

## 化学療法剤投与によるマウス盲腸内 *Clostridium difficile* の変動について

青木 誠・小林とよ子・渡辺 邦友・上野 一恵

岐阜大学医学部嫌気性菌実験施設

(昭和60年2月21日受付)

ICR 系マウスに各種化学療法剤を投与し、盲腸内の *C. difficile* の出現状況と、*C. difficile* のマウス間の感染について実験を行なった。

1. 実験に使用した化学療法剤 29 剤のうち 27 剤 (93.1%) でマウス盲腸内から菌数に差はあるものの *C. difficile* が分離された。中でもペニシリン系抗生剤 4 剤, CTX, CMX, LMOX, CXM, CTM, CEZ, CFX, CPM, BRL 25000, キノリン・カルボン酸系薬剤 3 剤および FOM はマウス 5 匹中 5 匹とも *C. difficile* が出現した。これに反し, CTT, VCM の経口投与群および MINO では *C. difficile* は全く分離されなかった。

2. 化学療法剤を投与しないマウス盲腸内からは *C. difficile* は分離されなかった。しかし 1 ケージ当たり 1 匹のみ飼育したマウスに CTX を投与しても *C. difficile* が 100% に分離された。したがって ICR 系マウスの腸管内には *C. difficile* が極く少数常在しているものと考えられる。

3. CTX 投与マウスと無投与マウスの同居実験では、投与マウスから無投与マウスへ *C. difficile* が移行することが確認された。

4. 分離された *C. difficile* のうち無作為抽出した 11 株について HeLa 細胞に対する細胞毒性を検査したところ、全株毒素産生株であった。しかしマウスには下痢、腸炎は認められなかった。

近年、抗生剤投与と関連して発症する偽膜性腸炎または下痢と *Clostridium difficile* との関係が注目されている<sup>1-7,10</sup>。また *C. difficile* の病院内感染も問題視されている<sup>8</sup>。

LUSK ら<sup>9</sup>は Golden Hamster に Clindamycin を経口あるいは非経口的に投与すると、ヒトにおいて抗生剤を投与した際にみられる偽膜性腸炎と類似した病変がみられることを報告した。その後各種抗生剤を投与したハムスターなどにおいて、*C. difficile* によると考えられる腸炎が高率に発病するという報告は多数みられる<sup>10-14,19</sup>。

著者らは ICR 系マウスを用いて、各種化学療法剤投与による盲腸内 *C. difficile* の出現状況を検討したので報告する。

### I. 材料と方法

#### 1. マウス

ICR 系マウス (中部科学資材), ♂および♀, 18~25 g を用いた。ケージはポリプロピレン製で高圧滅菌したものを用いた。

#### 2. 供試薬剤とマウスへの投与方法

使用薬剤は Ampicillin (ABPC), Amoxicillin (AMP

C), Carbenicillin (CBPC), Sulbamicillin (SBPC), Cephalothin (CET), Cephaloridine (CER), Cefazolin (CEZ), Cefuroxime (CXM), Cefoperazone (CPZ), Cefotiam (CTM), Cefotaxime (CTX), Cefoxitin (CFX), Cefmetazole (CMZ), Cefmenoxime (CMX), Lamoxef (LMOX), Cefotetan (CTT), Cefbuperazone (CBPZ), Cefpiramide (CPM), BRL 25000, Clindamycin (CLDM), Minocycline (MINO), Chloramphenicol (CP), Micronomicin (MCR), Vancomycin (VCM), Metronidazole (MTN), Nalidixic acid (NA), Pipemidic acid (PPA), Norfloxacin (NFLX) および Fosfomycin (FOM) の計 29 種である。いずれの薬剤も 10 mg/ml の水溶液を作製し、1日1回 2 mg を投与した。投与方法はキノリン・カルボン酸系薬剤である NA, PPA および NFLX は経口投与した。VCM は皮下注射と経口投与の両方について実施した。その他の薬剤はすべて皮下注射によって投与した。

投与期間はキノリン・カルボン酸系薬剤は 4 日間、その他の薬剤はいずれも 7 日間とした。

#### 3. *C. difficile* の選択分離培地

小林の改良した変法 CCFA 培地<sup>15</sup>を用いた。培地は

使用の2~3日前に作製し、アネロビクチャンパー内に保存して充分還元された培地を用いた。37°C, 48時間培養後、3~5 mm, R型, 辺縁粗, 黄色の *C. difficile* を推定する特徴的なコロニーをカウントした。

#### 4. 嫌気培養

アネロビクチャンパーを用いて行なった。チャンパー内は三種混合ガス (CO<sub>2</sub> 10%, H<sub>2</sub> 10%, N<sub>2</sub> 80%) と触媒により常時嫌氣的に保持された。

#### 5. 同定

選別分離培地で *C. difficile* を推定した分離株は嫌気性菌であることを確認した後、各種化学的性状とガス

クロマトグラフィによる代謝産物の分析により同定した<sup>10)</sup>。

#### 6. 毒素産生能の検査

各分離株は Brain heart infusion broth (Difco) 48時間培養ろ液について、HeLa細胞を用いて cytotoxicity を検査して毒素産生能を測定した<sup>11)</sup>。

#### 7. 盲腸内からの *C. difficile* の検出

通常は1群5匹のマウスを頸椎骨折によりと殺開腹し、盲腸内容物を採取した。盲腸内容物は重量測定後直ちにアネロビクチャンパー内に搬入した。搬入した検体はそのまま綿棒で、あるいは嫌気性希釈液<sup>12)</sup>で10倍

Table 1 Appearance of *C. difficile* in caecum contents of mice administrated various chemotherapeutic agents

Chemotherapeutic agents	Dose (mg/day), route	Term (day)	No. of mice tested	No. of <i>C. difficile</i> in caecum contents of mice					No. of <i>C. difficile</i> isolated (%)
				###	##	#	+	-	
Ampicillin (ABPC)	2, sc	7	5	5					100
Amoxicillin (AMPC)	2, sc	7	5	5					100
Carbencillin (CBPC)	2, sc	7	5	1	3		1		100
Sulbenicillin (SBPC)	2, sc	7	5	1	2		2		100
Cefotaxime (CTX)	2, sc	7	5	5					100
Latamoxef (LMOX)	2, sc	7	5	5					100
Cefmenoxime (CMX)	2, sc	7	5	5					100
Cefpiramide (CPM)	2, sc	7	5	5					100
Cefuroxime (CXM)	2, sc	7	5	4	1				100
Cefotiam (CTM)	2, sc	7	5	4			1		100
Cefoxitin (CFX)	2, sc	7	5	2	3				100
BRL 25000	2, sc	7	5	2	2		1		100
Cefazolin (CEZ)	2, sc	7	5			1	4		100
Cefbuperazone (CBPZ)	2, sc	7	5				4	1	80
Cefoperazone (CPZ)	2, sc	7	5		1		2	2	60
Cefmetazole (CMZ)	2, sc	7	5				3	2	60
Cephaloridine (CER)	2, sc	7	5				2	3	40
Cephalothin (CET)	2, sc	7	5				1	4	20
Cefotetan (CTT)	2, sc	7	5					5	0
Nalidixic acid (NA)	2, po	4	5	4			1		100
Pipemidic acid (PPA)	2, po	4	5	2		1	2		100
Norfloxacin (NFLX)	2, po	4	5				5		100
Fosfomycin (FOM)	2, sc	7	5			1	4		100
Clindamycin (CLDM)	2, sc	7	5			1	3	1	80
Miconomicin (MCR)	2, sc	7	5	1	2		1	1	80
Vancomycin (VCM)	2, sc	7	5				2	3	40
Vancomycin (VCM)	2, po	7	5					5	0
Metronidazole (MTN)	2, sc	7	5		2			3	40
Chloramphenicol (CP)	2, sc	7	5				1	4	20
Minocycline (MINO)	2, sc	7	5					5	0
Control			5					5	0

sc : Subcutaneous injection, po : Oral administration.

### : >10<sup>4</sup>/plate, ## : 10<sup>4</sup>~10<sup>3</sup>/plate, # : 10<sup>3</sup>~10<sup>2</sup>/plate, + : 10<sup>2</sup>~1/plate, - : Negative.

Table 2 Isolation of *C. difficile* from caecum contents of mice administrated CTX

Administrated CTX (2 mg/day) for	No. of mice per one cage	No. of mice tested	Recovery of <i>C. difficile</i> from caecum contents	
			Positive(%)	Negative
4 days	1	5	5(100)	0
	5	20	20(100)	0
7 days	5~6	21	21(100)	0
Not given	9~10	19	0(0)	19

Table 3 No. of *C. difficile* in caecum contents of mice administrated CTX

CTX	No.	No. of <i>C. difficile</i> (/g)
Administrated (2 mg/day, 7 days, sc)	1	$52 \times 10^6$
	2	$50 \times 10^6$
	3	$46 \times 10^6$
	4	$51 \times 10^6$
	5	$10 \times 10^6$
Not given	1	ND
	2	ND
	3	ND
	4	ND
	5	ND

ND: Not detected

希釈した後、選択分離培地に塗抹し半定量的に培養した。判定は選択分離培地1平板当りの *C. difficile* のコロニーが約  $10^4$  個以上のものを冊、約  $10^4 \sim 10^3$  個のものを冊、約  $10^3 \sim 10^2$  個のものを冊、 $10^2 \sim 1$  個のものを冊、陰性のものを一とした。予備実験により冊は  $10^5$  CFU/g 以上、冊は  $10^{4-3}$  CFU/g、冊は  $10^{2-1}$  CFU/g であることが確かめられている。

#### 8. 同居飼育による薬剤を投与しないマウスへの *C. difficile* の移行実験

(1) 10匹のマウスを同一ケージ内で同居飼育し、このうち半数の5匹のマウスに CTX を 2 mg/day 4日間投与し、残りのマウス5匹には薬剤を投与しないで飼育した。5日目にと殺し、CTX 投与マウスと投与しないマウスの盲腸内 *C. difficile* の菌数を検討した。

(2) 6匹のマウスを同一ケージで同居飼育し、そのうち1匹のマウスに CTX を 2 mg/day 4日間投与し、残りの5匹には薬剤は投与しなかった。5日目にと殺し、CTX 投与マウスと投与しないマウスの盲腸内 *C. difficile* の菌数を検討した。

(3) 10匹のマウスを同一ケージで同居飼育し、半数の5匹のマウスには CTX を 2 mg/day 7日間投与し、

残りのマウス5匹には薬剤は投与しなかった。この実験系を2組つづつた。1組は毎日高圧滅菌したケージと新しい敷きワラに取り換えて7日間清潔な環境内で飼育した。他の1組は7日間同一ケージ内で敷きワラを取り換えずに不潔な環境内で飼育した。8日目にすべてのマウスの盲腸内 *C. difficile* の菌数を定量培養によって測定した。

## II. 成績

### 1. 各種化学療法剤投与による盲腸内 *C. difficile* の出現

各種化学療法剤投与によるマウス盲腸内の *C. difficile* の菌数の変動を Table 1 に示した。対照マウスでは5匹中5匹とも菌陰性であった。

ペニシリン系抗生剤投与マウスでは4剤とも *C. difficile* が 100% 出現し、特に ABPC および AMPC は5匹中5匹とも *C. difficile* は著しく増加した。しかし CBPC と SBPC 投与では出現率は 100% であったが、*C. difficile* の増殖は著しくなかった。

セフェム系抗生剤では、セファロスポリン系およびセファマイシン系の CTX, CMX, CPM, CXM, CTM, CFX, LMOX, BRL 25000 および CEZ では 100% に

Table 4 Isolation of *C. difficile* from mice boarded with mice administrated CTX

(2 mg/day, 4 days, sc)

Condition of breeding		Mice administrated CTX			Mice boarded with mice administrated CTX		
No. of mice administrated CTX	No. of mice boarded	Positive	Negative	Isolation rate (%)	Positive	Negative	Isolation rate (%)
5	5	5	0	100	5	0	100
1	5	1	0	100	1	4	20

Table 5 No. of *C. difficile* in caecum contents of mice boarded with mice administrated CTX for 7 days

Condition of breeding		Mice boarded with mice administrated CTX	
Litter	No. of mice administrated CTX	No.	No. of <i>C. difficile</i> (/g)
Changed everyday	5	1	ND
		2	ND
		3	ND
		4	$1 \times 10^3$
		5	$1 \times 10^3$
No changed for 7 days	5	1	$10 \times 10^3$
		2	$10 \times 10^3$
		3	$24 \times 10^3$
		4	$17 \times 10^3$
		5	$3 \times 10^3$

ND: Not detected

*C. difficile* が出現した。特に CTX, LMOX, CMX および CPM 投与マウスでは 5 匹中 5 匹とも菌数は卍となり、*C. difficile* の増加が著明であった。CBPZ, CPZ, CMZ, CER および CET では出現率は 80~20% を示したが、CTT では 5 匹中 5 匹とも全く *C. difficile* は検出されなかった。

キノリン・カルボン酸系の 3 剤も 100% の出現率を示した。しかし NFLX 投与では *C. difficile* の菌数は NA および PPA の投与群より菌数は少なかった。

FOM は 100% の出現率を示したが、卍が 1 匹、+ が 4 匹で *C. difficile* の増加は少なかった。CLDM と MCR は出現率 80% を示した。CLDM では盲腸内の *C. difficile* の菌数は比較的少なく、MCR ではマウス個体により菌数にばらつきがみられた。MTN は卍が 2 匹、一が 3 匹というばらついた結果が得られた。CP 投与群と VCM の皮下投与では出現率はそれぞれ 20 および 40% であったが、いずれも *C. difficile* の菌数増加は少なかった。

MINO および VCM の経口投与群はいずれも *C. difficile* は全く分離されなかった。

## 2. 同居飼育による無投与マウスへの *C. difficile* の移行実験

Table 2, 3 に示すように、CTX を投与しない対照マウス 24 匹からは *C. difficile* は全く分離されなかった。しかし CTX を 2 mg/day 4~7 日間投与したすべてのマウス盲腸内から *C. difficile* が多数分離された。この結果は 1 ケージ当り 1 匹飼育で CTX を 4 日間投与したマウス群、1 ケージ当り 5 匹飼育し、CTX を 4 日間投与したマウス群および 1 ケージ当り 5~6 匹飼育し、CTX を 7 日間投与したマウス群のいずれの実験系においても同様の成績であった。盲腸内 *C. difficile* の菌量は CTX 7 日間投与群で  $10^6$  CFU/g に達した。

薬剤を投与したマウスと投与しないマウスを同居させた場合の *C. difficile* の薬剤無投与マウスへの移行実験の成績を Table 4 に示した。CTX 投与マウス 5 匹と無投与マウス 5 匹を同一ケージ内で 4 日間飼育すると、無投与マウスの盲腸内から *C. difficile* が 5 匹中 5 匹 (100%) に多数分離された。また薬剤投与マウス 1 匹と無投与マウス 5 匹を同一ケージ内で 4 日間飼育したところ、無投与マウス 5 匹中 1 匹 (20%) のみから *C. difficile* が少数

Table 6 Biochemical properties of *C. difficile* isolated from human and mice

Test	Human isolates				Mice isolates											ATCC 11011	
	1	2	3	4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
Amygdalin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cellobiose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Erythritol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Esculin {pH hyd.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glycogen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Melezitose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Melibiose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salicin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Starch {pH hyd.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sucrose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trehalose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ribose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Galactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bile growth	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
Gelatin	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>
Milk	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Indole	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lecithinase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lipase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GC profile	A, B, ib, iv, ic				A, B, ib, iv, ic											A, B, ib, iv, ic	

に分離されただけであった。

薬剤投与マウスと無投与マウスを同一ケージ内で飼育し、無投与マウス盲腸内からの *C. difficile* の分離状況を環境の清潔度により比較した成績を Table 5 に示した。ケージ内の敷きワラを毎日取り換えた実験群では無投与マウス 5 匹中 2 匹から *C. difficile* が分離された。一方、7 日間敷きワラを取り換えず不潔な環境で飼育した無投与マウス群では、5 匹中 5 匹 (100%) に  $10^3 \sim 10^4$  g の *C. difficile* が分離された。

3. マウス由来の *C. difficile* とヒト由来の *C. difficile*

の生物学的性状および毒素産生能

各種化学療法剤投与のマウス盲腸内から分離した *C. difficile* のうち、無作為に選んだ 11 株とヒト下痢便由来株および *C. difficile* ATCC 11011 株との性状比較を Table 6, 7 に示した。各種生化学的性状はマウスおよびヒト由来株ならびに ATCC 11011 株とも全く同一性状を示した。またこれらの菌株の培養ろ液の HeLa 細胞に対する細胞毒性を検査したところ、ヒト由来株には毒素産生株と毒素非産生株が認められた。これに対してマウス由来の 11 株はいずれも毒素産生株であり、その毒

Table 7 Cytopathic effect of culture filtrate of *C. difficile* isolated from human and mice to HeLa cells

Origin	Human isolates				Mice isolates											ATCC 11011	
	No.	1	2	3	4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		11
CPE	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	-	-	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-3</sup>

素産生能は菌株により強弱がみられた。

### III. 考 察

健康人の *C. difficile* の保菌状況は BURDON ら<sup>20)</sup> および BARTLETT ら<sup>21,22)</sup> は全く菌は分離されないと報告している。しかし GEORGE ら<sup>24,27,28)</sup> は 137 名中 4 名 (3%) から 10<sup>8</sup>~10<sup>9</sup>/g 分離している。また小林ら<sup>20)</sup> は成人 105 名中 17 名 (16.2%), 小児 15 名中 4 名 (26.6%) から *C. difficile* を分離し、菌数は成人の 1 例で 10<sup>9</sup>/g であったほかはいずれも 10<sup>8</sup>/g 以下であったと報告した。STARK ら<sup>22)</sup> は 90% の新生児から *C. difficile* を分離し、菌数は被検者によっては 10<sup>9</sup>/g 以上に検出している。また HALL ら<sup>23)</sup> および SNYDER ら<sup>26)</sup> も新生児糞便から *C. difficile* を高率に分離している。

我々は化学療法剤を全く投与しない ICR 系健康マウスの盲腸内容物から *C. difficile* の分離を試みたが、1 例も分離されなかった。しかしマウスに各種化学療法剤を投与したところ、薬剤の種類によってはマウス盲腸内から 100% に *C. difficile* が分離された。

ABPC, AMPC, CBPC, SBPC, NA, PPA, NFLX, FOX ならびにセフェム系抗生剤のうち CTX, LMOX, CMX, CPM, CXM, CTM, CFX, BRL 25000 および CEZ では *C. difficile* は 100% の出現率を示した。しかし CTT, MINO および VCM の経口投与例では *C. difficile* は検出されなかった。したがって出現頻度に差はあるものの、投与した被検薬剤 29 剤中 27 剤 (93.1%) はマウス盲腸内で *C. difficile* が異常増殖することが示唆された。

薬剤投与マウスと無投与マウスの同一ケージ内飼育による *C. difficile* の無投与マウスへの移行実験では、無投与マウス盲腸内からも *C. difficile* が分離され、投与マウスから無投与マウスへ *C. difficile* が移行したことが推測された。また投与マウスの糞便汚染が著しい環境下で飼育された無投与マウスほど、盲腸内 *C. difficile* は多数分離されたことから、糞便を介した *C. difficile* の移行が示唆された。すなわち薬剤投与によりマウス腸管内で異常増殖した *C. difficile* は糞便とともに排出され、その糞便を介して無投与マウスに *C. difficile* が移行したと思われる。

分離されたマウス由来の *C. difficile* の毒素産生能を

検査したところ、すべて毒素産生株であった。しかしマウス盲腸内で *C. difficile* が 10<sup>7</sup>/g に増殖した場合においても、マウスに下痢はみられず、また肉眼所見では腸炎も認められなかった。この理由は明らかでないが、マウス盲腸内には *C. difficile* の毒素の Receptor がいないのかも知れない。

本実験は *C. difficile* の病院内感染モデルとして行なったものであり、マウスに化学療法剤を投与した場合、大多数の薬剤で腸管内 *C. difficile* の異常増殖が認められたこと、薬剤投与マウスと無投与マウスの同居飼育により *C. difficile* の移行が確認されたことから、欧米で問題となっている *C. difficile* の病院内感染の危険性が示唆された。

### 文 献

- 1) BENNER, E. J. & W. H. TELLMAN: Pseudomembranous colitis as a sequel to oral lincomycin therapy. *Am. J. Gastroenterol* 54: 55~58, 1970
- 2) TEDESCO, F. J.; R. W. BARTON & D. H. ALPERS: Clindamycin-associated colitis. A prospective study. *Ann. Intern. Med.* 81: 429~433, 1974
- 3) LARSON, H. E.; J. V. PARRY, A. B. PRICE, J. DOLBY & D. A. J. TYRRELL: Undescribed toxin in pseudomembranous colitis. *Br. Med. J.* 1: 1246~1248, 1977
- 4) HUTCHSON, D. F.; F. D. MILLIGAN, J. H. YARDLEY & T. R. HENDRIX: Cephalosporin-associated pseudomembranous colitis. *Digest. Dis.* 23: 321~326, 1978
- 5) GORBACH, S. L. & J. G. BARTLETT: Pseudomembranous enterocolitis. A review of its diverse forms. *J. Inf. Dis.* 135: 89~94, 1977
- 6) BARTLE, W. R. & F. G. SAIBL: Antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *C. M. A. J.* 116: 162~163, 1977
- 7) KEATING, J. P.; A. L. FRANK, L. L. BARTON & F. J. TEDESCO: Pseudomembranous colitis associated with ampicillin therapy. *Am. J. Dis. Child.* 128: 369~370, 1974
- 8) MULLIGAN, M. E.; R. D. ROLFE, S. M. FINEGOLD & W. L. GEORGE: Contamination of a hospital

- environment by *Clostridium difficile*. Current Microbiology 3 : 173~175, 1979
- 9) LUSK, R. H.; R. FEKETY, J. SILVA, R. A. BROWNE, D. H. RINGLER & G. D. ABRAMS : Clindamycin-induced enterocolitis in hamster. J. Inf. Dis. 137 : 464~475, 1978
  - 10) EBRIGHT, J. R.; R. FEKETY, J. SILVA & K. H. WILSON : Evaluation of eight cephalosporins in hamster colitis model. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 19 : 980~986, 1981
  - 11) TOSHNIWAL, R.; J. SILVA, R. FEKETY & K. H. KIM : Studies on the epidemiology of colitis due to *Clostridium difficile* in hamsters. J. Inf. Dis. 143 : 51~54, 1981
  - 12) CHANG, T. W.; J. G. BARTLETT, S. L. GORBACH & A. B. ONDERDONK : Clindamycin-induced enterocolitis in hamsters as a model of pseudomembranous colitis in patients. Infect. Immun. 20 : 526~529, 1978
  - 13) BOWNE, R. A.; R. FEKETY, J. SILVA, D. I. BOYD, C. O. WORK & G. D. ABRAMS : The protective effect of vancomycin on clindamycin-induced colitis in hamsters. Johns Hopkins Med. J. 141 : 183~192, 1977
  - 14) BARTLETT, J. G.; A. B. ONDERDONK & R. L. CISNEROS : Clindamycin-associated colitis in hamsters : protection with vancomycin. Gastroenterology 73 : 772~776, 1977
  - 15) 上野一恵, 渡辺邦友, 小林とよ子 : 偽膜性腸炎と *Clostridium difficile*, モダンメディア, 25 : 798~810, 1979
  - 16) HOLDEMAN, V. L.; E. P. CATO & W. E. C. MOORE : Anaerobe laboratory manual. Virginia Polytechnic Institute and State University, 1979
  - 17) 上野一恵, 小林とよ子, 渡辺邦友 : 抗菌剤による偽膜性腸炎, 細菌感染症と抗菌剤, 25~44, 中外医学社, 1981
  - 18) 倉辻忠俊, 山田兼雄, 老川忠雄, 福本哲夫, 清水俊一, 岩崎由紀夫, 滝沢金次郎, 浅井良夫 : *Clostridium difficile* の分離された偽膜性腸炎の1例とその治療について. 感染症学雑誌 54 : 518~524, 1980
  - 19) BARTLETT, J. G.; N. S. TAYLOR, T. W. CHANG & J. A. DZINK : Clinical and laboratory observations in *Clostridium difficile* colitis. The American Journal of Clinical Nutrition 33 : 2521~2526, 1980
  - 20) LARSON, H. E.; A. B. PRICE & S. P. BORRIELLO : Epidemiology of experimental enterococitis due to *Clostridium difficile*. J. Inf. Dis. 142 : 408~413, 1980
  - 21) BARTLETT, J. G.; T. W. CHANG, N. S. TAYLOR & A. B. ONDERDONK : Colitis induced by *Clostridium difficile*. Rev. Inf. Dis. 1 : 370~378, 1979
  - 22) STARK, P. L. & A. LEE : Clostridia isolated from the feces of infants during the first year of life. Sch. Microbiol. 100 : 362~365, 1982
  - 23) BARTLETT, J. G.; T. W. CHANG, M. GURWITH, S. L. GORBACH & A. B. ONDERDONK : Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia. New. Engl. J. Med. 298 : 531~534, 1978
  - 24) LARSON, H. E.; A. B. PRICE & P. HONOUR : *Clostridium difficile* and the etiology of pseudomembranous colitis. Lancet 1 : 1063~1066, 1978
  - 25) HALL, I. C. & E. O'TOOLE : Intestinal flora in new-born infants, with a description of a pathogenic anaerobe, *Bacillus difficile*. Am. J. Dis. Child. 49 : 390~402, 1935
  - 26) SNYDER, M. L. : The normal fecal flora of infants between two weeks and one year of age. J. Inf. Dis. 66 : 1~66, 1940
  - 27) GEORGE, W. L.; V. L. SUTTER & S. M. FINEGOLD : Toxigenicity and antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile*, a cause of antimicrobial agent-associated colitis. Current Microbiol. 1 : 55~58, 1978
  - 28) GEORGE, W. L.; R. D. ROLFE, V. L. SUTTER & S. M. FINEGOLD : Diarrhea and colitis associated with antimicrobial therapy in man and animals. Am. J. Clin. Nutr. 32 : 251~257, 1979
  - 29) BURDON, D. W. : Antibiotic induced pseudomembranous colitis. Miura Med. Res. Foundation Seminar. 1980 (Tokyo)
  - 30) 小林とよ子 : 抗菌剤投与と *Clostridium difficile* による下痢症に関する研究. The Japanese Journal of Antibiotics 36 : 464~475, 1983
  - 31) 上野一恵, 光岡知足, 渡辺邦友 : 嫌気性菌の分離と同定法, 菜根出版, 東京, 1982

*CLOSTRIDIUM DIFFICILE* IN CAECUM OF MICE  
AFTER ADMINISTRATION OF VARIOUS  
CHEMOTHERAPEUTICS AGENTS

MAKOTO AOKI, TOYOKO KOBAYASHI, KUNITOMO WATANABE  
and KAZUE UENO

Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University School of Medicine

*Clostridium difficile* in caecum content of mice after administration of various chemotherapeutics agents were isolated.

29 chemotherapeutics agents were used in these experiments and the numbers of *C. difficile* were increased by 27 agents out of them. *C. difficile* wasn't isolated at all from normal mice but was isolated 100% from mice given 17 agents.

All 11 strains of *C. difficile* isolated from mice caused cytopathic effect in HeLa cell culture.

The normal mice were boarded with the mice administrated CTX. We certified to contagion of *C. difficile* from mice to mice.