

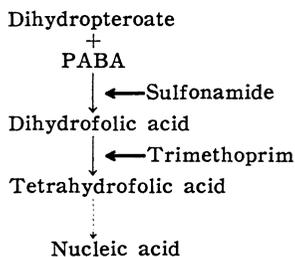
サルファ剤と Trimethoprim の協力作用

—*in vitro* 抗菌作用について—

五島瑛智子・金子康子・原田公子・桑原章吾

東邦大学医学部微生物学教室

Trimethoprim は菌の核酸合成系の葉酸合成を、サルファ剤に連続した部分で阻害する物質で、このため2剤の併用によつて抗菌作用は増強され、明らかな協力作用がみとめられるという。このことについては1969年の第6回国際化学療法学会において、主として欧州の研究者から報告され、合剤としての協力作用が理論的に裏づけられる例として、サルファ剤耐性菌制圧への期待とともに注目をあびた。



サルファ剤が世に出て以来、それぞれの使用目的、要求に応じて多くの誘導体が作られたが、現在では、長年の使用経過とともに、そのうち抗菌力、安全性のすぐれたもの数種が主として使われている。しかし、臨床分離のグラム陽性菌、陰性菌の中に、サルファ剤耐性と判定されるものが非常に多く、しばしば臨床効果との一致を欠き、試験管内の感受性測定値(MIC)にも再現性を欠くことから、サルファ剤感受性測定に疑義がもたれていた。

臨床的には現在でもサルファ剤の治療効果のみとめられる症例も多く、臨床材料から分離されるサルファ剤耐性菌の出現頻度は、治療効果とは平行しないという種類の報告が、臨床各領域にみられている¹⁻³⁾。

しかし、腸内細菌のR因子のように薬剤耐性が菌から菌に伝達される事実を見ても、耐性細胞の増加は確実と考えられるから、治療効果と検出菌のサルファ剤感受性値とのギャップは別として、サルファ剤とtrimethoprimの併用は、当然サルファ剤耐性菌への作用にもつとも期待がかけられるわけである。またこの2剤の併用について検討することは、サルファ剤の再評価にもつながることとして興味もたれる。

私どもは sulfamethoxazole (SMX), sulfamonomethoxine (SMM), sulfadimethoxine (SDM) と trimethoprim (TMP) の協力作用につき若干の細菌学的検討を行なつたので、その成績のあらましを報告する。

実験材料および実験方法

- 1) 薬剤: sulfamethoxazole (SMX)
sulfamonomethoxine (SMM)
sulfadimethoxine (SDM)
trimethoprim (TMP)

2) 試験菌株: 教室保存のグラム陽性菌、陰性菌および東邦大学病院中央検査室にて分離した臨床分離の各菌株、計244株。

3) 感受性測定法: 日本化学療法学会 ST 合剤研究会の MIC 測定法小委員会によつて定められた方法⁴⁾ により行なつた。すなわち、化療標準法に準じた寒天平板希釈法で行ない、前培養培地は MUELLER-HINTON broth (Difco), 測定用培地は MUELLER-HINTON agar (Eiken) または感受性ディスク用培地 (Nissan) を基礎とし、7.5% ウマ溶血血液を加えたものを使用した。接種菌量は前記 MUELLER-HINTON broth に 37°C 1 夜培養の菌液を生理食塩液で、グラム陰性菌は 1000 倍、グラム陽性菌は 100 倍に希釈したものを 1 白金耳量とした。判定は 37°C 24 時間培養で行ない、完全に発育を阻止した培地の薬剤の最小濃度を MIC として記録した。

この測定法についての詳細、および設定の理由などに関しては、ST 合剤研究会の MIC 測定法小委員会報告⁴⁾ を参照されたい。

4) 増殖阻止作用(増殖曲線への影響): 一般抗生剤の殺菌作用をしらべる方法で行なつた。培地は SR medium (Difco) を用い、薬剤を加えて 37°C で培養し、一定時間ごとに菌液を採取、菌の増殖度は生菌数で測定した。

実験成績

- 1) 抗菌スペクトラム (表1, 表2)

教室保存株のグラム陽性菌、陰性菌について、それぞれ SMX, TMP 単剤と、SMX, TMP を 20:1 に配合したものととの抗菌力を比較してある。表中の FIC および FIC index について、次に説明する。

FIC (fractional inhibitory concentration) は ELION

ら(1954)⁵⁾が配合効果を表現する指数として用いたもので、a剤をb剤と併用した場合のMIC(a_c)を単独時のMIC(a_o)で除したものを a_c/a_o で表わす。したがってFICが1/2より小さいほど配合効果は大きいわけである。

FIC index は2剤を併用した場合、それぞれのFICの和、すなわち $a_c/a_o + b_c/b_o$ で、この場合、1より小さければ小さいほど配合効果は大きいことになる。

FIC および FIC index は生体内で実際には意義をみとめないような低濃度、あるいは生体内でおこり得ないような高濃度でも、数値としては有効となる場合もあるので、必ずしも適当とはいえないが、*in vitro*における併用効果を多くの株について表示する適当な方法がないので、一応の目安として用いた。

表1はグラム陽性菌群におけるSMX, TMP単独と、SMX:TMPを20:1とした場合の抗菌力の比較である。併用時のMICはSMXの欄にはSMXだけの濃度、TMPの欄には含まれているTMPのみの濃度で表示してある。*Staphylococcus aureus*のSMX耐性1株を加えてあるが、TMPには感性である。*Streptococcus*

mitis (*viridans* group) はSMX耐性でTMPにも高いMICを示している。

表2のグラム陰性菌についてもSMX耐性の*Escherichia coli*および*Shigella*はTMPには感受性で、もともとサルファ剤には感受性を示さない*Pseudomonas aeruginosa*だけがTMPにも耐性である。

SMXとTMPを20:1とした理由は、両剤の抗菌力、毒性などの面を考慮して臨床的には5:1の配合比で投与するのがよく^{6,7)}、その場合、体内での両薬剤の活性型、タンパク非結合型の濃度比がほぼ20:1となるという報告にもとづいている。2剤を併用することによつてグラム陽性菌では*Streptococcus mitis*を除いてSMX耐性株にも有効という成績を得ており、グラム陰性菌ではSMX耐性の*Shigella*1株および本来サルファ剤のきかない緑膿菌がTMPにも耐性を示し、そのうちの1株は合剤の効果はほとんどみとめられない。しかし、2株の緑膿菌のうちT2株では併用効果がFICの上からみとめられるが、緑膿菌としてはむしろ例外であつて、他に臨床分離株を数多く試験したが、緑膿菌のほとんどの株は合剤の効果は得られなかつた。そのほかの

表1 抗菌スペクトラム(1) グラム陽性菌

Organism	MIC				FIC		FIC index
	SMX		TMP		SMX	TMP	
	SMX	SMX/TMP	TMP	SMX/TMP	a_c/a_o	b_c/b_o	
	alone	(20:1)	alone	(20:1)			
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC-2	25.0	0.74	0.39	0.03	0.02	0.07	0.09
<i>Staphylococcus aureus</i>	6.25	0.74	0.39	0.03	0.11	0.07	0.17
<i>Staphylococcus aureus</i>	12.5	1.48	0.78	0.07	0.11	0.08	0.19
<i>Staphylococcus aureus</i> B5	100 \leq	1.48	0.19	0.07	0.014	0.37	0.384
<i>Staphylococcus epidermidis</i> T1	6.25	0.74	0.39	0.03	0.11	0.07	0.18
<i>Staphylococcus epidermidis</i> T2	50	2.97	0.19	0.14	0.05	0.73	0.78
<i>Staphylococcus epidermidis</i> T3	50	2.97	0.19	0.14	0.05	0.73	0.78
<i>Streptococcus hemolyticus</i> S8	1.56	0.18	0.19	0.009	0.11	0.04	0.15
<i>Streptococcus hemolyticus</i> T1	1.56	0.18	0.09	0.009	0.11	0.1	0.21
<i>Streptococcus hemolyticus</i> T2	6.25	0.37	0.09	0.018	0.05	0.2	0.25
<i>Streptococcus hemolyticus</i> T3	1.56	0.37	0.09	0.018	0.23	0.2	0.43
<i>Streptococcus mitis</i>	25.0	23.8	12.5	1.19	0.9	0.09	0.99
<i>Streptococcus faecalis</i>	100 \leq	5.95	0.78	0.29	0.059	0.37	0.429
<i>Diplococcus pneumoniae</i> DPI	25.0	1.48	0.19	0.07	0.059	0.37	0.429
<i>Bacillus subtilis</i> PCI-219	1.56	0.371	0.19	0.018	0.24	0.09	0.33
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	1.56	0.046	0.02 \leq	0.002	0.029	0.1	0.129
<i>Bacillus anthracis</i>	12.5	0.046	0.04	0.002	0.0036	0.05	0.0536
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	12.5	0.743	0.19	0.036	0.05	0.18	0.23
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	25.0	0.74	0.39	0.036	0.029	0.09	0.12
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	25.0	0.74	0.09	0.036	0.029	0.40	0.43

表2 抗菌スペクトラム(2) グラム陰性菌

Organism	MIC				FIC		FIC index
	SMX		TMP		SMX	TMP	
	SMX	SMX/TMP	TMP	SMX/TMP	a _c /a _s	b _c /b _s	
	alone	(20:1)	alone	(20:1)			
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	3.12	0.37	0.04	0.018	0.12	0.45	0.57
<i>Escherichia coli</i> T4	6.25	0.37	0.04	0.018	0.06	0.45	0.51
<i>Escherichia coli</i> T6	6.25	0.18	0.04	0.009	0.028	0.222	0.24
<i>Escherichia coli</i> T8	100 \leq	1.48	0.39	0.07	0.015	0.17	0.185
<i>Escherichia coli</i> T15	100 \leq	0.74	0.09	0.036	0.007	0.40	0.407
<i>Salmonella enteritidis</i> M11	25.0	0.18	0.02 \geq	0.009	0.007	0.45	0.457
<i>Salmonella paratyphi</i> A	25.0	0.37	0.02 \geq	0.018	0.014	0.90	0.914
<i>Salmonella paratyphi</i> B	25.0	0.74	0.09	0.036	0.029	0.40	0.429
<i>Salmonella typhi</i> S60	6.25	0.18	0.04	0.009	0.028	0.235	0.263
<i>Salmonella typhi</i>	12.5	0.37	0.04	0.018	0.029	0.45	0.479
<i>Shigella flexneri</i> MZ3a	3.12	0.09	0.02 \geq	0.0045	0.028	0.225	0.24
<i>Shigella flexneri</i> 103 R4	100 \leq	0.74	0.04	0.036	0.007	0.9	0.907
<i>Shigella flexneri</i> 11	100 \leq	0.37	0.04	0.018	0.004	0.45	0.454
<i>Shigella sonnei</i> 15	100 \leq	0.74	0.02 \geq	0.018	0.007	0.90	0.907
<i>Proteus vulgaris</i> T1	6.25	0.37	0.78	0.018	0.059	0.023	0.082
<i>Proteus mirabilis</i> T1	25.0	0.74	0.78	0.036	0.029	0.046	0.065
<i>Morganella</i> T1	25.0	1.48	0.39	0.07	0.059	0.17	0.077
<i>Rettgerella</i> T1	100 \leq	5.9	0.78	0.29	0.059	0.38	0.095
<i>Providencia</i> T1	12.5	2.97	1.56	0.14	0.23	0.08	0.31
<i>Klebsiella pneumoniae</i> T5	100 \leq	5.9	0.39	0.29	0.059	0.743	0.802
<i>Klebsiella pneumoniae</i> T8	100 \leq	5.9	0.78	0.29	0.059	0.37	0.424
<i>Klebsiella pneumoniae</i> T14	25.0	1.48	1.56	0.07	0.059	0.04	0.099
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> T1	100 \leq	95.2	100 \leq	4.7	0.952	0.047	0.99
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> T2	100 \leq	23.8	100 \leq	1.19	0.238	0.011	0.24

菌種では併用効果はかなり著明で、*Escherichia coli*, *Klebsiella* などの SMX 耐性株においても TMP の共存による抗菌作用の増強がみとめられた。

2) 臨床分離株の感受性 (図1~図8, 表3)

東邦大学病院中央検査室で分離した臨床分離株、*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella* 各20株, *Streptococcus pyogenes* 23株, *Corynebacterium diphtheriae* 9株について SMX-TMP を 20:1 および 5:1 の配合比で抗菌力を測定し、感受性分布を累積にして表わした。図に示されるように、SMX, TMP の併用によつて SMX の MIC は著しく減少している。TMP はそれに比べると併用による MIC の低下はそれほど著しくなく、菌種によつてはまったく単独の場合と同程度のものもある。

20:1, 5:1 の配合比の差は SMX において著しく、

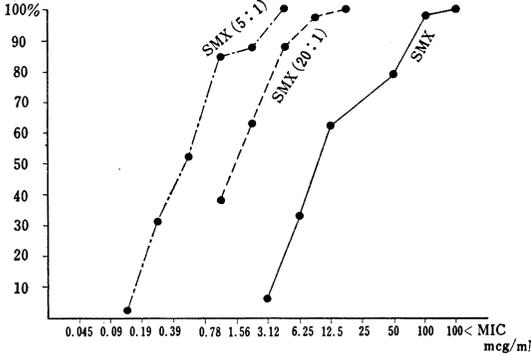
5:1 がもつとも MIC が低く、20:1 ではちょうど 5:1 と SMX 単剤の場合の MIC 分布の中間に位している。ところが TMP ではこの反対で、20:1 のほうが TMP 自身の MIC は低い。もつとも TMP の場合 3 者の差が少なく、とくに 20:1 と 5:1 との差は菌種によつてはほとんど同一線上であるほどで、*Shigella*, *Salmonella*, *Streptococcus* などでは両者の差はまったくみられない。

表3は同じく腸内細菌の臨床分離株の一部であるが、試験株が少ないので MIC の比較を表のようにまとめた。ここでの MIC は 2 剤合計の値なので、後にそれぞれの配合比による単剤の濃度を表5としてある。

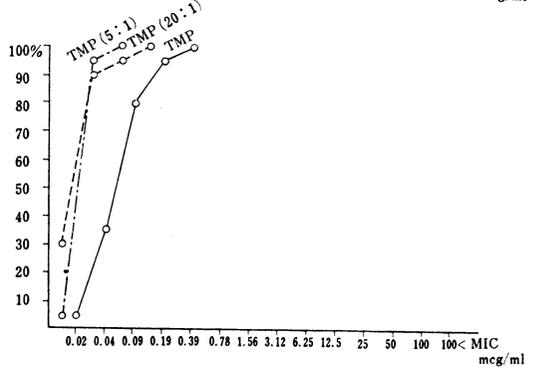
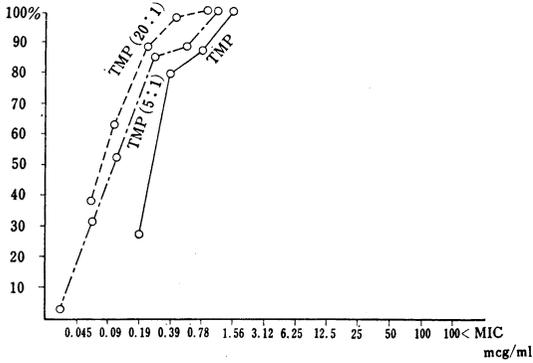
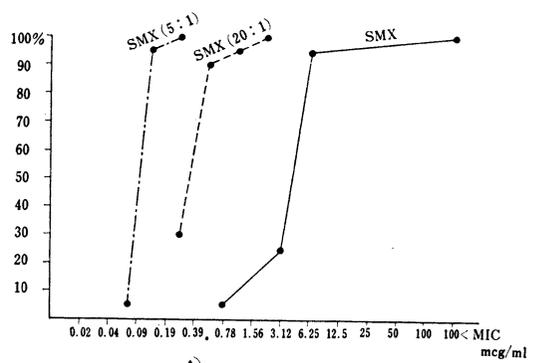
3) 各種サルファ剤と TMP の協力作用 (図9, 表4)

サルファ剤の *in vitro* の抗菌試験を、接種菌量を一定にして比べると図9のように、各サルファ剤の抗菌力が必ずしも同じでないことが判明する。この実験には以下の10種のサルファ剤を使用した。

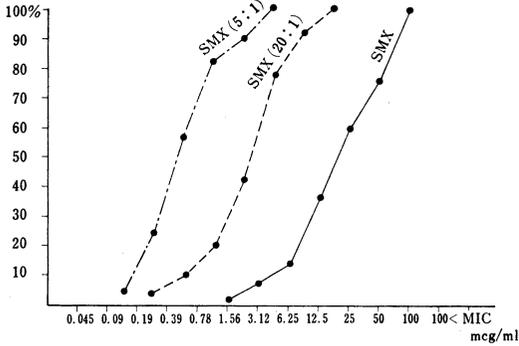
☒ 1 *Staphylococcus aureus*



☒ 3 *E. coli*



☒ 2 *Staphylococcus epidermidis*



☒ 4 *Klebsiella*

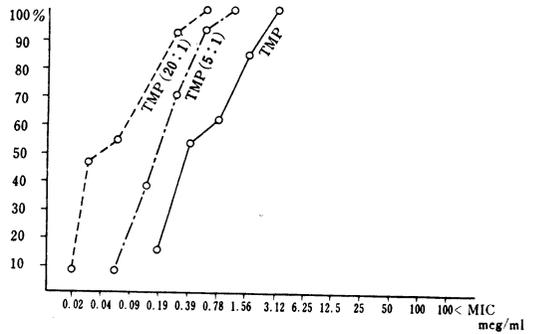
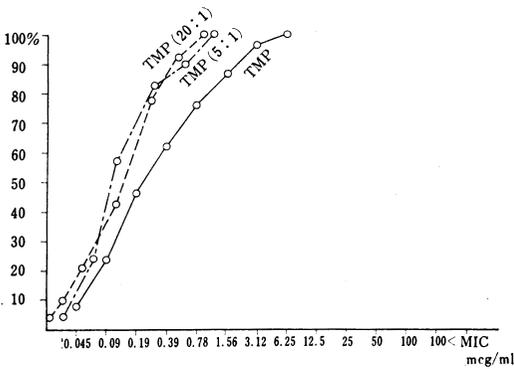
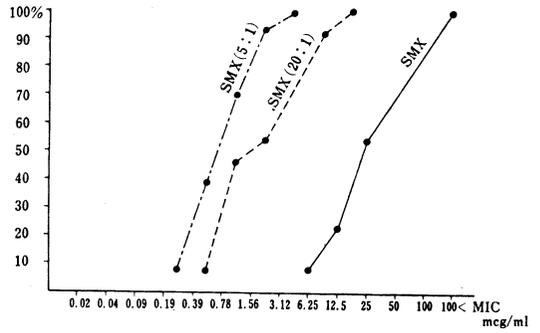


図5 *Shigella*

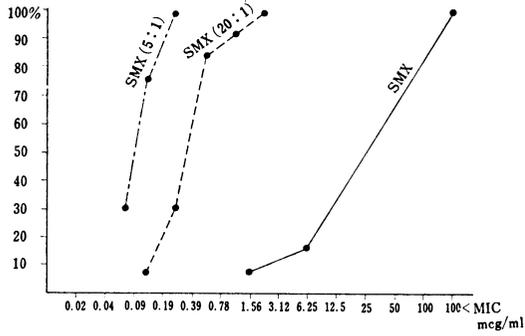


図7 *Corynebacterium diphtheriae* 9株

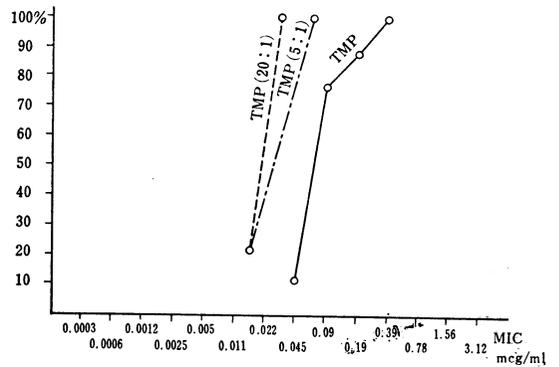
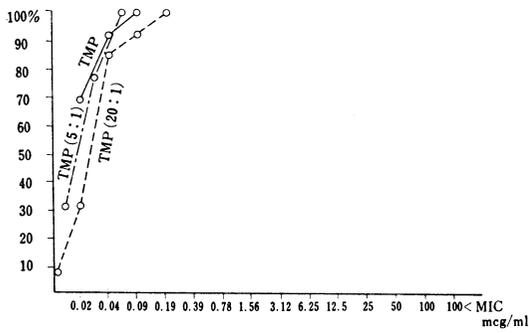
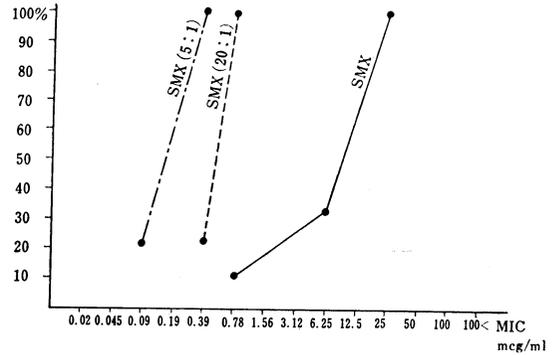


図6 *Salmonella*

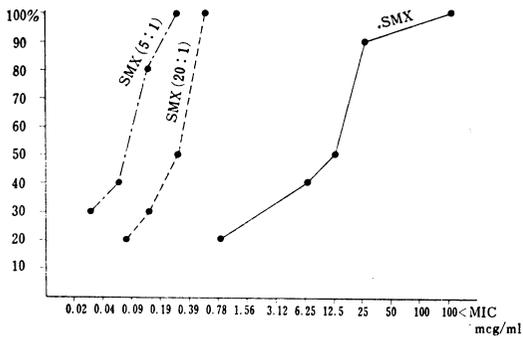


図8 *Streptococcus hemolyticus* 23株

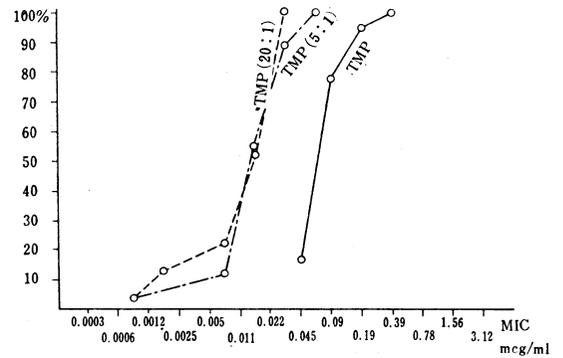
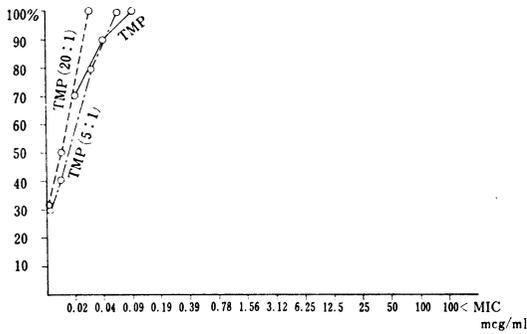
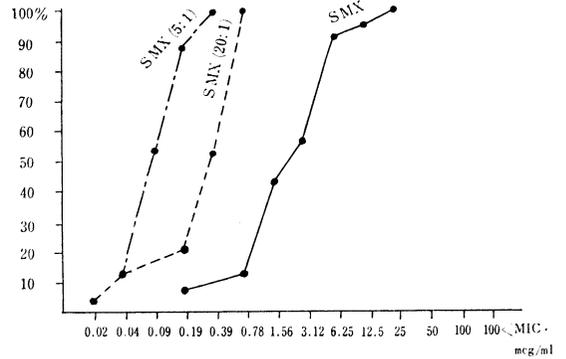


表3 SMX, TMP 5:1 および 20:1 の MIC

<i>Proteus mirabilis</i> (20株)		合剤の MIC は 2 剤の total 濃度								
	<0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100
SMX					6	2	4	1	1	6
TMP	2	9	8			1				
SMX : TMP (5 : 1)	4	10	5				1			
SMX : TMP (20 : 1)		9	5		5	1				

<i>Proteus vulgaris</i> (3株)										
	<0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100
SMX					1	1				1
TMP		1	1	1						
SMX : TMP (5 : 1)	1	1		1						
SMX : TMP (20 : 1)		2				1				

<i>Rettgerella</i> (5株)										
	<0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100
SMX										5
TMP		1	4							
SMX : TMP (5 : 1)				3	2					
SMX : TMP (20 : 1)						3	2			

<i>Morganella</i> (10株)										
	<0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100
SMX								7		3
TMP	1	5	2	2						
SMX : TMP (5 : 1)		6	1	1	2					
SMX : TMP (20 : 1)			1	6	1		1	1		

<i>Providencia</i> (2株)										
	<0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100
SMX							2			
TMP			1	1						
SMX : TMP (5 : 1)		1		1						
SMX : TMP (20 : 1)				1	1					

sulfamethomidine (SMD), sulfisoxazole (SIZ), sulfadiazine (SDZ), sulfisomidine (SID), sulfamonomethoxine (SMM), sulfadimethoxine (SDM), sulfamethizole (SMZ), sulfaphenazole (SPZ), sulfamethoxyipyridazine (SMP), sulfamethoxazole (SMX)

試験菌株は SMX 感性の *Staphylococcus aureus* 2 株, *Escherichia coli* 3 株, *Shigella* 2 株, *Klebsiella*

2 株, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Morganella*, *Providencia* 各 1 株と, SMX 耐性の *Staphylococcus aureus* 2 株, *Escherichia coli* 1 株, *Shigella* 2 株, *Klebsiella* 2 株, *Proteus vulgaris* 1 株, *Proteus mirabilis* 1 株, *Rettgerella* 2 株の計 24 株である。

この中, SMX, SMM, SDM について, さらに菌種による抗菌力を比較してみると, 表 4 に示されるように SMX, SMM はグラム陽性菌にも陰性菌にもほぼ同様

図9 各種サルファ剤の抗菌力の比較

培地：MUELLER-HINTON agar+7.5%ウマ溶血血液
 試験菌株：Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Shigella, Klebsiella, Rettgerella, Proteus, Morganella, Providencia 計24株

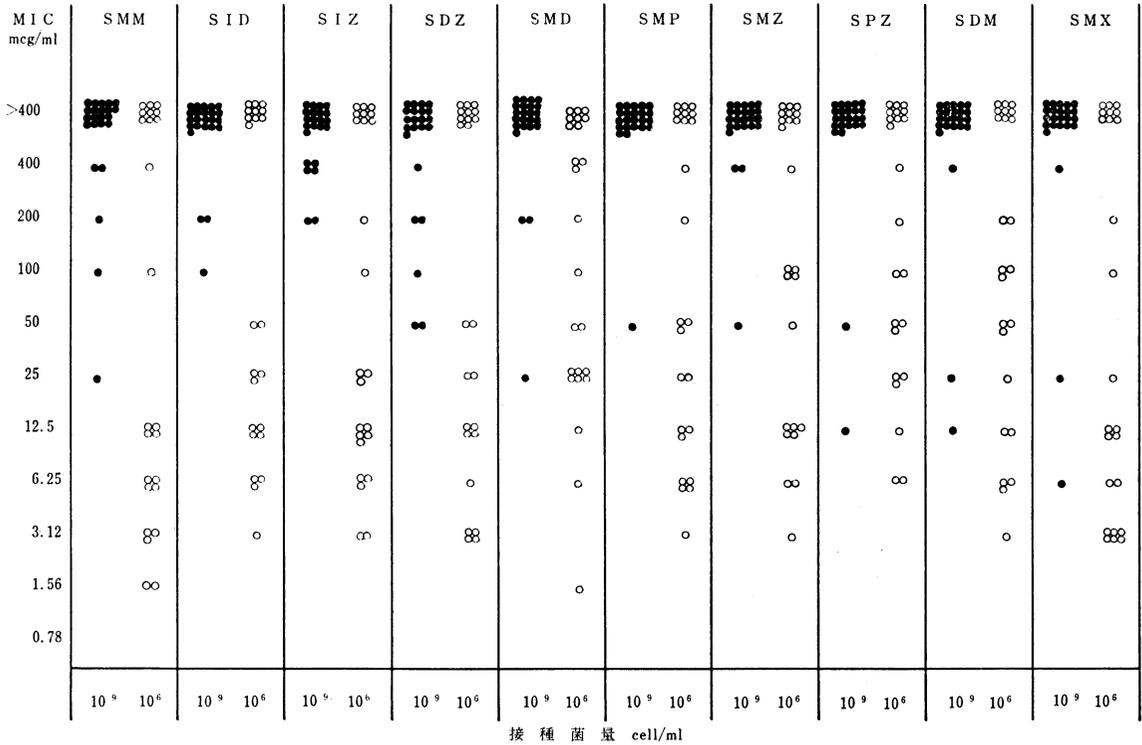


表4 各種サルファ剤と TMP の in vitro 協力作用

	Sulfamethoxazole (SMX)		Sulfadimethoxine (SDM)		Sulfamonomethoxine (SMM)	
	SMX	SMX : TMP 20 : 1	SDM	SDM : TMP 20 : 1	SMM	SMM : TMP 20 : 1
<i>Staphylococcus aureus</i> 209 P	12.5	0.78	25	0.78	12.5	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	3.12	100	3.12	100	3.12
<i>Staphylococcus aureus</i> B-6	100	3.12	100	3.12	100	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> B-5	100	3.12	100	3.12	100	3.12
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	6.25	0.78	100	3.12	12.5	0.78
<i>Escherichia coli</i> E7	3.12	0.39	100	1.56	12.5	0.78
<i>Shigella flex.</i> 3a MZ	6.25	0.39	25	0.39	6.25	0.19
<i>Shigella flex.</i> 103 R4	100	3.12	100	1.56	100	1.56
<i>Streptococcus pyogenes</i> S8	1.56	0.78	3.12	0.39	1.56	0.78
<i>Streptococcus pyogenes</i>	25	0.78	6.25	1.56	1.56	0.78

表5 SMX, TMP 配合時の MIC と単剤の濃度との関係
付(表3, 表4)

SMX : TMP		100	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0.19
5 : 1	SMX	83.3	41.6	20.8	10.4	5.2	2.6	1.3	0.65	0.32	0.16
	TMP	16.7	8.3	4.1	2.0	1.0	0.5	0.25	0.12	0.06	0.03
20 : 1	SMX	95.2	47.6	23.8	11.9	5.95	2.97	1.48	0.74	0.37	0.19
	TMP	4.8	2.4	1.2	0.6	0.3	0.15	0.07	0.03	0.01	0.005

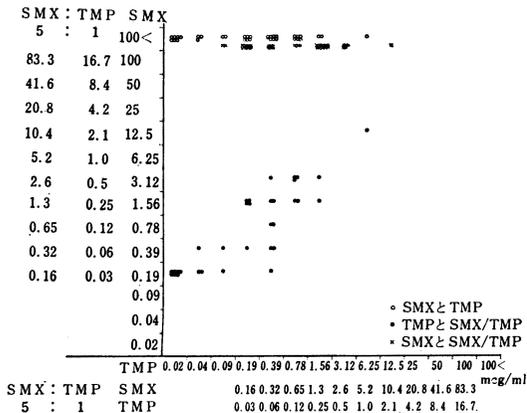
の抗菌力を示すが, SDM ではグラム陰性菌への作用が, 他の2剤より劣っていることがわかる。しかし, グラム陽性菌に対しては3剤の間にあまり大きな差はみとめられない。

この3剤に TMP をそれぞれ 20 : 1 の配合比で抗菌作用をしらべてみると, SDM は TMP の共存により, SMX, SMM の TMP 併用の場合とほぼ同程度の MIC を示す。Escherichia coli NIHJ を例にとれば, 単剤の場合は SMX 6.25mcg/ml, SDM 100mcg/ml, SMM 12.5mcg/ml が, TMP をそれぞれに組み合わせることによって SMX-TMP 0.78mcg/ml, SMM-TMP 0.78mcg/ml, SDM-TMP 3.12mcg/ml となる。

4) SMX 耐性菌における SMX, TMP および SMX-TMP の MIC の相関 (図10, 図11)

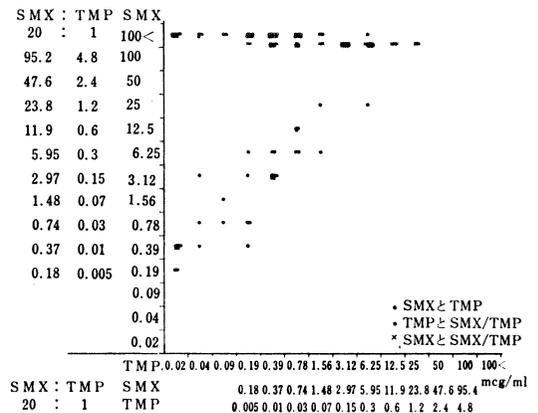
SMX 100mcg/ml 以上耐性の Staphylococcus aureus 2株, Shigella 12株, Proteus vulgaris 1株, Proteus mirabilis 5株, Morganella 3株, Rettgerella 4株, Escherichia coli 3株, Klebsiella 5株 (計35株) について, SMX, TMP, および SMX-TMP の抗菌力について, それぞれの MIC の相関を図10, 図11に示した。
○丸印は SMX と TMP の MIC の相関, ●丸印は TMP と SMX-TMP, また×印は SMX と SMX-TMP の MIC の相関を表わしている。

図10 SMX 耐性株の SMX, TMP および SMX/TMP (5 : 1) の MIC の相関



SMX 耐性でも TMP 耐性の株はなく TMP に対する感受性は 6.25mcg/ml 以下に分布している。SMX-TMP 合剤とした場合, その中の2剤をそれぞれ, SMX, TMP の濃度として比べると, SMX では単剤の場合の MIC より非常に低い値となつているが, TMPは TMP それ自身の濃度で比べれば, TMP 単剤の場合と, SMX と 20 : 1, 5 : 1 とした場合と大きな違いはなく, 感受性菌と比べて特に耐性菌への作用の特徴はみとめられなかつた。

図11 SMX 耐性株の SMX, TMP および SMX/TMP (20 : 1) の MIC の相関



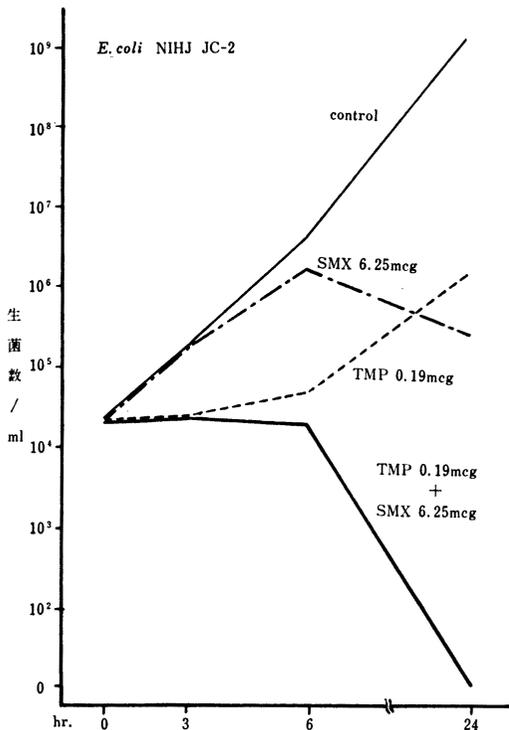
5) 増殖曲線への影響 (図12)

Escherichia coli NIHJ の増殖におよぼす影響をしらべたが, この株は SMX 感受性で, SMX 6.25mcg/ml では6時間後に一時増殖したカーブが下降をはじめ。TMP は単独の場合 0.19mcg/ml で6時間までは発育せず, 以後増殖がはじまる。2剤を共存させると SMX 単独の場合のような初期の増殖がなく菌ははじめの状態に静止し, 6時間頃から急に下降する。この増殖曲線で見ると, TMP の存在は SMX 単独の場合の初期増殖を抑える役目をしているようにみえる。また6時間以後の TMP 単独の場合にみられる増殖が SMX によつておさえられている。

増殖曲線への影響は菌株の感受性パターンによつて

も、また薬剤濃度によつても変わってくるであろうから、とくに SMX 耐性株についての実験が必要である。

図 12 増殖阻止作用



考 察

Sulfonamide と trimethoprim が併用によつて生体内でどのような作用をするかは、両剤の生体内での動態や抗感染実験によつて検討されるべきであるが、*in vitro*での感受性試験による抗菌作用からは次のように推測される。図1～図8および表3の臨床分離株の MIC 分布でみると、SMX, TMP を配合した場合、TMP それ自身に耐性の株はなく、SMX の共存があつても菌種によつてはそれほど著しい MIC の減少はみられないが、SMX については TMP の存在によつて明らかな MIC の低下が示されている。ことに *in vivo*での TMP の抗菌作用は *in vitro* 感受性値の示すそれと比べると非常に弱いということから、生体内での TMP の作用は、SMX の抗菌力を増強させるのが主たる役目のように考えられる。

しかし、サルファ剤感受性株については、合剤の意義はよほど明確な利点がない限り必要とはいえないので、どうしても目標はサルファ剤耐性の株である。耐性株では図10、図11にみられるように、合剤としての総合の量から

いけば MIC は著しく減少してよいが、TMP そのものの濃度にはあまり変化がないので、両剤の和でみられる抗菌作用は、実はサルファ剤に関係なく、TMP だけの抗菌力にささえられているのではないとも考えられる。感受性株の場合は2剤がそれぞれ葉酸合成系の2カ所を連続して作用できるので協力作用は当然といえるであろうし、またサルファ剤単独でも感受性であるのでさして問題はないが、耐性株では作用点は TMP によつてブロックされる1個所だけと考えられるし、しかも TMP の *in vivo* 効果が低いとなると、SMX 耐性株については慎重にならざるを得ない。

しかし、一方 BUSHBY ら(1968)の報告では、*in vivo* 抗感染実験においてサルファ剤のみでは治療できない *Proteus* によるマウス実験感染に対し2剤の併用で著明な効果を示す実験例もあり、生体内での両剤の協力作用は確実である。

In vitro においても、個々の株について両剤単独の MIC を基にした chequer-board titration method で相乗効果の検討を行なえば、耐性株についてもより正確な推測ができるであろう。

興味あることは、表4における3種サルファ剤と TMP の併用成績である。単独で用いた場合、各種サルファ剤の *in vitro* 抗菌作用にはかなりの差があることは図9に示したが、SDM が、*Escherichia coli* に対して抗菌力が劣ることは、SMM との比較において、すでに発表した⁸⁾。SDM はグラム陽性菌にはよいが *Escherichia coli*, *Shigella* などに対し抗菌力が弱いことがこの成績からも明らかである。そしてこれが TMP を共存させることによつて、SMX や SMM との併用にみられるような抗菌力の増強がみとめられるのである。少なくとも TMP を同時に用いる限り、SDM の *in vitro* 抗菌作用上での弱点は TMP によつてカバーされるといってよいであろう。このことからサルファ剤の中でも作用の弱いもの、あるいは部分的に作用の劣るものなどが、SDM と同じように TMP の共存によつて、その部分が補強される可能性も考えられる。BUSHBY らは多くのサルファ剤を TMP と併用し、どの例にも抗菌力の増強をみとめているが、同時に同じ株で比べていないため、サルファ剤間の優劣が TMP でどれほどカバーされ得るかについては明らかではない。そしてもちろんわれわれのこの推測も *in vivo* の実験をまたなければならぬのはいうまでもない。

われわれは *in vitro* での感受性値と、実験感染による抗感染効果の関連を検討するなかで、サルファ剤の MIC 測定法の再検討を行ない⁸⁾、さらにそれを基盤とした感受性値と、抗感染効果の関連性を明らかにした⁹⁾、

このたび SMX, TMP 合剤の研究にあたり, 必然的にサルファ剤の *in vitro* での抗菌作用の検討が大きな規模でとりあげられたことに意義を認める。なぜならば, これらの基礎的実験をステップとして, サルファ剤全般の再評価が可能と考えられるからである。従来の不確実な方法でサルファ剤耐性株と判定されているもののうち, 真の耐性株の分布をつかみ, さらにそれと *in vivo* および臨床効果との関連性の裏づけがなされたとき, それを基盤としてサルファ剤, TMP 合剤の評価もより明確になるであろう。

ま と め

サルファ剤と TMP 合剤の *in vitro* 抗菌作用について検討し, 両剤の併用により抗菌力の増強をみとめた。この現象は本来サルファ剤に耐性である菌種を除いて, サルファ剤感受性菌にも耐性菌にもみとめられた。

サルファ剤の中グラム陰性菌に対して抗菌力の劣る SDM についても, TMP との協力作用がみとめられ, 併用によつて, SMX, SMM と TMP 併用の場合とほぼ同等の抗菌作用を示すことが確認された。

文 献

- 1) 石山俊次: 持続性サルファ剤と外科。診断と治療 48: 861, 1960
- 2) 三辺武右衛門: 耳鼻科と持続性サルファ剤。診断と治療 48: 869, 1960

- 3) 土屋文雄, 日東寺浩, 豊田泰, 藤野温: 持続性スルフォンアミド剤 Omnibon (sulfadimethoxine) とその泌尿器科的应用。診断と治療 48: 877, 1960
- 4) 日本化学療法学会, ST 合剤研究会, MIC 小委員会: Sulfamethoxazole・trimethoprim の MIC 測定法
- 5) ELION, G. B.; S. SINGER & G. H. HITCHINGS: Antagonists of nucleic acid derivatives. VIII. Synergism in combination of biochemically related antimetabolites. J. Biol. Chem. 208: 477, 1954
- 6) BUSHBY, S. R. M. & G. H. HITCHINGS: Trimethoprim, a sulfonamide potentiator. Brit. J. Pharm. Chemother. 33: 72, 1968
- 7) GRÜNEBERG, R. N.: Trimethoprim in the treatment of urinary infections in hospital. Brit. Med. J. 5643: 545, 1969
- 8) 野藤隆夫, 一色義人, 五島瑳智子, 桑原章吾: サルファ剤感受性の再検討。第17回日本化学療法学会東日本支部総会, 1970
- 9) 野藤隆夫, 五島瑳智子, 桑原章吾: 試験管内感受性と感染防禦効果との相関について (3), サルファ剤における MIC とマウス実験感染症の防禦効果との関連。第19回日本国際化学療法学会総会, 1971

IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THE COMBINATION OF SULFONAMIDES AND TRIMETHOPRIM

SACHIKO GOTO, YASUKO KANEKO, KIMIKO HARADA and SHOGO KUWAHARA

Department of Microbiology, Toho University, School of Medicine

The presence of an *in vitro* synergistic effect in the combination of sulfonamides and trimethoprim was investigated using two-fold agar plate dilution method recommended by the Japan Society of Chemotherapy. Each test material was cultured in MUELLER-HINTON broth overnight, and one loopful of an appropriate diluent (100 times dilution for gram-positive bacteria and 1000 times dilution for gram-negative rods) was inoculated into MUELLER-HINTON agar plate enriched with 7.5% lysed horse blood and containing increasing levels of test drugs.

In both sulfamethoxazole-sensitive and -resistant cultures a definite synergistic effect was observed, and in sulfonamide-resistant cultures much lower MIC values of sulfamethoxazole in combination were noted as compared with those of the single use of sulfonamide, whereas the decrease in the MIC values of trimethoprim in combination was not so significant chiefly due to the high antibacterial activity of

trimethoprim. The combination was ineffective against *Pseudomonas*.

In spite of the relatively low activity of sulfadimethoxine, the combination of this and trimethoprim showed nearly the same MIC values as sulfamethoxazole- and sulfamonomethoxine-combination.

The potentiation of the activity of sulfonamide by trimethoprim was also confirmed in the growth curves of *Escherichia coli* culture with and without either of sulfonamide or trimethoprim and the combinations.