべるにあたっては、SMXに対する拮抗物質が少ないといわれるSR medium (Difco) を使用したが、ブドウ球菌の場合と

図7 *E. coli* (No. 144-1株) の増殖曲線図8 No. 114-1株 (*E. coli*) の増殖曲線

ほぼ同様の成績であつた。

ちなみに、大腸菌の形態変化を電子顕微鏡下で観察したが、写真1に示したような実験条件下では、作用させる濃度が低かつたためもあると考えられるが、菌は変形、膨潤化し、辺縁の不整は認められるものの、細胞壁、細胞膜、リボゾーム等に特に著明な変化は認められなかつた。

写真1



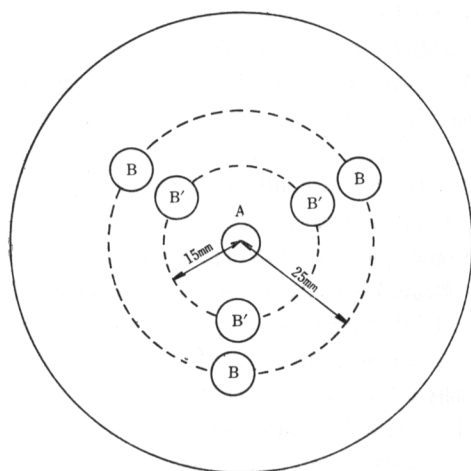
大腸菌 (MIC=SMX: 6.25 mcg/ml, TMP: 0.1 mcg/ml) を SMX: 0.2 mcg/ml, TMP: 0.025 mcg/ml (寒天平板培地上で最も強く相乗効果がみられた濃度) で6時間処理後のもの

体内濃度

SMXの体内濃度測定には、従来、化学的定量が慣用されていた。TMPについても生物学的定量に関する報告^{2,4)}はあるものの、多くは化学的定量法が用いられている。しかしながら、化学的定量は生体内の抗菌活性物質のみを測定しようとする際には、多くの批判を受ける。しかも血液の大量を必要とするような測定法は、小児科領域では臨床における検査法とはなり得ない。そこで、まず少量の試料で、生物学的活性のみを測定する方法を考案した。

方法は図9に示すとおりで、培地中の寒天が1%とな

図9 ディスク法



培地：MUELLER-HINTON agar(栄研) 25g
 MUELLER-HINTON broth(Difco)10.5g
 Aq. dest 1000ml
 溶血馬血液(遠沈後溜水処理) 5.0%
 菌接種後 5mlを直径9cmのシャーレに分注
 ディスク A：PABA 400mcg/ml
 BまたはB'：TMP, SMXの検体
 各々pH7.0のBuffer希釈のもの
 0.04mlを含有さす

るように MUELLER-HINTON agar (栄研) と MUELLER-HINTON base (Difco) とを混ぜ、溶血馬血液を5%の割合に混入し 45°C~50°C に保つて、検定菌を 10^5 /ml になるように接種し、培地 5ml をシャーレに分注する。それに滅菌したディスク A に 400mcg/ml の PABA をゼーリー用メランデュールで 0.04ml 含有させたものを培地の中心に置き、B または B' の位置に検体を同様に浸みこませたディスクを置いて 37°C 18時間培養後、B または B' の両側に出来る阻止円を A の中心から B の中心を結ぶ直線上で測定する方法である。

検定菌として、*Bacillus pumilus* IFO 3813 を使用し、検体として、SMX, TMP を前記 MIC 測定法のための委員会案³⁾ によつて溶解し、その後 pH 7.0 の buffer で希釈した液を種々の濃度で配合した液を作製して基礎的検討を行なつた。写真2にその実際の一例を示すが、B ディスクの辺縁より外側の阻止円までの長さは図10のようになる。すなわち、SMX の階段希釈濃度を基準として考えると、SMX の階段希釈濃度に TMP 0.1mcg/ml 含有させたものでは、TMP を含有しない SMX 単独の阻止帯の長さとはほとんど変わらず SMX 50mcg/ml から 0.2mcg/ml までほとんど直線的な関係を示す。

TMP 0.2mcg/ml 含有の際は、SMX 50mcg/ml から 1.56mcg/ml までは直線的な関係が認められるが、

写真2

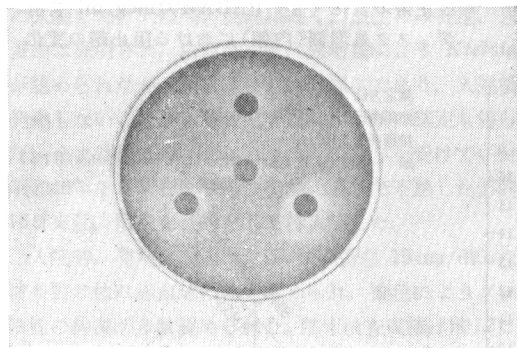
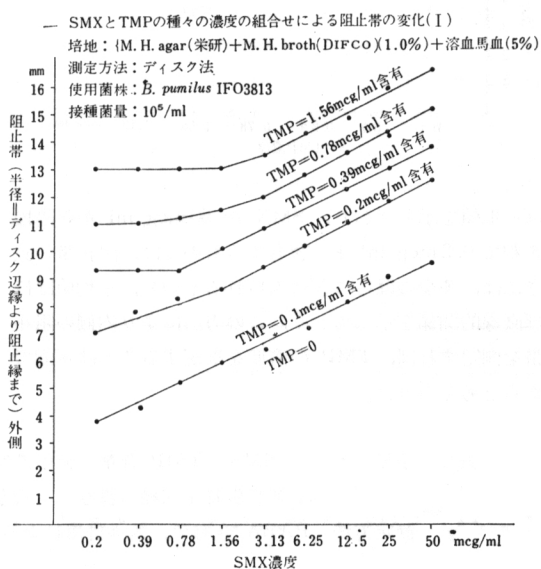


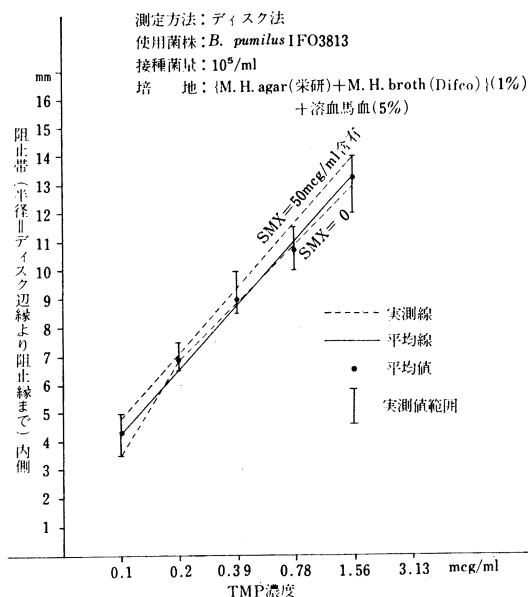
図10 SMX と TMP の種々の濃度の組合せによる阻止帯の変化 (I)



それ以下の濃度では、やや勾配がゆるやかになり、SMX より TMP の阻止帯の長さが優位に示される。このようにして含有する TMP の濃度を次第に増して行くと、たとえば TMP 0.39mcg/ml 含有のものでは SMX の活性濃度は 50mcg/ml から 0.78mcg/ml までの濃度で阻止帯の長さから推定することが出来る。TMP 0.78mcg/ml 含有の際は SMX 50mcg/ml から 3.13mcg/ml 程度までの濃度推定は可能であり、TMP 1.56mcg/ml 含有の場合もほぼ同様なことがいえる。

一方、SMX の拮抗物質である PABA の影響を受ける内側の阻止帯の長さは、図11に示すように、TMP の階段希釈濃度を基準として整理すると、SMX を含有しないものでも SMX を 50mcg/ml 含有するものでもほ

図 11 SMX と TMP の種々の濃度の組合せによる
阻止帯の変化 (Ⅱ) PABA 400mcg/ml 含有
ディスク処理側(内側)における阻止帯の変化



ば近似値を示しており, SMX を 50mcg/ml から階段希釈で 0.2mcg/ml まで含有するものでは, 阻止帯の長さには, 多少のばらつきはみられるものの, 平均値はほぼ直線の関係を示しており, この方法により内側の阻止帯を測定すれば, TMP の濃度を推定することは可能であると考えられた。

この方法を用いて実際に, 症例について測定した成績を示す (表 2)。8 歳の女児で *Klebsiella* による腎盂腎炎に罹患していた症例であるが, 腎機能には特に著明な異常は認められていない。投与量は SMX-TMP 合剤 (ST 合剤) 2 錠で, 2 錠中には SMX 800mg, TMP 160mg が含有されているもので, 早朝空腹時に経口投与した。血液は採血直後遠沈して血清を分離そのまま測定, 尿も時間をおかず pH7.0 の buffer で 10 倍, 100 倍, 1000 倍に希釈して測定した。

血中濃度をみると, SMX は投与後 4 時間で 8.0mcg/ml の最高値を示し, 12 時間後も 3.4mcg/ml の値を示した。TMP は 2 時間から 8 時間までの間で 0.74mcg/ml から 0.96mcg/ml とほぼ近似した値を示しており, 12 時間後も 0.57mcg/ml の活性値が認められた。

尿中への排泄量は SMX が 2 時間までで 0.3mg, 濃度として 150mcg/ml, 以後 40mcg/ml から 15mcg/ml 程度の濃度で排泄されており, 投与後 12 時間までの間に 8.4mg, 経口投与量の 1.05% が活性物質として排泄されたということになる。TMP はほぼ 10mcg/ml の濃度で 12 時間まで排泄されており, 合計では 12 時間まで 3.88mg, 投与量の 2.4% が活性物質として排泄されていることとなる。

これらの成績は, 従来, 動物, 成人等で主として化学定量を行なっていた成績とはかなり異なる値を示しており, ことに血中濃度に表示される SMX の値, 尿中における TMP の成績などは極めて低い値である。もう少し症例を増して検討しなければ明らかなことはいえないが, 別の実験でヒト血漿と尿, ならびにうさぎ血漿などの同

表 2 小児における SMX-TMP 合剤の血中濃度および尿中排泄量

早朝空腹時 1 回経口投与 投与量 SMX : 800mg, TMP : 160mg

測定方法 PABA 含有ディスク併用によるディスク法 SMX 濃度 = 推定値
TMP 濃度 = 実測値

血 中 濃 度

氏 名	性	年 令	薬剤名	投与量	血 中 濃 度 (mcg/ml)				
					2h	4h	6h	8h	12h
♀		8 歳	SMX	800mg	5.9	8.0	6.3	4.7	3.4
			TMP	160mg	0.85	0.96	0.74	0.83	0.57

尿 中 排 泄 量

氏 名	性	年 令	薬剤名	投与量	尿 中 排 泄 量 (上段: 排泄量 (mg) 下段: 濃 度 (mcg/ml))						
					2h	4h	6h	8h	10h	12h	合 計
♀		8 歳	SMX	800mg	0.3 150	0.3 40.0	1.7 15.6	0.6 16.0	4.4 40.0	1.1 15.6	8.4 1.05%
			TMP	160mg	0.02 9.4	0.07 10.0	1.43 13.0	0.32 8.0	1.10 10.0	0.91 13.0	3.88 2.4%

一検体について複数の施設で同時に種々の方法で測定したことがあるがその際の成績では、私達の成績は諸家とはほとんど一致する値を示したという経験を持つている。したがってこれが小児における特性なのか測定法の誤りなのか今後の課題であるが、化学的測定ではなく生物活性によって定量する意義を明らかにする必要がある。

臨床使用成績

ST合剤の臨床使用成績は海外の文献には、かなり多くみられるが、一般にサルファ剤の耐性菌が増加してサルファ剤の使用の可否が論ぜられている現在において、この合剤を使用することは、小児科領域ではことに慎重にならざるを得ない。このような考慮から、この合剤を使用し、生体内における抗菌力を証明出来るような症例を見出すことは必ずしも容易ではなく、十分に批判に耐え得る症例は1例にしかすぎなかつた(図12)。

以下にその症例の経過を記す。症例は体液内濃度を測定した症例で、8歳の女児である。

4カ月前より1カ月に2～3回の発熱を繰り返すという病歴を有しており、この間、原因不明のまま近医より chloramphenicol, tetracycline, aminobenzyl-penicillin, kanamycin などが投与されていた。これらの薬剤を投与すると4～5日で下熱するが、1週間前後で再

び発熱をくり返すことから昭和45年12月24日に東大分院に入院した。入院時、発熱はなく、血沈のみ促進、尿中蛋白は証明され、白血球少数、尿培養により *Klebsiella* が認められたが、菌数は 10^3 /ml 程度であり、入院後の発熱もないことから5日間で退院、診断の確定も得られないまま外来で nalidixic acid の投与を受けていた。昭和46年1月13日より再び発熱、3日で下熱したが同月18日来院、精査を目的として再入院した。

入院時、発熱はなかつたが、尿中蛋白 15 mg/dl、白血球多数の他に赤血球円柱も認められ、染色によりグラム陰性の桿菌が多数認められた。臨床検査成績は図12に示すとおりである。尿の定量培養では *Klebsiella* が 10^8 /ml 認められ、腎盂腎炎と診断された。培養の結果を待つて1月20日より ST 合剤を使用し、血中濃度、尿中濃度を測定すると同時に経時的に尿中 *Klebsiella* の動態を定量培養によりしらべた。この合剤の投与量は初回は 2 錠 (SMX 800 mg, TMP 160 mg 含有) でその後12時間毎に1錠ずつ投与した。投与開始後の経過は図12に示すとおりで、24時間後には菌は消失、尿沈渣所見も、投与開始後6日目ではほぼ正常に復し、投薬は14日で中止した。その他の臨床検査所見は図のとおりで BUN, GOT, GPT, 網状赤血球等に特に異常は認められなかつた。この症例はその後の再発をみていない。

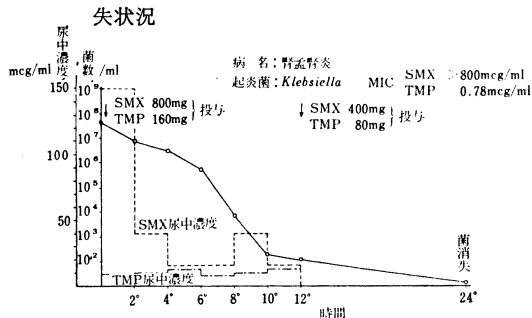
圖 12 ♀ 8 才 臨床診斷名 腎盂腎炎

現病歴：4ヶ月前より1カ月に2～3回
繰り返す原因不明の発熱

歴 日	18/	19/	20/	21/	22/	23/	24/	25/	26/	27/	28/	29/	30/	31/	1/ II	2/	3/	4/	5/	6/	7/	8/
病 日	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
体 温 ℃																						
尿培養 菌種	<i>Kleb. pn.</i> <i>Kleb. pn.</i> (—) (—)																					
菌 数	10 ⁶ /ml 2×10 ⁷ /ml 2×10 ⁷ /ml (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—)																					
尿蛋白 mg/dl	15 20 20 15 <10 <10 <10 (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—) (—)																					
尿沈査 R	2~5 8~10 8~10 2~5 1~5 1~2 1~2 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1																					
W	多数 多数 多数 50 20 2~4 2~4 1~2 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1 0~1 0																					
赤血球 ×10 ⁴	459 455 471																					
血色素 g/dl	13.1 11.9 13.0 13.0																					
白血球	7800 4900 5300 6500 5500																					
血 沈 1"	46 49 28 6 7																					
2"	78 91 54 16 20																					
CRP	(+) (+) (+) (—) (—)																					
BUN mg/dl	18 10 8 8																					
GOT R.F.U.	24 40 20 18																					
GPT R.F.U.	16 16 18																					
網状赤血球%	10 8																					

この症例の尿中の *Klebsiella* の SMX に対する MIC は 800 mcg/ml 以上, TMP に対する MIC は 0.78 mcg/ml であり, 本剤投与後の尿中 *Klebsiella* の消失状況と血中濃度, 尿中濃度との関係は図13のとおりである。尿中の菌は2時間後で 8×10^6 /ml, 4時間で 3×10^6 /ml, 6時間で 6×10^5 /ml とややゆるやかな減少傾向をたどり, 8時間で 7×10^3 /ml, 10時間で 2×10^2 /ml, 12時間で 1.5×10^2 /ml となり, その後夜間となつたため調べていないが, 24時間で菌は消失している。

図 13 (♀, 8才) 例における起炎菌の消失状況



このような減少傾向は, 今までに私達がしらべて来た cephalixin⁵⁾, carboxybenzyl-penicillin⁶⁾, cephazolin⁷⁾ 等の成績とくらべるとやや緩慢な物質の範囲に入るようにも思えるが, 薬剤の作用機序, 起炎菌の種類, 疾患の程度によつても作用されるものなので, 断定は出来ない。しかし, SMX の尿中活性濃度は最高値で 150 mcg/ml 程度であり, 本菌の SMX に対する MIC は 800 mcg/ml 以上であつたことを考えると, SMX 単独ではおそらく菌の減少は見られなかつたとも考えられ, 興味あることであるが, TMP は MIC 以上の濃度で排泄されており, TMP 単独でも, この程度の効果を有するものなのかどうかは, 将来の研究課題であろう。さらに, 今までに種々の薬剤を投与していても, 再発が防げなかつたものに対し, 本合剤によりはじめて再発が防げたことは注目する必要がある。

結 論

SMX と TMP の合剤について, 小児科領域における基礎的ならびに臨床的検討を行なつた。

1. 小児科領域の感染症より分離したブドウ球菌および大腸菌について, SMX と TMP の感受性を調べると同時に, 試験管内における相乗効果を調べた。相乗効果は SMX 耐性, 感性のいずれの菌においてもみられるが, SMX 耐性菌については相乗効果の現われる濃度は生体内で達し得ると考えられる濃度よりかなり高い濃度であつた。また合剤の殺菌効果は SMX または TMP 単独より, かなり優れた効果は示すが, それ程強い殺菌

効果があるものとは思われなかつた。さらに TMP の殺菌効果は SMX 感性菌により SMX 耐性菌において, より優れているような傾向を示していた。

2. 小児科領域でも測定可能と思える生物学的測定による微量定量法を考案し, 実際に小児の血液, 尿中の ST 合剤の抗菌活性濃度を測定したが, 諸家の成績に比してかなり低い値を示した。測定法上の差なのか, 年齢による差なのか, 抗菌活性のみをしらべる際の生物学的測定と化学的測定法との差なのか, 今後の検討が必要であると考えられた。

3. 種々の化学療法剤に抵抗を示し, 再発を繰り返した小児の腎盂腎炎 (起炎菌: *Klebsiella*, MIC は SMX ≥ 800 mcg/ml, TMP = 0.78 mcg/ml) に ST 合剤を使用し, 使用中における尿中菌数の変動を SMX, TMP の尿中濃度と対比しながらしらべた。尿中の菌数の減少傾向は, やや緩慢ではあるが, 24時間で菌を消失せしめることが出来, また再発を認めなくなつたことから有効であると考えられた。

文 献

- 1) DARRELL, J. H.; L. P. GARROD & P. M. WATERWORTH: Trimethoprim: laboratory and clinical studies. J. Clin. Path. 21: 202~209, 1968
- 2) BUSHBY, S. R. M. & G. H. HITCHINGS: Trimethoprim, a sulphonamide potentiator. Brit. J. Pharm. Chemoth. 33: 72~90, 1968
- 3) 五島 瑳 智子ほか: Sulfamethoxazole と trimethoprim 感受性測定法。Chemotherapy 投稿中
- 4) BECK, H. & C. PECHERE: A combination of trimethoprim with sulphamethoxazole* Pharmacodynamic activity in old men. Progress in antimicrobial and anticancer chemotherapy. Univ. of Tokyo Press. 1: 663~667, 1970
- 5) FUJII, R.; M. KONNO & K. UBUKATA: The filamentous shape of *Escherichia coli* treated with cephalixin in higher concentration than the minimum inhibitory concentration and its clinical significance. Univ. of Tokyo Press. 1: 374~378, 1970
- 6) FUJII, R.; M. KONNO & K. UBUKATA: The filamentous shape of *Pseudomonas aeruginosa* and its phagocytal formation by leucocytes observed in the urine of a child having pyelonephritis under treatment with

carbenicillin. Presented at the 7th International Congress of Chemotherapy, Aug. 1971

7) 藤井良知, 紺野昌俊, 岡田一穂, 八森啓, 生方公

子: 小児科領域における cefazolin の基礎的な
らびに臨床的検討。Chemotherapy 18: 645~
658, 1970

STUDIES ON SULFAMETHOXAZOLE-TRIMETHOPRIM : BACTERIOLOGICAL AND CLINICAL STUDIES IN PEDIATRICS

RYOCHI FUJII, MASATOSHI KONNO and KIMIKO UBUKATA

Department of Pediatrics, Teikyo University, Medical School

1. *In vitro* antimicrobial activities of sulfamethoxazole (SMX)-trimethoprim (TMP), alone and in combination, were studied in *Staphylococcus* and *Escherichia coli* strains isolated from pediatric patients. Potentiation of activities was demonstrated by combinations of SMX and TMP against both SMX-resistant and sensitive strains. The minimal inhibitory concentrations of SMX-TMP combination against SMX-resistant strains were found to be higher than those presumed to be attainable *in vivo*. The bactericidal activities of SMX-TMP combination, although significantly superior to those of either drug alone, were thought to be moderate. It was also found that the bactericidal effect of TMP was more marked in strains resistant to SMX rather than in those originally sensitive to the sulfonamide.

2. A new bioassay method for SMX and TMP applicable in pediatric patients was proposed. Determination of antimicrobial activities in serum and urine from an 8-year-old patient indicated somewhat lower values than those expected from previous reports. Whether this discrepancy was due to the difference in methods applied or patients' age remains to be studied.

3. SMX-TMP combination product was given to a pediatric patient with pyelonephritis caused by *Klebsiella* (MIC : SMX > 800 mcg/ml, TMP > 0.78 mcg/ml), who had shown resistance to various chemotherapeutic agents including chloramphenicol, tetracycline, ampicillin, kanamycin and nalidixic acid. Changes in urine bacterial counts were followed while concentrations of SMX and TMP were also determined. Bacteriuria was cleared in 24 hours and no recurrence ensued 2 weeks' treatment with the combination preparation.