

ST 合剤に対する臨床分離株の感受性推移と配合意義の検討

名出 頼男・玉井 秀亀・柳岡 正範
石黒 幸一・安藤 浩二・安藤 慎
藤田学園保健衛生大学医学部泌尿器科

鈴木 恵 三
平塚市民病院泌尿器科

小沢 英夫・原 進・内藤 守啓
藤田学園衛生技術短期大学微生物学教室

(昭和 60 年 5 月 15 日受付)

1977 年から 1981 年までの 5 年間にわたって、名古屋保健衛生大学病院中検細菌検査室において各種臨床材料より分離された 905 株のグラム陰性桿菌群について、ST 合剤に対する薬剤感受性の推移ならびに ST 合剤における SMX の配合意義を検討した。

1) ST 合剤に対する菌種別感受性分布は、一部例外を除き MIC₅₀ で 3.13 µg/ml 以下を、MIC₉₀ で 12.5 µg/ml 以下を示した。

2) 1980 年の *Citrobacter* spp. を除き、極端な感受性分布の年次変動はみられなかった。

3) *Enterobacteriaceae* では、MIC 濃度と disc 感受性検査結果には、かなりの相関傾向はみられるものの、disc 感受性検査の結果の方が耐性菌率の高い傾向を示した。一方、*P. aeruginosa* では腸内細菌群とは異なって、両者の相関はみられなかった。

4) TMP の協力作用は、SMX 50 µg/ml 以下の MIC 値を示す 481 株中 373 株 77.5% にみられた。一方、SMX の協力作用は、TMP 50 µg/ml 以下の MIC を示す 743 株中 384 株 51.4% に認められた。TMP 高度耐性菌において協力作用は、ほとんど認められなかった。

ST 合剤は、抗菌メカニズムや薬理学的にかなり特異な点を有する薬剤として登場し、国内外で評価されて来ている¹⁻⁹⁾。同じ薬酸合成阻害剤として、同一 pathway の異なる部位の酵素活性を阻害する薬剤の組み合わせである点を第一の特徴とするが、一方、脂溶性であり、かつアルカリ性物質である点が薬理学的特性として強調される trimethoprim (TMP) と、従来慣用されていたが、近年では耐性菌増加のためあまり臨床的には用いられることの少なくなった sulfamethoxazole (SMX) の組み合わせが、前者の特徴を果して充分活かす組み合わせであるか否かということが興味を引くのを第二の特徴とする。

しかし、この第二の特徴は、第一の特徴が真に特徴となり得た後初めて意味を有するのであって、前者のいわゆる“協力作用” synergism があってこそ、両薬剤が一定の混合比を示す生体内の場を探し出す作業が意味をもって来るといえよう。

今回我々は、その第一の特徴が、サルファ剤高度耐性

菌が増加しているとされる今日の臨床の場で果して発揮され得るであろうかという点に的を絞って、*in vitro* の抗菌力の面から ST 合剤を再検討してみることにした。

I. 材料と方法

感受性測定の対象とした菌株は、1977 年から 1981 年までの 5 年間にわたって、名古屋保健衛生大学病院中検細菌検査室に集められた各種臨床材料から分離され継代保存して来た 905 株の gram 陰性桿菌群である(注)。これら菌株はすべて 1 症例 1 菌株のみの保存とし同一症例から同一菌種の重複した保存は避けている。この内訳は Table 1 に示したとおりである。また分離材料は Table 2 に示したように、尿が圧倒的に多数を占め 674 株、74.5% の source であり、次いで喀痰が 106 株、11.7% の source となっている。

MIC 判定は菌株数の多さと、これらの SMX, TMP

(注) この年度は近時第 3 世代 cephem 系薬剤登場により改めて院内感染菌として増加が問題とされて来た、gram 陽性球菌群出現の前の時期に当たる。

Table 1 Bacterial strains used for MIC study

Sample group Species	Isolated year					No. Total(%)
	1977	1978	1979	1980	1981	
<i>E. coli</i>	30	25	30	30	30	145
<i>Klebsiella</i> spp.	22	25	28	30	30	135
<i>K. pneumoniae</i>	21	25	27	22	21	116(85.9)
<i>K. oxytoca</i>	1	0	0	8	9	18(13.3)
<i>K. ozaenae</i>	0	0	1	0	0	1(0.7)
<i>Enterobacter</i> spp.	6	10	23	20	20	79
<i>E. aerogenes</i>	4	1	8	10	5	28(35.4)
<i>E. cloacae</i>	2	8	7	5	12	34(43.0)
<i>E. agglomerans</i>	0	1	8	5	3	17(21.5)
<i>Serratia</i> spp.	8	18	18	20	21	85
<i>S. marcescens</i>	7	12	12	10	21	63(74.1)
<i>S. liquifaciens</i>	1	6	5	10	0	22(25.9)
<i>Citrobacter</i> spp.	7	14	10	10	10	51
<i>Proteus mirabilis</i>	24	22	27	25	25	123
<i>Proteus vulgaris</i>	9	13	6	9	10	47
<i>Proteus rettgeri</i>	6	8	4	5	4	27
<i>Morganella morganii</i>	13	19	15	16	16	79
<i>P. aeruginosa</i>	3	20	24	31	29	107
Other <i>Pseudomonas</i> spp.	8	4	6	3	6	27
Total	136	178	191	199	201	905

Table 2 Sources of clinical isolates

Source	No. of strains(%)	Source	No. of strains(%)
Urine	674 (74.5)	Decubitus	6 (0.7)
Sputum	106 (11.7)	Wound	5 (0.6)
Pus	52 (5.7)	Tracheal secretion	4 (0.4)
Prostatic fluid	17 (1.9)	Cerebrospinal fluid	3 (0.3)
Blood	11 (1.2)	Ascites	3 (0.3)
Bile	11 (1.2)	Liver biopsy	2 (0.2)
Discharge (through drain)	8 (0.9)	Lung biopsy, Feces, Sponge, Unknown	1 (0.1)each

Total 905(100%)

および ST 合剤 3 剤に対する感受性測定を並行して行なう必要から、自動機器分析法を採用することとした。用いたのは、Dynatech MIC 2000 である。また SMX, TMP 両剤とも原末は F. Hoffman La Roche 社 (Basle) より提供を受け使用した。ST 合剤としては、SMX と TMP の混合比を常法通り 20 対 1 としたものを用いた。

MIC 判定に用いた菌液は、Müller-Hinton broth (Difco) 中に 1 夜前培養した菌液を 10^{-8} に生食水で希釈し、その $1.5 \mu\text{l}$ を $100 \mu\text{l}$ の Müller-Hinton broth

(0.5% に馬溶血脱纖血を添加したもの) に接種して測定に供した。MIC 判定は、この接種菌液を 37°C , 18 ないし 20 時間培養した後に MIC 2000 の manual に準じて行なった。また manual にあるように、耐性菌であるとの判定は、一応 $25 \mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示したものととした。

なお、中検細菌検査室では、感受性判定は昭和薬品化工製の 1 濃度紙 disc を用いて行っており、その成績 (臨床材料より分離した時点での感受性) をそのまま転記採用した。

Fig.1-a Minimal inhibitory concentrations of ST, SMX and TMP against *E. coli* strains. To see synergistic action of SMX added to TMP, MIC distribution curve of ST is shifted 4 tubes to the left (1/16 in concentration of ST). Space between curve of 1/16 ST and TMP shows synergistic action of two drugs.

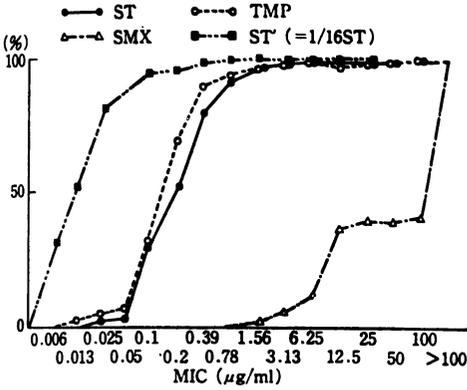


Fig.1-b Minimal inhibitory concentrations of SMX against *E. coli* strains

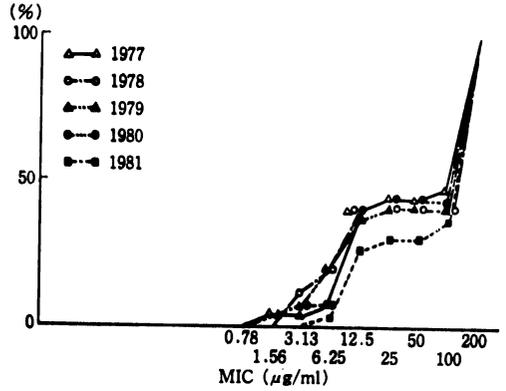


Fig.1-c Minimal inhibitory concentrations of TMP against *E. coli* strains

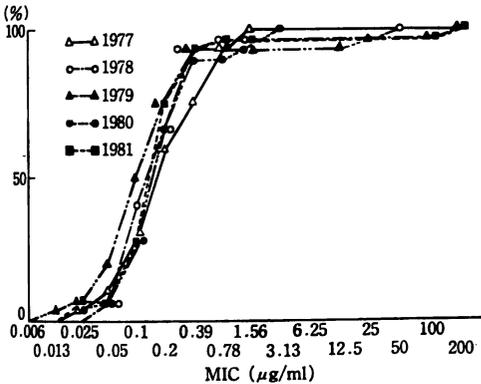


Fig.1-d Minimal inhibitory concentrations of ST against *E. coli* strains

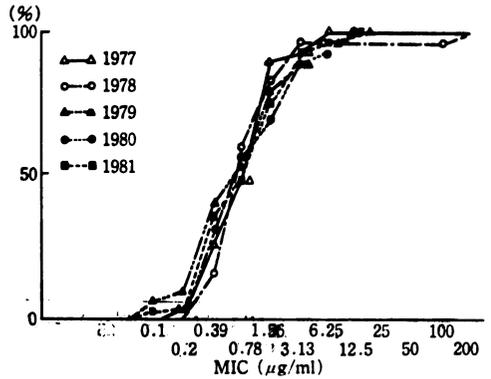


Fig.1-e Correllogram between minimal inhibitory concentrations of ST and TMP against *E. coli* strains. The shaded area is the base zone where no synergistic effect is observed. Upper space of this zone show synergism and lower space shows antagonism.

ST (µg/ml)	TMP (µg/ml)											Total	
	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	25	>100		
0.1				1				0				3	
0.2						1	0					2	
0.39	1	2		9	17	4	1	0				38	
0.78				3	15	9	2	0	1			34	
1.56				2	16	11		0	2			36	
3.13					2	6		1				21	
6.25						1					1	6	
12.5						2				1		3	
>100								0		1	1	2	
Total	1	5	9	35	51	28	7	2	3	2	1	2	145

Fig. 2-a Minimal inhibitory concentrations of ST, SMX and TMP against *Klebsiella* species (for synergistic action see Fig. 1-a)

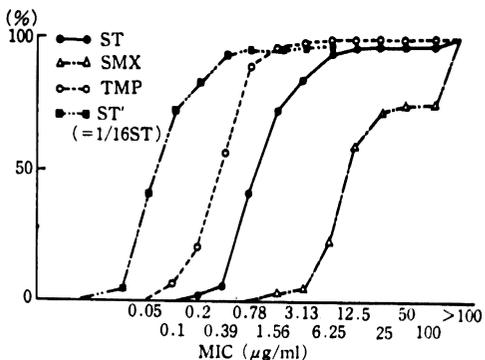


Fig. 2-b Minimal inhibitory concentrations of SMX against *Klebsiella* species

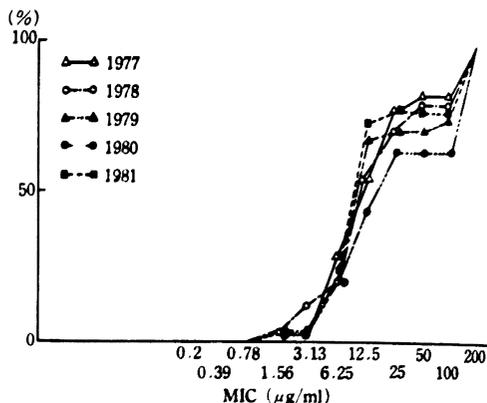


Fig. 2-c Minimal inhibitory concentrations of TMP against *Klebsiella* species

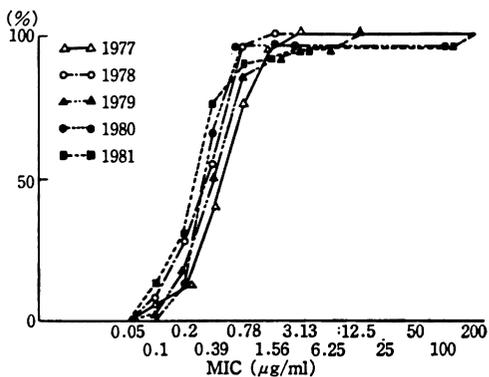


Fig. 2-d Minimal inhibitory concentrations of ST against *Klebsiella* species

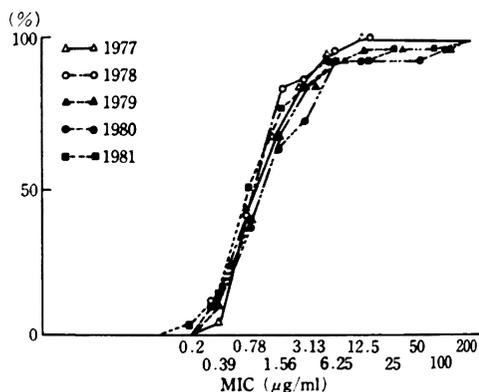


Fig. 2-e Correlogram between MICs of ST and TMP against *Klebsiella* species (for shaded area see Fig. 1-e)

		(µg/ml)								
		0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	12.5	>100	Total
ST (µg/ml)	0.2		1							1
	0.39	3	4			1				14
	0.78	11	23	7						42
	1.56	14	17	19	3					41
	3.13	14	14	4	2					15
	6.25	14	14							14
	12.5	14	14							3
	25	14	14							1
	100	14	14							1
	>100	14	14				1	2		3
Total	8	20	51	42	8	3	1	2	135	

Fig.3-a Minimal inhibitory concentrations of ST, SMX and TMP against *Enterobacter* species (for synergistic action see Fig.1-a)

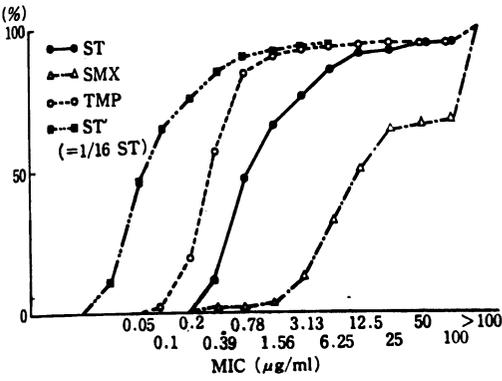


Fig.3-b Minimal inhibitory concentrations of SMX against *Enterobacter* species

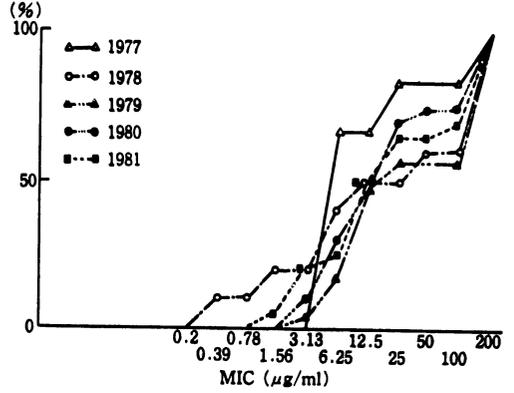


Fig.3-c Minimal inhibitory concentrations of TMP against *Enterobacter* species

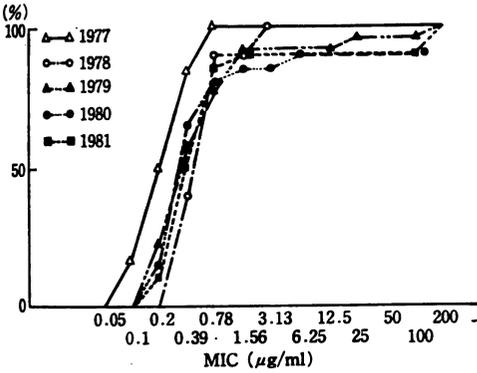


Fig.3-d Minimal inhibitory concentrations of ST against *Enterobacter* species

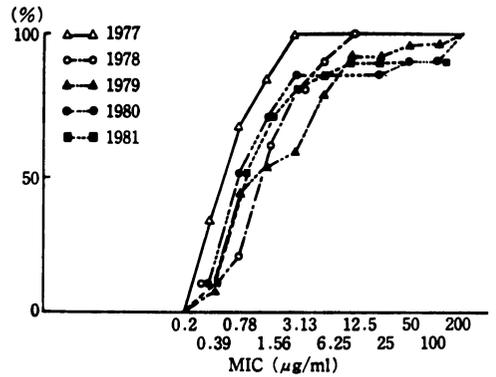


Fig.3-e Correlogram between MICs of ST and TMP against *Enterobacter* species (for shaded area see Fig.1-e)

		(µg/ml)									
		TMP									
		0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	25	>100	Total
(µg/ml)	ST	0.39	5	2	1						9
	0.78	15	6	1						28	
	1.56	9	1							14	
	3.13	6	1	1						9	
	6.25	1								7	
	12.5	1					1			5	
	50									2	
	>100								5		5
Total	1	12	33	20	5	1	1	1	5	79	

Fig. 4-a Minimal inhibitory concentrations of ST, SMX and TMP against *Serratia* species (for synergistic action see Fig. 1-a)

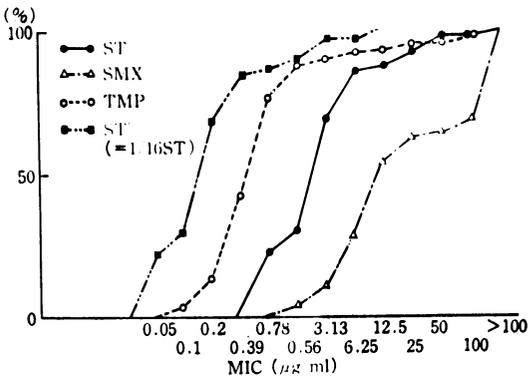


Fig. 4-b Minimal inhibitory concentrations of SMX against *Serratia* species

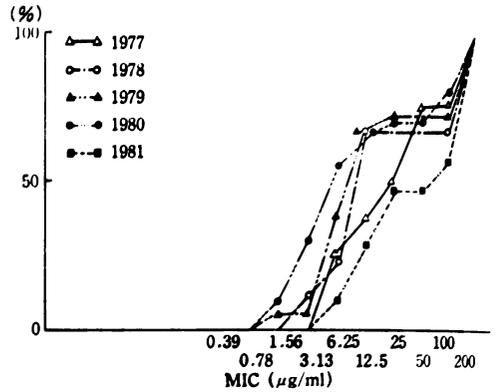


Fig. 4-c Minimal inhibitory concentrations of TMP against *Serratia* species. About 20% of 1981 isolates were moderately resistant to TMP.

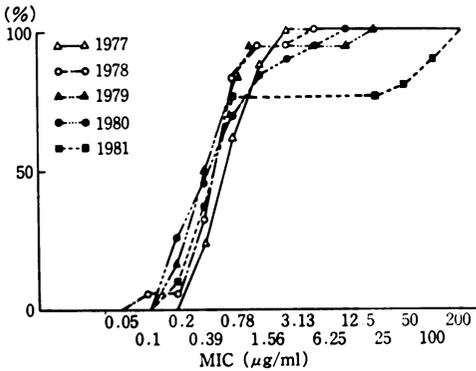


Fig. 4-d Minimal inhibitory concentrations of ST against *Serratia* species

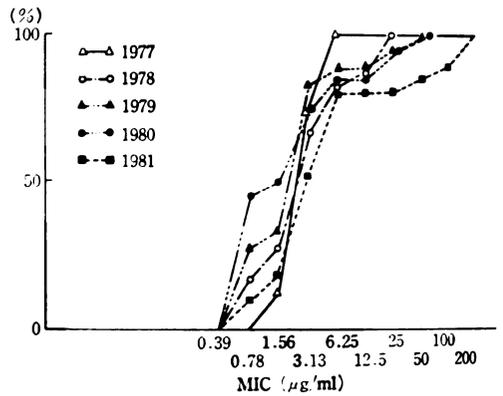


Fig. 4-e Correlogram between MICs of ST and TMP against *Serratia* species (for shaded area see Fig. 1-e)

	(µg/ml)											Total		
	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	>200	
ST	1	9	6	3										19
0.78	1	9	6	3										19
1.56			4	3										7
3.13		1	7	19	4	1								32
6.25			6	4	2	1		1						14
12.5				1										1
25			1	2		1	1							5
50					1			1						3
100									1					1
200										1				1
>200			1										1	2
Total	1	10	23	32	8	2	2	1	1	1	2	1	1	85

Fig. 5-a Minimal inhibitory concentrations of ST, SMX and TMP against *Citrobacter* species (for synergistic action see Fig. 1-a)

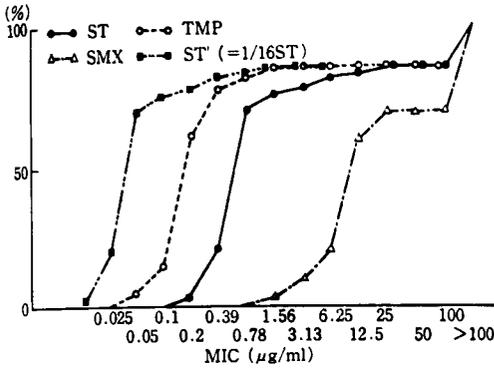


Fig. 5-b Minimal inhibitory concentrations of SMX against *Citrobacter* species

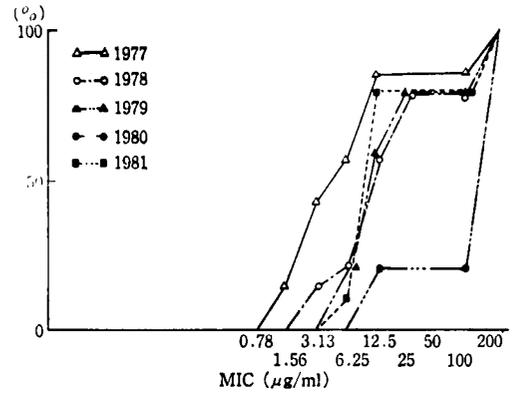


Fig. 5-c Minimal inhibitory concentrations of TMP against *Citrobacter* species

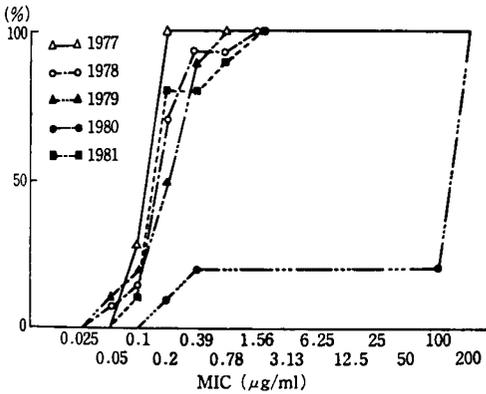


Fig. 5-d Minimal inhibitory concentrations of ST against *Citrobacter* species. About 80% of isolates were resistant to ST in 1980

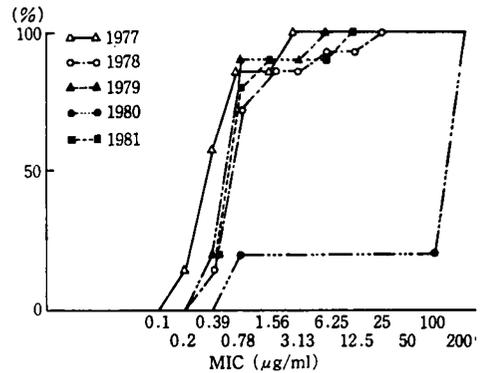


Fig. 5-e Correlogram between MICs of ST and TMP against *Citrobacter* species (for shaded area see Fig. 1-e)

		(µg/ml)								
		0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	>100	Total	
(µg/ml)	ST									
	0.2	1							1	
	0.39	1	4	3	1				9	
	0.78	1	1	17	4	1	1		25	
	1.56			2			1		3	
	3.13				1				1	
	6.25				2				2	
	12.5					1			1	
	25						1		1	
>100							8	8		
Total	2	5	24	8	2	2	8	51		

Fig. 6-a Minimal inhibitory concentrations of ST, SMX and TMP against *P. mirabilis* strains (for synergistic action see Fig. 1-a)

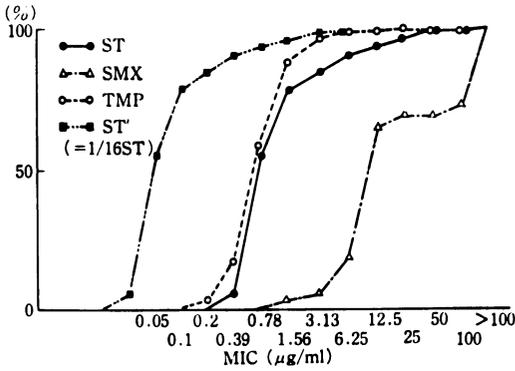


Fig. 6-b Minimal inhibitory concentrations of SMX against *P. mirabilis* strains

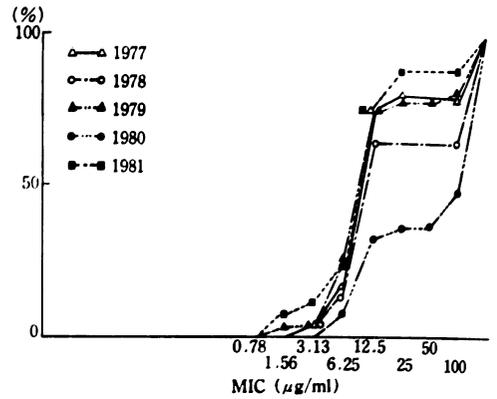


Fig. 6-c Minimal inhibitory concentrations of TMP against *P. mirabilis* strains

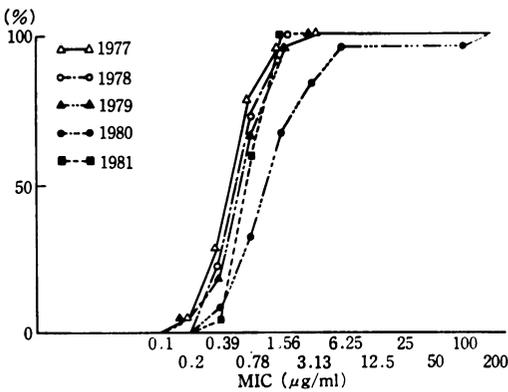


Fig. 6-d Minimal inhibitory concentrations of ST against *P. mirabilis* strains

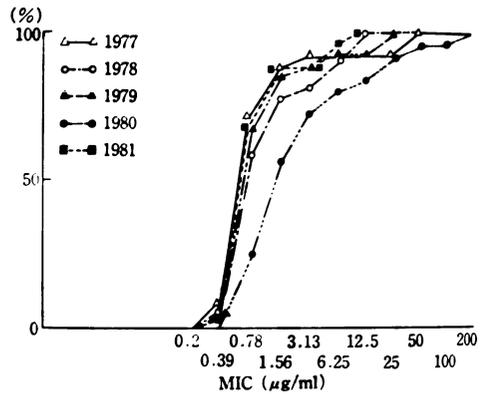


Fig. 6-e Correlogram between MICs of ST and TMP against *P. mirabilis* strains (for shaded area see Fig. 1-e)

		(µg/ml)							
		0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	Total
(µg/ml)	0.39	1	4						5
	0.78		8	42	16				66
	1.56	1	13	5	12	5	2		26
	3.13		4	2		1	1		8
	6.25		1	5					6
	12.5			2	2				4
	25				4				4
	50				1	2			3
	800							1	1
Total	2	18	56	35	8	3	1	123	

Fig.7-a Minimal inhibitory concentrations of ST, SMX and TMC against *P. rettgeri* strains (for synergistic action see Fig. 1-a)

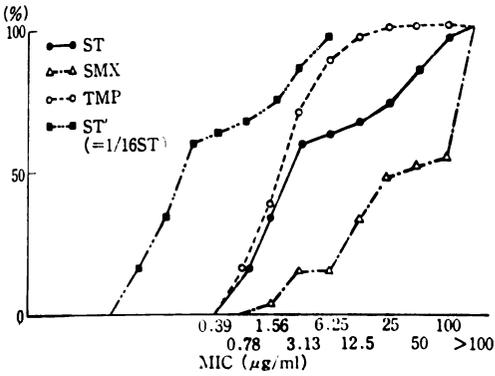


Fig.7-b Minimal inhibitory concentrations of SMX against *P. rettgeri* strains

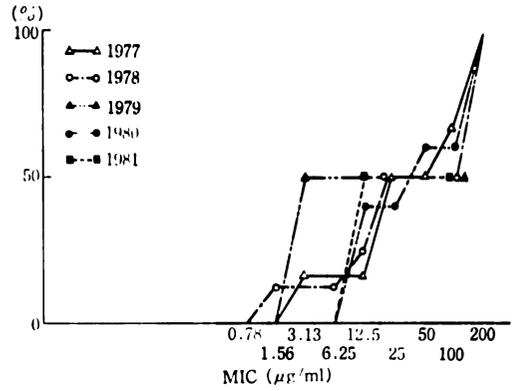


Fig.7-c Minimal inhibitory concentrations of TMC against *P. rettgeri* strains

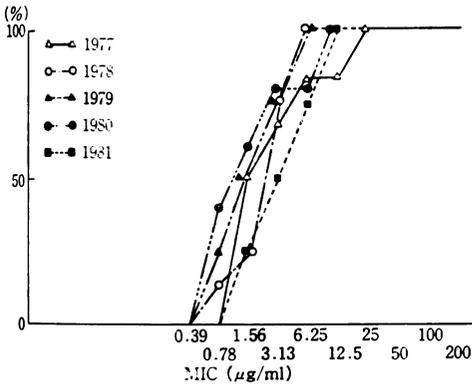


Fig.7-d Minimal inhibitory concentrations of ST against *P. rettgeri* strains

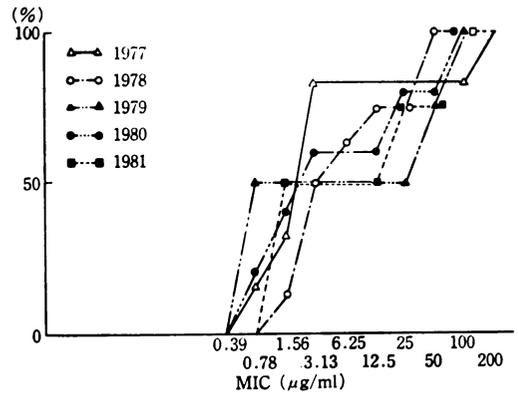


Fig.7-e Correlogram between MICs of ST and TMP against *P. rettgeri* strains (for shaded area see Fig. 1-e)

		(µg/ml)							
		TMP							
ST		0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	Total	
(µg/ml)	0.78	2	2					4	
	1.56		1	2	2			5	
	3.13			1	4	2		7	
	6.25			1				1	
	12.5			1				1	
	25			1		1		2	
	50				2	2		4	
	100					1	2	3	
>100						1	1		
Total	4	7	8	6	2	1	28		

Fig. 8-a Minimal inhibitory concentrations of ST, SMX and TMP against *M. morgani* strains (for synergistic action see Fig. 1-a)

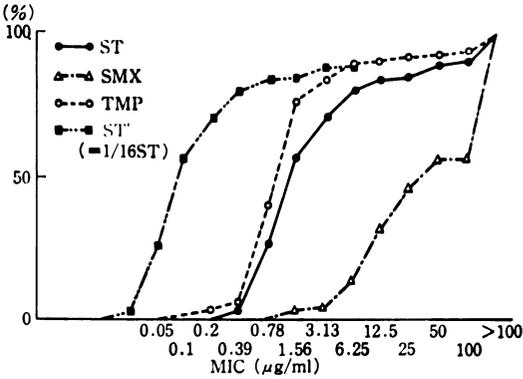


Fig. 8-b Minimal inhibitory concentrations of SMX against *M. morgani* strains

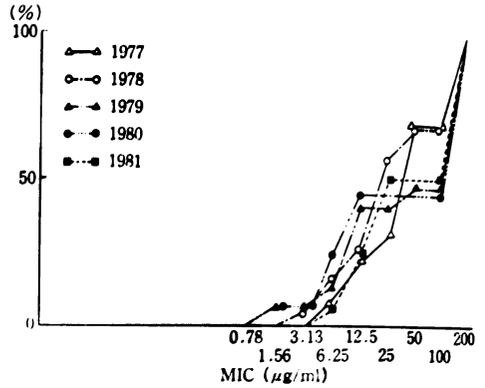


Fig. 8-c Minimal inhibitory concentrations of TMP against *M. morgani* strains

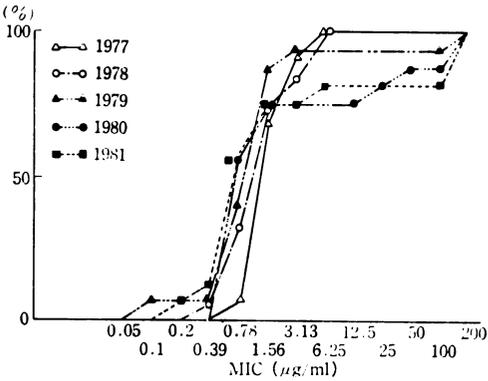


Fig. 8-d Minimal inhibitory concentrations of ST against *M. morgani* strains

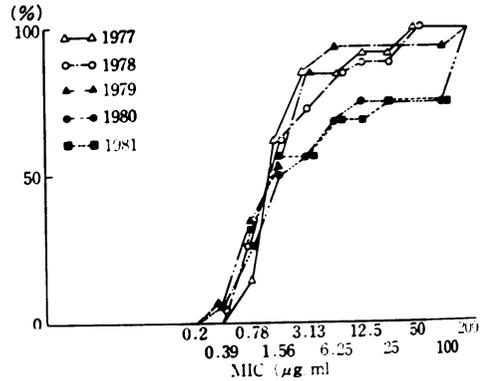


Fig. 8-e Correlogram between MICs of ST and TMP against *M. morgani* strains (for shaded area see Fig. 1-e)

	(µg/ml)											Total	
(µg/ml)	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400	>800	Total
0.39			1	1									2
0.78	1	1	1	12	4								19
1.56			6	15	3								24
3.13				4	4	2	1						11
6.25				3	4								7
12.5				1	1	1							3
25					1								1
50							3						3
100													
200													
400										1			1
>800						1	1		6				8
Total	1	1	2	27	29	6	5	0	1	1	6		79

Fig.9-a Minimal inhibitory concentrations of ST, SMX and TMP against *P.vulgaris* strains (for synergistic action see Fig.1-a)

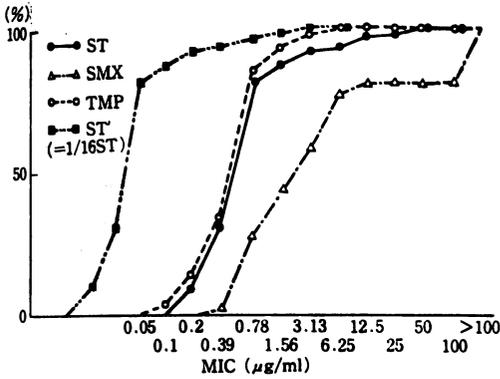


Fig.9-b Minimal inhibitory concentrations of SMX against *P.vulgaris* strains

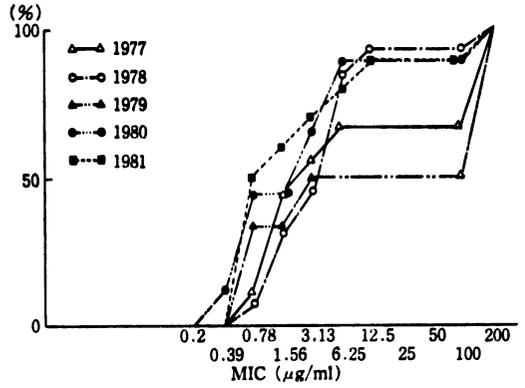


Fig.9-c Minimal inhibitory concentrations of TMX against *P.vulgaris* strains

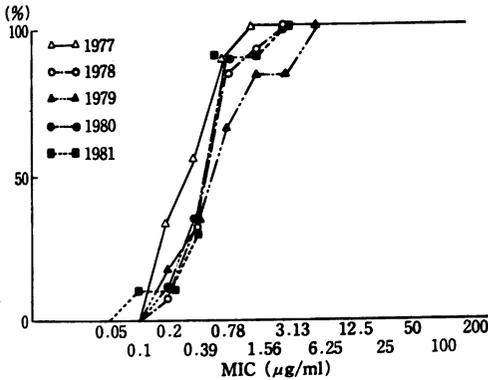


Fig.9-d Minimal inhibitory concentrations of ST against *P.vulgaris* strains

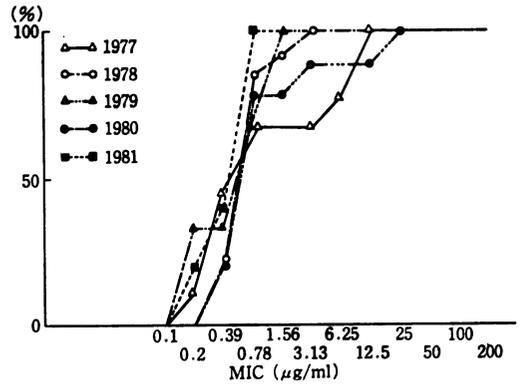


Fig.9-e Correlogram between MICs of ST and TMP against *P.vulgaris* strains (for shaded area see Fig.1-e)

		(µg/ml)								
		0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	5	25	Total
(µg/ml)	ST									
	0.1									0
	0.2		2	2	1					5
	0.39		1	5	4					10
	0.78		1	3	2	14	2	1		23
	1.56				1	1	1	1		3
	3.13					2				2
	6.25						1			1
	12.5							1	1	2
	25								1	1
Total	1	6	10	23	4	2	1		47	

Fig. 10-a Minimal inhibitory concentrations of ST, SMX and TMP against *P. aeruginosa* strains (for synergistic action see Fig. 1-e)

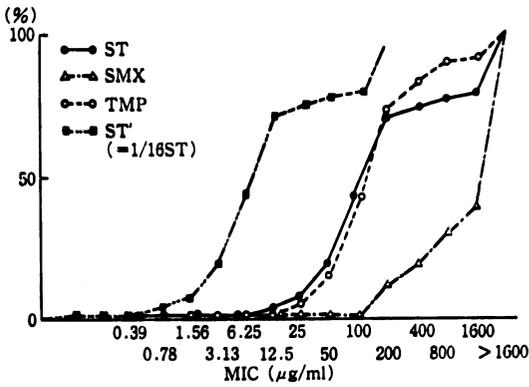


Fig. 10-b Minimal inhibitory concentrations of SMX against *P. aeruginosa* strains

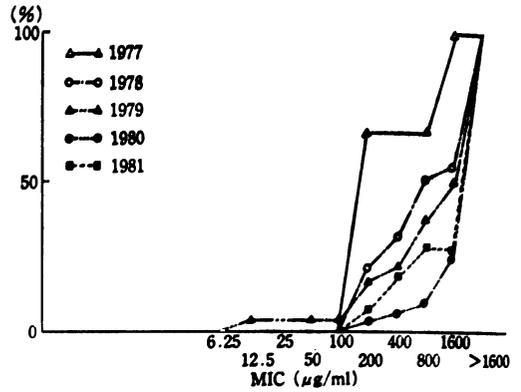


Fig. 10-c Minimal inhibitory concentrations of TMP against *P. aeruginosa* strains

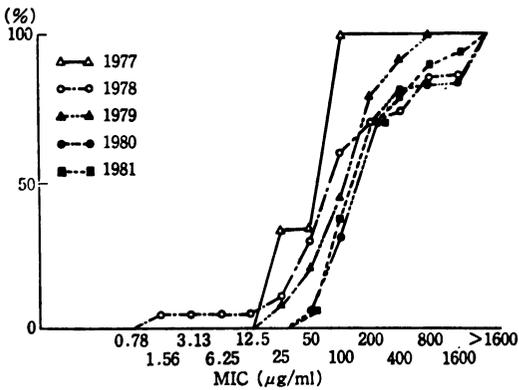


Fig. 10-d Minimal inhibitory concentrations of ST against *P. aeruginosa* strains

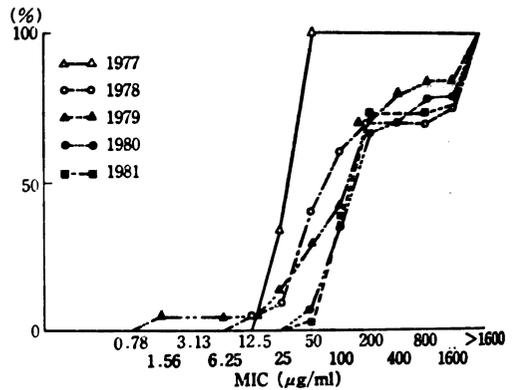


Fig. 10-e Correlogram between MICs of ST and TMP against *P. aeruginosa* strains (for shaded area see Fig. 1-e)

		TMP (µg/ml)												
		0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400	800	1600	Total
ST (µg/ml)	0.78													0
	1.56						1							1
	3.13													0
	6.25													0
	12.5	1												1
	25					2	1	1						4
	50						5	8	2					15
	100						3	16	6	1				26
	200						1	3	16	4	3	1	1	29
	400								1	2				3
	800									1	2			3
	1600												2	2
	>1600								2	3	6	2	3	7
Total		1	0	0	0	4	11	31	31	10	8	1	10	107

Table 3 Yearly comparison of the sensitivity to ST, SMX, TMP by MIC₅₀ and MIC₉₀

Species	Sample group	No. of strains tested	MIC ₅₀			MIC ₉₀		
			ST	SMX	TMP	ST	SMX	TMP
<i>E. coli</i>	1977	30	0.78	>100	0.2	1.56	>100	0.78
	1978	25	0.78	>100	0.2	1.56	>100	0.39
	1979	30	0.78	>100	0.1	1.56	>100	0.39
	1980	30	0.78	>100	0.2	3.13	>100	0.39
	1981	30	0.78	>100	0.2	3.13	>100	0.39
<i>Klebsiella</i> spp.	1977	22	1.56	12.5	0.78	3.13	50	1.56
	1978	25	1.56	12.5	0.39	1.56	50	0.78
	1979	28	1.56	12.5	0.39	3.13	>100	0.78
	1980	30	1.56	25	0.39	6.25	>100	0.78
	1981	30	1.56	12.5	0.39	6.25	>100	0.78
<i>Enterobacter</i> spp.	1977	6	0.78	6.25	0.2	1.56	25	0.39
	1978	10	1.56	12.5	0.78	3.13	>100	0.78
	1979	23	1.56	25	0.39	12.5	>100	1.56
	1980	20	0.78	12.5	0.39	3.13	>100	0.78
	1981	20	0.78	12.5	0.39	3.13	>100	0.78
<i>Serratia</i> spp.	1977	8	3.13	25	0.78	6.25	>100	1.56
	1978	18	3.13	12.5	0.78	6.25	>100	0.78
	1979	18	3.13	12.5	0.39	3.13	>100	0.78
	1980	20	1.56	6.25	0.78	6.25	100	1.56
	1981	21	3.13	100	0.78	6.25	>100	50
<i>Citrobacter</i> spp.	1977	7	0.39	6.25	0.2	0.78	12.5	0.2
	1978	14	0.78	12.5	0.2	1.56	>100	0.39
	1979	10	0.78	12.5	0.2	0.78	25	0.39
	1980	10	>100	>100	>100	>100	>100	>100
	1981	10	0.78	25	0.2	0.78	25	0.2
<i>Proteus mirabilis</i>	1977	24	0.78	12.5	0.78	1.56	>100	1.56
	1978	22	0.78	12.5	0.78	3.13	>100	1.56
	1979	27	0.78	12.5	0.78	1.56	100	1.56
	1980	25	1.56	>100	1.56	6.25	>100	3.13
	1981	25	0.78	12.5	0.78	1.56	25	1.56
<i>Proteus vulgaris</i>	1977	9	0.78	3.13	0.39	12.5	>100	0.78
	1978	13	0.78	6.25	0.78	0.78	6.25	0.78
	1979	6	0.78	3.13	0.78	1.56	>100	1.56
	1980	9	0.78	3.13	0.78	3.13	6.25	0.78
	1981	10	0.78	0.78	0.78	0.78	6.25	0.78
<i>Proteus rettgeri</i>	1977	6	3.13	25	1.56	3.13	>100	6.25
	1978	8	3.13	25	3.13	50	>100	6.25
	1979	4	0.78	3.13	1.56	100	>100	6.25
	1980	5	3.13	50	1.56	25	>100	3.13
	1981	4	1.56	12.5	3.13	100	>100	12.5
<i>Morganella morganii</i>	1977	13	1.56	50	1.56	3.13	>100	3.13
	1978	19	1.56	25	1.56	6.25	>100	3.13
	1979	15	1.56	>100	1.56	3.13	>100	1.56
	1980	16	1.56	>100	0.78	100	>100	25
	1981	16	1.56	25	0.78	100	>100	6.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1977	3	50	200	100	50	1,600	100
	1978	20	100	800	100	>1,600	>1,600	800
	1979	24	200	1,600	200	800	>1,600	400
	1980	31	200	>1,600	200	>1,600	>1,600	400
	1981	29	200	>1,600	200	>1,600	>1,600	800
Other <i>Pseudomonas</i> spp.	1977	8	100	400	50	800	>1,600	100
	1978	4	0.78	12.5	0.78	6.25	>1,600	50
	1979	6	25	800	12.5	400	>1,600	800
	1980	3	50	>1,600	12.5	800	>1,600	>1,600
	1981	6	1.56	12.5	12.5	12.5	400	12.5

II. 結 果

E. coli 145 株, *Klebsiella* spp. 135 株, *Enterobacter* spp. 79 株, *Serratia* spp. 85 株, *Citrobacter* spp. 51 株, *Proteus mirabilis* 123 株, *Proteus vulgaris* 47 株, *Proteus rettgeri* 27 株, *Morganella morganii* 79 株, *Pseudomonas aeruginosa* 107 株, 他に *Pseudomonas* spp. 27 株, それぞれにつき測定した 3 薬剤に対する MIC 値の 5 年分を合計した累積曲線 (図 a) とその各薬剤ごとの年次変動 (図 b, c, d), および ST と TMP の correlogram (図 e) を一括して菌種別に表示した (Fig. 1~Fig. 10).

この感受性分布の表現である MIC₉₀ と MIC₅₀ を年度別にまとめたのが Table 3 である。MIC₉₀ を見ると *P. aeruginosa* 以外は, 例外的な年度と菌種の組み合わせを除くと, ST, TMP の値は低く, SMX も全菌種株の約 3/4 で 25 µg/ml 以下である。しかし MIC₅₀ を見ると *Proteus* spp. を中心として ST および TMP の耐性菌が増加していることがわかる。

また, I. の方法の項で述べたように, 25 µg/ml 以上の MIC を示したものを ST 耐性として, 全菌種における耐性菌の出現頻度を年度別として Table 4 に示した。菌種別ではやはり *P. aeruginosa* がどの年次でも耐性を示している。この *P. aeruginosa* を除いてみると, 他の *Pseudomonas* spp. および *P. rettgeri* に耐性菌がどの年次でも高率を示している。年次別で比較すると, 1980 年度のみが全体でも, また *P. aeruginosa* を除いても耐性菌比率が高いのが目立つ。

この MIC 2000 を用いた MIC 値と比較する目的で, 分離時に細菌検査室で行なわれた紙 disc 法による耐性検査結果をやはり年次別, 菌種別に Table 5 に示した。これによると MIC に比べ *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. などで特に判然とした耐性菌率の上昇を示し, 他の多くの腸内細菌群でも, 上昇傾向がうかがわれる。一方, *P. aeruginosa* では 1/3~1/4 に耐性株と判定されるものの率が低下している。

腸内細菌属のみについて MIC と紙 disc 法による判定との相関の有無をみたものが Fig. 11 である。最も多くの株が集中している MIC 値は, disc 感受性測定で (卅) および (卅) を示したものでは 0.78 µg/ml, (+) を示したもので 1.56 µg/ml, また (-) を示したもの, つまり耐性菌で 6.25 µg/ml であったが, (卅) から (-) を示す各群ともに, ばらつきが多く, MIC 濃度と, disc 感受性との相関はかなり曖昧である。また MIC 値が 25 µg/ml またはそれ以上を呈する株は, 腸内細菌群では少数であるが disc 感受性で (卅) から (-) を示す各群ともに 12.5 µg/ml から 50 µg/ml の MIC 値を示す株がほぼ均等といってよい程に分散してみられる。ただ判然としている点は disc 感受性で (-) のものに 800 µg/ml 以上の耐性菌株が集中して多いことである。また *P. aeruginosa* では, disc 感受性で (卅) から (+) を示した株の多くが MIC 値では, 100 µg/ml から 200 µg/ml を示し, (-) を示す株ではより高い MIC 値を示しはするもの, 腸内細菌群とは, 明らかに異なった相関を示すことがわかる (Fig. 12)。

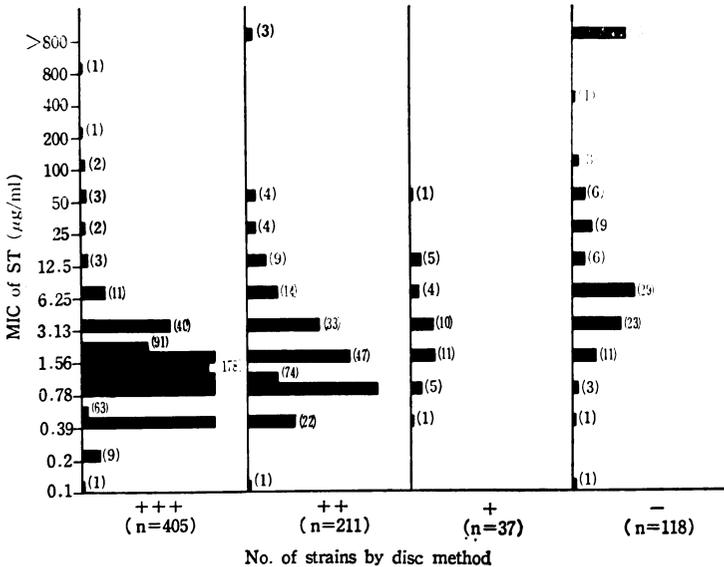
Table 4 Frequency of ST-resistant strains (MIC₉₀≥25µg/ml)

Sample group Species	No. of strains tested	No. of resistant-strains (% of resistant-strains in each species or group)					
		1977	1978	1979	1980	1981	Total
<i>E. coli</i>	145	0 (0)	1 (4.0)	1 (3.3)	0 (0)	0 (0)	2 (1.4)
<i>Klebsiella</i> spp.	135	0 (0)	0 (0)	1 (3.4)	2 (6.7)	2 (6.7)	5 (3.7)
<i>Enterobacter</i> spp.	79	0 (0)	0 (0)	2 (8.7)	3 (15.0)	2 (10.0)	7 (8.9)
<i>Serratia</i> spp.	85	0 (0)	2 (11.1)	2 (11.1)	3 (15.0)	4 (19.0)	11 (12.9)
<i>Citrobacter</i> spp.	51	0 (0)	1 (7.1)	0 (0)	8 (80.0)	0 (0)	9 (17.6)
<i>Proteus mirabilis</i>	123	2 (8.3)	0 (0)	2 (7.4)	4 (16.0)	0 (0)	8 (6.5)
<i>Proteus vulgaris</i>	47	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (11.1)	0 (0)	1 (2.1)
<i>Proteus rettgeri</i>	27	1 (16.6)	2 (25.0)	2 (50.0)	2 (40.0)	2 (50.0)	9 (33.3)
<i>Morganella morganii</i>	79	1 (7.7)	2 (10.5)	1 (6.7)	4 (25.0)	4 (25.0)	12 (15.2)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	107	3 (100.0)	19 (95.0)	23 (95.8)	31 (100.0)	29 (100.0)	105 (98.1)
Other <i>Pseudomonas</i> spp.	27	7 (87.5)	0 (0)	4 (66.7)	2 (66.7)	0 (0)	13 (48.1)
Total	905	14 (10.3)	27 (15.2)	38 (19.9)	60 (30.2)	43 (21.4)	182 (20.1)
Total excl. <i>P. aeruginosa</i>	798	11 (8.3)	8 (5.1)	15 (9.0)	29 (17.3)	14 (8.1)	77 (9.6)

Table 5 Frequency of ST-resistant strains by disc sensitivities

Species	Sample group	No. of strains tested	No. of resistant strains					Total
			(% of resistant strains in each species or group)					
			1977	1978	1979	1980	1981	
<i>E. coli</i>		145	2 (6.7)	1 (4.0)	4 (13.3)	1 (3.3)	1 (3.3)	9 (6.2)
<i>Klebsiella</i> spp.		135	3 (13.6)	3 (12.0)	5 (17.8)	11 (36.7)	5 (16.6)	27 (20.0)
<i>Enterobacter</i> spp.		79	3 (50.0)	3 (30.0)	5 (21.7)	5 (25.0)	5 (25.0)	21 (26.6)
<i>Serratia</i> spp.		85	2 (25.0)	7 (38.9)	5 (27.8)	8 (40.0)	7 (33.3)	29 (34.1)
<i>Citrobacter</i> spp.		51	1 (14.3)	1 (7.1)	1 (10.0)	8 (80.0)	2 (20.0)	13 (25.5)
<i>Proteus mirabilis</i>		123	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (4.0)	0 (0)	1 (0.8)
<i>Proteus vulgaris</i>		47	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0.)
<i>Proteus rettgeri</i>		27	0 (0)	0 (0)	2 (50.0)	1 (20.0)	1 (25.0)	4 (14.8)
<i>Morganella morganii</i>		79	0 (0)	0 (0)	1 (6.7)	6 (37.5)	5 (31.3)	12 (15.2)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		107	0 (0)	6 (30.0)	8 (33.3)	7 (22.6)	8 (22.9)	29 (27.1)
Other <i>Pseudomonas</i> spp.		27	0 (0)	0 (0)	2 (33.3)	2 (66.7)	0 (0)	4 (14.8)
Total		905	11 (8.0)	21 (11.8)	33 (17.3)	50 (25.1)	34 (16.9)	149 (16.5)
Total excl. <i>P. aeruginosa</i>		798	11 (8.3)	15 (9.5)	25 (15.0)	43 (25.6)	26 (15.1)	120 (15.0)

Fig. 11 Correlogram between MICs and disc sensitivities against Enterobacteriaceae strains



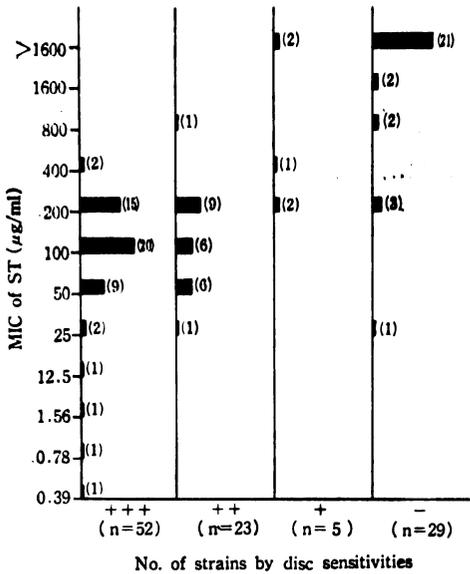
最後に、最も問題となる SMX と TMP の相乗（併用）効果の有無を検討するために、*Pseudomonas* spp. を除く腸内細菌群のみについての成績をまとめたものが Fig. 13 a, b である。この図においては、ST と SMX あるいは ST と TMP の MIC 相関をみることができ、ST と SMX の相関を検討するためには、両者の等濃度を結ぶ斜線を基準線として用い（Fig. 13 a）、また ST と TMP の相関を検討するためには、ST の MIC が TMP

より 4 管高濃度（16 倍）となる斜線を基準線として用いた（注）（Fig. 13 b）。

図でわかるように、ST と SMX、および ST と TMP の両相関図ともに、検討対象となった大部分の株が、基準線より単剤側に片寄り（すなわち単剤の MIC より

（注） 単剤の MIC と合剤中の各成分の MIC 理論値（SMX=20/21 ST, TMP=1/21 ST）がほぼ等しくなる点。

Fig. 12 Correlogram between MICs and disc sensitivities against *Pseudomonas aeruginosa* strains



合剤中の各成分の MIC 理論値の方が低く), 相乗効果がみられることがわかる。この傾向は、当然のことながら ST と SMX の MIC 比較の組み合わせにおいて強くみられている。なお、この相乗効果が明らかなものとして、MIC 値で3管以上片寄ったものを取りあげてその割合を算出すると、ST と SMX の組み合わせでは SMX の MIC 値が 50 µg/ml 以下の 481 株中 373 株、77.5% に相乗効果がみられ、同じく 100 µg/ml および

それ以上の 290 株についても 256 株 88.3% に同様の効果がみられている。また逆の阻害効果が1株のみに認められる。一方、ST と TMP の組み合わせで、TMP の MIC 値が 50 µg/ml 以下のもののみでの検討では、ST と SMX の組み合わせに比べ相乗効果のみられるものの率が下がり、382 株 (全株に対し 49.5%, TMP 50 µg/ml 以下の 743 株に対しては 51.4%) が相乗効果を示している。また他に TMP の MIC が 400 µg/ml、および 400 µg/ml 以上の2株でも ST の MIC が 50 µg/ml および 6.25 µg/ml と相乗効果がみられている。以下各菌種ごとに ST と TMP の組み合わせで同様の検討を加えるための資料となるものが Fig. 1-e から Fig. 10-e までに示してあるが、菌種によって異なる分布を示している。*E. coli* で 26.2% (全体数に対する割合で示す、以下同様)、*Klebsiella* spp. で 50.0%, *Enterobacter* spp. で 54.4%, *Serratia* spp. で 25.0%, *Citrobacter* spp. で 23.5% となり、*Proteus* spp. では特に相乗効果が強くみられ、*P. mirabilis* で 78.9%, *P. vulgaris* で 78.7%, *P. rettgeri* で 57.1%, *M. morgani* で 74.7% となり、全体としても 200 株 72.5% に相乗効果が観察されている。その結果、全腸内細菌属の合計では 382 株 49.5% に相乗作用が観察されたことになる。これは比率としては TMP 高度耐性株を含めても 49.5%, また TMP 感受性および中等度耐性 (MIC 50 µg/ml 以下) では 51.4% に達する。

III. 考 案

ST 合剤は、尿路感染症を主体に、多くの感染症に用

Fig. 13-a Correlogram between MICs of ST and SMX against Enterobacteriaceae strains (for shaded area see Fig. 1-e)

ST (µg/ml)	SMX (µg/ml)														Total
	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400	800	
0.1	3														3
0.2		9													9
0.39			7												7
0.78				25											25
1.56					13										13
3.13						9									9
6.25							2								2
12.5								2							2
25									1						1
50										2					2
100											5				5
200												1			1
400													1		1
800														1	1
>800														28	28
Total	1	12	24	39	105	220	64	16	13	15	1	26	1	26	771

Fig. 13-b Correlogram between MICs of ST and TMP against Enterobacteriaceae strains (for shaded area see Fig. 1-e)

ST (µg/ml)	TMP (µg/ml)														Total		
	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400				
0.1	3														3		
0.2		9													9		
0.39			7												7		
0.78				25											25		
1.56					13										13		
3.13						9									9		
6.25							2								2		
12.5								2							2		
25									1						1		
50										2					2		
100											5				5		
200												1			1		
400													1		1		
800														1	1		
>800														23	23		
Total	1	5	11	52	126	173	213	101	32	17	4	5	3	2	1	25	771

いられている薬剤であるが、近年主として SMX によると思われる副作用が強調される傾向にあり、その結果 TMP と SMX の合剤の有用性が問題とされて来ている。特に有効性の面で SMX を TMP に併せて用いることが、どの程度役立っているかが疑問点の中心である。我々も尿路感染、とりわけ前立腺感染を扱っている立場にあるが、日常診療の場においてこの合剤の意義について充分確信を有しながら用いているとはいえない。すなわち、SMX を除いた TMP 単剤のみでも充分我々の目的とするところは達し得るのではないかとの疑念を常に有しながらも、本邦においてはこの合剤のみが用い得る状況にあるため、投与を続けているに過ぎないということである。

したがって、この疑念に対する解答を得る手段としては、1) SMX を TMP に加えることによって抗菌力増強がみられるか、またその割合がどの程度であるか、つまり有効性の *in vitro* の検討であり、2) 実際にこの *in vitro* で示された抗菌力の面で協同作用が、臨床例において発揮され得るか否か、つまり合剤の有効性の *in vivo* での検討であり、3) 合剤における正確な副作用発現率がどの程度であり、またそれが SMX と TMP のいずれによるものであるかの推定が必要であり、4) 合剤の merit の一つである耐性発現の抑制が果してあり得るか (SMX では一般に耐性菌が多く、薬効評価において、sulfa 剤が一般の全身的使用薬剤としての意義をほとんど否定されているのが現状で、その一部には MIC 測定における技術上の問題がからんではいるものの、合剤における equal partner としての位置を保っているとは考えにくく、実際 TMP 耐性菌発現を SMX が抑えているか) の証明が必要である。

今回の検討は、このうち 1) のみについてのものであるが、そのために検討すべき点として、問題になるものを列挙すると、

- (1) ST 合剤に対する菌種別感受性分布、
- (2) ST 合剤に対する感受性分布の年次変遷、
- (3) SMX, TMP および ST 合剤それぞれに対する感受性分布と、合剤における協力作用の存否、存在する場合のそのあり方、
- (4) 臨床において基準として用いられている紙 disc 法と、今回用いた MIC2000 による MIC 値との相関と両者の有用性比較、

といったものがある(注)。

まず、ST 合剤、SMX および TMP に対する耐性菌

(注) この検討に当たって、まず *Pseudomonas* spp. は結果の項で明らかのように問題点が多いため、一旦除外して検討を行なうこととする。

の割合を MIC₅₀, MIC₉₀ で検討すると、*E. coli* に SMX の MIC₅₀ が各年度とも 100 µg/ml を示すことが際立って目につく。この結果は SMX 耐性 *Serratia* が多いとする藤森らの成績⁴⁾ と明らかに異なっている。他菌種では SMX の MIC₉₀ が 100 µg/ml を超すものは少ないが、MIC₉₀ となると大部分の菌種で SMX の MIC は 100 µg/ml を超える。一方 TMP の MIC は、25 µg/ml を超えるものは各年度とも極めて少なく、これに伴う形で ST 合剤の MIC も低い場合が多く、MIC₅₀ では 1980 年度の *Citrobacter* を例外に 3.13 µg/ml 以下を示し、MIC₉₀ でも、*P. rettgeri* と *M. morgani* を除き 12.5 µg/ml を超える場合は極めて少ない (Table 3)。

これを MIC 累積分布曲線により検討すると、TMP の MIC に ST 合剤の MIC が依存している曲線が多いのがわかる。また菌種ごとの年次変動も、1980 年の *Citrobacter* spp. を除き極端な変動はみられない。

次に ST と SMX, ST と TMP についての MIC の相関を実測株数分布で比較する。単剤の MIC 値が 100 µg/ml 以上の菌株を除くこととし、まず全菌種 (*Pseudomonas* spp. は前に述べたように除き、腸内細菌属についてのみの成績) についてみると、ST-SMX つまり TMP 添加による協力作用の検討では同じ濃度 (SM : TMP = 20 : 1 ゆえに ST : SMX は 1 : 1 の比で検討する) を結んだ線を基準線としその上に来る菌、つまり「協力作用の認められる菌」は、厳格に技術上の誤りや random mutation を除外するため、3管以上の MIC の低下をみた場合を取りあげると、全 771 株中 SMX 50 µg/ml 以下の MIC 値を示した 481 株中 373 株 (77.5%) に達する。また ST-TMP の比較つまり SMX 添加による協力作用の検討では、ST の 1/21 に TMP が含まれる故 MIC 上では 4管の差をもって基準濃度とし、その濃度に比べ同様に 3管以上 MIC 値の低下をみた場合を協力作用ありとすると、TMP 50 µg/ml 以下の MIC 値を示す 743 株中 382, 51.4% に協力作用が認められる結果であった。なお、これに対し 3管以上 MIC の上昇をみた場合を拮抗作用とすると、両方の組み合わせでそれぞれ 1株ずつがそれと認められる結果であった。

最後に紙 disc 法による感受性検査の結果との対比の問題があるが、これに関しては、第一に新鮮分離株で行なわれた紙 disc 検査を現在再試していない点、第二に MIC が、化学療法学会標準法⁵⁾によって行なわれていない点の二つの問題がある。この両者については再度一部の株を用いて検討する必要がある、次報に待つこととしたい。

今回のこの検討は、MIC2000 による方法を取ったとはいえ、ST 合剤における SMX の抗菌力の役割があな

がち少ないとはいえないことが再確認された点に意義があったと考えられる。紙 disc 法や、化学療法学会標準法を用いての再確認の手続きは残っているものの、今後はこの *in vitro* 試験で示された結果が、pharmacokinetic な両剤の差異と絡んで、臨床例でどのように反映されているかを詳細にかつ綿密に検討することが課題として残されている。

なお、我々の大学病院においては、第3世代 cephem 剤が登場した 1981 年度、およびその後の 1984 年度の二度にわたって *S. marcescens* による院内全体にわたっての感性株より耐性株への交代現象がみられ、それぞれの流行ごとに菌の耐性度（第3世代 cephem および aminoglycoside 系薬剤全体にわたっている）が上昇し、最近の分離株は従来用いられて来たほとんどの薬剤種に対しこの高度耐性化が認められている。しかし、この多くの菌株が ST 合剤に対しては感受性を示している上に、数少ない症例ではあるが、慢性下部尿路感染症例で ST 合剤投与が有効であったとの結果を得ている。無論、繁用すれば直ちに耐性菌の増加に繋ると考えられるため、慎重に投与症例を選ぶこととしているので耐性菌分離率は極めて低い。これら最近の分離株を対象とした追

加実験も、今後行なわれなければならないものの一つである。

稿を終えるに当たり、MIC 測定に御協力頂いた日本ロッシュ研究所微生物化学療法部に深謝いたします。

文 献

- 1) 五島善智子, 金子康子, 原田公子, 桑原章吾: ャルファ剤と Trimethoprim の協力作用—*in vitro* 抗菌作用について—. *Chemotherapy* 21: 77~87, 1973
- 2) 横田 健: Sulfamethoxazole, Trimethoprim, および両者配合の抗菌力測定の検討と、患者分離株の感受性。 *Chemotherapy* 21: 117~127, 1973
- 3) SALTER, A. J.: Trimethoprim-Sulfamethoxazole: An assessment of more than 12 years of use. *Reviews of Infect. Dis.* 4: 196~236, 1982
- 4) 藤森一平, 宮崎亮之助, 志村理代子, 大島純子, 伊藤小百合, 鬼塚光子, 丸山博巳: 臨床分離株の ST 合剤 (バクトラミン) に対する薬剤感受性の推移。 *基礎と臨床* 16: 3275~3286, 1982
- 5) ST 合剤 MIC 測定法小委員会: Sulfamethoxazole と Trimethoprim の感受性測定法。 *Chemotherapy* 21: 67~76, 1973

**IN VITRO ACTIVITY OF CO-TRIMOXAZOLE AGAINST
CLINICAL ISOLATES AND EVALUATION OF THE
SIGNIFICANCE OF COMBINATION OF
TRIMETHOPRIM AND SULFAMETHOXAZOLE**

YORIO NAIDE, HIDEKI TAMAI, MASANORI YANAOKA,

KOICHI ISHIGURO, KOJI ANDO and SHIN ANDO

Department of Urology and Clinical Microbiology, Fujita Gakuen
Health University, School of Medicine, Toyoake

KEIZO SUZUKI

Department of Urology, Hiratsuka Municipal Hospital, Hiratsuka

HIDEO KOZAWA, SUSUMU HARA and MORIYOSHI NAITO

Department of Microbiology, Fujita Gakuen Health University, College of Medical Technology

Sensitivity to co-trimoxazole as well as to sulfamethoxazole (SMX) and to trimethoprim (TMP) was studied for 905 gram-negative rod bacteria isolated at our university hospital from 1977 to 1981. The results were as follows.

1) In most of the isolates the sensitivity to co-trimoxazole was equal to or less than 3.13 $\mu\text{g/ml}$ at MIC_{50} and 12.5 $\mu\text{g/ml}$ at MIC_{80} .

2) No remarkable annual change of MIC values was observed except for *Citrobacter* strains isolated in 1980 most of which were resistant to all three drugs.

3) The reports of disc sensitivity test performed in the clinical pathology laboratory of the hospital tended to show that many strains belonging to *Enterobacteriaceae* were apparently more resistant to drugs than their MIC values. On the other hand, *Pseudomonas aeruginosa* strains which were rather sensitive to co-trimoxazole by paper disc test were entirely resistant in MIC study.

4) Synergistic activity of TMP was clearly demonstrated when added to SMX in 77.5% of the strains (373/481) with MIC of SMX equal to or less than 50 $\mu\text{g/ml}$. On the other hand, the synergistic activity of SMX when added to TMP was observed only in 51.4% of the strains (384/743) with MIC of TMP equal to or less than 50 $\mu\text{g/ml}$. Synergistic combination was rarely demonstrated in strains highly resistant to TMP.