百日咳菌の薬剤感受性，特に殺菌力における比較に関する研究

宍戸春美・高橋　淳・渡辺貴和雄・松本慶蔵
長崎大学熱帯医学研究所内科
田　崎　啓　介
田崎小児科医院

（昭和 58 年 4 月 4 日受付）

Bordetella pertussis に対する MIC 測定成績，即ち薬剤の *in vitro* 静菌作用と臨床効果との関連性の低い原因のひとつとして，私共は，これらの薬剤の *in vitro* 殺菌作用における差が重要な因子であると考え，β-lactam 剤を中心として *B. pertussis* に対する各種薬剤の殺菌力を検討した。殺菌曲線を用いた *B. pertussis* に対する殺菌力の評価に関する報告はなく，私共は Bordet-Gengou broth（自家製）中の *B. pertussis* 生菌数を Bordet-Gengou agar を用いて測定する *in vitro* 実験系を確立した。MIC との比でみた殺菌作用は，β-lactam剤中 ampicillin が最も高い殺菌力を有し，各系統の代表的薬剤の比較実験成績で殺菌力の強い順に erythromycin＞gentamicin＞norfloxacin＞chloramphenicol＞minocycline＞ampicillin＞latamoxef＞cefoperazone となった。この成績より，*B. pertussis* の MIC 測定成績と百日咳に対する臨床効果との解離には，本菌に対する各薬剤の殺菌力の差が重要であることが示唆された。

22 抗菌剤の *B. pertussis* 24 株に対する MIC（10^6cfu/ml，1 白金耳接種）を測定した。β-lactam 剤では，TA-058，cefpiramide が，各々 piperacillin，cefoperazone と匹敵する高い抗菌力を示した。TMS-19-Q と leucomycin の抗菌力が erythromycin と同等以上であった。DL-8280 と norfloxacin が，他の nalidixic acid 誘導体剤よりも明確に優れていた。

百日咳に関する多施設臨床研究に重要な *B. pertussis* の臨床分離株の保存と中心施設への輸送を想定して本菌の保存法，輸送法についても検討し，各々新たな方法を確立した。

私共は，前報[1]において，百日咳菌（*Bordetella pertussis*，以下 *B. pertussis* と略す）の新たな最小発育阻止濃度（MIC）測定法を確立するとともに，インフルエンザ菌（*Haemophilus influenzae*，以下 *H. influenzae* と略す）に高い抗菌力を有するβ-lactam 剤は，*B. pertussis* にも抗菌力が優れているとの仮説のもとに，新合成β-lactam 剤を中心に *B. pertussis* の MIC を測定し，piperacillin(PIPC)，cefoperazone(CPZ) の piperazine β-lactam 剤に対する高感受性を初めて明らかにした。さらに，β-lactam 剤として従来 first choice とされてきた ampicillin(ABPC) よりも強い *in vitro* 抗菌力を示すβ-lactam 剤は，cefmenoxime(CMX；SCE-1365)，latamoxef(LMOX；6059-S) および cefotaxime(CTX；HR-756) であることが明らかになった。この成績をもとに，本廣ら[2]および中沢ら[3]による CPZ，南谷ら[4]による LMOX，ならびに本廣ら[5]による PIPC を用いた臨床的有用性の検討が行なわれ，それぞれ，有効率 86％[2]，100％[3]，90.0％（第1病週）[4]，86.7％[5] と臨床効果が優れ，細菌学的にも本菌検出例はすべて速やかに陰性化[2,5]し，また副作用にも特記すべきことはなく，有用性の高い薬剤であると結論された。一方，ABPC と並んで drug of choice とされる erythromycin (EM) と同じ macrolide 剤で最近開発された 9,3″-diacetylmidecamycin（以下，MOM と略す）は本菌に対する *in vitro* 抗菌力では EM より劣るが[6]，富永ら[7]および岩井ら[6]による MOM を用いた臨床的有用性の検討が行なわれ，内服薬としてこの macrolide 剤も，また臨床的に有用であることが明らかとなった。

そこで，今回，私共は，前報[1]以降に新規開発されたβ-lactam 剤，macrolide 剤，および合成抗菌剤について，MIC を測定するとともに，*in vitro* 抗菌力を詳細に検討するため，薬剤作用後の生菌数を測定し，各系統別および各系統間における殺菌力を比較し，臨床的効果との関連について考察した。また，本菌感染症の臨床的研究を実施するうえで重要である本菌の輸送培地および保存法に関する実験成績についても報告する。

I. 実験材料および実験方法

1. 供試菌株

最近，長崎市を中心とする長崎県内の百日咳患者から分離された *B. pertussis* 24 株を用いた。

2. 使用薬剤

以下に記す薬剤のいずれも力価の明らかな標品を用いた。

Penicillin 剤：
- Ampicillin (ABPC；明治製菓)
- Amoxicillin (AMPC；ビーチャム薬品)
- Piperacillin (PIPC；富山化学)
- TA-058 (田辺製薬)

Cephem 剤：
- Cefazolin (CEZ；藤沢薬品)
- Cefoperazone (CPZ；富山化学)
- Cefpiramide (CPM；SM-1652；山之内製薬)
- Ceftazidime (CAZ；SN-401；日本グラクソ)
- Ceftriaxone (CTRX；Ro 13-9904；日本ロシュ)
- Cefoxitin (CFX；日本メルク萬有)
- Cefbuperazone (T-1982；富山化学)
- MT-141 (明治製菓)
- Latamoxef (LMOX；塩野義製薬)

Macrolide 剤：
- Erythromycin (EM；塩野義製薬)
- Leucomycin (LM；東洋醸造)
- Leucomycin A_7 (LMA_7；東洋醸造)
- Leucomycin V (LMV；東洋醸造)
- TMS-19-Q (東洋醸造)

Aminoglycoside 剤：
- Gentamicin (GM；塩野義製薬)

Tetracycline 剤：
- Minocycline (MINO；日本レダリー)

Chloramphenicol (三共)

合成抗菌剤：
- Nalidixic acid (NA；第一製薬)
- Piromidic acid (PA；大日本製薬)
- Pipemidic acid (PPA；大日本製薬)
- Norfloxacin (NFLX；AM-715；杏林製薬)
- DL-8280 (第一製薬)

3. MIC 測定法

前報[1]に従って行なった。本 MIC 測定系の要点を記すと，Bordet-Gengou broth (自家製) にて接種菌液を調製 (37℃, 18 時間培養) し，薬剤含有 Bordet-Gengou agar (MIC 測定培地) に接種後，37℃, 72 時間培養後判定により行なう方法である。接種菌量は，10^6 cfu/ml，1 白金耳接種とした。

4. 殺菌作用

試験菌株は，先の MIC 測定成績の検討で，各薬剤に対する菌株ごとの MIC にはほとんど差が認められなかったので，MIC を測定した 24 株中の任意の 1 株として *B. pertussis* NNBP 3 を選び，殺菌作用を実験に用いた。

15% に脱繊維馬血液を加えた Bordet-Gengou broth (自家製；以下 Bordet-Gengou broth と略記) にて 37℃, 18 時間培養した菌液 (菌量は 10^8 cfu/ml のオーダー) を適宜同一 broth にて希釈し，直ちに各濃度の各薬剤を添加し，37℃ にて静置培養を行なった。

薬剤添加前，添加 2, 6, 24, 48 時間後，または 4, 24, 48 時間後に，15% に脱繊維馬血液と 1% にグリセリンを加えた Bordet-Gengou Agar Base (Oxoid) にて作製した培地 (以下，Bordet-Gengou agar と略記) を用いて生菌数を測定した。

5. 保存法

臨床分離 *B. pertussis* の Bordet-Gengou agar 上の純培養コロニーを Bordet-Gengou broth 中へ濃厚に懸濁し，−70℃ に凍結保存した。保存菌株の使用時には，保存菌株を凍結させた試験管を 37℃ にて 18 時間静置した後，Bordet-Gengou agar へ継代した。

6. 輸送培地の検討

Bordet-Gengou agar を用いた半高層培地を作製し，斜面および高層部に菌を接種後，室温に放置し，7 日後まで毎日，斜面および高層部のコロニーを採り，Bordet-Gengou agar へ継代した。

II. 実験成績

1. 22 種類の薬剤の *B. pertussis* に対する MIC 比較測定成績

10^6 cfu/ml，1 白金耳接種時の MIC 測定成績を各系統別に述べる。

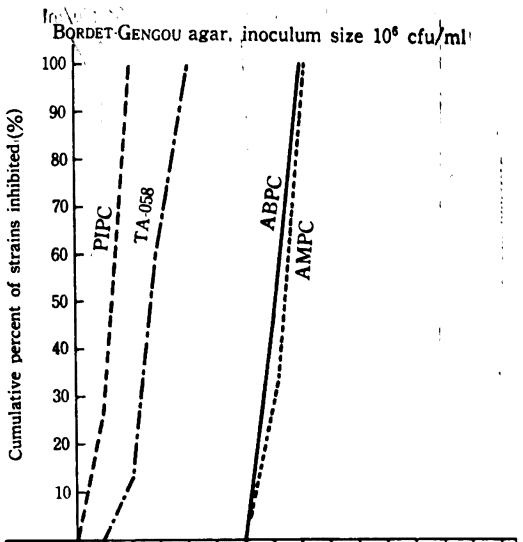
(1) Penicillin 剤の感受性 (Fig. 1)

PIPC (MIC：0.003～0.006 μg/ml) の抗菌力が極めて優れ，TA-058 (MIC：0.006～0.025 μg/ml) がこれに次ぎ，ABPC と AMPC (MIC：0.2～0.39 μg/ml) は前 2 剤に比べ，かなり抗菌力が劣っていた。

(2) Cephem 剤の感受性 (Fig. 2)

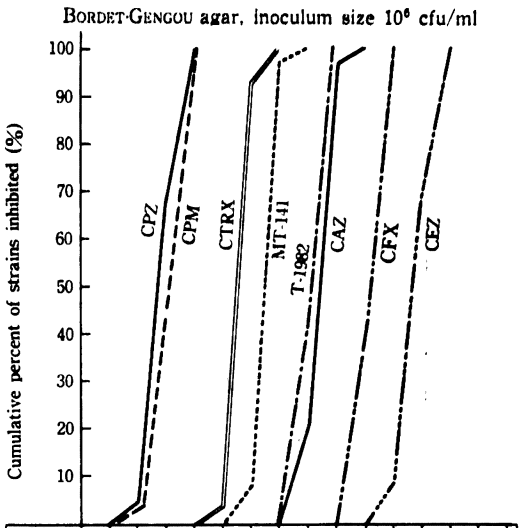
Cephem 剤 8 薬剤の MIC 測定成績では，CPZ と CPM (MIC：0.006～0.025 μg/ml) の本菌に対する抗菌力が極めて優れ，次いで，CTRX (MIC：0.05～0.2 μg/ml)，MT-141 (MIC：0.1～0.39 μg/ml)，T-1982 (MIC：0.39～0.78 μg/ml)，CAZ (MIC：0.39～1.56 μg/ml)，CFX (MIC：1.56～3.13 μg/ml)，CEZ (MIC：

Fig. 1 MICs of penicillins against 24 strains of *B. pertussis*



MIC (μg/ml)	0.003 0.006	0.013 0.025	0.05 0.1	0.2 0.39	0.78 1.56	3.13 6.25	12.5 25	50
ABPC				11	13			
AMPC				7	17			
PIPC	6	18						
TA-058		3	12	9				

Fig. 2 MICs of cephems against 24 strains of *B. pertussis*



MIC (μg/ml)	0.003 0.006	0.013 0.025	0.05 0.1	0.2 0.39	0.78 1.56	3.13 6.25	12.5 25	50
CEZ						2	14	8
CFX					9	15		
CPZ	1	15	8					
CAZ				5	18	1		
CPM	1	10	13					
T-1982				9	15			
MT-141			2	21	1			
CTRX			1	21	2			

3.13～12.5 μg/ml) の順であった。

(3) Macrolide 剤の感受性 (Fig. 3)

今回測定した macrolide 剤では，従来，ABPC とともに百日咳に対する first choice とされた EM とほぼ同等 (TMS-19-Q) またはそれ以上 (LM, LMA_7, LMV) の抗菌力を示した。

(4) 合成抗菌剤 (Nalidixic acid 誘導体剤) (Fig. 4)

最近新たに開発された薬剤 (DL-8280, NFLX) の方が，従来の薬剤 (NA, PA, PPA) に比べ，約4倍以上の優れた抗菌力を示した。

2. β-lactam 剤の *B. pertussis* に対する殺菌作用

(1) ABPC, PIPC, および TA-058 の殺菌作用に関する比較実験成績 (Fig. 5)

同一実験系において比較した3薬剤の 10^6 cfu/ml, 1白金耳接種時の MIC は，ABPC 0.2 μg/ml, PIPC 0.006 μg/ml, TA-058 0.013 μg/ml であった。

ABPC の添加濃度は 32 MIC から 1 MIC まで，PIPC と TA-058 の添加濃度は 16 MIC から 1/2 MIC まで，各々2倍希釈濃度系列で行なった。

ABPC の殺菌作用は，PIPC および TA-058 に比較して，著明に強く，PIPC と TA-058 との比較では，わずかに PIPC の方が強かった。

(2) LMOX, CPZ, および TA-058 の殺菌作用に関する比較実験成績 (Fig. 6)

同一実験系において比較した3薬剤の 10^6 cfu/ml, 1白金耳接種時の MIC は，LMOX 0.1 μg/ml, CPZ 0.013 μg/ml, ABPC 0.2 μg/ml であった。

3薬剤の添加濃度は，各々の 64 MIC から4倍希釈系列で 1 MIC までとした。

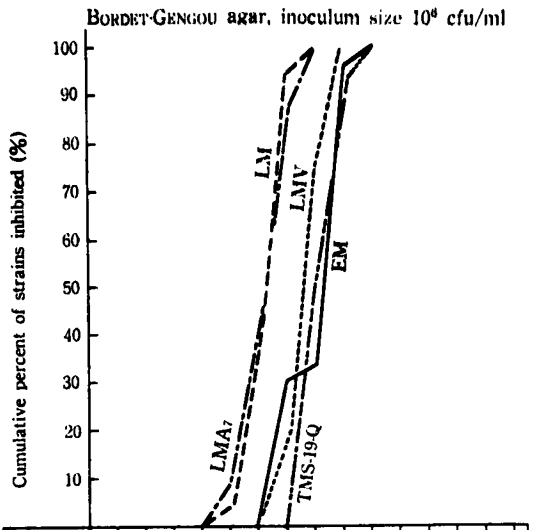
LMOX の殺菌作用は，CPZ よりも著明に強かったが，ABPC よりは弱かった。特に CPZ と ABPC との差は薬剤添加 24 時間後に明確であった。

(3) 各系統別に比較した殺菌作用に関する実験成績 (Fig. 7)

β-lactam 剤と β-lactam 剤以外の抗菌剤との殺菌作用を比較するため，各系統の代表的な薬剤，即ち，macrolide 剤の EM, aminoglycoside 剤の GM, tetracycline 剤の MINO, chloramphenicol (CP), nalidixic acid 誘導体剤の NFLX, β-lactam 剤では，penicillin 剤の ABPC, cephalosporin 剤の CPZ, 7α-methoxy 基を有する oxacephem 剤の LMOX, 計8薬剤を選択した。

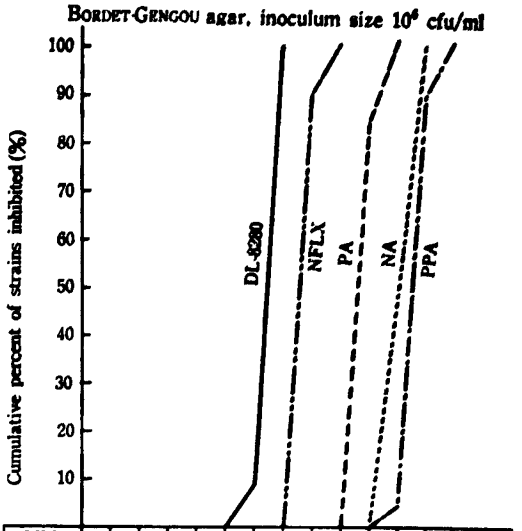
各薬剤の 10^6 cfu/ml, 1白金耳接種時の MIC は，EM

Fig. 3 MICs of macrolides against 24 strains of *B. pertussis*



MIC (μg/ml)	0.003 0.006	0.013 0.025	0.05 0.1	0.2 0.39	0.78 1.56	3.13 6.25	12.5 25	50
EM				7	1	14	1	
LM			1	8	13	2		
LMA_7			2	7	12	3		
LMV				4	14	6		
TMS-19-Q					12	10	2	

Fig. 4 MICs of nalidixic acid analogs against 24 strains of *B. pertussis*



MIC (μg/ml)	0.003 0.006	0.013 0.025	0.05 0.1	0.2 0.39	0.78 1.56	3.13 6.25	12.5 25	50
NA						11	13	
PA						20	4	
PPA							1 20	3
NFLX					21	3		
DL-8280			2	22				

Fig. 5 Bactericidal activity of ampicillin, piperacillin, and TA-058 on *B. pertussis* NNBP 3

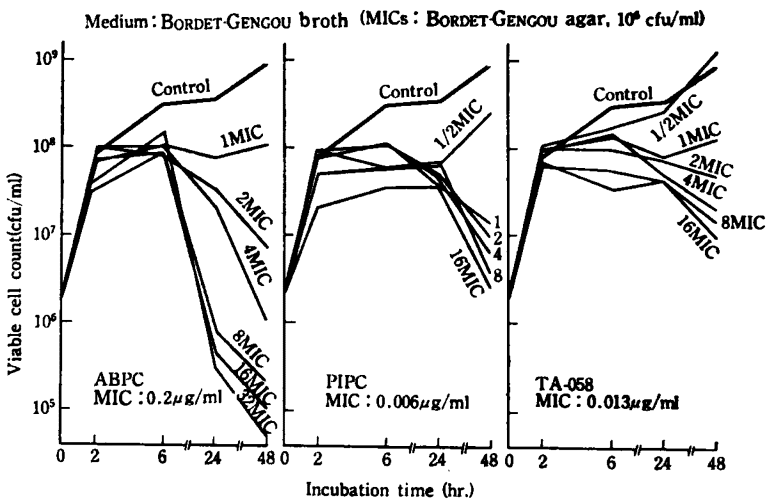


Fig. 6 Bactericidal activity of latamoxef, cefoperazone, and ampicillin on *B. pertussis* NNBP 3

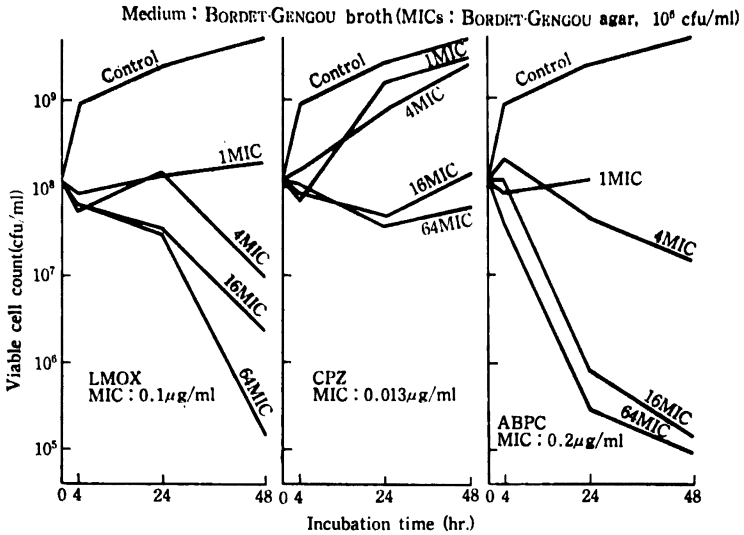
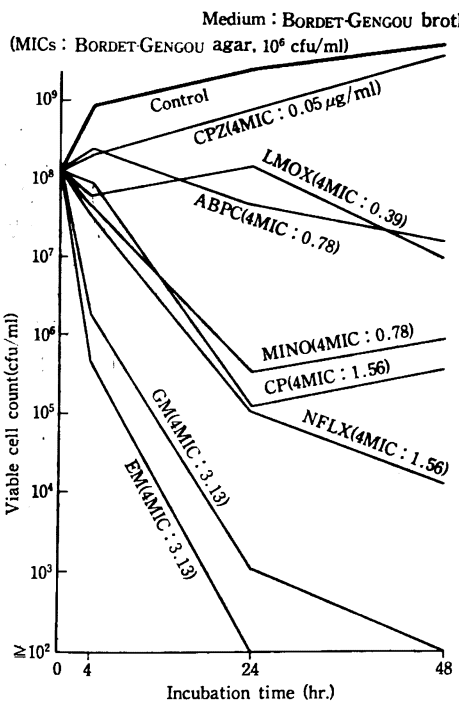
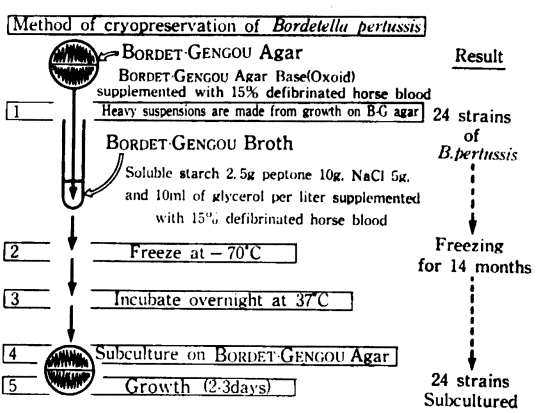


Fig. 7 Comparative bactericidal activity of cefoperazone, latamoxef, ampicillin, minocycline, chloramphenicol, norfloxacin, gentamicin, and erythromycin at 4 MIC on *B. pertussis* NNBP 3



0.78 μg/ml, GM 0.78 μg/ml, MINO 0.2 μg/ml, CP 0.39 μg/ml, NFLX 0.39 μg/ml であった。β-lactam 剤については前述したので省略する。

Fig. 8 Method of cryopreservation of *B. pertussis* and the result of viability on 24 strains of *B. pertussis* by using this methodology



8 薬剤ともに，薬剤添加濃度は，64 MIC から 4 倍希釈系列で 1 MIC までとした。

Fig. 6 に示す各薬剤の 4 MIC 添加時の殺菌作用の成績では，EM の殺菌力が極めて優れ，GM がこれに次ぎ，さらに NFLX, CP, MINO の順となり，β-lactam 剤 (ABPC, LMOX, CPZ) の殺菌力は明確に弱かった。

各薬剤の 1 MIC, 16 MIC, および 64 MIC 添加時の成績は，4 MIC 添加時の成績と同一傾向にあったので，省略する。

3. 保存法の検討成績

私共が新たに考案した *B. pertussis* の保存法の手順および本法を使用した成績を Fig. 8 に示す。保存期間 14 か月の時点で，*B. pertussis* 24 株中全株が継代可能であ

った。

4. 輸送培地の検討成績

B. pertussis 2株を用いて実験を行なった。2株ともに，7日後まで継代が可能であった。

III. 考　　察

私共の前報[1]における *in vitro* 抗菌力の成績に基づき，CPZ[2,8]，PIPC[3]およびLMOX[4]の β-lactam 剤を用いた百日咳（および百日咳症候群）に対する臨床的有効性の検討が行なわれ，それぞれ，*B. pertussis* 感染症に対して有効性が発揮されている。しかしながら，その成績は，前報[1]における極めて高い *in vitro* 抗菌力が臨床効果に直接反映されているとは考えられず，ABPC と比較すると，必ずしも ABPC よりも極めて優れているとはいえない。また macrolide 剤の MOM を用いた臨床的検討が行なわれ，有効性が優れているとの成績が得られている[6,7]。

このような MIC 測定成績，即ち薬剤の *in vitro* 静菌的作用と臨床効果との関連性が低い原因のひとつとして，私共は，薬剤の感染病巣への移行，即ちペネトレーションが第1に重要であるが，そのほかに，これらの薬剤の *in vitro* 殺菌作用における差が重要な因子であると考え，β-lactam 剤を中心として，*B. pertussis* に対する各薬剤添加後の生菌数を測定することにより各薬剤の殺菌力を検討した。

MIC との比でみた殺菌作用では，β-lactam 剤の中で，ABPC が最も高い殺菌力を有し，今回同一実験系で比較した PIPC，TA-058，LMOX，CPZ よりも明確に優れていた。また，各系統間の代表的薬剤による殺菌作用の比較実験成績では，macrolide 剤の EM が他剤（GM，NFLX，CP，MINO，ABPC，CPZ，および LMOX），特に β-lactam 剤よりは極めて優れていた。

私共の検索した範囲内では，*B. pertussis* に対する各種薬剤の殺菌作用を比較検討した成績としては Field and Parker[8,9] の報告はあるが，単に minimal bactericidal concentration (MBC) を測定したにすぎない。今回の私共のように殺菌曲線を用いた検討成績は未だ報告されていない。Field and Parker の報告[8,9]では，MIC および MBC を試験管法にて測定するため，寒天培地中発育阻害物質を中和するための血液，charcoal，デンプンなどを使用しない透明な培地として Stainer-Scholte (S/S) 培地[10]を用い，seed culture による接種を行なっている。これに対し，私共は，Bordet-Gengou broth を用いた seed culture による接種を行なっているため，正確な直接的比較はできないが，Field and Parker[9] の報告した ABPC および EM が MIC，MBC において他剤よりも優れていることを確認できた。

PIPC[3]，CPZ[2,8]，および LMOX[4] の静注または点滴静注による百日咳に対する治療効果に関する報告では，これらの注射剤は内服薬の EM や ABPC と比べて，私共が前報[1]において指摘した他の呼吸器病原菌による二次感染または混合感染への効果に加えて，内服薬投与の困難な新生児・乳児症例および重症例（嘔吐など）に対し確実に投与可能であることならびに周囲への伝播抑制効果があることが判明し，かつ高い有効率が得られた。しかしながら従来用いられていた EM や ABPC[11~14] と比較して，前述の新 β-lactam 剤の臨床効果は，EM や ABPC よりは優れていると思われるが，*in vitro* における MIC 測定成績で示されたような非常に優れた効果とはいい難く，MIC 測定成績，即ち *in vitro* 静菌作用と臨床効果との間に解離が認められる。

この解離の重要な因子として，私共は，*B. pertussis* に対する殺菌力を取りあげ，今回の実験を行なった。前述したように本菌の殺菌力に関する報告は，ほとんどなく，特に，本菌の臨床分離に常用される Bordet-Gengou agar 類似の液体培地を用いた殺菌力に関する実験成績は，本報告が最初である。前報[1]において私共が開発した自家製 Bordet-Gengou broth を用いれば，不透明であるため試験管法による MIC は測定できないが，生菌数の測定は可能であることを確認したうえで，殺菌曲線による殺菌力の測定を，比較すべき薬剤を同一条件下において行なった。この結果では，今回実験に用いた薬剤のうちで EM が最も強い殺菌力を示し，また β-lactam 剤中 ABPC が最も優れていることが明らかとなった。即ち，本菌の MIC 測定成績と百日咳に対する臨床効果との間の解離には，本菌に対する各種薬剤の殺菌力の差が重要な因子であることが示唆された。Trollfors[15] による AMPC と EM の臨床効果比較試験で咽頭からの除菌率において EM が AMPC より統計学的有意に優れていたとの報告も，今回の成績を裏付ける臨床成績のひとつと考えられる。

本菌感染症の臨床的研究を実施するためには，現在，百日咳の症例が同一施設に同時に多数存在することはまれと推測されるため，同時に多施設における臨床的有用性の検討が通常実施されている。このため，*B. pertussis* の臨床分離株を保存ならびに中心となる施設へ輸送することは，このような研究を遂行する上で極めて重要である。今回，本菌の保存法，輸送培地についても検討し，実際上充分な性能と実施の比較的容易な方法が確立された。

前報[1]と全く同一の測定法を用いて，前報以後に開発された β-lactam 剤，macrolide 剤，NA 誘導体剤の MIC 測定成績 (Fig. 1~4) では，本菌に対する構造活性

相関を考えるうえで興味ある成績が得られた。即ち，以下の5点が指摘できた。①前報[1]で私共が piperazine β-lactam 剤と呼んだ PIPC と CPZ に比較し，前記2剤とほぼ同一の piperazine 基を含んだ moiety を有する cephamycin 剤 T-1982 の抗菌力は，PIPC および CPZ よりも明確に劣っていたこと。②TA-058 は，PIPC よりはわずかに劣るが，ABPC，AMPC より明確に優れていたこと。③ CPZ と同様に 7-acylamino cephem 誘導体である CPM が CPZ に匹敵する優れた抗菌力を示したこと。④今回測定した macrolide 剤では，LM，TMS-19-Q などが EM と同等またはより優れた抗菌力を示したこと。⑤ NA 誘導体剤では，最近開発されたフッ素を含み piperazine 基をもつ NA 誘導体である NFLX と DL-8280 の抗菌力が，このような化学構造をもたない NA，PA，PPA と比較して，明確に優れていた。これらの薬剤のうち，*B. pertussis* に対する *in vitro* 抗菌力が優れているものについては，百日咳に対する臨床応用へと研究を進行させることが考慮されつつある状況である。

H. influenzae と *B. pertussis* の2菌種に対する抗生物質・合成抗菌剤の構造活性相関を考えるうえで注目すべき興味ある知見として，前報[1]での考察に加えて，今回，新たに次の2点が指摘できる。① T-1982 の *H. influenzae* に対する MIC は，0.2 μg/ml～0.78 μg/ml (最頻値 0.78 μg/ml) に分布し[16]，*H. influenzae* に対する PIPC (MIC : ≦0.025 μg/ml～0.39 μg/ml，最頻値 0.05 μg/ml) や CPZ (MIC : ≦0.003 μg/ml～0.1 μg/ml，最頻値 0.013 μg/ml) と比較して[17]，*B. pertussis* の場合と同様に，T-1982 は piperazine β-lactam 剤の中で比較すると，両菌種に対し，cephalosporin 剤よりも cephamycin 剤の方が劣る傾向にある事実と関連するものと考えられる。②フッ素を含み piperazine 基を有する NA 誘導体は，*B. pertussis* の場合と同様に，*H. influenzae* に対しても，NA，PA，PPA より明確に優れた *in vitro* 抗菌力を示した。即ち，NFLX の *H. influenzae* に対する MIC は，0.025 μg/ml～0.39 μg/ml (最頻値 0.1 μg/ml)[18]，DL-8280 の MIC は 0.025 μg/ml～0.05 μg/ml (最頻値 0.05 μg/ml)[19] に分布した。

文　献

1) 宍戸春美，渡辺貴和雄，松本慶蔵，田崎啓介：最近分離された百日咳菌の薬剤感受性—piperazine β-lactam 剤に対する高感受性—。Chemotherapy 28 : 73～79, 1980

2) 本廣　孝，他（8施設）：百日咳および百日咳症候群に対する Cefoperazone の治療効果。The Japanese Journal of Antibiotics 33 (11) : 1183～1193, 1980

3) 中沢　進，他（4施設）：新邦製 Cephalosporin 系製剤 Cefoperazone 静注による百日咳治療に関する検討。Jpn. J. Antibiotics 38 : 865～870, 1980

4) 南谷幹夫，他（3施設）：百日咳に対する Latamoxef(LMOX) の治療成績。第30回日本化学療法学会総会発表，No. 123, 1982

5) 本廣　孝，他（8施設）：百日咳に対する Piperacillin(PIPC) の臨床的検討。第30回日本化学療法学会西日本支部総会発表，No. 93, 1982

6) 岩井直一，佐々木　明，種田陽一，溝口文子，中村はるひ：小児科領域の呼吸器感染症に対する 9, 3″-Diacetylmidecamycin の検討。Jpn. J. Antibiotics 35 : 739～753, 1982

7) 富永　薫，他（1施設）：百日咳に対する 9, 3″-di-o-acetyl midecamycin の臨床的検討。第30回日本化学療法学会総会発表，No. 124, 1982

8) FIELD, L. H. & C. D. PARKER : Differences observed between fresh isolates of *Bordetella pertussis* and their laboratory passaged derivatives. 3rd International Symposium on Pertussis. Dhew Publication, pp. 124～132, 1979

9) FIELD, L. H. & C. D. PARKER: Antibiotic susceptibility testing of *Bordetella pertussis*. Am. J. Clin. Pathol. 74 : 312～316, 1980

10) STAINER, D. W. & M. J. SCHOLTE : A simple chemically defined medium for the production of phase I *Bordetella pertussis*. J. Gen. Microbiol. 63 : 211～220, 1971

11) NELSON, J. D.; B. M. MATTECK & J. MCNABB: Susceptibility of *Bordetella pertussis* to ampicillin. J. Pediatr. 68 : 222～226, 1966

12) BASS, J. W.: The role of antimicrobial agents in the treatment pertussis. J. Pediatr. 83: 891～892, 1973

13) SIMON, C.; M. BONTEMPS, K. WIESE & R. SCHEWIOR-ROLAND: Zur Ampicillin-Therapie des Keuch hustens. Dtsch. Med. Wschr. 94 : 2435～2437, 1969

14) KURT, T. L.; A. S. YEAGER, S. GUENETTE & S. DUNLOP: Spread of pertussis by hospital staff. JAMA 221 : 264～267, 1972

15) TROLLFORS, B.: Effect of erythromycin and amoxicillin on *Bordetella pertussis* in the nasopharynx. Infection 6 : 228～230, 1978

16) 松本慶蔵，他（4施設）：呼吸器感染症を場とする T-1982 の基礎的・臨床的研究。Chemotherapy 30 (S-3) : 610～625, 1982

17) SHISHIDO, H.; K. MATSUMOTO, K. WATANABE & Y. UZUKA: *In vitro* activity of β-lactam antibiotics against *Bordetella pertussis*: Unusually high anti-*B. pertussis* activity of piperazine β-lactams. Current chemotherapy and infections disease. Proceedings of the 11th ICC and the 19th ICAAC. Amer. Soc.

Microbiol. pp. 84～87, 1980
18) 松本慶蔵，鈴木　寛，土橋賢治，宮崎昭行，宍戸春美，野口行雄，渡辺貴和雄：AM-715に関する基礎的・臨床的研究。Chemotherapy 29 (S-4): 370～379, 1981
19) 松本慶蔵，宍戸春美，高橋　淳，原田知行，坂本剛，渡辺貴和雄，貝田禎雄：Oxazine系合成抗菌剤 DL 8280 の *in vitro* 抗菌力，体内動態，ならびに臨床的有用性に関する研究。Chemotherapy, 投稿中

ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF CLINICALLY ISOLATED *BORDETELLA PERTUSSIS*, WITH THE SPECIAL REFERENCE TO THE *IN VITRO* BACTERICIDAL ACTIVITY

HARUMI SHISHIDO, ATSUSHI TAKAHASHI, KIWAO WATANABE, and KEIZO MATSUMOTO
Department of Internal Medicine, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

KEISUKE TAZAKI
Tazaki Clinic

In vitro bactericidal activity testing was performed using BORDET-GENGOU broth (2.5 g of soluble starch, 10 g of peptone, 5 g of NaCl, and 10 ml of glycerol per liter supplemented with 15% of defibrinated horse blood), which has been established in our laboratory. The *in vitro* bactericidal activities of β-lactam antibiotics against *Bordetella pertussis* (*B. pertussis*) were compared, ampicillin showing the highest activity. The comparative *in vitro* bactericidal activities of the 8 representative antimicrobial agents were in the order :

Erythromycin > gentamicin > norfloxacin > chloramphenicol > minocycline > ampicillin > latamoxef > cefoperazone.

It has been suggested that *in vitro* bactericidal activity in our methodology should be consistent with clinical results.

The MICs at 10^6 cfu/ml of 22 antimicrobial agents against 24 strains of clinically isolated *B. pertussis* were determined by the agar dilution method. Comparison of the MICs of β-lactam antibiotics against *B. pertussis* indicated that TA-058 and cefpiramide were as active as piperacillin and cefoperazone, respectively. DL-8280 and norfloxacin were more active against *B. pertussis* than the older nalidixic acid analogs.

The method of cryopreservation and transport of clinical isolates of *B. pertussis* have been studied, and new methodology was established.