

集塊菌に対する抗菌剤の殺菌効果

菅野 治 重

千葉大学真核微生物研究センター形態応答部門*

(昭和63年2月19日受付)

木綿縫糸を支持体として作製した集塊菌に対する抗菌剤の殺菌効果を検討した。単独菌に比べ集塊菌は殺菌されにくい傾向がみられた。グラム陽性球菌に対する penicillin G (PCG) の殺菌効果では *Streptococcus pneumoniae* が最も殺菌されやすく、逆に *Staphylococcus aureus* は最も殺菌されにくかった。同一の minimum inhibitory concentration (MIC) を示す各種グラム陰性桿菌に対する piperacillin (PIPC) の殺菌効果では菌種による大きな差はみられなかった。常用投与量で得られる各種抗菌剤の血清中濃度の推移にあわせて抗菌剤の濃度を変化させ、*Escherichia coli* および *S. aureus* の集塊菌に作用させて得られた殺菌効果では、*E. coli* に対してはセフェム剤の殺菌効果が最も強く、MIC と相対して cefmenoxime (CMX), cefmetazole (CMZ), cephalothin (CET) の順で殺菌効果が強かった。*S. aureus* は *E. coli* に比べ著しく殺菌されにくかったが、セフェム剤より gentamicin (GM) の殺菌効果が強かった。*E. coli* に対するセフェム剤の作用では、接触開始後最初の 30 分間に著しい菌数減少がみられたが、その後菌数減少は緩徐となる。またセフェム剤を連続して作用させても 2 回目の接触では殺菌効果はほとんど認められず、むしろ再増殖を抑制する効果が強かった。抗菌剤との接触後に集塊菌を drug free の培地で再増殖させた場合は、*E. coli* では CMX が、*S. aureus* では GM が最も長時間再増殖を抑えた。

Key words: 集塊菌, 殺菌効果, 濃度変化, 連続作用, 超微形態

抗菌剤の細菌に対する抗菌力の評価の方法として、最小発育阻止濃度 (MIC), 最小殺菌濃度 (minimal bactericidal concentration: MBC) などが広く使用されている。これらの測定法は接種菌を培地表面や培地中に拡散させ、単独菌として抗菌剤を作用させる測定法である。しかし感染症の病巣部では細菌は集塊を形成しており、また菌量は抗菌剤の抗菌力に大きな影響を与えるため、化学療法での *in vivo* の効果をより正確に予想するためには、集塊菌を対象とした抗菌力の測定法の開発が今後望まれる。集塊菌の形成法としては寒天培地中で菌を増殖させ、その一部を切り出して抗菌剤と接触させる方法などがあったが、残存菌数の算出法など種々の問題があった。今回、液体培地中に木綿縫糸を入れ、一夜培養して集塊菌を作製し、超微形態的に集塊菌が形成されているのを確認し、この集塊菌に対する抗菌剤の作用を経時的殺菌曲線 (time-killing curve) により検討した。検討した事項は MIC と殺菌効果の関連、常用投与量で得られる血清中濃度の推移に相対させた場合の各種抗菌剤の殺菌効果、抗菌剤と菌の連続的な接触による殺

菌効果などである。

I. 材料および方法

今回の実験に使用した細菌は *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 および ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 の標準株と、千葉大学医学部附属病院検査部で各種臨床材料より分離された *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter freundii*, *P. aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* である。使用した抗菌剤は penicillin G (PCG), methicillin (DMPPC), colistin (CL): 萬有製薬, piperacillin (PIPC): 富山化学工業, cephalothin (CET): 塩野義製薬, cefotiam (CTM), cefmenoxime (CMX): 武田薬品工業, cefmetazole (CMZ), chloramphenicol (CP): 三共, gentamicin (GM): エセックス日本, minocycline (MINO): 日本レダリー、で各製薬会社より純末の提供を受けた。感受性検査には Mueller-Hinton agar (MHA), Mueller-Hinton broth (MHB) (Difco 社) を用い、殺菌効果の測定には brain heart infusion

broth (BHIB, Difco 社) および Todd's broth (Difco 社) (*S. pyogenes* のみ) を使用した。

1. 感受性測定法

MIC の測定は日本化学療法学会標準法¹⁾により、各菌株の一夜培養液を 100 倍希釈して接種菌液とした。感受性測定用培地には MHA を用い、菌接種後、37°C で 18 時間好気培養後 MIC を判定した。

2. 集塊菌の作製

1.8 mm (直径)×30 mm (長さ)の木綿縫糸を、高圧滅菌後、約 30 本の木綿縫糸を 50 ml の BHIB 中に入れ、被験菌を接種し一夜培養後、菌液を含んだ木綿縫糸を取り出し集塊菌とした。この菌液を含んだ木綿縫糸 3 本を 50 ml の滅菌生食水中に入れ、30 秒間振盪器にて攪拌後、生食水中に遊離してきた菌数を計測すると約 10^8 CFU/ml となる。さらに、同様に生食水による洗浄を 10 回繰り返しても遊離してくる菌数は一定して約 10^8 CFU/ml であり、菌の支持体として利用可能と判断し以後の実験に使用した。

3. 集塊菌に対する殺菌効果の測定

上記の方法で作製した菌液を含んだ木綿縫糸を、抗菌剤を含んだ MHB に一定時間浸した後、前述したように 50 ml の滅菌生食水に入れ、30 秒間振盪器にて攪拌後、生食水中に遊離してきた菌数を colony forming unit として計測した。生菌数の計測は毎回 3 本の木綿縫糸を 1 組とし毎回 3 組について測定した。今回の実験では血清中濃度の推移に合わせて抗菌剤の濃度を変化させながら集塊菌に接触させ抗菌剤の殺菌効果を調べた。この場合は糸に付着している前の高濃度の抗菌剤を落とすため滅菌生食水を換えながら木綿縫糸を 3 回洗浄し、次の濃度の抗菌剤含有培地へ移した。また抗菌剤との連続した接触による殺菌効果を調べるため、同一抗菌剤あるいは異なる作用機作を持つ抗菌剤を連続して菌に作用させた。

4. 超微形態的観察

木綿縫糸での集塊菌の形成状態を調べるため走査型電子顕微鏡 (日立 S 450) による観察を行なった。前述の方法で作製した菌液を含んだ木綿縫糸を固定液 (pH 7.4 のカコジル酸緩衝液で希釈した 2.5% グルタルアルデヒド液) に入れ、室温で一夜固定した後、カコジル酸緩衝液で 3 回洗浄し、2% オスミウム酸でさらに 3 時間固定し、アセトンで脱水後、乾燥とカーボン蒸着を行ない試料とした。

5. 抗菌剤の MIC と臨床効果の検討

in vivo での抗菌剤の治療効果と MIC の関係を調べるため、敗血症を併発した急性腎盂腎炎例に対する CMZ と CMX とによる治療成績を検討した。症例は各 7 例で、解熱の状況、炎症反応などの時間的推移の比較

を行なった。

II. 成 績

1. 木綿縫糸中の集塊菌の走査電顕像

Fig. 1 に一夜培養後の木綿縫糸に付着した集塊菌の走査電顕像を示した。菌種によりコロニーの形態は異なるが、糸に付着し増殖した細菌が確認できる。また Fig. 2 は $10 \mu\text{g/ml}$ の濃度の CMZ と 18 時間接触させた場合の電顕像であるが、抗菌剤の処理前に比べ残存する菌数は減少しているが、filamentation, spheroplast 様の変化²⁻⁴⁾がみられる。

2. 一定濃度での抗菌剤の殺菌効果

1) 単独菌と集塊菌に対する殺菌効果の比較

単独菌と集塊菌に対する抗菌剤の殺菌効果を比較するため、*E. coli* ATCC 25922 株に対する CET, CMZ, CMX 各 $15 \mu\text{g/ml}$ の濃度で 210 分接触させた場合の殺菌効果と、*S. aureus* ATCC 25923 株に対する PCG 10 U/ml で 210 分間接触させた場合の殺菌効果を Fig. 3 に示した。*E. coli* に対しセフェム系の 3 剤は各抗菌剤の MIC に相関した殺菌効果が得られるが、集塊菌は単独菌に比べ殺菌されにくく、特に CET では菌数の減少の程度に大きな差がみられた。*S. aureus* に対する PCG の殺菌効果は弱く、特に集塊菌では 210 分後でも 10^{-1} CFU/ml の菌数減少に止まった。

2) 抗菌剤濃度と殺菌効果

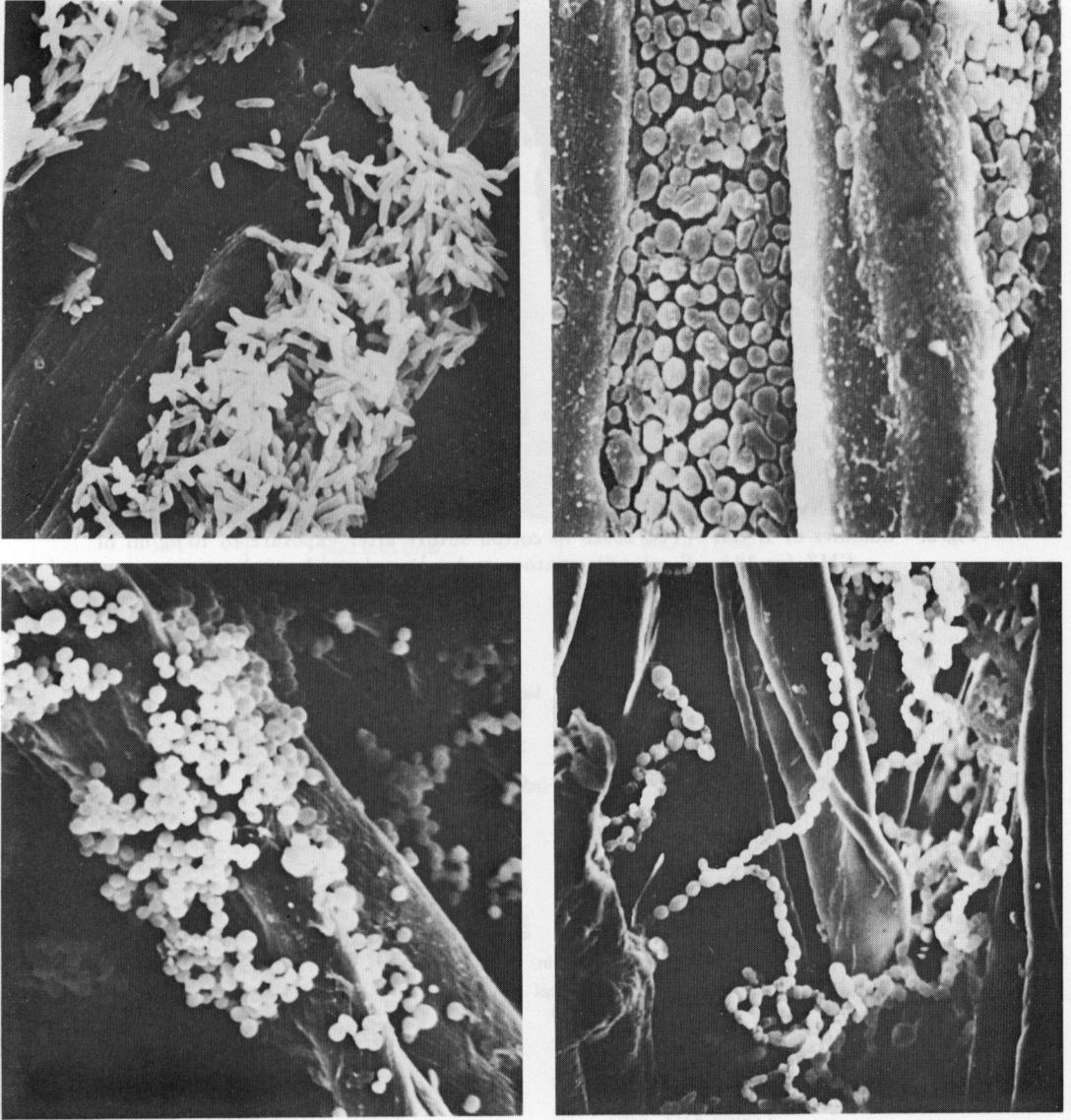
集塊菌に対する抗菌剤の種々の濃度での殺菌効果を検討した。*E. coli* には CMZ を、*S. aureus* には CET を作用させ、MIC の 1 倍、5 倍、10 倍、20 倍の濃度での殺菌効果を検討した。Fig. 4 に示したように濃度が高くなるに従い殺菌効果も増強され、特に MIC の 10 倍以上の濃度で殺菌効果の増強がみられた。しかし *S. aureus* では PCG 同様に CET の殺菌効果は弱く、MIC の 20 倍の濃度でも菌数の減少は 10^{-2} CFU/ml に止まった。

3. 抗菌剤濃度を変化させた場合の殺菌効果

常用量投与時の抗菌剤の血清中濃度の推移⁵⁻¹⁴⁾に合わせて、抗菌剤濃度を変化させて集塊菌に作用させた場合の殺菌効果を菌種別に比較した。

1) 同一抗菌剤の菌種別の殺菌効果

抗菌剤は抗菌スペクトルを考慮し、グラム陽性球菌には PCG を⁶⁾、グラム陰性桿菌には PIPC を選択した¹⁵⁻¹⁶⁾。Fig. 5 にグラム陽性球菌に対する PCG の殺菌効果を示したが、*S. pneumoniae* CB 8106 は殺菌されやすく 210 分後に測定限界 (10^2 CFU/ml) 以下となった。*S. pyogenes* CB 8132 も 210 分後に 10^{-6} CFU/ml と著明に菌数が減少したが、*S. aureus* は殺菌されにくく、penicillinase 産生性で PCG 耐性の ATCC 29213 株のみならず、penicillinase 非産生性で感性的 ATCC 25923



A	B
C	D

Fig. 1. Colonies in cotton suture

A : *E. coli* ATCC 25922, B : *P. aeruginosa* CB 82163 (mucoid type),
C : *S. aureus* ATCC 25923, D : *S. pyogenes* CB 8132

株でも 210 分後で $10^{-1} \sim 10^{-2}$ CFU/ml の菌数減少であった。

Fig. 6 に PIPC の各種グラム陰性桿菌に対する殺菌効果を示した。菌種別の殺菌効果を比較するため PIPC に同一の MIC ($2 \mu\text{g/ml}$) を示す臨床分離株を選んだ。PIPC との接触により 210 分後に菌数は $10^{-3} \sim 10^{-4}$

CFU/ml 減少したが、今回使用したグラム陰性桿菌では菌種の差は少なく、*E. cloacae* がやや抵抗性であったのみであった。

2) 抗菌剤の種類と殺菌効果

S. aureus ATCC 25923 株と *E. coli* ATCC 25922 株に対する各種抗菌剤の殺菌効果を比較した。使用した各抗



Fig. 2. Colonies of *E. coli* ATCC 25922 in cotton suture after exposure to 10 µg/ml of CMZ for 18 h. *E. coli*: filamentous and spheroplast-like structure

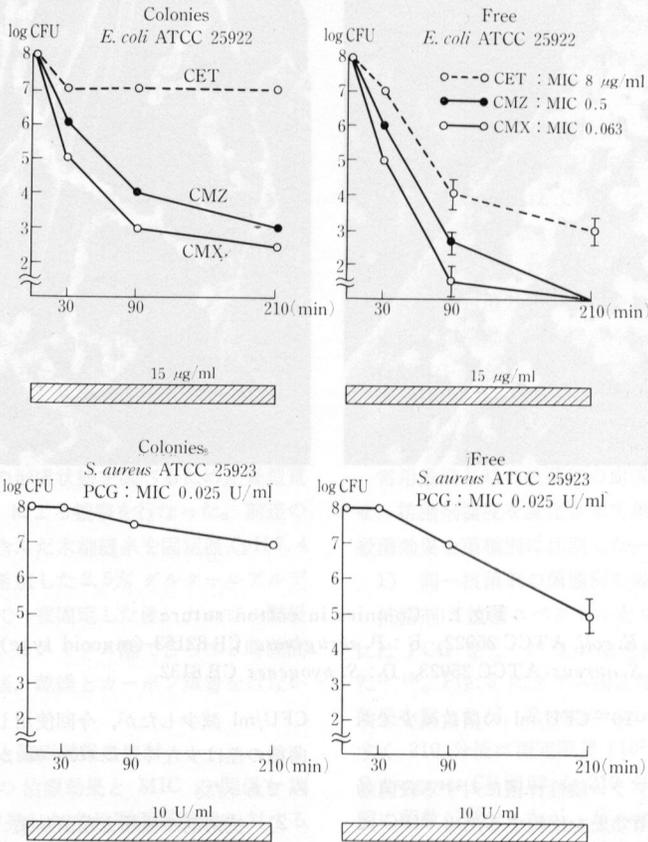


Fig. 3. Bactericidal effects of cepheins against free and colonies of *E. coli* ATCC 25922, and PCG against *S. aureus* ATCC 25923

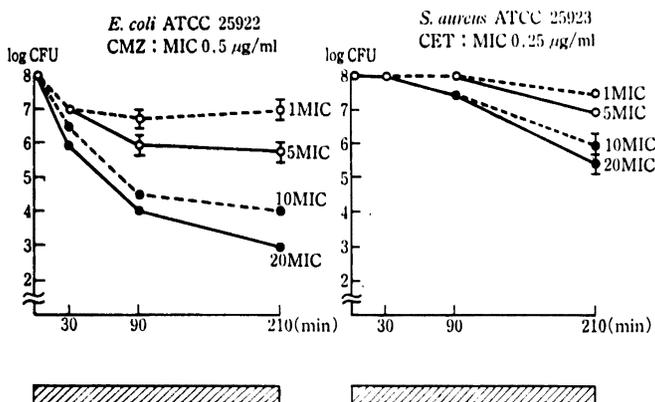


Fig. 4. Bactericidal effect of different concentrations of CMZ against *E. coli* ATCC 25922 and CET against *S. aureus* ATCC 25923

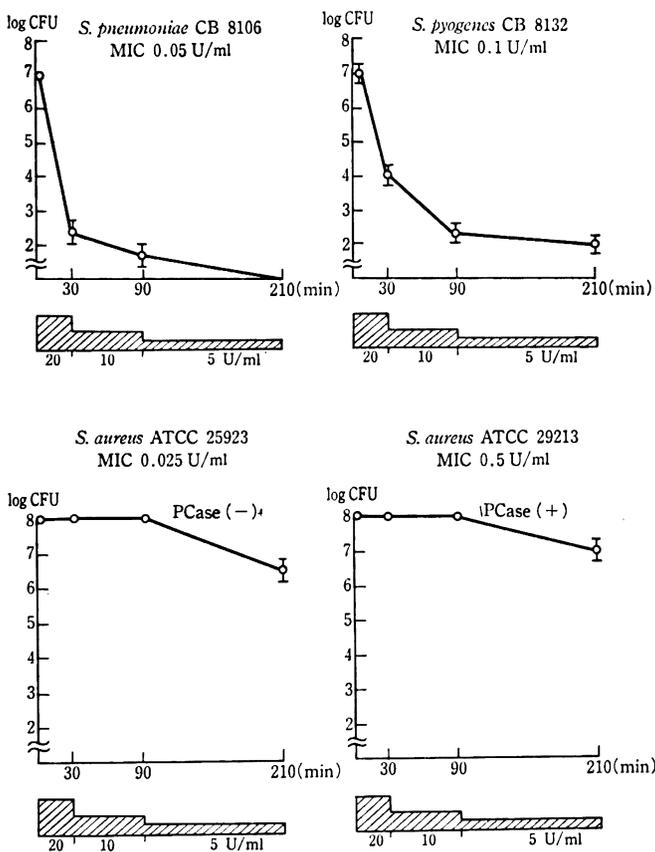


Fig. 5. Bactericidal effects of PCG against colonies of Gram-positive cocci

菌剤の濃度と作用時間は Fig. 7 に示した。Fig. 8 は *S. aureus* ATCC 25923 株に対する各種抗菌剤の殺菌効果を示した。各抗菌剤の常用投与量の血清中濃度の推移⁸⁻¹⁴⁾ に合わせたため、各抗菌剤で異なる濃度設定とな

っている。*S. aureus* に対し、今回検討した中では GM の殺菌効果が最も強く、210 分後には 10^{-3} CFU/ml の菌数減少が得られた。CET, CMZ, CTM では MIC は異なったが、殺菌効果に差がみられず $10^{-1} \sim 10^{-2}$ CFU/

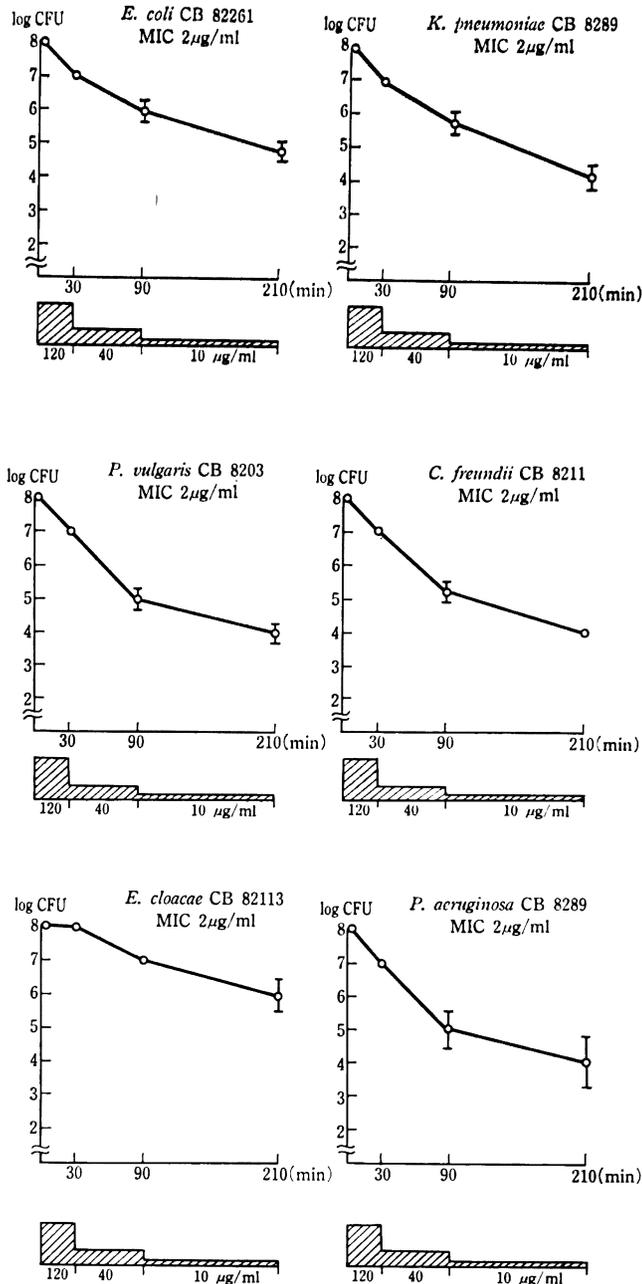


Fig. 6. Bactericidal effect of PIPC against colonies of Gram-negative bacilli

ml の菌数減少に止まった。Fig. 9 に *E. coli* ATCC 25922 株に対する各種抗菌剤の殺菌効果を示した。今回検討した中ではセフェム系の CET, CMZ, CMX の殺菌効果が優れており、特に CMX に最も強力な殺菌効果がみられた。このセフェム系の 3 剤間には MIC の差に関連した殺菌効果の差がみられたが、急激な殺菌効果は

共通して抗菌剤と接触開始後の 30 分間にみられ、90 分以後は菌数の減少は少ない。今回セフェム剤に次いで強い殺菌効果がみられたのは MINO で 210 分後で 10^{-3} CFU/ml の菌数減少がみられた。GM は *S. aureus* と異なり殺菌効果は弱く 210 分で 10^{-1} CFU/ml の菌数減少に止まった。CL は最初の 30 分では強い殺菌効果がみ

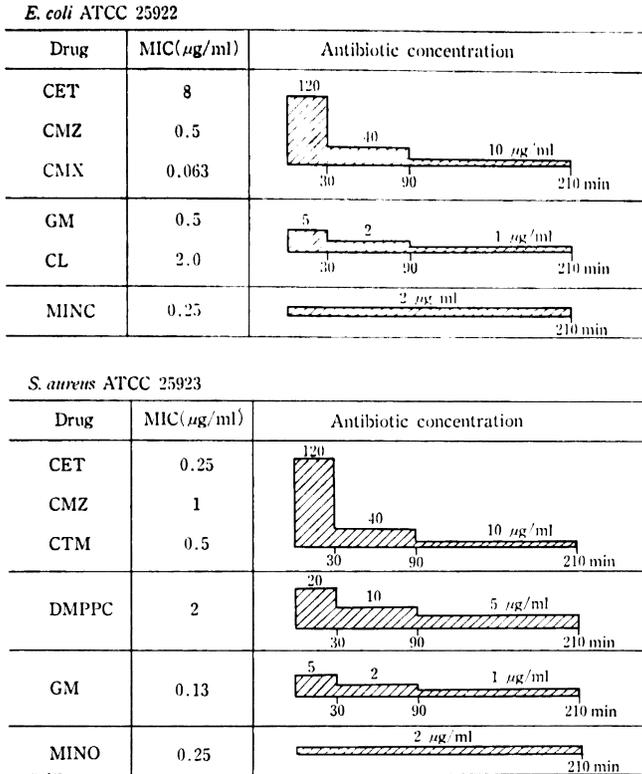


Fig. 7. MICs of *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 25923, and antibiotics concentrations and duration with contact

られたが、MIC 以下の濃度になると直ちに再増殖がみられた。

3) 菌株の MIC と殺菌効果

Fig. 10 に MIC の異なる *E. coli* と *S. aureus* に対する CET の殺菌効果を示した。*E. coli* では $8 \mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示す株に 90 分以後に再増殖がみられ、完全に発育を抑えることができなかった。また *S. aureus* では殺菌効果は弱く、MIC $2 \mu\text{g/ml}$ の株では菌数減少はみられず、MIC $0.05, 0.25 \mu\text{g/ml}$ の株でも $10^{-1} \sim 10^{-2}$ CFU/ml の減少に止まった。

4. 抗菌剤作用後の再増殖抑制効果と連続した作用の殺菌効果

1) 抗菌剤と接触後の集塊菌の再増殖

Fig. 11 に集塊菌とした *E. coli* ATCC 25922 株と *S. aureus* ATCC 25923 株を一度抗菌剤と接触させ、後に抗菌剤を除去した場合の再増殖の状況を示した。*E. coli* では MIC の異なるセフェム系 3 剤の再増殖の抑制効果と比較したが、CET, CMZ では drug-free にした 30 分以降から再増殖が始まっているが、最も MIC の低い CMX は再増殖を 210 分まで抑えた。しかし、いずれの

抗菌剤も 24 時間後には 10^8 CFU/ml に達している。*S. aureus* では CET と GM とを比較したが、GM は接触後に drug-free の状態にしても菌数はさらに減少し再増殖も 210 分まで抑えた。しかし CET では drug-free にすると直ちに再増殖が開始された。

2) 連続した抗菌剤との接触による殺菌効果

Fig. 12 に *E. coli* ATCC 25922 株にセフェム系 3 剤を 2 回連続して作用させた場合と、*S. aureus* ATCC 25923 株に同様に CET を作用させた場合の殺菌効果を示した。*E. coli* では 1 回目の接触で 30~90 分後に $10^{-3} \sim 10^{-5}$ CFU/ml 菌数が減少したが、再度抗菌剤と接触させても菌数は減少しなかった。*S. aureus* では 1 回目の CET との接触で徐々に菌数は減少し、2 回目の接触ではさらに緩徐な菌数減少がみられた。2 回接触させても菌数減少は 10^{-2} CFU/ml に止まった。

さらに 2 回目に異なる作用機作を持つ抗菌剤を作用させた場合の殺菌効果を Fig. 13 に示したが、*E. coli* に対しセフェム系 3 剤を最初に作用させ、次に GM を作用させた場合は、後の GM では全く殺菌効果はみられず、逆に再増殖がみられた。逆に GM からセフェム剤に変

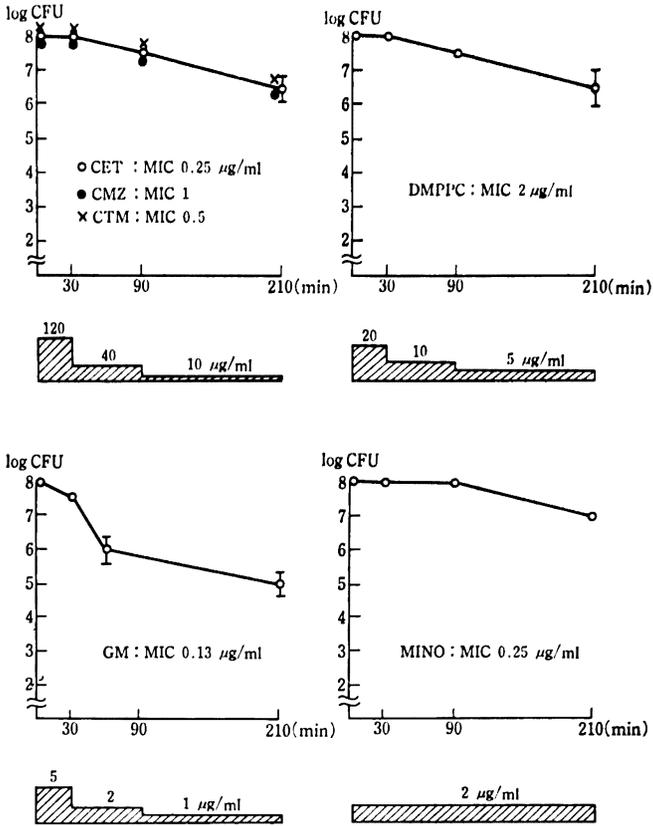


Fig. 8. Bactericidal effect of antibiotics against colonies of *S. aureus* ATCC 25923

更した場合は、後のセフェム剤に殺菌効果がみられた。しかし最終的に減少した菌数は $10^{-2} \sim 10^{-4}$ CFU/ml であり、これは最初にセフェム剤を使用した場合の菌数減少 $10^{-3} \sim 10^{-5}$ より少なく、殺菌効果としては劣る成績であった。さらにセフェム剤から MINO に変更した場合は、後の MINO には殺菌効果はみられなかったが、GM と異なり再増殖は抑えた。また逆に MINO よりセフェム剤に変更した場合は、後のセフェム剤に殺菌効果がみられたが、最終的に減少した菌数はいずれの抗菌剤を先に作用させても $10^{-3} \sim 10^{-6}$ CFU/ml となった。

5. 投与抗菌剤の抗菌力と臨床効果

急性腎盂腎炎より菌血症を併発した症例に対する CMZ と CMX の治療効果を比較した。症例は各7例で、Fig. 14 に発熱、CRP、白血球減少につき治療後の改善の速度を示した。また症例の一覧は Table 1 に示した。MIC の優れた CMX による治療群では CMZ 治療群に比べ、特に解熱効果が強く、全例が投与開始 24 時間以内に平熱となった。これに対し CMZ 治療群では平熱となるまでに 72 時間以上要した。しかし CRP の

改善の速度は両剤治療群に差がなく、末梢白血球数の正常化は CMX 治療群でやや早かった。

III. 考 察

in vitro でより病巣に近い条件を作製するために、木綿縫糸を支持体として集塊菌を作製し、この集塊菌に対する抗菌剤の殺菌効果を time-killing curve より検討した。結果として集塊菌は単独菌より殺菌されにくく、抗菌剤に抵抗性を示した。また糸を集塊菌の支持体としたため broth 中より取り出すことができ、途中で抗菌剤の濃度を変更させることが可能となった。集塊菌に対する殺菌効果では、高橋らの併用効果についての報告があるが^{17,18)}、今回は *in vivo* での条件に近付けるため、各抗菌剤の常用投与量での血清中濃度に合わせて抗菌剤濃度を変化させ殺菌効果を検討した。グラム陽性球菌では特に *S. aureus* が殺菌されにくく、PCG, DMPPC, CET などの β -ラクタム剤には感受性株でも強い抵抗性を示した。逆に殺菌されやすかった菌種は *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* であった。*S. pneumoniae* では自己融解性の影響もあると思われる。この成績は臨床での細菌学的効

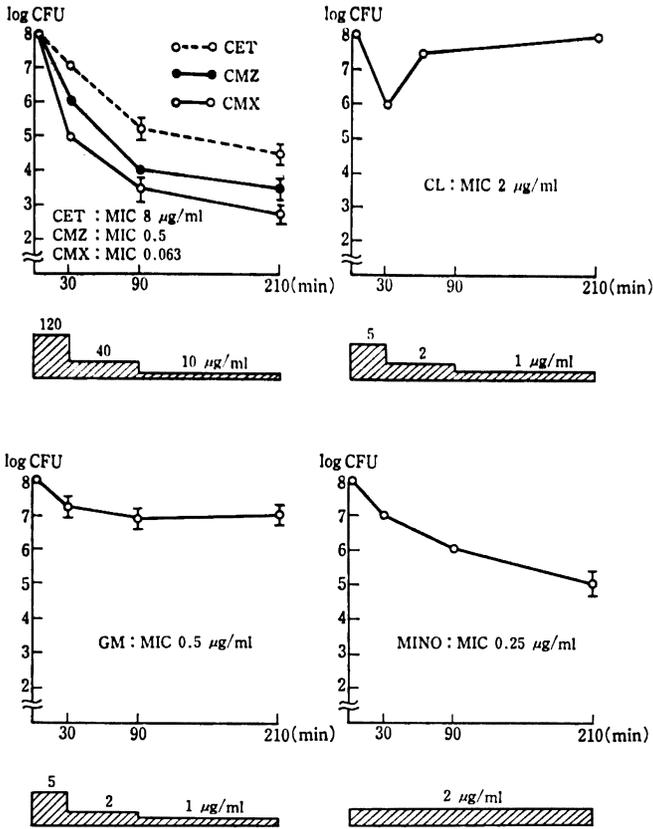


Fig. 9. Bactericidal effect of antibiotics against colonies of *E. coli* ATCC 25922

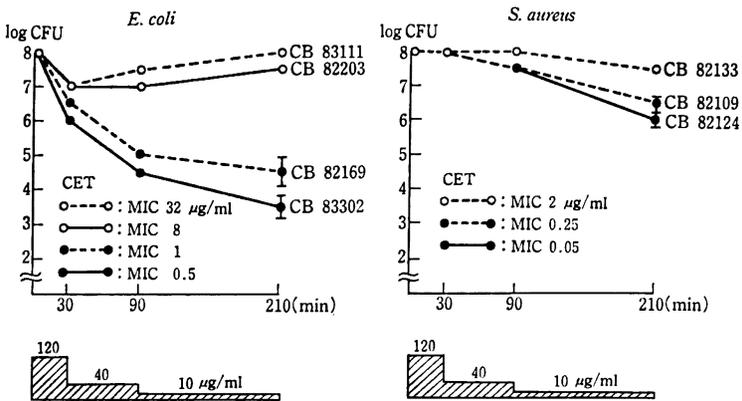


Fig. 10. Bactericidal effect of CET against different MIC strains of clinically isolated *E. coli* and *S. aureus*

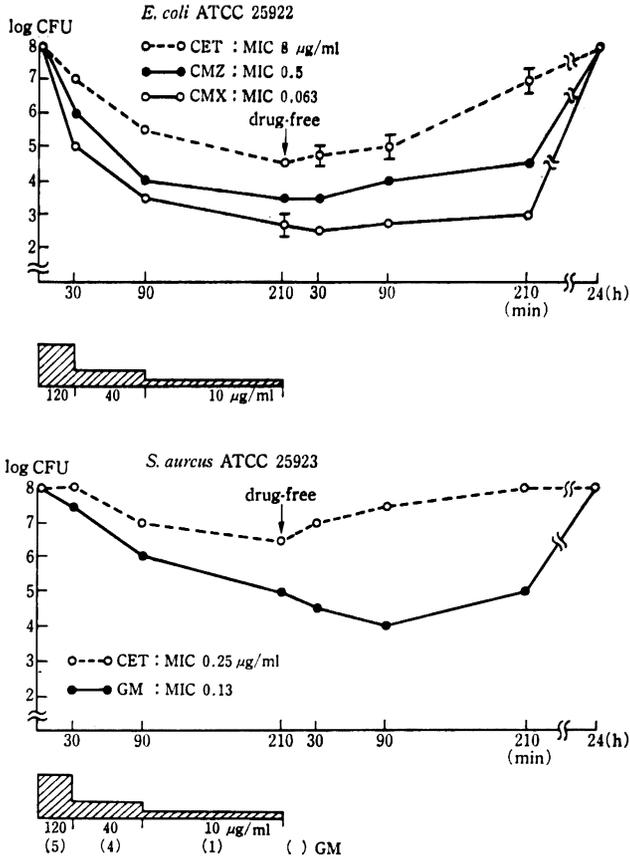


Fig. 11. Regrowth of *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 25923 after treatment with antibiotics

果と良く相関する。これに対し PIPC は *P. aeruginosa* や *E. coli* などのグラム陰性桿菌に対して菌種間での殺菌効果に差はなく、*E. cloacae* のみがやや殺菌されにくかった。*E. coli* と *S. aureus* の標準株を対象とした各種抗菌剤の殺菌効果の比較では、*E. coli* に対し最も強い殺菌効果を示したのはセフェム剤で、セフェム剤間の比較では MIC の最も低い CMX で今回最強の殺菌効果が得られた¹⁰⁾。*E. coli* ではセフェム剤と接触直接から 30 分以内の殺菌効果は著しく強く、逆に接触後 90 分以降は殺菌効果は著しく低下した。これは抗菌剤が増殖期の菌に強く作用し、静止期の菌には作用が弱い特徴を示している。この成績からは初期治療にはできるだけ MIC の低い強力な抗菌剤を選択した方が強い殺菌効果が得られる可能性が高い。しかしセフェム剤を 2 回連続して接触させても 2 回目の接触では殺菌効果はみられず、むしろ再増殖を抑える意味が強い。このため 2 回目以降の接触では抗菌剤の MIC が低くとも必ずしも殺菌効果に結びつかない可能性がある。また再増殖を抑えるためには

投与間隔が重要と思われた。GM の作用として今回の成績では *S. aureus* に対して強い殺菌効果とともに、drug-free にした後も他の抗菌剤より長時間にわたり再増殖を抑える効果がみられた。これは post-antibiotic effects (PAE) と考えられる。しかし *E. coli* では GM の殺菌効果は弱く MIC の 2 倍程度上回る濃度では再増殖すらみられた。殺菌効果や PAE としての再増殖阻止時間が菌種により大きく異なった点については今後の検討を要すると思われた。PAE を決定する要因としては、作用時の抗菌剤の濃度と接触時間が重要である。PAE については種々の報告があるが、研究者により実験法が異なるため、成績にも大きな差がみられる。 β -ラクタム系抗菌剤についてはグラム陰性桿菌に対しては PAE はないとする報告が多く、BUNDTZEN ら²⁰⁾は *S. aureus*, *S. pneumoniae* に対し多くの蛋白合成阻害剤とともに β -ラクタム剤にも 1.5 時間程度の PAE を認めたが、グラム陰性桿菌では β -ラクタム剤には PAE はみられず、アミノ配糖体剤、rifampicin (RFP) などに長い

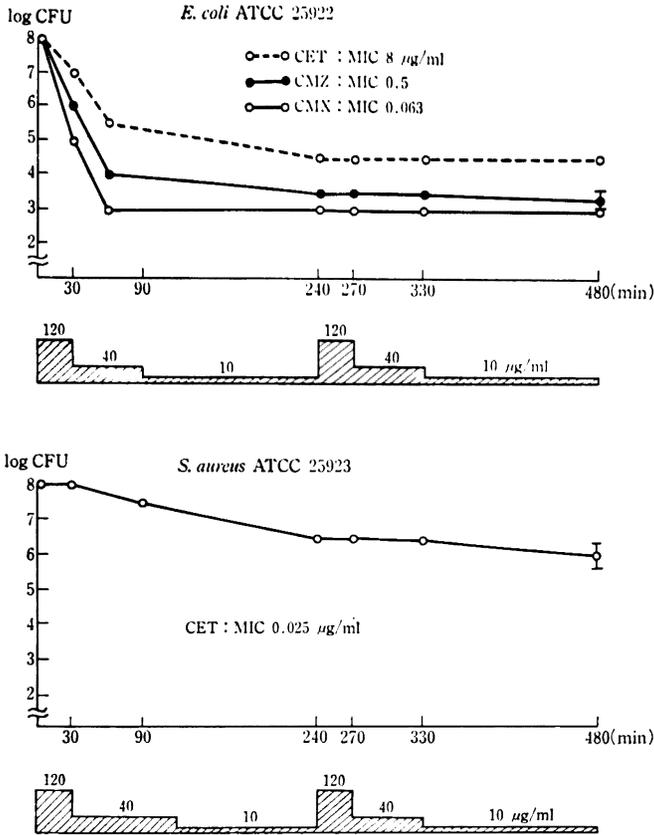


Fig. 12. Bactericidal effect of repeated exposure to cepheems on *E. coli* ATCC 25922, and to CET on *S. aureus* ATCC 25923

PAE を認めたと報告している。また CRAIG²¹⁾ は白血球減少マウスを用いた感染モデルで、接種した *S. pneumoniae* に対し高濃度の PCG を投与した場合に短時間の PAE を認めたと、同時に検討した *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* に対しては、latamoxef (LMOX), ticarcillin (TIPC), cefoperazone (CPZ) には PAE は認められなかったと報告している。また BUSTAMANTE²²⁾ は対数増殖期の *P. aeruginosa* に対し、imipenem (IPM) には PAE を認めたと、ceftazidime (CAZ), LMOX には PAE はみられなかったと報告している。また VOGELMAN²³⁾ は種々の菌種に sub-MIC から抗菌剤の濃度を变化させて作用させて殺菌効果と PAE を検討した結果、 β -ラクタム剤の殺菌効果は time-dependent の要素が強く、グラム陰性桿菌では PAE はみられなかったが、*S. aureus* などのグラム陽性球菌では短時間の PAE を認めている。アミノ配糖体剤の殺菌効果は concentration-dependent の要素が強く、グラム陰性桿菌に対し長時間の PAE を認めている。さ

らに種々の抗菌剤を検討し、CP, tetracycline (TC) など静菌的作用を持つ抗菌剤に長時間の PAE を認めたと報告している。また白血球減少マウスを用いた実験的治療モデルにより、 β -ラクタム剤の投与は頻回に行なうべきであるが、アミノ配糖体剤は長い間隔の投与でも有効との成績を合わせて報告している。しかし、PECHERE²⁴⁾ はマウスを用いた実験的 *K. pneumoniae* 肺炎に対する tobramycin (TOB) の治療実験で、同一の1日投与量では、TOB を4~8時間ごとの投与は、12~24時間ごとの投与より救命率が高かったとの治療成績を紹介し、TOB は MIC 前後の低濃度では PAE が弱く、MIC を充分上回る高濃度で長時間の PAE が得られると報告している。その他の抗菌剤では FUURSTED²⁵⁾ は *P. aeruginosa* に対し ciprofloxacin (CPFX) には TOB, TIPC より長時間の PAE が認められたと報告している。

このように研究者により成績の一部に差がみられるが、 β -ラクタム剤は PAE が短く、多くの蛋白合成阻害

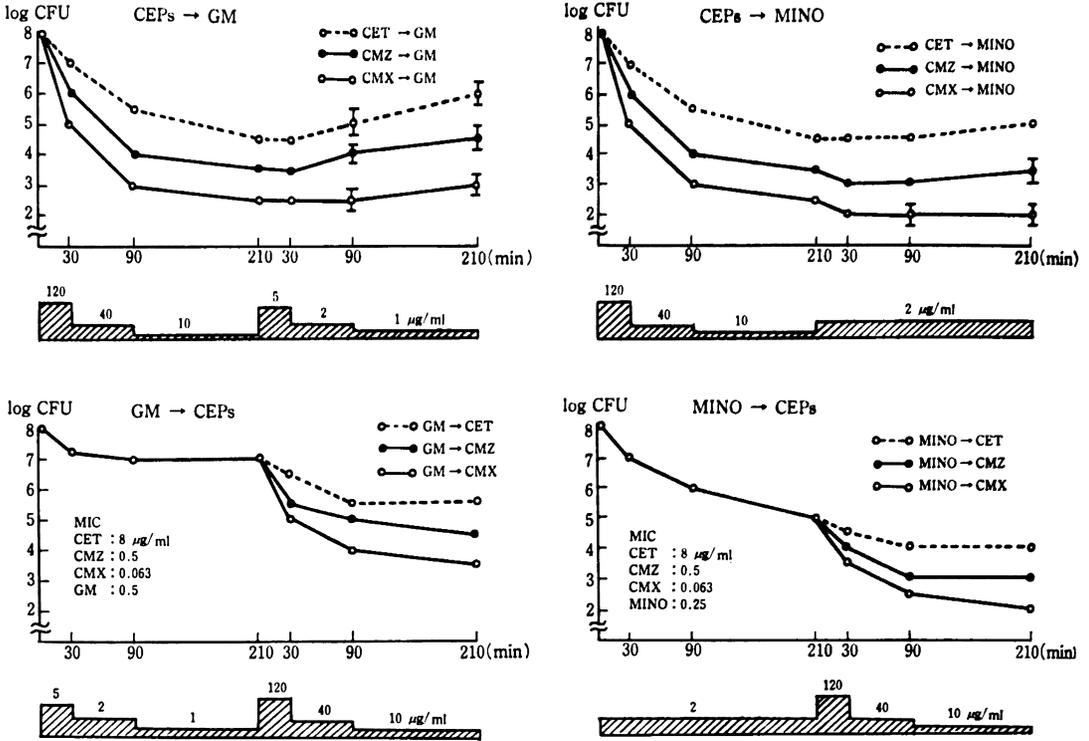


Fig. 13. Bactericidal effects of changing antibiotics (cephem to GM, GM to cephem, and cephem to MINO, MINO to cephem) against *E. coli* ATCC 25922

剤は特に高濃度での菌との接触で長時間の PAE がみられる点で一致している。この理由の解明には今後の研究が必要であるが、細胞壁下の periplasmic space で作用する β-ラクタム剤と、蛋白合成阻害剤など菌の細胞質内で作用する抗菌剤では、抗菌剤除去後の菌体からの排泄の速度にも大きな差があると予想され、PAE を決定する一つの要因と思われる。また抗菌剤を作用させた後の残存菌数により対数増殖期に入るまでの時間も異なるため、実験法の違いは PAE にも影響を与えると思われる。

今回の成績では抗菌剤の濃度を血清中濃度の推移にあわせて変化させたため、MIC の低い抗菌剤ほど有利な条件で PAE を測定した結果となった。このため、例えば GM の殺菌効果では *S. aureus* ATCC 25923 の MIC 0.13 µg/ml に対し、*E. coli* ATCC 25922 の MIC 0.5 µg/ml の差が PAE の差にも関係したと思われる。また集塊菌を対象に抗菌剤を作用させたため、単独菌を対象とした従来の報告に比べ、全体的に殺菌効果が劣ったものと思われる。また系統の異なる抗菌剤を連続させて作用させた場合は、後に接触させた抗菌剤の殺菌効果が減弱する場合があります、今回は *E. coli* に対しセフェム剤を

先に作用させてから GM を作用させた場合に GM の殺菌効果に低下がみられた。

最後に *E. coli* による急性腎盂腎炎から敗血症を併発した症例に対する CMX と CMZ の治療効果の比較では、両剤ともこの疾患を治癒させる上で十分な抗菌力を持つが、*E. coli* に対する MIC は 10 倍以上 CMX が低い。抗菌剤投与開始後 3 日間の治療効果では、特に発熱の改善の速度に両剤間で差がみられた。しかし CRP については差はみられなかった。この速い解熱効果は MIC の低い CMX が持つ菌と接触直後の強力な殺菌効果と関連する可能性が強いと思われる。この速い解熱効果は抗菌剤の臨床効果が早期に判定できるため治療上の利点と思われる。

IV. ま と め

糸を支持体として集塊菌を作製することにより、抗菌剤の種類や濃度を途中で変更することが可能となり今回の成績を得ることができた。この方法の抗菌剤の濃度を自由に変化させられる利点を活かし、抗菌剤の生体内での動態や各臓器別の感染症の条件にあわせた抗菌剤の殺菌効果を今後検討して行く予定である。

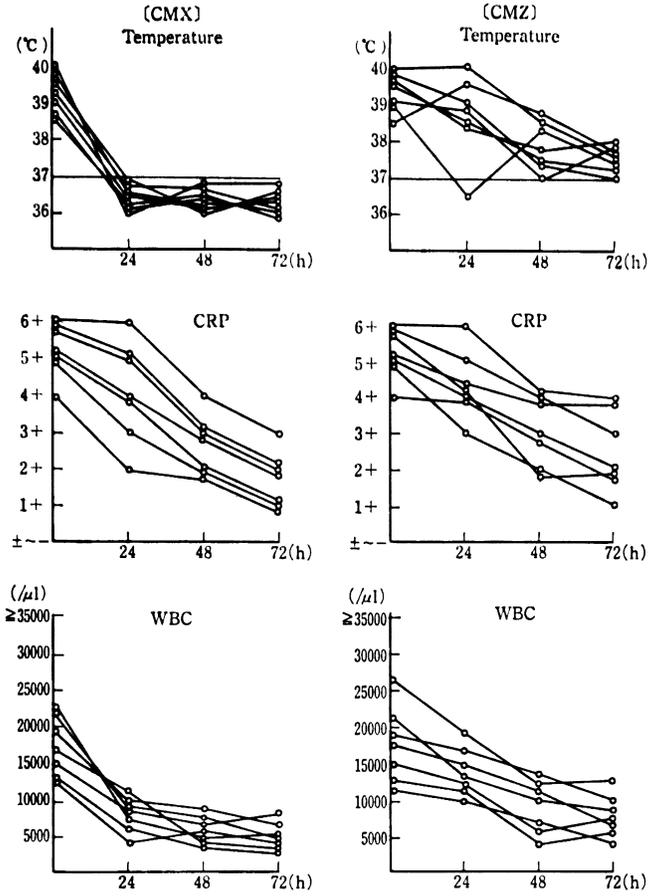


Fig. 14. Clinical features of patients with bacteremia due to acute pyelonephritis, treated with CMZ or CMX

Table 1. Clinical features of *E. coli* bacteremia due to pyelonephritis

Therapy	Sex	Age	Underlying disease	CMZ*	CMX*
CMZ	F	72	diabetes	0.8	0.05
	F	32	(-)	1.6	0.1
	F	66	urolithiasis	0.8	0.05
	F	71	(-)	1.6	0.05
	F	74	diabetes	1.6	0.1
	F	55	(-)	3.2	0.1
	F	75	(-)	0.8	0.05
CMX	F	46	(-)	0.8	0.1
	F	70	diabetes	3.2	0.2
	F	52	(-)	1.6	0.1
	F	68	SLE	1.6	0.05
	F	34	(-)	0.8	0.05
	F	71	(-)	1.6	0.1
	M	48	urolithiasis	1.6	0.1

* MIC: μg/ml

(謝辞) 本稿を終るにあたり、本研究の御指導を賜った千葉大学真核微生物研究センター形態応答部門 寺尾清教授、千葉大学医学部附属病院検査部 降矢震教授、千葉大学医学部第二微生物学 加藤巖教授、(故)千葉大学医学部第二微生物学 小林章男教授に深謝いたします。

文 献

- 1) 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改正について。Chemotherapy 29 : 76~79, 1981
- 2) 西野武志, 宇津井幸男, 後藤直正, 中沢昭三 : CS-1170 による *Escherichia coli*, *Proteus morganii*, *Serratia marcescens* の形態変化について。Chemotherapy 26(S-5) : 67~80, 1978
- 3) 上田 泰, 清水喜八郎編 : β -ラクタム系薬, 1-4 形態変化 (紺野昌俊) 48~59 頁, 南江堂, 1987
- 4) NISHINO T, NAKAZAWA S : Bacteriological study on effects of β -lactam group antibiotics in high concentrations. Antimicrob Agents Chemother 9 : 1033~1042, 1976
- 5) 真下啓明, 国井乙彦, 深谷一太, 谷 莊吉, 原中勝征, 渡部迪男, 小松 喬, 里見信子 : CS-1170 に関する基礎的・臨床的研究。Chemotherapy 26 (S-5) : 193~202, 1978
- 6) KRUCER A, MCK. BENNET N : The use of antibiotics, 3 ed., William Heinemann Medical Books, Penicillin G, pp. 3~54, 1979
- 7) 深谷一太, 国井乙彦, 鈴木 誠, 真下啓明 : Cephalothin の吸収, 排泄, 臓器内濃度。最新医学 29 : 839~844, 1974
- 8) 清水喜八郎, 熊田徹平, 小出桂三, 池田吉昭 : Cefmenoxime (SCE-1365) の基礎的・臨床的研究。Chemotherapy 29(S-1) : 341~351, 1981
- 9) 上田 泰, 中村 昇, 松本文夫, 田所博之, 斎藤篤, 山県正夫, 野田一雄, 嶋田甚五郎, 大森雅久, 古屋千鶴子, 中村喜典 : Gentamicin の吸収, 排泄およびその腎毒性にかんする研究。Chemotherapy 15 : 275~287, 1967
- 10) 上田 泰編 : アミノ配糖体薬, 3b. 抗菌スペクトルと抗菌力 (五島瑳智子, 西田 実), 44~58 頁, 南江堂, 1985
- 11) KRUCER A, MCK. BENNET N : The use of antibiotics, 3 ed., William Heinemann Medical Books, Polymyxins, pp. 531~546, 1979
- 12) 松本慶蔵, 木村久男, 野口行雄, 宇塚良夫, 西岡きよ : 点滴静注用 minocycline に関する研究。Jpn J Antibiot 27 : 303~306, 1974
- 13) 清水喜八郎, 熊田徹平, 奥住捷子 : Cefotiam (SCE-963) に関する基礎的, 臨床的研究。Chemotherapy 27(S-3) : 255~261, 1979
- 14) KRUCER A, MCK. BENNET N : The use of antibiotics, 3 ed., William Heinemann Medical Books, Methicillin, pp. 64~78, 1979
- 15) 小酒井 望, 小栗豊子 : 臨床材料より分離した各種病原細菌の T-1220 感受性について。Chemotherapy 25 : 710~718, 1977
- 16) 西野武志, 山岸純一, 渡辺泰雄, 中沢昭三 : 緑膿菌に対する T-1220 の抗菌像について。Chemotherapy 25 : 755~763, 1977
- 17) 高橋公毅, 小林章男 : 緑膿菌, クレブシエラ, セラチアに対する抗生剤の併用効果。Chemotherapy 27 : 848~856, 1979
- 18) 高橋公毅, 菅野治重 : 緑膿菌に対するピペラシリン・セフォペラゾン・セフスロジン・トブラマイシン合併による併用効果。Chemotherapy 32 : 966~971, 1984
- 19) 小林章男, 菅野治重, 佐藤重明, 鈴木和夫 : 新セファロスポリン剤, cefmenoxime (SCE-1365) の抗菌力と臨床効果。Chemotherapy 29 (S-1) : 332~340, 1981
- 20) BUNDTZEN R W, GERBER A U, COHN D L, CRAIG W A : Postantibiotic suppression of bacterial growth. Rev Infect Dis 3 : 28~37, 1981
- 21) CRAIG W : Pharmacokinetic and experimental data on beta-lactam antibiotics in the treatment of patients. Eur J Clin Microbiol 3 : 575~578, 1984
- 22) BUSTAMANTE C I, DRUSANO G L, TATEM B A, STANDIFORD H C : Postantibiotics effect of imipenem on *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 26 : 678~682, 1984
- 23) VOGELMAN B, CRAIG W A : Kinetics of antimicrobial activity. J Pediatr 108 : 835~840, 1986
- 24) PECHERE M, LETART R, PECHERE J C : Efficacy of different dosing schedules of tobramycin for treating a murine *Klebsiella pneumoniae* bronchopneumonia. J Antimicrob Chemother 19 : 487~491, 1987
- 25) FUURSTED K : Post-antibiotic effect of ciprofloxacin on *Pseudomonas aeruginosa*. Eur J Clin Microbiol 6 : 271~274, 1987

BACTERICIDAL EFFECT OF ANTIBIOTICS AGAINST COLONIES IN COTTON SUTURE

HARUSHIGE KANNO

Division of Toxicology and Cell Biology, Department of Chemico-Biological Interaction, Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, Chiba University, 1-8-1 Inohana, Chiba 280, Japan

We examined the bactericidal effects of antibiotics against colonies in cotton suture and found that colonized bacteria were more resistant than free bacteria.

The bactericidal effect of PCG against Gram-positive cocci: *S. pneumoniae* was easily killed, while *S. aureus* was most resistant as measured by time-killing curve.

At antibiotics concentrations similar to those obtained in human serum with a normal dose, cepheids were more effective than GM, CL and MINO against *E. coli*, whereas against *S. aureus*, GM was more effective than cepheids (CET, CMZ, CTM), DMPPC and MINO.

A strong bactericidal effect of cepheids against *E. coli* was observed in the early period (within 30 min) of the contact, but in repeated contact, only a bacteriostatic effect was observed.

The longest post-antibiotic effect (PAE) was observed with GM against *S. aureus*.