

第35回日本化学療法学会東日本支部総会

会期：昭和63年11月25、26日

会場：日本都市センター

会長：松本文夫（神奈川県衛生看護専門学校付属病院院長）

一般演題

001 当院における MRSA の検出状況

一病院内分離株と一般医療機関分離株との比較—

高橋孝行・国分勝弥・田浦勇二

桜井 啓

神奈川県衛生看護専門学校付属病院検査科

松本 文夫・今井 健郎

同 内科

森 川 清 美

同 耳鼻科

鈴木 和 夫

保健科学研究所細菌科

臨床材料由来黄色ブドウ球菌の DMPPC 耐性菌検出状況を知る目的で薬剤感受性を測定した。

材料と方法：昭和62年7月から63年6月までの1年間に当病院および一般医療機関より提出された臨床材料から分離した菌株のうち、原因菌と判断された黄色ブドウ球菌それぞれ412株、136株を対象とした。それら分離菌株のMICを日本化学療法学会標準法に準じ(DMPPCについては30°C)MICを測定した。

成績：当院および一般医療機関での耐性ブドウ球菌(MIC \geq 12.5 μ g/ml)の菌検出率はABPCが34.9, 55.1%と高く、DMPPCは25.9, 41.9%, CEZは9.2, 20.5%であり、当院でのVCM, IPM, OFLXでは耐性株は検出されないか極めて低い検出率であったのに比べ、一般医療機関ではGM, TOB, IPM, OFLXに対する耐性化傾向がみられた。MRSA(DMPPC, CEZのMIC \geq 12.5 μ g/ml)に対する抗菌力はVCMが1.56 μ g/mlで全菌株の発育を阻止し、IPM, MINOおよびOFLXがこれにつぐ抗菌力を示した。以下CER, CMZ, AMK, GM, TOBの順であった。これらの抗菌剤のMRSAに対するMIC₉₀値は、それぞれ1.56, 6.25, 6.25, 3.13 μ g/mlであった。材料別では当院は咽頭分泌物25.7%, 腔分泌物23.4%, 喀痰16.7%, 膿汁15.8%などから多く分離され、一般医療機関は膿汁

尿, 喀痰, 腔分泌物が多く分離された。12薬剤のうちMRSAの多剤耐性化は、当院も一般医療機関とも著明な差は認められないが、 β -lactam剤とアミノグリコシド剤の両者に対して同時耐性が多く、次いでマクロライド剤にもこの傾向がみられたが、VCM, IPMを含んだ耐性パターンは認められなかった。

考察・結語：今回の検討では、黄色ブドウ球菌のDMPPC耐性株検出頻度は当院25.9%, 一般医療機関41.9%であったが特に一般医療機関から高率に検出された理由としては抗菌剤無効症例の臨床材料からの分離菌株が多かったことが考えられた。

003 MRSA の薬剤感受性

—23施設の成績—

代表 小栗 豊子

臨床微生物懇談会

メチシリン耐性 *S. aureus* (MRSA) は多剤耐性株が多いが、これには施設間差が大きいものと考えられる。そこで関東地区を主とする23施設において分離されたMRSAを用いて薬剤感受性の施設間差を検討した。

使用菌株は1988年2月に各施設で分離した *S. aureus* 50株ずつを集め、この中からMRSAをスクリーニングした。すなわちDMPPC, CZXのMICが12.5 μ g/ml以上のものをMRSAとした。MRSAは475株認められ、これらについてMIC2000システムによりMICを測定した。

MCIPC, MDIPC, CEZ, CMZ, FMOX, IPMなど10種の β -ラクタム剤のMIC₉₀は25 μ g/ml以上であった。MIC₉₀値の小さい薬剤はRFP(0.05 μ g/ml), VCM(1.56 μ g/ml), HBK(3.13 μ g/ml)であった。薬剤感受率の施設間差は多くの薬剤について認められ、MDIPC(0~60%), FMOX(10~94%), IPM(0~77%), MINO(0~71%), OFLX(0~68%)であった。

MDIPC, GM, TOB, EM, CLDM, MINO, OFLXの7剤について多剤耐性をみると3~4剤耐性株がほとんどを占めており、6剤耐性株、7剤耐性株は少なかった。施設別に多剤耐性と分離株数をみると最も多剤耐性株の少ない施設では7薬剤すべてに感受性の株が主位を占

めていたが、逆に多剤耐性株の多い施設では6剤耐性株が最も多い施設であった。

さきの3薬剤について MRSA の薬剤感受性パターンをみると最も多かったのは MDIPC, MINO, OFLX の3剤のみ感性のパターンであり 475 株中 101 株, 21% を占めており, 22 の施設より分離されていた。

MRSA の各薬剤感受性は施設間差が大きいものの, 共通した薬剤感受性パターンの株は多くの施設に分布しているものと思われた。

005 臨床材料より分離された MRSA の薬剤感受性について

川島千恵子・松本豊美子・寒沢紀子
川田 和弘・青木 阪・金子 博*
足利赤十字病院臨床検査部, 薬剤部*

坂本 春生・森鼻 健史
同 口腔外科

岩 田 敏
国立霞ヶ浦病院小児科

目的: 臨床材料より分離された黄色ブドウ球菌の薬剤感受性について 1983 年より検討を加え, さきの第 34 回日本化学療法学会で報告した。今回, その後2年間(1986.1~1987.12)の MRSA の分離状況および薬剤感受性について比較検討したので報告する。

方法: 当院で各種臨床材料より分離された黄色ブドウ球菌 423 株中, MRSA 136 株について PCG, ABPC, DMPPC, MCIPC, CEZ, CMZ, CMD, OFLX, NFLX, ENX, CPF, AM-833, NY-198, PPA, GM, AMK, CP, MINO について最小発育阻止濃度(MIC)を日本化学療法学会標準法に準じて測定した。コアグラマーゼ型別についても同時に検討した。

結果: 黄色ブドウ球菌 423 株中 MRSA (DMPPC \geq 12.5 μ g/ml) は 136 株 (32%) であり, 1986 年 29%, 1987 年 35% であった。さらに外来, 入院患者別にみると, 外来では 1986 年 23%, 87 年 21%, 入院では 1986 年 38%, 87 年 47% と入院患者からの分離率が高く, また 1983 年から3年間の入院患者の分離率 19%, 24%, 32% と比較しても増加傾向にあることが認められた。各種薬剤の MIC₉₀ は MINO (0.20 μ g/ml) > OFLX, CPLX, AM-833 (0.39 μ g/ml) > NY-198 (0.78 μ g/ml) > ENX, NFLX (1.56 μ g/ml) > MCIPC (3.13 μ g/ml) > AMK, CMZ, CMD (6.25 μ g/ml) であり, その他の薬剤ではいずれも 25 μ g/ml 以上であった。コアグラマーゼ型別は II, III, IV 型の順であった。

008 臨床分離 MRSA の minocycline および ofloxacin 感受性の変化に関する検討

青 木 泰 子
筑波大学臨床医学系内科

目的: 最近の臨床分離 MRSA では, β -ラクタム剤以外の薬剤, 特に MINO, OFLX にも耐性株が増加している事実注目し, その実態と背景因子を明らかにすることにより, MRSA 感染症に対する化学療法の指針を得ようとした。

方法: 1987 年 12 月以降に本学附属病院で分離された *S. aureus* 434 株 (内 MRSA 322 株) に対する 12 薬剤の MIC を液体希釈法で測定した。うち, MINO, OFLX の MIC \geq 3.13 μ g/ml の症例について, 菌分離前 1 か月間に投与された抗菌薬を調査し, 継続分離例では投与された薬剤の MIC の変化を観察した。さらに, MRSA 8 株, MSSA 4 株を薬剤の存在下で培養することにより, MIC が上昇するか否かを観察した。

結果: MRSA 322 株に対する MIC₉₀ は, RFP < 0.05 μ g/ml, VCM 1.56 μ g/ml, HBK 3.13 μ g/ml, OFLX 12.5 μ g/ml, MINO 25 μ g/ml, MIPIC, CMZ, CMD, FMOX, IPM, GM, AMK は 50~100 μ g/ml 以上であった。MRSA のうち, MINO 耐性 (MIC 23.13 μ g/ml) は 50%, OFLX 耐性は 35%, 両者耐性は 10% であった。分離前投与薬剤の比較では, MINO 耐性例で MINO 投与を受けていたのが 21% であるのに対し, OFLX 耐性例で OFLX 投与を受けていたのは 40% と有意に高く, 他のピリドンカルボン酸系薬剤投与例を含めると 50% に達した。継続分離例では, OFLX 投与を受けながら除菌されなかった 9 例中 8 例で OFLX の MIC が 4 倍以上上昇したのに対し, MINO 投与例で MINO の MIC が上昇したのは 12 例中 4 例であった。In vitro の耐性獲得試験では, 試みたすべての株で, MINO または OFLX と共に培養すると, 添加された薬剤の MIC 上昇を認めたが, 得られた耐性株間に交差耐性は認められなかった。

考察: MRSA における MINO, OFLX の耐性頻度の増加は, 一部の症例では薬剤使用歴が関連しており, 特に OFLX 耐性では関連が深いと思われた。しかし, MINO 耐性例ではむしろ, 除菌できないまま長期投与をされたような特定の症例で耐性を獲得した株が水平感染の源となって, 病院内における耐性頻度を上昇させている可能性が示唆された。

009 臨床分離 MRSA の抗生物質感受性コ アグラーゼ型別と FOM との併用効果

伊藤 章

横浜市大医学部第一内科

神永陽一郎・鈴木 宏志

同 中央検査部細菌

目的：1987年7月より12月迄に当院で検出された外科領域分離 MRSA 43株について、抗生物質感受性、コアグラーゼ型別、 β -lactamase 産生能、FOM との併用効果について検討した。

方法：MIC 測定は、日本化学療法学会法により、薬剤は CEZ, CMZ, CZON, MINO, DMP-PC, PIPC, ABPC+MCI-PC, DKB, MCR, OFLX, NFLX, MOM, FOM の13薬剤を用いた。 β -lactamase 産生能はニトロソセフィン法を用い、コアグラーゼ型別（デンカ生研）も行なった。FOM との併用効果は、CEZ, CMZ, MINO, DKB, MOM, NFLX, ABPC+MCI-PC の7薬剤について検討した。

結果：43株中42株は入院由来株で、臨床材料は、膿、ドレーン分泌液、喀痰が主なものである。 β -lactamase 産生株20株、非産生株23株でMCR, MOM では非産生株の方が産生株よりMIC分布は低い方に寄っており、逆にMINOでは産生株の方が非産生株よりすぐれたMICを示した。コアグラーゼ型別はⅡ型22株、Ⅶ型20株、Ⅲ型1株で全般にⅦ型の方がⅡ型よりMIC累積曲線は耐性側に寄っており特にMINOではⅦ型の方がⅡ型よりはるかに耐性側に寄っていた。

FOM との併用効果は、FIC index 1.0より低い値をとった株は、MOM 34/43 (79.1%)、ABPC+MCI-PC 29/43 (67.4%)、DKB 24/43 (55.8%)、MINO 19/43 (44.2%)、CEZ 12/43 (27.9%)、CMZ 10/43 (23.3%)、NFLX 0/43 (0%)であった。Ⅱ型Ⅶ型ともMOM, ABPC+MCI-PC DKBでは、半数以上で併用効果が認められたがCMZは、約1/4の株で併用効果が認められているにすぎなかった。MIC 12.5 μ g/ml以上のMRSA株のうち、FOM との併用効果の認められた株の割合は、MOM, DK 13, ABPC+MCI-PCでは60%を超え、MINO, CEZ, CMZでは25~28%であった。FOM とCMZ併用例について臨床効果と菌の消長の追えた例を例示した。

考按：FOM とCMZの併用例は臨床的にFIC indexと臨床効果が一致した例と、不一致例が認められたが、症例を増して検討してみる治療法の一つであろう。

010 他薬剤との併用時におけるフルオロキ ノロン系抗菌薬に対する自然耐性菌の 出現状況

大成 滋・生方公子・紺野昌俊

帝京大学医学部臨床病理

フルオロキノロン系抗菌薬（以下QNLsと略）は、近年広く臨床に用いられつつあるが、それに伴って耐性菌も急速に増加傾向にある。特にメチシリン耐性ブドウ球菌に、さらにそれらの耐性が付加した菌の増加が目される。我々は、QNLsと作用機序の異なる抗生物質を併用した際に、その併用薬がQNLs自然耐性菌（以下mutantと略）の出現に対してどのような効果を示し、加えて相乗的に作用するのがあるいは拮抗的作用を示すのかについて検討を加えた。

本実験に用いた菌株は、血液培養から検出されたMRSAとMSSA各5株である。これらの菌株はnorfloxacinでは3.13 μ g/ml、ofloxacinでは0.78 μ g/mlの濃度で明瞭なmutantが認められたため、両薬剤に関しては、この濃度をベースとして、それにMIC以下の種々の濃度に調整したflomoxef, rifampicin, vancomycin, minocycline, chloramphenicolの各薬剤を重ねて添加した。

Flomoxef, vancomycinなど菌の細胞壁合成を阻害する抗生物質は、MIC以下の濃度添加時においてもmutantの出現を抑え始め、また、わずかながら相乗作用のあることが示された。しかしながら、rifampicin, minocycline, chloramphenicolなどいわゆる蛋白合成を阻害する薬物においては、1/16 MICから1/4 MIC程度の添加ではmutantの出現をほとんど抑えず、むしろ共存することで明らかな拮抗現象のみられることが判明した。この拮抗現象の出現する原因としては、薬物の菌体内への取り込み時における競合等種々考えられる。それを解明することが今後の課題と思われる。

011 MRSA に対する FOM と CMZ の併 用効果のディスク法による測定

井上久美子・小栗 豊子

順天堂大中検

近年、MRSA感染症は増加しており、入院、外来を問わず大きな問題となっている。本菌種は単独で臨床的に有効でしかも副作用の少ない薬剤があまり無いことから、薬剤の併用療法が行なわれ、臨床的に有効であることが報告されている。この併用効果の測定には checker

board 法が用いられるが、日常検査法としては操作が繁雑である。そこでディスク法で測定できないかどうか検討した。

使用菌株は 1988 年 1 月より 6 月までに各種臨床材料より分離した高度多剤耐性の MRSA 108 株を用いた。測定法は、希釈法として MIC 2000 システムによる微量液体希釈法を用い、ディスク法はセンシディスク (BBL) を使用した。希釈法の薬剤濃度段階は、FOM 100~0.2 $\mu\text{g/ml}$, CMZ 100~0.78 $\mu\text{g/ml}$ の 2 倍連続希釈とし、使用培地は Mueller-Hinton-broth (Difco) を用いた。併用効果の判定は、希釈法では checker board 法による FIC Index の最少値をもって示し、ディスク法では、阻止円の形状変化により判定した。

FOM と CMZ の併用効果は MRSA 108 株中、56 株、51.9% に認められた。これは FOM の MIC 値との関係が深く、FOM の MIC 値が 100 $\mu\text{g/ml}$ 以下の場合には、ディスク法、checker board 法とも併用効果が認められた。一方、FOM の MIC 値が 100 $\mu\text{g/ml}$ を越えた株では、2 法とも併用効果は認められなかった。ディスク法では FOM, CMZ の距離を 2 cm にした場合が併用効果の判定は明瞭であった。

以上の成績より、ディスク法でも両薬剤の併用効果の測定が可能であると考えられた。

なお、今回検討した MRSA は、CMZ の MIC 値が 100 $\mu\text{g/ml}$ を越えるものはなかったが、このような株についても、今後検討してゆきたい。

012 CMZ と FOM の併用により治癒せしめ得た MRSA による Infective Endocarditis の 1 例

福田恵一・半田俊之介・吉川 勉
中村芳郎

慶応義塾大学医学部内科呼吸循環科

内田 博・小林 芳夫
同 中央臨床検査部微生物

目的：MRSA による Infective Endocarditis (IE) に FOM と CMZ を併用投与し治癒せしめえ *in vitro* においても起因菌に対する併用効果を確認した症例を経験したので報告する。

症例：55 歳、男性、主訴は発熱、ショック。昭和 62 年 4 月某院にて前立腺癌を経尿道的に切除した。2~3 週後より発熱が持続、抗生剤投与により一時的に解熱したが、発熱を繰り返していた。昭和 62 年 9 月再び発熱が持続、心雑音も指摘され当科を紹介された。血中より

enterococcus を検出、心エコーにより大動脈弁に vegetation を認め IE とこれに伴う大動脈弁閉鎖不全症と診断、ABPC と GM の併用投与 6 週間により治癒した。

2 週後より再度発熱を認め 8 日後 39.5°C の発熱とともにショック症状を呈した。心雑音の増強、炎症反応の再燃、心エコーにて大動脈弁の vegetation の増大に加え血中から MRSA を検出し、本菌による IE と診断、CMZ 1 回 2g 1 日 4 回を FOM 1 回 1g 1 日 4 回の併用投与を開始した。2 日目より徐々に解熱が得られ、5 日目より 37°C 台の発熱となり、6 週間投与により治癒した。約 10 か月を経過した現在再発は認めていない。

検出菌に対する DMPPC の MIC は 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上、FOM は 12.5 $\mu\text{g/ml}$, CMZ は 50 $\mu\text{g/ml}$ であった。FOM と CMZ の併用効果を *in vitro* で添付した。Disc 法においては FOM と CMZ の disc の距離が 2 cm において起因菌の MRSA に対し相乗作用を示唆する成績が得られた。Checker board 法においては、同一平板上の 3 か所に起因菌を接種したが、いずれにおいても明らかな相乗作用を認めた。

結語：MRSA による IE で FOM と CMZ を併用投与し、治癒せしめえ、*in vitro* においても起因菌に対する相乗効果を確認した症例の報告は、本邦第 1 例であり、報告する価値のある症例と考えられた。

013 MRSA に対する *in vitro* の IPM と FOM の併用効果の検討

西園寺 克

桜成病院病理科・臨床検査科

小林 寅詰・佐藤 弓枝

三菱油化 BCL バイオ事業所化学療法研究室

Killing Curve 法により MRSA に対する IPM と FOM の併用効果を検討したので報告する。

方法：寒天平板法の DMPPC の MIC $\geq 25 \mu\text{g/ml}$ 株で液体培地希釈法の FOM の MIC $\geq 50 \mu\text{g/ml}$, IPM の MIC $\geq 12.5 \mu\text{g/ml}$ の *S. aureus* 15 株を使用した。

①FOM 25 $\mu\text{g/ml}$ 添加 ②FOM 25 $\mu\text{g/ml}$ +IPM 1/2 MIC 添加 ③IPM 1 MIC 添加 ④FOM 25 $\mu\text{g/ml}$ +IPM 1 MIC 添加 ⑤FOM 25 $\mu\text{g/ml}$ +IPM 2 MIC 添加の Mueller Hinton Broth に菌量として約 10^8 CFU/ml 接種し、37°C で培養し、0, 2, 4, 6, 8, 24 時間の生菌数を測定した。1 株について走査電子顕微鏡と透過電子顕微鏡で②または④の形態変化を経時的に観察した。

結果：24 時間の判定で 0 時間と比較し、増菌： 10^1 以上の増加、静菌： 10^1 から 10^{-1} の変動 殺菌： 10^{-1} 以上の減少 完全殺菌：生菌数 0 と定義すると、①：増殖 15

株 ②: 増菌 6 株, 静菌 7 株, 殺菌 1 株, 完全殺菌 1 株
 ③: 静菌 12 株, 殺菌 3 株 ④: 静菌 9 株, 殺菌 2 株,
 完全殺菌 4 株 ⑤: 殺菌 6 株, 完全殺菌 9 株であった。

FOM 25 $\mu\text{g/ml}$ では 15/15 増菌的であった。FOM 25 $\mu\text{g/ml}$ +IPM 1/2 MIC 添加で 2/15, FOM 25 $\mu\text{g/ml}$ +IPM 1 MIC 添加で 6/15 相乗効果が認められた。FOM 25 $\mu\text{g/ml}$ +IPM 2 MIC 添加で 15/15 殺菌 (完全殺菌を含む) 的となった。

走査電子顕微鏡では, 膨張像および溶菌像が観察された。透過電子顕微鏡では, 膨張像および cytoplasm が完全に失われた cell wall のみまたは plasma membrane のみとなった溶菌像が観察された。

考察: Killing Curve 法による MRSA に対する IPM と FOM の併用は, 拮抗作用は認められず, 相乗効果が認められ, その作用は溶菌的であった。

015 β -lactamase 誘導に及ぼす FOM の影響について

平井裕一・辻野守泰・中畑 久
 武部和夫

弘前大学第三内科

工 藤 肇

弘前大学臨床検査医学

目的: FOM は種々の菌に対し他剤との併用効果を示すことが知られる。我々は β -lactam 剤間の拮抗現象に β -lactamase の誘導増強が関与することを報告している。今回は β -lactamase 誘導に対し FOM 併用が影響を有するか, また併用効果と関連があるかを検討した。

方法: 菌種は *E. cloacae* と *S. marcescens*, 薬剤は cefmetazole (CMZ) と cefminox (CMNX) を用いた。MIC は寒天平板法で求めた。 β -lactamase の誘導は 37 $^{\circ}\text{C}$ 1 時間 HI broth で振盪して行ない超音波処理した菌体を検体とし Spectrophotometry で活性を求め, 蛋白当りの活性を control との比で表わした。同一の系で 2 時間後まで振盪し殺菌曲線を作成した。

結果: ほとんどの株で CMZ, CMNX, FOM とともに耐性であったが FOM の添加で CMZ, CMNX とともに単独時より MIC の低下を示す株がほとんどであった。特に *S. marcescens* では CMNX に FOM 0.01~0.1 $\mu\text{g/ml}$ の低濃度を併用することで MIC の低下がみられる株が多かった。 β -lactamase の誘導は両菌種それぞれ 1 株をえらんで行ない, 共に CMZ, CMNX 単剤ではその濃度に応じ活性の上昇がみられたが, FOM 10~100 $\mu\text{g/ml}$ の添加で 1/2~1/3 に活性が抑制された。MIC で併用効果

の大きかった *S. marcescens* 1 株で CMNX, FOM, 両剤併用の殺菌曲線は CMNX 10 と 100 μg +FOM の併用で菌数減少が顕著で, CMNX 単独では 10^2 の減少であったのが 10^4 ~ 10^6 の減少を示した。このときの β -actamase 活性は菌数減少に応じて抑制されている傾向であった。

考察: *E. cloacae* や *S. marcescens* などの β -lactamase 誘導産生菌では, FOM が存在することで β -lactam 剤による β -lactamase の誘導が抑制されることが良好な併用効果の発現に関与するのではないかと考えられた。

016 臨床由来 *Moraxella* (*Moraxella*) spp. の産生する β -lactamase について

村山琮明・山崎堅一郎*・安藤 隆
 木村貞夫

帝京大学医学部細菌学教室, 大宮赤十字病院検査部*

呼吸器感染を起こす *M. (Branhamella) catarrhalis* の β -lactamase 産生が, 近年注目されている。今回我々は, 類縁菌属である *M. (M.)* spp. にも β -lactamase 産生株を見出し, その性状について解析した。

材料および方法: 大宮赤十字病院で分離した *M. (M.)* spp. 12 株, および β -lactamase 産生 *M. (B.) catarrhalis* 2 株を用いた。 β -lactamase の活性は UV 法により測定した。

結果および考察: 1) *M. (M.)* spp. 12 株のうち 3 株が β -lactamase 産生株で, その由来はいずれも小児の鼻汁であった。2) 上記 3 株と *M. (B.)* spp. 2 株とも MIC は, ABPC 等で試験菌濃度により 5~数十倍の差を示した。一方 CFX 等では試験菌濃度差による影響は認められず, 本菌株の産生する β -lactamase が penicillinase 型であることを示唆した。*M. (B.)* spp. の方が *M. (M.)* spp. より大部分の β -lactam 剤の MIC が, 8 から 30 倍高く, また *M. (M.)* spp. では, CXM の MIC で試験菌濃度による差が認められなかったが, *M. (B.)* spp. では 4 倍程度の差が認められた。3) *M. (M.)* spp. 3 株中 2 株の基質特異性はほぼ同様であり, *M. (B.)* spp. も同様の値を示した。基質特異性を PCG を 100 として示すと, ABPC, CBPC, CER, CET, CXM, CPZ, CFX, CEZ が, 各々 69.4, 109, 8.4, 14.2, 6.7, 1.0, <0.4, 29.0 であった。今回検出された *M. (M.)* spp. の産生する β -lactamase は, *M. (B.) catarrhalis* の β -lactamase と類似していることが示唆された。4) *M. (M.)* spp. 1 株で 11

Md, M. (B.) spp. 1 株で 5 Md のプラスミドを検出したが、ABPC 耐性の接合伝達体は現在まで得られていない。

017 *S. marcescens* の β -ラクタム耐性 (第 5 報) (*drd* 型 β -ラクタマーゼ産生菌の *bla* の解析)

井上 長久・代居 敬子*・橋本 一*
群大・医・薬耐, 微生物*

目的: 臨床分離菌の β -ラクタム剤耐性ではその耐性に β -ラクタマーゼの関与が大きい。 β -ラクタマーゼについて、Gram(-) 菌の多くは染色体性遺伝子 (*bla*) 支配の誘導型 CSase を産生する。*S. marcescens* の中でも cephem 剤耐性菌が検出され、この内の高度耐性菌は CSase と Plasmid 支配の PCase とを保有するものが多い。*E. cloacae*, *P. vulgaris* の *drd* 型 CSase 産生菌から分離した *bla* 遺伝子はいずれも典型的な誘導酵素であった。今回 *S. marcescens* 54 株から *drd* 型 CSase 産生菌 1 株を検出し、その *bla* 遺伝子の解析を行なったので報告する。

材料, 方法: DNA の分離, クローニング方法は常法により行なった。ベクター Plasmid は pHGS 398 を用い受容菌として *E. coli* ML 4901, 宿主変異株 ML 4953 を用いた。酵素の誘導, 活性測定, MIC などは従来の方法によった。

結果: 1) *S. marcescens* No. 35 は典型的誘導型 CSase 産生菌であり、この *bla* のクローニング株を pMS 507 とした。一方, No. 54 は *drd* 型 CSase 産生菌由来の *bla* のクローニング株を pMS 507 とした。いずれも制限酵素 EcoRI にてクローニングされた。

2) ML 4901 を宿主とした時, pMS 506 は酵素活性が pMS 504 に比べ著しく低い。

3) ML 4953 を宿主とした時, pMS 506 の酵素活性は 2) に比べ上昇していたが pMS 507 より低い。pMS 507 は ML 4901, ML 4953 いずれの宿主でも充分量の CSase を産生した。

4) pMS 506 は誘導型, pMS 507 は構成型 CSase を産生していることがわかった。

018 β -lactamase 産生能定性試験のための簡易誘導法

中根 豊・横田のぞみ・古口 昌美
福島よし子・深山 成美・西村由紀子
小田 清次・出口 浩一

東京総合臨床検査センター研究部

臨床分離株の β -lactamase 産生能を定性的に試験する方法は、主に基質を含有するディスクを用いた方法が普及しているが、基質に用いる抗生物質の種類、さらに菌種によっては、反応に差が生じる場合が多い。そこで下記のような簡易誘導法等の検討を行なった。

検討方法:

1) 供試臨床分離株

S. aureus, CNS, *B. catarrhalis*, *H. influenzae*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. coli*, *C. freundii*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. rettgeri*, *P. stuartii*, *M. morgani*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa*, 各々 10~14 株。

2) β -lactamase 産生能定性試験

β -チェック (台糖ファイザー) を用いたアシドメトリーディスク法。

上記 1), 2) を使用して β -lactamase 産生能の定性試験を使用説明書に従って実施したところ, MIC 値と定性反応成績に不一致がみられたので, コロニーをつくるための培地, β -lactamase 誘導のための前操作等の必要性を追加して検討した。

成績: *Klebsiella* spp. のようなムコイド状のコロニーを形成する菌種の場合は、菌体表面の巨大なカプセルを抑制する培地, 染色体支配の CEPase を主に産生する菌種の多くは、誘導のための前操作を加えた後のコロニーを用いた方が、アシドメトリーディスク法の陽性率が高まる結果が得られた他、反応も鮮明となった。この場合、感受性ディスクを用いた簡易誘導法が可能である。

結論: アシドメトリーディスク法に現れた菌種間の反応能度の違いは、各々の菌種がもつ菌体構造の差から生じるものであると考えられる。したがって、菌種により培地を選択し、誘導をかけた後のコロニーを用いるなどの工夫も必要である。

019 *In vitro* pharmacokinetic system

を用いた抗生物質の投与法の検討（第一報）

浦山京子・後藤美江子・後藤 元
島田 馨

東京大学医科学研究所感染症研究部

大 屋 哲

三共生物医学研究所

目的：緑膿菌感染症の際、抗生物質をどのように投与したら、最も効果的であるかを検討する目的で、*in vitro* pharmacokinetic system を用い、薬剤の投与方法を変化させ、緑膿菌の生菌数の経時的変動を検討した。

材料、方法：検討薬剤は IPM で、使用した緑膿菌は ATCC 27853 および U-31 であり、IPM の MIC は各々 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 、0.78 $\mu\text{g/ml}$ であった。用いた *in vitro* pharmacokinetic system は dilution type であり、IPM は 1g、500 mg を 60 分点滴投与時の体内動態に simulate させて、薬剤濃度を変化させた。24 時間モデルの系で、IPM の総投与量を 1g とし、1g 1 回投与（ピーク値 48 $\mu\text{g/ml}$ ）、500 mg 12 時間ごとに 2 回投与（ピーク値 24 $\mu\text{g/ml}$ ）の 2 つの投与モデルを作製し、緑膿菌の生菌数の推移を検討した。生菌数測定の際、IPM 1 MIC および 2 MIC を含む寒天培地に接種し、耐性菌の出現の有無も検討した。

結果：IPM 1g 1 回投与モデルでは、投与後約 3～4 時間で、*P. aeruginosa* ATCC 27853 および U-31 の生菌数は $1/10^3$ から $1/10^4$ まで減少し、その後、2～3 時間、菌の再増殖はみられないが、実験終了時の 24 時間目では、生菌数は実験開始時より 10^3 オーダー増加した。IPM 500 mg 2 回投与モデルの系では、*P. aeruginosa* ATCC 27853 および U-31 の生菌数は実験開始後 3～4 時間で、 $1/10^3$ から $1/10^4$ まで減少するが、その後再増殖がみられ、12 時間後 2 回目の投与では、生菌数の減少は、初回投与ほど顕著ではなかった。

投与開始 4 時間、12 時間後の生菌数は投与方法にかかわらず、ほぼ同じであった。また IPM に関しては、24 時間の実験系では耐性菌の出現はみられなかった。

020 新キノロン系薬の PAE

深田 智子・閑野麻紀子・渡辺忠洋
片平 潤一・戸塚 恭一・熊田徹平
清水喜八郎

東京女子医科大学内科・臨床中央検査部

各種キノロン系薬のグラム陰性桿菌に対する PAE を *in vitro*、*in vivo* において測定した。

方法：第 36 回化学療法学会総会で報告した方法と同様にして *in vitro* では *E. coli*、*K. pneumoniae*、*P. aeruginosa* に対し OFLX、ENX、CPFEX、LFLX、TFLX の PAE を測定した。*in vivo* では *K. pneumoniae* BK に対し OFLX、ENX、CPFEX、LFLX、TFLX の PAE を測定した。

結果：*In vitro* における *E. coli*、*K. pneumoniae*、*P. aeruginosa* に対する各種キノロン系薬の PAE はおおむね接触時間の延長、薬剤濃度の増加に伴い延長し、OFLX、CPFEX、LFLX、TFLX で同程度の PAE を示した。

In vivo では、キノロン系薬は血中に比して大腿筋中で高値となるので、あらかじめ薬剤を投与してから 15 分毎に大腿に菌を接種し、大腿残存菌数を測定し、どの時点まで薬剤の影響が残っているかを検討した。

OFLX では、大腿内薬剤が菌の増殖に影響を与えなくなるまでの時間は、薬剤投与後 1.5 時間であり、PAE は 2.1 時間であった。

ENX では大腿内薬剤が菌の増殖に影響を与えなくなるまでの時間は OFLX と同様、薬剤投与後 1.5 時間であり、PAE は 1.0 時間であった。

CPFEX では大腿内薬剤が菌の増殖に影響を与えなくなるまでの時間は OFLX に比して長く薬剤投与後 3 時間で、PAE は 5.1 時間であった。

LFLX では大腿内薬剤が菌の増殖に影響を与えなくなるまでの時間は薬剤投与後 3 時間であり、PAE は 0.5 時間であった。

考案：*In vitro* における各種キノロン系薬の PAE では薬剤間の差はあまり認められなかったが、*in vivo* における PAE は CPFEX、次いで OFLX、ENX、LFLX の順で異なっていた。これは OFLX、CPFEX では ENX、LFLX に比し、MIC 以上の濃度の持続時間、MIC 以上の AUC が高値を示すことが影響したものと考えられた。

021 グラム陽性球菌に対する MLs 剤の PAE

大久保豊司・井上 松久

群馬大学医学部薬剤耐性菌実験施設

目的：最近の実験によると、いわゆる PAE は化学療法剤の新しい作用機作の特徴である。GRAIGE らによれば、一般に PAE は蛋白質合成阻害により作用する薬剤によりみられ低濃度において PAE を発現する。

S. aureus, *S. pneumoniae* に対する EM, CLDM, Gram(+), (-) 菌に対するアミノグリコシド系薬剤はそれぞれ強い PAE を発揮することが報告されている。

今回我々は *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis* に対する各 MLs 系薬剤 PAE について検討したので報告する。

材料、方法：第1に Kueuzi (JAC 20 sup-B 39-46) に従い行なった。すなわち対数増殖期の菌液を約 10^8 CFU/ml に希釈し、各濃度の薬剤を2時間作用させ 37°C 振盪培養する。続いて遠心洗浄により薬剤を除き、CFU を求める。次に菌を新鮮培地に入れ 37°C にて振盪培養し経時的に菌数を調べた。なお、各 MLs 系薬剤の作用濃度は使用菌株の MIC を基準に設定した。

結果：1. 薬剤 2 MIC および 2 時間暴露後の生菌数は 0 時間に比べて *S. aureus* MS 353 では EM (48%), JM (27%) とほぼ同じような殺菌パターンを示した。しかし、RKM の殺菌力は EM, JM に比べ強く生菌数は対照の約 3% であった。

また、*S. epidermidis* も同様な結果を得た。

E. faecalis は EM (70%), JM (34%), RKM (32%) の殺菌率を示した。

2. 薬剤 2 MIC および 2 時間暴露後、各時間毎の生菌数より求めた PAE (時間) は *S. aureus* では EM (1.8), JM (4.2), RKM (2.2)。*S. epidermidis* では EM (1.7), JM (3.1), RKM (3.6)。*E. faecalis* では EM (1.6), JM (3.7), RKM (4.2) であり、共に PAE が認められた。

022 緑膿菌、セラチア、腸球菌に対する抗菌薬併用効果の簡易検定法

栗山 茂^{1,2)}・関矢正樹¹⁾・小松崎 尚¹⁾
金 允貞²⁾

(財)河野臨牀医学研究所¹⁾,
東京医科大学微生物学教室²⁾

目的：難治性感染症は、宿主の抵抗力減弱下での日和

見感染が主であり、原因菌の抗菌剤に対する耐性が治療上問題となる。我々は第 60 回日本細菌学会総会で、簡易な併用効果検索法 (Agar Dick Combination, 以下 ADC 法) を *S. aureus* と *Ps. aeruginosa* (Pa) の代表株で検討し、その有用性について報告した。

今回は臨床分離の Pa, *S. marcescens* (Sm), *E. faecalis* (Ea), *E. faecium* (Ei) に対する各種抗菌剤の併用効果について、ADC 法と他法との比較を試みた。

方法：ADC 法は、通常の 1 濃度ディスク感受性検査から得た近似 MIC の 1/10 量を測定用寒天培地に添加し、菌液塗布、次いでディスクを置き 37°C, 16 時間後の阻止円を計測する。効果の判定は、{(併用阻止円径-単剤阻止円径)/単剤阻止円径}×10 の逆数を求め、その値が 1/2 以下の時を併用効果、2 (絶対値) 以上を拮抗、その他を不関とした。Checker Board (C.B), Time-Kill (T.K) 法は常法に従った。

結果：Pa に対する代表的薬剤の併用では、LMOX+AMK で有効例が多く (4/5 株)、Sm では FOM+CMZ, MINO, EM で効果を認めた (2/3 株)。Ea は、MINO あるいは EM と他剤との併用で有効例が多く、MINO+EM では全株に、また Ei では IPM+FOM, MINO+FOM 等に効果が認められた。

今回使用した、4 菌種の中から 21 の組み合わせについて ADC 法と C.B 法を比較、この内 15 例については T.K 法とも比較した。その結果、ADC 法と C.B 法との一致率は 76.1% (16/21 例)、ADC 法と T.K 法とは 80.0% (12/15 例) であった。C.B 法と T.K 法との一致率が 73.3% (11/15 例) であったことから、ADC 法と他法との相関性は満足できる結果であった。

我々の考案した ADC 法は、C.B, T.K 法に比較して簡便で、数種の薬剤の組み合わせについて同時に検索できることから、*in vitro* の併用効果検索の第一次スクリーニングには有用な試験方法と考えられる。

024 実験的白血球減少マウスにおける G-CSF と抗生物質の併用による感染治療効果に関する検討

横尾彰文・熊本悦明・田仲紀明
広瀬崇興

札幌医大泌尿器科

目的：我々は本年の総会で cyclophosphamide (CPM) 投与白血球減少マウスに対する G-CSF の感染予防および治療効果を報告した。今回、効果の弱かった G-CSF 治療投与群に抗生物質を併用した効果を検討した。また、streptozotocin (STZ) 糖尿病マウスを作成し

末梢白血球貪食殺菌能を検討、さらに緑膿菌上行性腎盂腎炎に対する G-CSF の感染予防効果を検討した。

方法：白血球減少マウスは CPM を感染日前後で 2 回、250 mg/kg と 100 mg/kg 投与し作成した。腎盂腎炎は *P. aeruginosa* (G 群) 2×10^4 CFU/ml, 0.05 ml を経尿道的に注入する緑膿菌上行性腎盂腎炎モデルとした。G-CSF は感染後連日 6 日間 2 μ g/mouse を治療投与した。抗生物質の併用は amikacin 20 mg/kg を感染後 6 時間目に投与した。また、糖尿病マウスは 18 時間絶食後、STZ 200 mg/kg を投与、さらに 2 時間絶食し作成した。腎盂腎炎モデルは上記と同様で、G-CSF は感染前 4 日前より連日 11 日間上記用量予防投与した。

結果と考察：白血球減少マウスにおいて、感染発症率は G-CSF 治療投与群 (82%) は CPM 単独群 (91%) に比し、若干低下したものの有意な差を認めず治療効果は弱かった。しかし、amikacin を G-CSF 治療投与に併用すると感染発症率は 61% となり amikacin 単独群 (78%) に比し、有意な低下 ($P < 0.05$) を認め、治療上 G-CSF と抗生物質との併用による協力作用が示唆された。糖尿病マウスにおいて、末梢白血球貪食殺菌能は STZ 投与 3 週目 (49%) で正常対照群 (62%) に比し、有意な低下 ($P < 0.01$) を認めたが、G-CSF 投与 4 日間 (63%) で有意に回復 ($P < 0.05$) した。また、感染発症率では糖尿病群 (97%) は正常群 (32%) に比し、有意な上昇 ($P < 0.01$) を認めたが、G-CSF 予防投与群 (82%) では有意に低下 ($P < 0.01$) し、貪食殺菌能の亢進による感染予防効果が示唆された。

025 Fosfomycin 錠の感染性腸炎に対する有用性の検討

代表世話人 齋藤 誠・武内可尚
FOM 研究会・感染性腸炎研究班

武内 可尚・野川孝之 他
川崎市立川崎病院

感染性腸炎患者を対象に、ホスホマイシン (FOM) 250 mg 錠の効果と副作用を調査し、その有用性を検討した。成人には、FOM として 2~3 g (力価)/日を、小児には 40~120 mg/日/kg を、各々 3~4 回に分服させ、5~7 日間投与した。症例総数 68 例のうち、最終的に有用性を検討できたのは、15 歳以下 34 例、16 歳以上 21 例、合計 55 例であった。対症状効果の検討が行なえた 41 例中 *C. jejuni* 群 (20 例) の有効率は 95.0%、*Salmonella* 群 (5 例)、混合感染群 (6 例)、その他 (10 例) では、いずれも 100% で、全体の有効率 97.6% であった。対排菌効果を調べた 47 株では、

C. jejuni (20 株) 95.0%、*Salmonella* (17 株) 52.9%、*Shigella* (3 株)、*E. coli* (4 株)、*A. hydrophila* (1 株)、*V. cholerae* O1 (1 株) および *P. shigelloides* (1 株) では各々 100% に対排菌効果を認めた。副作用は 68 例全例を検討したが、FOM による副作用と思われるものは 1 例に軽度の軟便が認められた。臨床検査値を検討しえた 19 例では、第 10 病日に一過性に GOT 100 I.U. まで上昇した 1 成人例と、15 病日に GOT 81 I.U. まで上昇した 1 成人例を経験した。

以上により、脱落症例 13 例を除く 55 例について、FOM 錠の有用性を検討した結果、45 例 81.8% が満足あるいは非常に満足と評価された。なお、FOM に対する分離菌の感受性は、*C. jejuni* (12 株) の 50% が 3.13 μ g/ml で阻止され 90% は 6.25 μ g/ml であった。*Salmonella* (10 株) では、各々 3.13, 12.5 μ g/ml であった。

029 ハムスター腸管内における *C. difficile* の挙動と酪酸菌の拮抗作用に関する研究

田口 信洋
ミヤリサン生医研
三上 襄
千葉大真核微研

目的：我々は小動物を利用して抗生物質起因性下痢の研究を進め、第 35 回本学会総会において CFT を投与したハムスターに見られる *C. difficile* 腸炎の発生と予防的手段として、酪酸菌 (*clostridium butyricum* MI-YAIRI) および VCM の経口投与が有効であることを報告した。今回、腸管内における *C. difficile* と酪酸菌との拮抗現象に関する新たな知見を得た。また、VCM の投与について若干の検討を行なった。

方法、結果：ハムスターの腸管内容物をシステイン塩酸塩、チオグリコール酸ナトリウムそれぞれ 60 mg/L 含む水で希釈し、ろ過滅菌してハムスターの小腸内容物培地および盲腸内容物培地を作成した。それぞれ作成した培地で毒素産生な *C. difficile* Ha 5 株を単独、および酪酸菌と混合で培養したところ Ha 5 株は通常の小腸内容物ではハムスター 1 匹あたりに換算して 4.4×10^8 CFU/head, CFT で下痢を発生した小腸内容物では 3.8×10^8 CFU/head まで増殖したが酪酸菌との混合培養では酪酸菌が 4.8×10^8 CFU/head 5.0×10^8 CFU/head に増殖し Ha 5 株はいずれの場合も単独培養時と比較して 1/10 程度にその増殖が抑制された。培養は芽胞を接種し濃度は Ha 5 株を 1.7×10^4 CFU/ml、酪酸菌を $1 \times$

10⁸ CFU/ml に調製した。一方、CFT で下痢を発生した盲腸内容物においては単独と混合では増殖の差は明らかではなく、通常のハムスターの盲腸内容物では単独、混合培養ともに増殖が認められなかった。また、培養中の pH が著しい変化を示さないことから混合培養時の Ha 5 株の増殖抑制は栄養的な原因と思われる。さらに通常時盲腸内容物培地を 115°C で加熱処理した後、Ha 5 株を接種すると増殖が起こり、Ha 5 株の芽胞発芽に関する因子が存在すると思われる。CD チック D-1 (シオノギ) を使用し、Ha 5 株の毒素産生能を BHI プロス、各腸管内容物培地で比較したところ BHI プロス中 (0.9 μg/10⁸ cells)、内容物中 (3.8~12.5 μg/10⁸ cells) であった。また、VCM のみ投与においてもハムスターの死亡を確認し、D-1 toxin を検出したが、下痢が発生しない死亡例もあり、死亡原因については検討中である。

031 胃疾患における *Campylobacter pylori* の分離状況と薬剤感受性

石野順子・工藤十右エ門・岡部紀正
神奈川県衛生看護専門学校付属病院外科

松本 文夫・今井 健郎
同 内科

高橋孝行・国分勝弥・田浦勇二
桜井 磐

同 検査科

近年 *Campylobacter pylori* が、胃炎および十二指腸潰瘍の病因に関連するものとして注目されている。その関連性について胃疾患、十二指腸潰瘍を対象に検索を行なっているが、今回は本菌の各種抗生剤に対する感受性を測定した。

材料と方法：内視鏡検査にて胃、十二指腸疾患と診断された 73 症例から無菌的操作により採取した 146 検体を滅菌生理食塩水に浸し、ただちにホモジネートしたものを 37°C 4 日間微好気培養 (スキロウ寒天培地、血液寒天培地、チョコレート寒天培地) した。また Christensen 尿素培地でウレアーゼ反応を観察するとともに染色して直接鏡検を行なった。

分離された 22 株については、ABPC, CEZ, SM, KM, EM, MINO, NA, NFLX, OFLX, CPFX などの 10 薬についての MIC を日本化学療法学会標準法に準じて測定した。測定培地には血液寒天培地を使用した。

結果：胃疾患患者からの *C. pylori* の検出率は 73 症例中 22 例 30.1% 検出された。内訳は急性胃炎 9 症例

中 1 例 11.1%、慢性胃炎 22 症例中 9 例 40.9%、慢性胃潰瘍 8 例中 4 例 50%、手術後残胃 6 例中 2 例 33.3% であった。分離症例の年齢分布は 40 歳以上が 59% でもっとも多かった。

薬剤感受性は、すべての分離菌株は PC 系、cephem 系、AMG 系、および NFLX, OFLX, CPFX は 0.025~1.50 μg/ml で全株が発育を阻止された。その中でも ABPC が最も低い感受性を示した。NA を除いた、9 薬剤の MIC₉₀ 値は 0.39~1.56 μg/ml であった。

032 オフロキサシン光学異性体のトポイソメレース II 阻害効果の検討

星野一樹・佐藤謙一・法邑正人
采 孟・早川勇夫・長田恭明
第一製薬・中央研究所

オフロキサシン (OFLX) は、オキサジン環 3 位の不斉炭素に結合するメチル基の位置により、光学異性体の S 体 (DR-3355) および R 体 (DR-3354) が等量混合するラセミ体である。DR-3355 は、OFLX の抗菌活性の本体であり、一方、DR-3354 の抗菌力は微弱である。

今回我々は、OFLX, DR-3355, DR-3354 および類似化合物の選択毒性を、DNA ジャイレース (Gyrase) と牛胸腺由来トポイソメレース II (Topo II) の阻害効果を指標に比較したので報告する。

材料および方法：1. Gyrase および牛胸腺 Topo II の精製は、既報の方法で行なった。酵素活性および薬剤の酵素活性阻害能の測定は常法に従い、Gyrase 阻害系には超らせん pBR 322 を、Topo II 阻害系には弛緩型 pBR 322 を基質として用いた。2. 使用薬剤は、OFLX, DR-3355, DR-3354, CPFX および ENX を供試した。

結果および考察：Gyrase に対する OFLX, DR-3355, DR-3354, CPFX および ENX の阻害活性 (ID₅₀ 値) は、それぞれ 0.76, 0.38, 4.70, 0.13 および 1.72 μg/ml を示し、MIC 値と正の相関を示した。一方、Topo II に対する上記薬剤の ID₅₀ 値はそれぞれ 1,870, 1,380, 2,550, 155 および 93 μg/ml であった。ID₅₀ 値の比 (Topo II/Gyrase) は、それぞれ 2,461, 3,632, 543, 1,192 および 54 を示した。以上の結果より、OFLX および DR-3355 は、標的酵素に対する選択的阻害作用の優れた薬剤であると思われる。

033 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による各種ニューキノロン剤の分析

原 弘・石田 孝
浦田 和樹・河原 隆

(株)スペシャルレファレンスラボラトリー

目的：最近ニューキノロン剤 (NQ 剤) の使用頻度が高まるにつれ、NQ 剤に対するドラッグモニタリングのニーズも増加している。現在主に使用されている4種のNQ剤 [オフロキサシン (OFLX), エノキサシン (ENX), ノルフロキサシン (NFLX), シプロフロキサシン (CPFX)] の、HPLC による分析法は、薬物の種類により異なり、しかも上記NQ剤が2種類以上混在する場合、同時に分別定量することが困難であった。今回、上記4種のNQ剤を同一の分析法にて、同時に分別定量することを試みた。

方法：前処理法——試料 (薬物添加ヒト血清) 0.2 ml に内部標準物質溶液 (0.2 ml) を添加し、ジクロロメタン (5 ml) 加えて15分間振とうした。振とう後遠心分離して得られた有機層 (4 ml) を別の試験管にとり、窒素気流下にて乾固した。乾固した試料を移動相 (0.2 ml) に溶解し、その40 μ l を HPLC に注入し分析した。

HPLC 分析条件——カラム：YMC ODS A-120 S-5 (6.0 mm I. D. \times 150 mm), カラム温度：30°C, 移動相：20 mM tetrabutylammonium hydrogen sulfate を含む 10 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) およびアセトニトリルの混液 (10 : 1, v/v), 流量：1.2 ml/min, 検出：OFLX, NFLX, および CPFX は蛍光検出器 (Ex : 282 nm, Em : 460 nm) にて、ENX は UV 検出器 (波長 : 270 nm) にて、モニターした。

結果：本法により得られた上記NQ剤の検量線は、ほぼ原点を通り、0 ~ 2 μ g/ml の範囲で良好な直線性を示した。また、同一濃度 (0.125, 0.5, および 1.0 μ g/ml) の試料を5例測定したところ、いずれの薬物の場合も変動係数は5%以下であった。OFLX, ENX, NFLX, および CPFX の検出感度 (SN 比 : 5) は、それぞれ 0.01, 0.02, 0.004, および 0.005 μ g/ml であった。

以上本分析法により、上記NQ剤が2種以上混在する場合においても、各NQ剤を高感度かつ同時に分別定量することが可能となった。

034 尿より分離されたニューキノロン剤耐性菌の基礎的検討

後藤博一・町田 豊平・小野寺昭一
鈴木博雄・高見沢重教・三谷比呂志
川原 元・遠藤 勝久・五十嵐 宏

東京慈恵会医科大学泌尿器科

目的：最近、尿路感染症に対し使用頻度の高いニューキノロン剤に耐性を示す菌の増加が問題となっている。そこで今回は、当院泌尿器科の外来および入院患者より分離された各種起炎菌を対象として、ニューキノロン剤の感受性を測定し、これらに耐性を示した菌株について、 β -ラクタム剤、アミノ配糖体剤に対する感受性を検討した。またこれらの菌株において、血清や尿が薬剤感受性に与える影響についても検討した。

対象および方法：対象とした菌種は、1987年に当院泌尿器科の尿路感染症患者の尿より分離された *E. coli* 58株, *S. marcescens* 43株, *P. aeruginosa* 34株の計135株である。MICの測定は日本化学療法学会標準法に準じ、平板希釈法により行なった。使用薬剤は、PPA, NFLX, ENX, OFLX, CPFX, AM-833の5薬剤で、これらに対して12.5 μ g/ml以上の耐性を示した菌株については、CEZ, CTM, CPZ, CAZ, AZT, IPMなどの β -ラクタム剤とGM, AMK, TOB, SISO, NTL, HAPA-Bなどのアミノ配糖体剤に対する感受性も測定した。また、6.25 μ g/ml以上の耐性を示す *S. marcescens* 2株と *P. aeruginosa* 2株を選び、液体希釈法により40%ヒト血清添加時と尿中におけるMICを測定した。

結果：ニューキノロン剤に耐性を示す株は *E. coli* で約10%, *S. marcescens* で60%以上, *P. aeruginosa* では65~75%に分離されていた。5剤すべてに耐性を示した菌株は *S. marcescens* が10株23.3%で, *P. aeruginosa* が13株38.2%であった。これら耐性菌の他薬剤の感受性においては、 β -ラクタム剤ではIPM, CAZが優れておりアミノ配糖体ではHAPA-B, AMKが比較的優れていた。また血清添加時の感受性は4株とも各薬剤において低下しており、尿中においても同様の結果であった。

結語：ニューキノロン剤の使用頻度の増加に伴い、耐性菌の分離頻度が上昇している。これらに対しては、IPM, CAZ, HAPA-B, AMKなどの有用性が示唆された。

035 ニューキノロン系抗菌剤と複雑性尿路感染症の変貌の検討

第2報, *Serratia* に対する感受性

鈴木 恵三・長田 恵弘

平塚市民病院泌尿器科

目的: ニューキノロン系抗菌剤に対する耐性菌の増加がこの数年顕著となってきた。*P. aeruginosa* に対する報告に続いて、今回は *Serratia* について検討した。

材料と方法: 1988年1月～6月までの間に、当院で主として複雑性尿路感染症 (C-UTI) から分離された *S. marcescens* 20株に対して、NFLX, ENX, OFLX, CPFX の4剤のニューキノロンの抗菌活性を測定した。この成績と1981年, 1984年の報告とを比較した。

今回ニューキノロンに耐性を示した株については、AGsのうちASTM, AMK, MCR, GM, NTLの5剤の抗菌活性と、3rd-CEPsのLMOXとCZXのそれを測定した。臨床例では *S. marcescens* によるC-UTIに対して、ASTMを投与した成績を検討した。

成績: 被検19～20株のうち、ニューキノロン4剤に対して、 $\geq 6.25 \mu\text{g/ml}$ の耐性を示した株数はNFLX, ENX, OFLXいずれも16株(80%)であった。この3剤中NFLXとENXはOFLXに比べて特に高度耐性株が多く、 $\geq 50 \mu\text{g/ml}$ のMICを示した株はNFLX, 12株(60%), ENX(65%)であった。CPFXは19株中15株(79%)が耐性で、前3剤と耐性率は変わりなく、交叉耐性を示した。これら耐性菌に対するAGsの感受性の比較では、MIC₉₀($\mu\text{g/ml}$)でASTM, 3.13, AMK, 25, MCR, 6.25, GM, 6.25, NTL, 100であり、ASTMが最も優れた感受性を示した。3rd-CEPsのLMOXとCZXではMIC₉₀($\mu\text{g/ml}$)がそれぞれ>100と6.25で、CZXの抗菌活性が優った。48歳の神経周性膀胱を基礎とする *S. marcescens* によるC-UTIに対して、NFLX, OFLX (MIC, $\geq 100 \mu\text{g/ml}$)の治療は無効であったが、ASTM (MIC, 0.39 $\mu\text{g/ml}$)で優れた効果を見た。

考察と結論: ニューキノロンの繁用により、*Serratia* に対して80%に達する高率の耐性菌が交叉性にみられた。こうした感染にはASTMの治療が有用である。

040 女子子宮頸管炎における淋菌および *Chlamydia* 感染率の検討

西村昌宏・熊本悦明・広瀬崇興

札幌医科大学泌尿器科

吉尾 弘・南 邦弘・明石英史

岩崎寛治・中村俊男・桜田芳弘

岡田健一・熊井健得・幸田和男

北海道周産期 *Chlamydia* 感染症研究会

目的: 淋菌および *C. trachomatis* が子宮頸管炎の病原菌として注目されているが、同一症例群において両者の陽性率を同時に検討した報告は少ない。そこで我々は、女子子宮頸管炎を対象別に分類し、淋菌または *C. trachomatis* の感染状況について検討し、並行して検討中である妊婦例との比較も行なった。

対象と方法: 札幌の歓楽街に位置するY産婦人科を受診し、臨床症状および子宮頸管分泌物の所見から子宮頸管炎と診断された症例を対象に、淋菌検査として培養とgonozyme, およびクラミジア検査としてchlamydiazymeにより検討し、また妊婦は道内の9つの産婦人科施設において既婚妊婦を対象に、gonozyme およびchlamydiazymeにより検討した。

結果と考察: 子宮頸管炎症例138例の内訳は、一般未婚女子65例, 主婦24例, ホステス27例, 特殊浴場接客婦22例であった。

淋菌感染率; 子宮頸管炎中gonozyme陽性は、7例(5.1%)でこの内1例のみが培養陽性であった。また既婚妊婦1,822例では、23例(1.3%)が陽性であった。

*Chlamydia*感染率; 非淋菌性子宮頸管炎131例中17例(13.0%)が陽性で淋菌に比べ高い陽性率であった。また4群に分けて検討すると、一般未婚女子では6/65(9.2%), 主婦では2/24(8.3%), ホステス2/27(7.4%), 特殊浴場接客婦では7/27(31.8%)であった。また既婚妊婦3,010例では217例(7.2%)が陽性であった。さらに未婚中絶施行女子では、172例中35例(20.3%)と高い陽性率を示し、症状を有する子宮頸管炎はもとより、症状を有さない一般家庭の既婚妊婦にまで、*Chlamydia* が若年層を中心に広く蔓延していることが示唆された。

042 複雑性尿路感染症における β -lactamase 高度産生菌の検討

松本元一・池内隆夫・小野寺恭忠
甲斐祥生¹⁾・竹内 隆・田沢節子²⁾
青木良雄³⁾

昭和大学藤が丘病院泌尿器科¹⁾, 同 中央
臨床検査部²⁾, 同 臨床病理科³⁾

目的: 薬剤の使用頻度が増すにつれて近年の尿路感染症からは、高頻度に β -lactamase 産生菌が分離されている。今回我々は、その頻度が高いとされる複雑性尿路感染症において β -lactamase 産生菌検出頻度と各種薬剤感受性を検討した。

対象: 1987年6月～1988年7月の期間に複雑性尿路感染症の入院患者より分離された菌のうち 10^5 /ml 以上の細菌尿を示した 194 菌株である。

方法: β -lactamase の測定はアンドメトリー法を用い、薬剤感受性は ms-2 Advantage system により検討した。

結果とまとめ:

(1) 194 菌株の内分けは、67 株 (34.5%) が Gram (+) 球菌であり、127 株 (65.5%) が Gram (-) 桿菌であった。

(2) β -lactamase 高度産生株の頻度は 8 全体では 194 株中 99 株の 51.0% を示し、Gram (+) 球菌では 18.0%, Gram (-) 桿菌では 68.5% であった。

(3) β -lactamase 産生様式では、Gram (+) 球菌では PC⁺・CE⁻ の型が 12 株中 11 株と圧倒的に多く、菌種では *S. epidermidis* と *S. aureus* が多くを占めた。また、Gram (-) 桿菌では CE⁺ の型が 87 株中 80 株と多く、PC⁻・CE⁺ では *P. aeruginosa* が多く、PC⁺・CE⁺ では *Serratia* spp. が多かった。

(4) β -lactamase 高度産生菌とその他の菌との薬剤感受性の比較では、Gram (+) 球菌では両者ともに高く、ブドウ糖非発酵の Gram (-) 桿菌では両者ともに低く、その他の Gram (-) 桿菌では後者に対しては高いが前者に対しては低いという印象を得た。

043 カテーテル留置症例より分離された尿中細菌について

—10年前の症例との比較—

北原 研・佐々木幸宏・花沢喜三郎
富永登志・西村 洋司・森 伴 雄*
三井記念病院泌尿器科, 検査科*

目的: 我々は第 28 回日本化学療法学会総会において

尿路感染症分離菌とその薬剤感受性について報告した。今回はカテーテル留置症例の分離菌を調べ、前回の結果と比較した。

対象と方法: 1987 年中に当科外来を受診したカテーテル留置患者を対象とした。1 か月毎に尿培養を行ない分離菌とその薬剤感受性を調べた。

結果: 前回の検討では G1 が 9 例、G5 が 64 例であった。G1 では *S. faecalis* が 45%, *Proteus* 属が 22% であり、G5 では、*Proteus* 属 24%, *S. faecalis* 20% であった。薬剤感受性では共に GM, DKB, AMK が 50% 以上の感受性を示したが、その他の ABPC, KM, TC, CER, CP では 50% 以下の感受性であった。

今回は全症例が 28 例で男 16 例、女 12 例であり平均年齢は 66.6 歳であった。分離菌が変化するので通年での病態群別の分類は難かしいが G1 が 2 例、G5 が 26 例であった。1987 年 12 月に分離された菌種では、*P. aeruginosa* 11 株 (17.7%) *S. faecalis* 9 株 (14.5%), *P. rettgerii*, *P. mirabilis* 各 5 株 (8.1%), *S. aureus*, *S. marcescens* 各 4 株 (6.5%) が主なものであった。前回と同様に薬剤感受性ではアミノ配糖体系薬剤に感受性を示すものが多かった。

結論: 前回の検討では *Proteus* 属と *S. faecalis* の分離頻度が高かったが、10 年間を経た今回の検討では *P. aeruginosa*, *S. faecalis* が多く、*P. aeruginosa* の増加が認められた。

044 当院における *Serratia* 感染症増加の背景因子に関する臨床的検討

遠藤勝久・町田 豊平・小野寺昭一
鈴木博雄・岸本 幸一・清田 浩
後藤博一・高見沢重教・三谷比呂志
五十嵐宏

東京慈恵会医科大学泌尿器科

目的: 我々は慈恵医大泌尿器科における入院患者を対象として、尿路感染症の臨床統計的観察を行なっている。その結果、最近の入院患者尿中分離菌の中で *Serratia* sp. の出現頻度の増加が認められた。そこで、この増加の背景因子について臨床的検討を行なった。

対象と方法: 1985～1987 年の 3 年間に、慈恵医大泌尿器科に入院した尿路感染症患者の中で、尿中より *Serratia* sp. が分離された症例の基礎疾患中、症例数の多かった尿路結石、前立腺肥大症 (以下 BPH) および膀胱腫瘍 (以下 BT) を対象として、手術方法、使用した抗生剤・抗菌剤の種類および留置カテーテルの有無を調

べ、1980～1984年の5年間と比較し臨床的検討を加えた。

結語：①尿中 *Serratia* sp. 分離頻度は、過去5年間に比べ最近3年間で明らかな増加が認められた。

②入院総数の多い3疾患（尿路結石、BPH およびBT）において、尿中 *Serratia* sp. 分離頻度の増加が認められた。

③手術施行例では、全例において *Serratia* sp. 分離頻度の増加が認められたが、内視鏡的手術例では、経皮的腎砕石術（PNL）および経尿道的尿管砕石術（TUL）での分離頻度の増加が顕著であった。また非内視鏡的手術施行例では、膀胱全摘・回腸導管術施行例および尿管皮膚瘻造設術施行例での増加が顕著に認められた。

④尿中 *Serratia* sp. 分離症例の全例において何らかの留置カテーテルが置かれていた。

⑤尿中 *Serratia* sp. 分離症例において分離時投与薬剤としては、最近3年間においてピリドンカルボン酸系抗菌剤および第3世代セフェム系抗生剤を投与していた症例数の増加が認められた。

045 尿路感染症患者の好中球機能

—フローサイトメトリーによる貪食能
および殺菌能の検討—

金子 裕憲・河村 毅

同愛記念病院泌尿器科

須 永 良

同 中央検査部

近年抗菌剤の好中球機能に及ぼす影響が注目されている。好中球機能の検査法には種々の方法があるが、好中球を分離して行なう方法は手技が煩雑で多量の採血を要し、分離の際に人為的操作によって好中球機能の活性化を生ずるなどの問題点がある。フローサイトメトリーによる好中球貪食能および殺菌能の測定は微量の全血法で短時間に測定が可能であり、再現性にも優れているとされる。今回我々は Coulter 社製 EPICS-C 型フローサイトメーターを用いて尿路感染症患者の好中球機能を検討したので報告する。

対象と方法：急性症状を有する尿路感染症 13 例および無症状に経過している複雑性尿路感染症 12 例を対象とし、尿路感染を有さない 13 例をコントロール群とした。貪食能の測定は蛍光粒子の貪食率を解析した。殺菌能は好中球に浸透させた非蛍光物質 DCFH-DA が PMA の刺激により好中球が産生した活性酸素によって蛍光性を示すことから、活性酸素産生能を測定した。

結果：殺菌能に関しては急性症状を有する群も無症状

群もコントロール群と差は認められなかった。貪食能は中等度以上の症状・膿尿を有する症例で低下が認められ、無症状群の中にもコントロール群に比べ、やや低下している例がみられた。急性症例は治療により症状が軽快すると低下していた貪食能も回復が認められた。

考察：フローサイトメトリーによる好中球機能の測定は、自然に近い状態で生体内の状況をよく反映する検査法として有用と考えられる。中等度以上の尿路感染症例で貪食能が低下していた機序は明らかでないが、症状の改善に伴って回復が認められたことから、尿路感染症の発症に何らかの関連が推察される。

047 経尿道的前立腺切除術後の感染菌の由来に関する検討

藤田公生・宗像昭夫・佐山 孝

国立病院医療センター泌尿器科

目的：経尿道的前立腺切除術においては現在のところ術後のカテーテル留置がほぼ全例に行なわれていることもあり、術後の尿路感染の危険は大きい。この術後感染菌の由来については、灌流液や使用材料、あるいは切除切片の培養などの検討がみられる。ここでは術前尿所見との比較においてどの程度のことがいえるか、分析を試みた。

対象と方法：経尿道的前立腺切除術を受けた 250 例中 34 例（13.6%）に術後細菌尿が認められた。この 34 例について術前の尿細菌培養の所見を分析した。

結果：34 例中 15 例は術前に同一の菌種による有意な感染がみられていた。他の 4 例は有意な感染ではなかったが、同一の細菌が認められていた。さらに 1 例は、2 週間前の培養で同一の細菌が検出されていた。以上を合計すると 20 例、58.8% に同一の菌が術前に存在していたことになる。その他の症例のうち 7 例は術前に有意な細菌尿が認められており、その中の minor component が交代菌として表面に出てきたことが考えられる。

考察：血清型までは同定していないが、術後感染菌の過半数は術前に認められていた細菌である。術前無菌尿であった症例においても、切除片や尿道常在菌を検討すると術後細菌と同一細菌が証明されるという報告がみられる。現在の無菌操作下においては、経尿道的切除後に出現する細菌の大部分は内因性であろう。

048 抗生物質を使わない経尿道的前立腺切除術：経口合成抗菌剤のみによる感染管理

藤田公生・宗像昭夫・佐山 孝
国立病院医療センター泌尿器科

目的：経尿道的前立腺切除（TUR-P）における経済的な感染の管理法として、抗生物質を用いないで合成抗菌剤の経口的な投与のみによる方法を試みた。

対象と方法：対象となったのは1987年1月から1988年6月までにTUR-Pを行なった症例である。使用する抗菌剤はofloxacin (OFLX)とし、手術当日の朝に400mgを内服し、術後は翌日から600mgを分3で内服した。術後の副睾丸炎予防を目的とした精管結紮は行なわなかった。持続灌流式切除鏡を用い、術後も3路のバルーンカテーテルを留置し閉鎖灌流とし、血尿の程度に応じて抗菌剤を含まない生理食塩水で灌流した。術前と、術後4日目の朝に尿沈渣、および培養検査を行ない、その後にカテーテルを抜去した。尿中細菌が 1×10^5 CFU/ml以上認められた症例を尿路感染ありとした。

結果：術前尿路感染のあった5例の全例で感染は消失し、全例において順調な経過をとることができた。術後感染、発熱など種々なパラメーターによる比較においても、これまでのcephalosporin系抗生物質の静脈内投与で管理した症例と同等に管理することができた。

049 Cefuzonam sodium (CZON) の前立腺組織内移行性に関する検討

山本 正
国立栃木病院泌尿器科

Cefuzonam sodium (CZON) の前立腺組織への移行性につき検討した。対象は、経尿道的手術を行なった62歳～79歳の前立腺肥大症患者10例であった。CZON静注後、手術開始時に前立腺側葉組織を浅部および深部に分け採取するとともに静脈採血を行なった。静注後25～90分に検体を採取した9例の血清中CZON濃度の平均値は $27.1 \mu\text{g/ml}$ と高値を示した。前立腺組織では、浅部で平均 $28.8 \mu\text{g/g}$ 、深部でも $9.6 \mu\text{g/g}$ と高値であった。また、組織内移行度の平均値も、前立腺浅部で106.4%、深部で41.2%であり、CZONのきわめて高い前立腺組織内への移行性が示唆された。CZONは、静注後速やかに前立腺組織内に移行すると推測され、抗菌力も強いといわれていることから、前立腺感染症の治療にきわめて有用と思われた。

050 Cefminox (CMNX) の前立腺組織内移行に関する検討

大堀 理・西村清志・村山雅一
池田 滋・石橋 晃
北里大学泌尿器科

目的：Cefminox (CMNX) の前立腺組織への移行を検討したので報告する。

対象・方法：対象は1988年1月より4月までに北里大学泌尿器科において経尿道的前立腺切除術（TUR-P）を施行した前立腺肥大症30例である。投与方法1gを蒸留水20mlにて溶解し、手術直前に静脈注射を行なった。検体抽出方法は全例TUR-Pにて採取を行ない、その時点を投稿後の経過時間とした。また同時期に採血を行ない、血清分離後ただちに凍結を行なった。測定方法は*Vibrio percolans*を検定菌とするカップ法により実施し、検定培地はNutrient Agar、緩衝液は0.05Mリン酸塩緩衝液を用いた。解析はone-component modelを使用し、GAUS-NEWTON法を用いたくり返し最小自乗法によりparameterを求め、理論濃度を算出した。

成績：前立腺組織濃度実測値の最大値は投与後55分の $20.81 \mu\text{g/g}$ 、最小値は投与後540分の $0.10 \mu\text{g/g}$ で、半減期は3.29時間と算出された。またP/S比は3.57～58.33%で平均19.33%であった。

考察：前立腺炎の起炎菌として検出濃度の高い大腸菌、クレブシエラ、プロテウス属などのCMNXのMIC₉₀は、 $0.39 \mu\text{g/ml}$ であり今回の成績では投与後少なくとも8時間まではこれらのMIC₉₀を上まわるため、前立腺炎の治療および手術後の感染予防に対して、臨床的に有用な薬剤と思われる。

051 急性膀胱炎に対する single dose chemotherapy の検討

一セフミノクス one shot 静注療法の臨床効果について一

胡口正秀・山口圭一・平井庸夫
社会保険福島二本松病院泌尿器科

目的：セフミノクス（以下CMNX）one shot 静注療法を用い、急性膀胱炎に対するsingle dose chemotherapyの有用性を検討した。

方法：急性膀胱炎と診断された外来女性患者に対し、CMNX 1gのone shot 静注を行ない、3～4日後にUTI薬効評価基準を基に臨床効果を判定した。

結果：検討できた症例は23例であり、急性膀胱炎の

原因菌は、*E. coli* が 20 例、ほか *S. saprophyticus*, *P. mirabilis*, *C. freundii* が各々 1 例であった。

治療効果は、自覚症状の消失 22 例、軽快 0 例、不変 1 例で、膿尿の正常化 21 例、改善 1 例、不変 1 例であり、細菌尿の陰性化 22 例、減少 0 例、不変 1 例であった。総合臨床効果は、著効 21 例、有効 1 例、無効 1 例で、有効率は 96% であったが、無効と判定された症例は精査の結果、右水腎症を有する複雑性尿路感染症であり、単純性膀胱炎に限れば本療法は 100% 有効と判定できた。

考察：適切な薬剤を選択すれば、single dose chemotherapy は急性膀胱炎に対し非常に有用な治療法と成り得る。薬剤の条件としては、抗菌スペクトラムや尿中排泄率の問題はもとより、短時間殺菌力や長い血中半減期、さらに薬剤除去後の細菌再増殖抑制作用などを有することが必要と思われ、CMNX はこれらの条件に適した抗生剤と考えられた。

今後、本療法は急性膀胱炎に対し汎用されるべき治療法と思われる。