

- 1) 藤井, 他: 第15回耐性菌シンポジウム抄録集 (1985)  
 2) Gutmann, L., et al: J. Inf. Disease 151 (3), 501 (1985)

### 追加発言—methicillin 耐性黄色ブドウ球菌による感染性心内膜炎の1幼児例

(生体内で耐性が誘導されたと考えられる1例)

岩 田 敏

足利赤十字病院小児科

砂 川 慶 介

国立東京第二病院小児科

症例は、僧帽弁前尖に vegetation を有する、methicillin 耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) による感染性心内膜炎の4歳男児例である。確定診断後、CEZ, AMK, FOM, CP などの併用療法を行なったが血液培養は陰性化せず、入院23日目に僧帽弁置換術を施行し、以後MINOを中心とした化学療法を行ない軽快した。当初感受性があると思われたCEZ, DMPPC に対し、分離菌は次第に耐性化し、vegetation 中より分離された菌株はこれらの薬剤に対して感受性から耐性まで幅広い感受性分布を示した。耐性株は、薬剤を含まない培地を用いた継代培養により感受性化した。また、入院時の初回分離株を、CZX 10 µg/ml の存在下で、32°C で培養したところ、MRSA に特徴的なペニシリン結合蛋白 (PBP) である PBP-2' の産生が誘導された。なお、分離株のコアグラゼ型およびフェージ型は、いずれもII型およびIII群、83A と一致していた。以上より、本症例における分離菌の耐性化の機序は、使用されたcephem系薬剤により、生体内でPBP-2' が誘導された誘導耐性によると推測される。

#### 一 般 演 題

#### 001 臨床材料からの *Proteus* 群の検出状況と薬剤感受性

小 栗 豊 子

順天堂大学中検

小 酒 井 望

同 浦安病院

*Proteus* 群は臨床材料よりしばしば検出され、日和見病原菌とみなされている。これらの中には多剤耐性の傾向が強い菌種が含まれている。そこで、これらの菌種の検出状況と薬剤感受性について検討した。

調査期間は1983年～1985年7月の2年7か月間であ

る。菌株の同定はEB-20 (日水) を用い、薬剤感受性測定はミューラーヒントンブrossを用いるMIC 2000 システムにより行なった。

*Proteus* 群は2年7か月に2,293株が分離され、年度とともにわずかに増加傾向が認められた。菌種別分離頻度では *P. mirabilis* が約半数以上を占め、*M. organii*, *P. vulgaris*, *P. rettgeri*, *P. stuartii* の順であり、その他の菌種は少なかった。菌種別分離頻度を年次的にみると、*P. mirabilis*, *P. vulgaris* は減少傾向を示し、逆に *P. rettgeri* は増加傾向が認められた。検査材料別分離頻度は尿から最も多く分離され、次いで喀痰、膿・分泌液、胆汁、咽頭粘液の順であり、血液、髄液ではまれであった。

薬剤感受性ではアミノグリコシド剤 (GM, AMK, HBK), ピリドンカルボン酸系薬剤 (ENX, NFLX, OFLX) にはほとんどの菌種が強い感受性を示した。第3世代セファロsporin 剤では LMOX, CMX にはほとんどの菌種が強い感受性を示した。多剤耐性の傾向は *P. rettgeri*, *M. organii* において最も著明であり、逆に *P. mirabilis*, *P. vulgaris* は多くの薬剤に感性株が多かった。*P. stuartii* は他の菌種に比べアミノグリコシド剤に耐性のものが多かったが、第3世代セファロsporin 剤には強い感受性を示した。

2年7か月間の年次的推移では多剤耐性の傾向が強い *P. rettgeri* の増加が目された。

#### 002 *H. influenzae* の薬剤耐性プラスミド

大内慎二・布施愛索・横田栄作

三橋 進・戸倉春美\*・松本慶蔵\*

エビゾーム研究所, \*長崎大学熱帯医学研究所内科

目的: 呼吸器感染症の一起炎菌である ABPC 耐性 *H. influenzae* の薬剤感受性分布、および薬剤耐性 plasmid の分離を試みたので報告する。

材料および方法: 使用菌株は全国4大学より分離された ABPC 耐性菌 80 株である。受容菌として *H. influenzae* ML 6146 (RFP 耐性), ML 6147 (NA 耐性) および *E. coli* K-12 ML 4901 を用いた。MIC の測定は本学会標準法、β-lactamase 活性測定および抗血清での中和はいずれも常法、薬剤耐性 plasmid の検出は broth 法および filtermating 法、plasmid DNA の分離はアルカリ変性法およびセシウムクロライド法にて検討した。

結果および考察: 80 株の 10 薬剤 (ABPC, CAZ, CZX, CMX, CPZ, CTX, TC, CP, RFP, NA) に対する MIC 分布は、ABPC, TC, CP の3薬剤のみが二

峰性であった。上記3薬剤の耐性限界値をいずれも1.56  $\mu\text{g/ml}$ とした。耐性菌の分離頻度は ABPC 81.25%, TC 45%, CP 5% であった。それらの耐性型は (ABPC, TC, CP) 5%, (ABPC, TC) 40%, (ABPC) 36.25% であった。

受容菌を *E. coli* ML 4901 として接合伝達による薬剤耐性 plasmid の検出を試みたが、いずれの方法でも伝達株は得られなかった。受容菌を *H. influenzae* ML 6146 とすると耐性菌 65 株中 47 株 (72.3%) より薬剤耐性 plasmid が分離された。その耐性型は、TC 耐性の解離が認められた2株を除き供与菌のそれと同一であった。ML 6147 を受容菌とした二次伝達では、4株より耐性型の解離が認められた。

耐性型の解離の認められた2株より分離した plasmid DNA の分子量は、(ABPC, TC, CP) 39~40 Md, (ABPC, CP) 36 Md, (ABPC) 27~30 Md と耐性の解離に伴い減少した。

得られた伝達株の PCase の基質特異性は I 型 PCase のそれと類似していた。その酵素活性は抗 I 型 PCase 抗体により完全に中和された。上記2点より *H. influenzae* の ABPC 耐性は I 型 PCase によることが判明した。

### 003 *Branhamella catarrhalis* 菌株間におけるペニシリナーゼ産生因子の接合伝達について

高橋綾子・四方田幸恵・田波 洋  
群馬大学病院中検

私どもの検査室で過去1年間にさまざまな検体から22株の *B. catarrhalis* が分離され、そのうち20株(90%)がペニシリナーゼ産生株であった。そのうち14株について接合伝達試験を行なった結果すべてについて陽性結果が得られた。MIC 測定は化学療法学会標準法、 $\beta$ -lactamase は、ヨードデンプン法を用いた。*B. catarrhalis* の14株の ABPC の MIC 感受性分布は明らかな二峰性を示し、その内訳は 6.25  $\mu\text{g/ml}$  1株、1.6  $\mu\text{g/ml}$  2株、0.8  $\mu\text{g/ml}$  1株、0.4  $\mu\text{g/ml}$  3株、0.2  $\mu\text{g/ml}$  1株、0.006 以下2株であった。ペニシリナーゼ接合伝達では供与菌として  $\beta$ -lactamase 陽性 *B. catarrhalis* 株、受容菌として  $\beta$ -lactamase TC 耐性の *B. catarrhalis* を Na 耐性あるいは Rif 耐性株、および *E. coli* K 12 株を用いた。一次伝達では14株中すべての株について  $10^{-4}$ ~ $10^{-7}$  の頻度で、二次伝達においては  $10^{-3}$ ~ $10^{-5}$  の頻度でペニシリナーゼ産生の伝達が認められた。しかし *E. coli* K 12 株への伝達は認められなかった。また、ペニシリナーゼ接合伝達における二次伝達で得られた ABPC,

TC 耐性菌を供与菌とし、ABPC, TC 感受性株を受容菌とした実験において、ABPC, TC 耐性因子は  $3 \times 10^{-5}$  の頻度で伝達されたが、接合株のうち5%に薬剤耐性因子の解離がみられた。なお TC 単剤耐性菌を供与菌とした場合  $10^{-5}$  の頻度で TC 耐性因子が認められた。このことからこれら2つの薬剤耐性因子は互いに異なるプラスミドにより伝達されるものと推察される。

(本研究によせられた群馬大学薬剤耐性菌実験施設橋本教授、井上助教授、大久保技官の御指導に感謝いたします)

### 005 1984年分離赤痢菌の薬剤耐性

感染性腸炎研究会(会長:斎藤 誠)  
田中 徳満, 他

私どもは1965年分離赤痢菌より、薬剤耐性を中心とした疫学的調査結果とその年次変動を考察し報告してきたが、今回は17施設によって1984年に分離された菌株を材料とした。

赤痢菌296株の血清型はソネ菌55.7%, フレキシネル菌34.5%, その他は9.8%であった。

CP, TC, SM, SA に対する耐性とその分離頻度は4剤耐性34.8%, 次いで3剤耐性27.0%, 2剤耐性13.9%, 1剤耐性12.5%, 4剤のいずれにも感受性を示す株は11.8%であり、前年度と比較した場合、著しい分離率の変化は示されていない。

4剤以外の耐性菌として ABPC, CER, CEX, KM, TMP, NA 耐性菌が分離され、その分離率はそれぞれ36.4%, 1.4%, 0.3%, 4.4%, 24.7%, 5.7%であった。ABPC 耐性菌は1978年より毎年10%ずつの増加を示し、1982年には54.2%となったが1983年には42.9%, 今回は32.4%で減少の傾向がみられた。また TMP 耐性株の分離率は、前年度16.5%と減少したが、今回は1982年の24.1%と同程度であった。

ABPC 耐性の約78%は前記4剤耐性に付加した耐性型として分離されており、Rプラスミドの検出率は4剤耐性の84.2%に比べ、ABPC 耐性を加えた5剤耐性菌では約36%と著しく低下している。

外国由来株からの各薬剤に対する耐性菌の分離率、Rプラスミドの検出率は国内由来株に比しいずれも低率であったが、由来する国によってその傾向は異なり、韓国およびインド由来株では多剤耐性菌の分離率は高いが、Rプラスミド検出率は韓国由来株は33.3%と高率であり、インド由来株では7.3%と低く、由来する国による菌株の特徴が示されていた。

## 006 *Klebsiella* から分離された R プラスミドとその性状

井上松久・角田光子・橋本 一  
平田泰良\*・大沢伸孝\*

群馬大学医学部薬剤耐性菌実験施設,  
同 微生物, \*北里大学医学部中検

結果: 1983 年分離の *Klebsiella pneumoniae* (71 株), *K. oxytoca* (32 株) を 2 施設から集め検討した。薬剤感受性, R プラスミドの検出およびその分離は従来の方法に従った。R プラスミド検出の受容菌として *E. coli* ML 4901, ML 4905 を用いた。

(1) *K. pneumoniae* ABPC 高度耐性菌, 25 株 (>200  $\mu\text{g/ml}$ ), 中等度耐性菌 15 株 (100~12.5  $\mu\text{g/ml}$ ), *K. oxytoca* ABPC 高度耐性菌 5 株, 中等度耐性菌 5 株であった。

(2) TC, CP, SM, SA, KM などの耐性は同時に ABPC 高度耐性である。

(3) *K. pneumoniae* の KM 耐性は 1 施設に著しく偏っていた。

(4) *Klebsiella* の R プラスミドは ABPC 高度耐性菌からそのほとんどが分離された。

(5) R プラスミドの検出は *K. pneumoniae* 17 株, *K. oxytoca* 3 株であった。

(6) R プラスミドの中には乳糖分解遺伝子 (Lac) を同時に担っているものが分離された。

(7) R-lac プラスミドは 1 施設からのみ分離された。

(8) 検出された R および R-lac プラスミドの不和合性群は多様で, FI, FII, T, J, H, Ia, Ir, K などであった。R-lac プラスミドは *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella typhi*, *P. aeruginosa*, *Vibrio parahaemolyticus* に伝達可能であった。

以上のことから今回 *K. oxytoca* から ABPC 耐性 R プラスミドが検出されたことは注意する必要がある。R プラスミドの中には R-lac プラスミドが 1 施設からとはいえ予想外に高い頻度で分離され, しかも R-lac プラスミドが乳糖非分解菌, ブドウ糖非発酵菌に伝達可能であることを考えると, 感染症をはじめとした分離細菌学的性状決定などの細菌学的立場から重要な問題点と考える。

## 007 *S. marcescens* 由来非伝達性 R plasmid の検討

木村光子・菅野理恵子・木村貞夫  
帝京大学医学部細菌

第 31 回日本化学療法学会東日本支部総会において, 関東地区 5 病院の 1980~1983 年分離 *Serratia marcescens* からの伝達性 R plasmid 検出率がこの 4 年間で低下したことを報告した。この低下は Te 病院で著しく, 今回はその低下の原因について調べた結果を報告した。

被験株として, Te 病院 1982 年分離株のうち, AGs, ABPC, TC, CP のいずれか 2 剤以上に耐性で, 伝達性 R plasmid が検出されなかった株から 11 株選り, この 11 株について DNA を抽出し, *E. coli* HB 101 に transform したところ, 5 例の transformant が得られた。このうち 1 例は, SM, ABPC, KM, TOB, DKB, GM, SISO, RSM, LVDM, PRM, NM に耐性で, かつその耐性が SM を除いて *E. coli* C rif に接合伝達した。残りの 4 例は SM, ABPC 耐性で C rif に接合伝達しなかったため, agarose 電気泳動で plasmid DNA band の存在を確認し, 非伝達性 R plasmid であることがわかった。この 4 例の transformant から DNA を抽出し, さらに *E. coli* K 12 DH 1 に transform したところ, これらの非伝達 R plasmid は ABPC 耐性のみを支配していた。

伝達性 R plasmid を保有していることが判明した *S. marcescens* 元株の bacteriocin 産生性について調べると, *S. marcescens* から *E. coli* への一次伝達受容菌である *E. coli* K 12 W 3104 rif はその bacteriocin に対して感受性であったので, この bacteriocin に非感受性である *E. coli* C rif を受容菌として一次伝達を行なったところ, 約  $10^{-6}$  の頻度で伝達が行なわれた。

非伝達性 R plasmid のうち 3 例は分子量が 5 Md で Hinc II により 3 片に切断される同じ切断パターンを示した。残り 1 例は分子量 46 Md で他の 3 例よりも大きかった。

以上のことから, 1982 年 Te 病院分離 *S. marcescens* からの伝達性 R plasmid 検出率低下の原因として, 非伝達性 R plasmid の増加, bacteriocin 産生株の増加の可能性を示した。

008 臨床分離病原細菌の保存による  
β-ラクタム剤感受性の上昇(MIC  
の低下)とβ-ラクタマーゼ活性  
低下の相関について

渡辺 彰・佐々木昌子・大泉耕太郎

青沼清一・大沼菊夫・小野玲子

本田芳宏・大谷紀子・今野 淳

東北大学抗酸菌病研究所内科

目的:我々は臨床分離株の薬剤感受性が、菌分離直後の新鮮株と数か月保存後の株とでは大きく変化し、β-ラクタマーゼ活性の変化と関連することを本学会で報告してきた。今回は、β-ラクタマーゼに安定な第3世代の薬剤が広く使用されるようになった1985年1~4月に当科で分離された喀痰由来株について、新鮮分離時および5~8か月保存後のβ-ラクタム剤感受性(MIC)とβ-ラクタマーゼ活性とを検討して考察を加えた。

方法:対象は黄色ブ菌17株、大腸菌6株、肺炎桿菌28株、エンテロバクター7株、セラチア10株、緑膿菌45株の計113株、薬剤はABPC、PIPC、CEZ、CMZ、CZX、CPZ、LMOX、CFSの計8剤である。菌分離直後48時間以内に、MICはダイナテックMIC2000システムによる液体培地培数希釈法により、β-ラクタマーゼ活性はBromocresol-purpleを用いるpH指示薬法により定性的に検討した。

結果:各菌種の保存によるMICの低下は1~3段階であり、薬剤ごとにややばらつきが見られたが以前の報告と同様の成績であった。保存によるCSase産生株の比率の低下はほとんど認められなかったが、保存前後のPCase産生株の比率は黄色ブ菌71%→65%、腸内細菌科67%→53%、緑膿菌80%→73%と低下していた。酵素産生量自体はPCase、CSaseの双方とも低下傾向を示した。また、β-ラクタマーゼ産生量の低下とMICの低下との間に相関傾向が認められた。

考察:β-ラクタマーゼに関与するR-プラスミドが、菌株の保存や薬剤無含有培地への継代という作業に伴って容易に脱落してMICの低下を招くことが推察された。このことから臨床例の起炎菌の保存後のMIC測定は正確ではなく、また抗生物質の抗菌力の評価に際しては新鮮株の成績をも考慮すべきと考えられた。

009 尿路感染症分離菌のβ-lactamase  
産生能と薬剤感受性について

岡山 悟・広瀬崇興・酒井 茂

熊本悦明・西島紀子

札幌医科大学泌尿器科

目的:尿路感染症分離菌グラム陰性桿菌のβ-lactamase産生能と薬剤感受性について検討した。特に、単純性感染症(I群)、カテーテル非留置複雑性尿路感染症(II群)、カテーテル留置複雑性尿路感染症(III群)の3つの病態群差異について検討した。

方法:β-lactamaseの検出は発色質法であるchromogenic cephalosporin method(Cefinase, (BBL))とPCGを基質とするAcidimetric method(β-lactamase detection paper (Oxid))を併用した。

結果:β-lactamase産生能は、*E. coli*においては、I群では20%、II群36%、III群45.5%と尿路感染症の病態が複雑になるに従い、陽性率が高い傾向が認められた。

*K. pneumoniae*, *P. mirabilis*では、β-lactamase産生能と病態群間に*E. coli*ほど明らかな傾向はない。いずれの菌もβ-lactamaseのHigh producer株にMICの高い傾向が認められた。

弱毒菌群のIndole(+)*Proteus* spp., *Enterobacter* spp.ではII群よりIII群にβ-lactamase陽性率が高い傾向であった。*S. marcescens*, *P. aeruginosa*では、II群、III群ともにβ-lactamase陽性率は100%であった。MICとβ-lactamase産生能においてHigh producer株にMICの高い傾向が認められた。

以上より、*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*ではβ-lactam系抗生剤に対する耐性は主としてβ-lactamaseの産生によるものが考えられ、その他の弱毒菌では、β-lactamase産生以外の機序によりβ-lactam系抗生剤に対する感受性が低くなっていると考えられた。

010 ATP-Bioluminescence (luciferase assay) を利用した抗生物質感受性試験の試み

第1報 MIC法との比較および短時間判定の意義

外岡立人・松本隆任

市立小樽病院小児科

細菌の抗生物質感受性を評価する手段としていくつかあるが、その多くにおいて判定はovernight後である。

我々は生菌の増殖率を簡易に迅速に評価する手段として、生菌中の ATP 量を luciferin-luciferase を利用した Bioluminescence 法を検討してきた。当方法（以下 ATP-Bioluminescence）による細菌増殖曲線は Colony 法および OD 法とほぼ平行して、測定は 10  $\mu$ l の細菌浮遊液を検体として用いて、30 秒間で結果が得られる。今回は当方法を用いて、各種細菌の CMZ を中心とした抗生物質に対する感受性をより短時間で評価する事を試み、興味ある知見を得たので報告する。

材料と方法：1) 細菌—*E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* などの臨床分離株を用いた。測定までは 4°C または凍結保存して、測定時に overnight growth させて使用した。

2) MIC の測定—broth dilution method および sensitivity disc method により行なった。

3) ATP-Bioluminescence 法による細菌増殖率の評価—ALL社の Extralight により細菌から ATP を release させ、luciferin-luciferase (ALL) により発光させた。光量は ATP-photometer で測定して、接続 computer で 10 秒間の光量を積分値として出し、その値を細菌数の代用値とした。

結果：1) MIC 法の比較—薬剤無添加群の Bioluminescence の 1% 以下を呈する薬剤濃度は、従来法での MIC 値と良く相関した。

2) 短時間および overnight 培養における感受性の差異—*S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli* などの CMZ および LMOX に対する感受性菌を用いると、MIC 上差がない場合でも、培養短時間（2～4 時間）では有意に CMZ が高抗菌活性を呈する傾向にあり、判定時間の重要性が示唆された。

### 011 感受性ディスクを用いる簡易測定法による臨床分離株の抗生剤不活化パターンの観察

金 沢 裕

新津医療センター病院内科

倉 又 利 夫

ニチエー K. K.

目的および実験方法：著者はさきに細菌菌体を直接市販の感受性ディスクと接触させ一定時間（2 時間 $\leq$ ）後に検定平板に移し培養後出現した阻止帯の大きさをコントロールの菌非接触ディスクによる阻止帯と比較判定する“cells-disc assay system”による細菌の薬剤不活化の簡易測定法につき検討を加え、たびたび報告してきた。

本法は、1) いかなる菌といかなる薬剤（たとえば原因菌と使用薬剤）の組み合わせについても行なうことができ、2)  $\beta$ -lactam 抗生剤に加えて CP などの他薬剤にも利用しうる、3) 定量的表現が可能である、4) 接触時間を延長することにより測定感度を向上させることができる、などの特色がある。

実験成績：実際に臨床分離株について行なった実験から得られた成績のうち、一部の所見を不活化能の有無、程度として暫定的に 2+, 1+, - で示すと次のようであった。

1) *N. gonorrhoeae* の ABPC 耐性 4 株は全株  $\beta$ -lactamase 産生株であり、全株共通に PCG, ABPC, CER, CEZ (2+), CXM (1+), CMZ, CTX (-), MIPIC 2 株は (2+), 2 株は (-) であった。

2) *H. influenzae* ABPC 耐性 7 株中 6 株が、 $\beta$ -lactamase 産生株で共通に PCG, ABPC, CER, CEZ (2+), CXM (1+), CMZ, CTX (-) で、MIPIC 2 株は (2+), 4 株は (-) でありまた感受性に相当する MIC を示しても CTM, CXM (+) の株も見出された。

3) *S. aureus* ABPC 耐性  $\beta$ -lactamase 産生 6 株は共通に PCG, ABPC (2+), CER, CEZ (1+), CXM (1+~), CMZ, CTX, MIPIC (-) であった。

考察ならびに結語：日常臨床検査でえられる感受性値ならびに病巣内薬剤濃度に加えて上述の簡易法による薬剤不活化能の成績は臨床上最も有効な化学療法を行なう指針の一つとなる可能性が推定される。

### 012 PADAC<sup>®</sup> 寒天培地を用いた $\beta$ -ラクタマーゼ測定法

小林晋三・新井 進・藤本和巳

ヘキストジャパン総合開発研究所

目的：グラム陰性細菌の  $\beta$ -ラクタマーゼ活性の測定には、菌体の破碎、酵素の分離・精製および分光光学的測定装置を必要とするため、かなり複雑な手法が要求される。我々は、変色基質 PADAC が  $\beta$ -ラクタマーゼによる加水分解で紫色から黄色へ変色することに着目し、PADAC 含有寒天培地を作製し、簡易  $\beta$ -ラクタマーゼ測定法を検討したので報告する。

材料と方法：(1) 50  $\mu$ M PADAC を含有したハートインフュージョン (HI) 寒天培地を調製し、60 $\times$ 15 mm シャーレに 4 ml 分注した。(2) 各種  $\beta$ -ラクタマーゼ産生グラム陰性細菌を HI プロスで前培養し、それぞれ 10<sup>6</sup>, 10<sup>8</sup> cells/ml に希釈した。その 5  $\mu$ l を PADAC 寒天平板に滴下し、37°C で一定時間培養後、コロニーの周囲に形成された黄色帯の直径を測定した。(3) 全試

験菌株の  $\beta$ -ラクタマーゼ粗酵素液を常法により得た後、 $\beta$ -ラクタマーゼ活性をスペクトロフォトメトリーにより求めた。(4) *Enterobacter cloacae* 40 株, *Serratia marcescens* 32 株について、CTX の MIC を寒天平板希釈法により求めた。

結果：培養中形成された黄色帯の大きさは経時的に増大した。24 時間培養後の黄色帯の直径と  $\beta$ -ラクタマーゼ活性の対数との間には菌種に関係なく良好な相関関係が認められた。*E. cloacae*, *S. marcescens* の各菌種内では CTX の MIC と黄色帯直径との間に相関関係が成立した。

考察：黄色帯の直径と  $\beta$ -ラクタマーゼ活性間の比例関係を利用した本測定法は、簡便な  $\beta$ -ラクタマーゼ活性の測定法と考えられる。

### 013 オキシム型セフェムに対する耐性菌

新井京子・横田 健  
順天堂大学医学部細菌

目的：第3世代 cephem が頻繁に使われるようになった今日、*Serratia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus* などの弱毒グラム陰性桿菌では、 $\beta$ -lactamase で水解され難い oxime 型 cephem に対しても耐性株がみられる。その仕組みを明らかにすることを目的として CTX に対する耐性株を強力に選択した。

材料および方法：臨床分離の *S. marcescens*, *E. cloacae*, *C. freundii*, および *P. vulgaris* の CTX に対する感受性株 (MIC : 0.1~0.2  $\mu\text{g/ml}$ ) を CTX を含む L-寒天平板で選択を続け耐性株を得た。これらの耐性株とその親株の  $\beta$ -lactamase 産生量をマクロヨード法にて測定比較した。また臨床分離された CTX 耐性株についても  $\beta$ -lactamase 産生量を調べた。

成績：CTX 含有 L-寒天平板で強力に選択を繰り返すと、*S. marcescens* では6代、*E. cloacae* では3代、*C. freundii* では4代、および *P. vulgaris* では4代で感受性株から CTX 100  $\mu\text{g/ml}$  耐性株が得られた。 $\beta$ -lactamase 産生量は、それぞれ 8.66 から 1,062.8 ( $\mu\text{moles/hr/mg}$ ) と 120 倍、5.98 から 3,919.1 ( $\mu\text{moles/hr/mg}$ ) と 650 倍、3.16 から 2,499.9 ( $\mu\text{moles/hr/mg}$ ) と 790 倍、0.29 から 184.2 ( $\mu\text{moles/hr/mg}$ ) と 635 倍に上昇していた。また臨床分離耐性株の  $\beta$ -lactamase も、556.2~3,555.6 ( $\mu\text{moles/hr/mg}$ ) と、人工耐性株に匹敵する産生量であった。

考察：弱毒グラム陰性桿菌の oxime 型 cephem に対する耐性株は、大量の  $\beta$ -lactamase を産生し、これらの耐性化は、結合親和性によると考えられた。 $\beta$ -lactamase

の産生量を考えると、誘導型が単に構成型に変異しただけでは説明がつかず、染色体上の  $\beta$ -lactamase gene amplification が示唆された。また大腸菌では、得られた耐性株の増殖が著しく悪く、極めて耐性化が起こり難いと考えられた。

### 014 *Alcaligenes dentrificans* subsp. *xylosoxydans* の $\beta$ -lactam 剤耐性について

藤井 正・岡本世紀・佐藤謙一  
横田栄作・井上松久\*・三橋 進  
エビゾーム研究所、

\*群馬大学医学部薬剤耐性菌実験施設

(目的) 本菌種の  $\beta$ -lactam 剤耐性菌は、cephamycin 系薬剤を除く多くの  $\beta$ -lactam 剤に基質特異性を有する PCase を産生する。しかし、本 PCase は、cephamycin 系薬剤を水解しないにもかかわらず、本菌種は cephamycin 系薬剤に高度耐性を示した。そこで我々は、本菌種の薬剤耐性機構の解析のため、産生される PCase の性状および PBP と  $\beta$ -lactam 剤の結合親和性の検討を行なった。

(材料および方法) 菌株：1982~1983年に各研究機関より分与されたヒト病原由来の 11 株を用いた。感受性の測定：日本化学療法学会の標準法に従い、MIC 値を測定した。 $\beta$ -lactamase の活性測定：マイクロヨード法および UV 法で測定した。PBPs の結合親和性：PBPs と各種  $\beta$ -lactam 剤との結合親和性は、 $^{14}\text{C}$  Penicillin G との競合実験より解析した。

(結果および考察) (1) 感受性の測定：PCase 産生菌は、ほとんどの  $\beta$ -lactam 剤に高度耐性を示した。しかし、PCase 非産生菌は、penicillin 系薬剤に感受性を示し、cephamycin 系薬剤には PCase 産生菌とほぼ同程度の MIC 値を示し、耐性が認められた。(2) PCase の性状：本 PCase は、cephamycin 系薬剤を除く  $\beta$ -lactam 剤の多くを水解する酵素であった。cephamycin 系薬剤の本 PCase に対する  $K_i$  値は、200  $\mu\text{M}$  以上を示し本 PCase との親和性が非常に弱いことが認められた。(1), (2) の結果より、本菌種の cephamycin 系薬剤に対する耐性には本 PCase の関与がないと考えられた。(3) PBPs の結合親和性：penicillin 系薬剤は、本菌種の分子量約 70,000 の PBP-3 に対する結合親和性が他の PBPs のそれと比較すると非常に強かった。しかし、cephamycin 系薬剤と PBPs との結合親和性は、penicillin 系薬剤のそれと比較して、非常に弱いことが認められた。これらの結果より、*A. dentrificans* sub-

sp. *xylosoxydans* の  $\beta$ -lactam 剤耐性の主要因は, PC-ase による薬剤の不活化および PBP<sub>s</sub> と薬剤との結合親和性の弱さによるものと考えられた。

### 015 ナリジクス酸耐性菌の DNA ジャイレースに対するピリドンカルボン酸系合成抗菌剤の阻害作用

佐藤謙一・井上喜雅  
井上松久\*・三橋 進  
エピソード研究所,

\*群馬大学医学部薬剤耐性菌実験施設

(目的) 新しいピリドンカルボン酸系抗菌剤 (PCAs) は, 細菌の DNA ジャイレース活性を強く阻害することで殺菌作用を発揮する薬剤群である。近年, ナリジクス酸 (NA) 耐性菌の分離率が増加傾向にあるため, その耐性機構の解析が必要となってきた。その耐性機構として, ターゲットである DNA ジャイレースの耐性変異, あるいは外膜透過性低下が考えられる。今回我々は, *E. coli* KL-16 由来の subunit A 変異株 MH-5 (*gyr A<sup>r</sup>*) より, DNA ジャイレースを分離し, その supercoiling 活性に対する, 新 PCAs の阻害作用について解析した。

(材料および方法) 1) 酵素精製法: *E. coli* MH-5 株を Medium B, 101 中で振とう培養を行ない, OD 570 nm 0.8 で集菌した。溶菌はリゾチームで行ない, 次に DEAE-Sephrose と, ノボピオンをリガンドにしたアフィニティクロマトにより supercoiling 活性フラクションを採取した。2) Supercoiling assay: Topoisomerase I (BRL) により, relaxed pBR 322 を作成した。次に 5~10 unit の酵素を添加し, 37°C, 2 時間反応後, アガロース電気泳動を行なった。

(結果および考察) カラムクロマトにより, DNA ジャイレースの部分精製標品を得た。酵素は, 110,000 と 95,000 の分子量をもつ major band が存在した。酵素の supercoiling 活性に対する各薬剤の ID<sub>50</sub> 値を MIC と比較すると, オフロキサシン (OFLX) で ID<sub>50</sub> 値が 152  $\mu$ g/ml, MIC が 0.78  $\mu$ g/ml を示した。それらを KL-16 (wild) と比較すると, ID<sub>50</sub> 値で 50 倍, MIC で 16 倍の上昇を示した。ノルフロキサシン, エノキサシンおよびシプロフロキサシンでも, ほぼ同様の結果であった。以上より, NA 耐性菌 MH-5 (*gyr A<sup>r</sup>*) に対する新 PCAs の耐性上昇が, DNA ジャイレースの subunit A の耐性変異によるためと結論可能であった。

### 016 アミノ配糖体抗生物質 HBK の点滴静注投与による基礎的・臨床的検討

HBK・DI 研究会代表

勝 正 孝

国立霞ヶ浦病院内科

斎 藤 篤

東京慈恵会医科大学第二内科

目的および方法: 昭和 59 年 4 月から 12 月まで, 全国 50 の研究機関および協力施設において, 各種感染症に対し HBK を 1 日 150~200 mg を中心に点滴静注投与し, HBK 点滴静注投与の有効性および安全性について検討を行なった。また可能な症例については血中濃度, 各種体液内濃度, 組織移行性などについても併せて検討した。

成績および結論: HBK を 30 分から 1 時間かけて点滴静注したときの血中濃度ピーク値は, 筋注投与よりやや高い傾向を示したが, 血中半減期, AUC は筋注時とほぼ同様であった。喀痰中濃度は点滴終了後 1.3~2.9 時間で最高となり, 血中濃度ピーク値に対して約 10% の移行が認められた。100 mg 1 時間点滴静注後の胆汁中濃度ピーク値は 7.62  $\mu$ g/ml で, 筋注時よりやや高値を示した。腹水中濃度は 75 mg 1 時間点滴終了後 3 時間に 1.24  $\mu$ g/ml のピーク値を示した。また女性生殖器内濃度は筋注時に比べ, 1 時間点滴静注時の方がやや高値を示した。

内科 28 施設 141 例, 外科 6 施設 25 例, 泌尿器科 12 施設 131 例, 産婦人科 4 施設 8 例, 計 305 例の臨床成績が HBK の 1 回 75~100 mg, 1 日 2 回, 点滴時間 1 時間を中心に検討された。他の抗菌剤併用例 19 例を除く 286 例に対する本剤の有効率は 69% で, 疾患群別には敗血症 83%, 呼吸器感染症 64%, 尿路・男性器感染症 71%, 外科・胆道感染症 65%, 産婦人科感染症 90% の有効率であった。分離菌別には G(+) 単独感染 72%, G(-) 単独感染 64%, 混合感染 64% の有効率で, 菌種別には *Pseudomonas*, *Serratia* 分離例の有効率および消失率が他菌種に比べて低かった。副作用は 1.4% にみられ, 臨床検査値異常発現率は 7.3% であった。

以上より, HBK の点滴静注投与は有効性, 安全性の面から筋注投与と同等であり, 特に血液疾患などで筋注投与が困難な症例において有用性が高いと考えられた。

### 017 Radioimmunoassay および Bioassay による Netilmicin の薬動力学的検討

中山一誠・秋枝洋三・渡辺哲也  
鈴木俊明・川村弘志・川口 広  
山地恵美子

日本大学医学部第三外科学教室

アミノ配糖体系抗生物質は有効濃度と毒性発現濃度との濃度域が近接しているため、血清中の薬剤濃度をモニターすることにより、副作用の軽減ばかりでなく、病巣への移行を推定することが可能である。今回我々はアミノ配糖体系抗生物質 Netilmicin の血清中濃度と尿中濃度を Radioimmunoassay (RIA) と Bioassay (BIA) により検討した。

材料と方法：男子健康成人 6 名を 3 名 1 群として、Netilmicin 75 mg, および 100 mg を筋注し経時的に採血、採尿しその濃度を測定した。測定方法は RIA は AMES RIA netilmicin kit を用い、 $\gamma$ -Scintillation counter により、BIA は *B. subtilis* ATCC 6633 株を検定菌とする cup および disc 法により測定した。培地は Difco 社製、Bacto-pepton, および Antibiotic NO 5 を等量混合し用いた。スタンダードは血清は Moni-trol I, 尿は pH 7.4 PBS を用いた。

結果：75 mg 群、RIA (BIA) による血清中濃度は投与後 30 分でピークとなり平均 6.9  $\mu\text{g/ml}$  (6.07), 2 時間で 2.6 (2.27), 6 時間で 0.72 (0.48) の濃度を得た。

100 mg 群、RIA (BIA) による血清中濃度は投与後、75 mg 群と同様に 30 分でピークに達し平均 7.7  $\mu\text{g/ml}$  (8.6), 2 時間で 2.9 (3.58), 6 時間で 0.73 (0.68) の濃度を得た。上述の成績をもとに算出した  $T_{1/2}$  は 75 mg, 100 mg ともに約 1.6 時間であった。

結論：アミノ配糖体系抗生物質は、有効血清中濃度域と、腎毒性、聴器毒性と関連した毒性域との幅がせまく、その使用にあたっては、腎機能をチェックするばかりでなく、体液内濃度をモニターすることが好ましく、RIA は迅速かつ正確に微量定量が可能であり、有用な測定方法である。

### 018 Bayesian theory に基づくアミカシン投与設計法の検討

高橋 悟・辻野大二郎・佐野隆志

染谷一彦・篠崎公一\*・増原慶壮\*

田中美雄\*・佐々木康人\*\*・緒方宏泰\*\*\*

聖マリアンナ医科大学第三内科

同 病院薬剤部\*

群馬大学核医学\*\*

明治薬科大学薬剤学\*\*\*

目的：アミカシン (AMK) 投与設計の臨床応用を目的として Bayesian theory に基づく投与設計 (BY 法) について検討した。

対象・方法：対象は当院第三内科入院中の AMK 適応患者 15 名 (男性 9 名, 女性 6 名) で、年齢は 25~84 歳、内因性クレアチニンクリアランスは 31.3~127.0 ml/min であった。AMK 1.5 時間点滴静注を 8 ないし 12 時間ごと投与で開始し、3~15 投与目の谷値およびピーク値を測定し、ピーク値および谷値が治療域となるように Sawchuk-Zaske 法 (SZ 法) に準じた投与方法により投与設計を行なった。投与設計後定常状態における実測値と SZ 法および BY 法による予測値を比較した。

結果：投与設計前のピーク値は  $19.19 \pm 5.49 \mu\text{g/ml}$ , 谷値は  $1.76 \pm 1.96 \mu\text{g/ml}$  で、投与設計後のピーク値は  $23.92 \pm 2.90 \mu\text{g/ml}$ , 谷値は  $2.07 \pm 1.48 \mu\text{g/ml}$  であった。SZ 法によるピーク値の予測値と実測値の差 ( $\Delta P$ ) は  $-0.22 \pm 3.43 \mu\text{g/ml}$ , 谷値の予測値と実測値の差 ( $\Delta T$ ) は  $0.29 \pm 1.97 \mu\text{g/ml}$  であった。一方、BY 法では谷値 1 点のみを用いたときの  $\Delta P$  は  $5.21 \pm 6.66 \mu\text{g/ml}$ ,  $\Delta T$  は  $0.33 \pm 1.94 \mu\text{g/ml}$  とピーク値の予測値が高目ではらつきも大きかったが、ピーク値の 1 点のみを用いたときの  $\Delta P$  は  $0.39 \pm 3.46 \mu\text{g/ml}$ ,  $\Delta T$  は  $0.69 \pm 1.74 \mu\text{g/ml}$ , ピーク値と谷値の 2 点を用いたときの  $\Delta P$  は  $0.33 \pm 3.30 \mu\text{g/ml}$ ,  $\Delta T$  は  $0.30 \pm 1.90 \mu\text{g/ml}$  といずれも SZ 法とほぼ同等の値を示した。さらにピーク値は投与設計後全例が有効治療域内にあり、4 例を除いて他の抗生剤を併用しているが 86.7% に臨床効果が得られた。

考察：BY 法による AMK 濃度の予測値は、ピーク値 1 点のみを用いた場合と、ピーク値と谷値の 2 点を用いた場合には SZ 法と同様に実測値と良く一致した。しかし、谷値 1 点のみを用いたときはピーク値の予測性が悪かったことから今後さらに検討を重ねなければならないが、採血時期の設定は慎重に行う必要があると考え

られる。

### 019 腎機能障害時における cefmenoxime (CMX) の血中動態

小西孝之助・小沢幸雄  
慶応義塾大学医学部内科

目的：腎機能障害患者における CMX の適切な投与方法決定のために以下の検討を行なった。

方法：種々の腎機能を有する成人 23 名に CMX 1.0 g を静注し、24 時間後まで経時的に血中薬剤濃度と尿中薬剤排泄量を測定し、two compartment open model で薬動学的解析を行なった。また、繊維血液透析を受けている腎不全患者 5 名につき、透析時と非透析時に CMX 1.0 g 静注後の経時的血中薬剤濃度測定を行ない、血液透析の薬剤除去効果を検討した。

結果：CMX 静注後血中薬剤濃度は時間とともに bi-exponential に下降した。クレアチニンクリアランス (Ccr) が 85 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> 以上の 6 例では  $t_{1/2\beta}$  は  $0.817 \pm 0.303$  hr, Ccr 50~84 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> の 6 例では  $1.38 \pm 0.36$  hr, Ccr 15~49 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> の 6 例では  $3.32 \pm 1.82$  hr, Ccr 14 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> 以下の 5 例では  $7.22 \pm 0.03$  hr であった。 $\beta$  と Ccr の間には  $r = 0.899$  の正相関がみられ、回帰方程式  $\beta = 0.00812 \times \text{Ccr} + 0.0532$  が得られた。尿中排泄量は腎機能低下とともに減少し、0~24 時間の排泄量は Ccr 85 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> 以上で投与量の  $65.5 \pm 7.6\%$ , Ccr 50~84 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> で  $64.8 \pm 33.2\%$ , Ccr 15~49 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> で  $38.2 \pm 20.9\%$ , Ccr 14 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> 以下で  $9.20 \pm 1.90\%$  であった。 $V_{d\beta}$  は腎機能障害の影響を受けず、平均  $0.274 \pm 0.073$  L/kg であった。維持血液透析を受けている患者での  $t_{1/2\beta}$  は透析時  $4.26 \pm 1.57$  hr, 非透析時  $7.47 \pm 1.26$  hr であった。薬剤の total clearance は透析時  $38.3 \pm 15.0$  ml/min, 非血液透析時  $20.5 \pm 5.5$  ml/min であり、両者の差を透析による薬剤クリアランスとして試算すると、GFR=0, 60 kg の患者で 5 時間の血液透析によって透析開始時の体内薬剤量の約 25% が除去されることが予測された。

考案：高度腎障害時には CMX の体内蓄積を避けるために今回得られたデータを基にその投与方法を変更する必要があると考えられる。

### 020 Ceftizoxime の喀痰内濃度に関する研究

山口悦郎・岡崎 望・川上義和  
北海道大学医学部第一内科

寺井 継 男  
帯広厚生病院内科

目的：呼吸器感染症における Ceftizoxime (CZX) の効果を検討するために、喀痰中の CZX の濃度を経時的に測定した。その際、喀痰中のアミラーゼおよび唾液のアミラーゼと CZX の濃度も測定することにより、液混入による CZX 濃度低下の補正を試みた。

方法：対象は 19 名の呼吸器感染症患者で、CZX 2 g を 30 分 (n=5), および 2 時間 (n=17) で点滴静注した。喀痰は 2 時間ごとに、唾液は各採痰時間帯の中間に採取した。血清は点滴終了直後に採取した。CZX 濃度は *E. coli* NIHJ JC-2 を検定菌とし、ディスクを用いた薄層平板法によった。

結果および考察：30 分点滴においては、喀痰中の高濃度は  $3.0 \pm 1.6$   $\mu\text{g/ml}$ , 最高値を示した時間帯は、点滴終了後 1.5~3.5 時間に多く、 $1.5$   $\mu\text{g/ml}$  を超えた時間の合計は  $3.4 \pm 2.6$  時間、移行率は  $3.1 \pm 1.6\%$  であった。2 時間点滴では、喀痰中濃度の最高値は  $2.9$   $\mu\text{g/ml}$ , 最高値を示した時間帯は点滴終了後 2~4 時間に最も多く、 $1.5$   $\mu\text{g/ml}$  を超えた時間の合計は  $4.2 \pm 3.7$  時間、移行率は  $4.8 \pm 2.9\%$  であった。2 時間点滴において、膿性痰患者 (n=9) の最高喀痰中濃度は  $3.8 \pm 1.9$   $\mu\text{g/ml}$  で、非膿性痰患者 (n=8) の  $1.9 \pm 1.1$   $\mu\text{g/ml}$  に比べ、有意に高値であった ( $P < 0.02$ )。

真の喀痰中のアミラーゼ濃度を血清のそれと同じに設定し、2 時間点滴を行なった 3 例において、採取した喀痰中の CZX 濃度を、唾液の混入率で補正すると、真の喀痰中 CZX 濃度は実測値の  $1.06 \sim 8.69$  倍と推測された。

喀痰中の CZX 濃度の最高値、持続時間、CZX の抗力性を考慮すると、難治性呼吸器感染症にも充分有効とえられた。また、アミラーゼ測定による唾液混入の補正は有用と思われる。

### 021 Chemoprophylaxis として投与した薬剤の術創移行

金子明寛・森鼻健史・坂本春生  
井本 隆・太田嘉英・佐々木次郎  
東海大学医学部口腔外科

口腔外科の chemoprophylaxis としては、加刀直前

抗菌性物質の点滴静注を開始し、術中は4時間の経過とともに追加投与を原則としている。投与する抗菌性物質は Ampicillin を基本とし、ペニシリンとセフェムが投与されることが多い。今回、Ampicillin の術創濃度を測定し、薬動学的検討を加えた。なお、Ampicillin 点滴静注時の血中濃度の薬動学的解析は、既に本学会、ならびに J.J. Antibiotics, 37 巻, 4号に報告したが、今回の術創からの sample は血液成分を主とするため、血中濃度の解析と同じ方法で行なった。

対象および方法：頻回に sample 採取が可能であった下顎前突症患者 1 例、下顎エナメル上皮腫患者 1 例、下顎骨々折患者 1 例、頸部転移腫瘍患者 1 例の 4 症例について、加刀直前に Ampicillin 2g を 50~60 分にて点滴静注し、経時的に術創より 8mm thick paper disk を用いて採取した。Bioassay を行ない two compartment open model にて薬動学的解析を加えた。

成績：症例 1~3 は、口腔内よりアプローチした顎骨手術であり点滴時間も同一であった。この 3 症例の実

測値を基にした parameter は  $K_1$  2.00,  $K_2$  16.28,  $K_{e1}$  0.79,  $V$  21.25 であった。この平均の parameter をもとに理論曲線を描くとピーク時で血中の理論曲線と比較すると血中濃度の約 1/2 であった。

No.	Pharmacokinetic parameter (単位略)			
	$K_{e1}$	$K_1$	$K_2$	$V_d$
1	5.29	9.58	12.28	14.26
2	0.90	2.00	20.34	16.04
3	0.68	0.679	0.46	24.24
4	0.94	2.0987 E-0.3	12.45	19.02

結論：1) 私達の今回の創内濃度測定では、術創移行は血中の理論曲線と比べると約 33%~70% であった。

2) 顎骨手術例において、有効濃度を 12.5  $\mu$ g/ml 以上とし、Ampicillin 2g を点滴静注する際、投与時間は 3 時間までが望ましかった。