

速報

本邦で分離された紅斑熱リケッチアの化学療法剤、特にキノロンおよびペニシリンに対する感受性について

宮村 定男・太田 達夫

新潟薬科大学微生物学教室*, 同 生物学教室†

(平成2年10月4日受付・平成2年12月13日受理)

本邦で分離された紅斑熱群リケッチアのキノロン剤およびペニシリンを含む8種の化学療法剤に対する感受性を細胞培養法で測定し、紅斑熱リケッチア Bitterroot 株および恙虫病リケッチア Gilliam 株と比較した。その結果使用菌株はすべてテトラサイクリン、クロラムフェニコールおよびロイコマイシンにはほとんど同様の感受性を有したが、キノロン剤およびペニシリンに対しては分離株は Bitterroot 株と共に恙虫病リケッチアより高い感受性を示した。

Key words: 紅斑熱リケッチア, 薬剤感受性, キノロン剤

最近我が国で紅斑熱の発生が知られ¹⁾人々の関心を呼んでいる。我々はかねてリケッチアの化学療法剤感受性を測定してきたが²⁾前報において恙虫病リケッチアが紅斑熱リケッチアを含む他のリケッチアに比し、ペニシリンおよびキノロン剤に対し感受性の低いことを報告した³⁾。今回、秋田大学須藤教授より本邦で分離された紅斑熱群リケッチアの分与を受け、その化学療法剤感受性を検討したので報告する。

I. 材料と方法

1) 使用菌株：徳島県の馬原病院を受診した患者の血液から、須藤教授により分離されたりケッチア片山株および阿部株について実験した。両菌株は同教授により紅斑熱群リケッチアに属するものと同定されたり。なお、対照として我々が前回³⁾用いた紅斑熱リケッチア Bitterroot 株と恙虫病リケッチア Gilliam 株を加え、4株について実験した。これらの菌株はいずれもL細胞に充分適応させて使用した。

2) 細胞および培地：細胞は教室で継代しているL細胞を、培地は抗生物質を含まない7%ウシ胎児血清加MEM (Eagle) を用いた。

3) 使用薬剤：テトラサイクリン(TC, 日本レタリー), クロラムフェニコール(CP, 和光純薬), ロイコマイシン(LM, 和光純薬), オフロキサシン(OFLX, 第一製薬), ノルフロキサシン(NFLX, 杏林製薬), シプロフロキサシン(CPFX, バイエル薬品), ペンジルペニシリン(PCG, 明治製薬)およびアンピシリン(ABPC, 明治製薬)の8剤を使用した。これらの薬剤は、粉末を使用の直前に血清を除いた

MEM培地で溶解し、ペニシリンは1,000 $\mu\text{g/ml}$ より、他は100 $\mu\text{g/ml}$ より同培地で倍数希釈を行った。

4) 感受性測定法：24ウェルを有するポリスチレン製平底マルチプレート(Linbro)に、順次希釈した薬剤を含む培地0.5 mlを分注し、そのそれぞれに50%の細胞が感染するようにリケッチアを接種した細胞を浮遊させたウシ胎児血清加MEMを0.5 mlずつ添加し、5%、CO₂培養器内で37°Cに静置培養した。4日後、各ウェルの底に形成された単層より細胞塗抹標本を作成、メタノールで固定した後マキアペロ染色あるいはギムザ染色を行って、順次リケッチアの増殖の有無を鏡検し、その増殖の認められなくなったウェルに含まれている薬剤濃度を、使用薬剤の最小発育阻止濃度(MIC)とした。

II. 成績

Table 1に示すごとく、TC、CPおよびLMは使用全菌株にほとんど同程度に作用し、MICはTC、0.04 $\mu\text{g/ml}$ 、CP、0.19~0.39 $\mu\text{g/ml}$ 、LM、0.19~0.78 $\mu\text{g/ml}$ であったが、キノロン剤のMICは片山株、阿部株およびBitterroot株には、OFLX、0.78 $\mu\text{g/ml}$ 、NFLX、1.56 $\mu\text{g/ml}$ 、CPFX、0.78~1.56 $\mu\text{g/ml}$ であったのに対し、Gilliam株にはOFLX、25 $\mu\text{g/ml}$ 、NFLXおよびCPFX、50 $\mu\text{g/ml}$ と明らかな差を示した。またペニシリン系は、Gilliam株がPCGおよびABPCに対し1,000 $\mu\text{g/ml}$ の濃度においても発育阻止が認められなかったのに反し、片山株、阿部株およびBitterroot株は、PCG、50 $\mu\text{g/ml}$ 、ABPC、100 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で発育が阻止された。

Table 1. MICs ($\mu\text{g/ml}$) of chemotherapeutic agents against four rickettsial strains

Agent	Rickettsial strain			
	Katayama*	Abe*	Bitterroot (<i>R. rickettsii</i>)	Gilliam (<i>R. tsutsugamushi</i>)
Tetracycline	0.04	0.04	0.04	0.04
Chloramphenicol	0.39	0.39	0.19	0.39
Leucomycin	0.78	0.78	0.78	0.19
Ofloxacin	0.78	0.78	0.78	25
Norfloxacin	1.56	1.56	1.56	50
Ciprofloxacin	1.56	1.56	0.78	50
Benzylpenicillin	50	50	50	>1,000
Ampicillin	100	100	100	>1,000

* Spotted fever rickettsia isolated in Japan

なお、染色性については、片山株、阿部株は Bitterroot 株と同様にマキアペロ染色がギムザ染色より好結果を示した。

III. 考 察

前報³⁾において、恙虫病リケッチアが他の種のリケッチアに比し、キノロン剤およびペニシリンに対して感受性が低く、後者の場合は同リケッチアが細胞壁にペプチドグリカンや LPS を有しないこと等にも関係する構造上の相違から結果するものであろうと推論したが、その際、紅斑熱リケッチアとしては Bitterroot 株を実験に用いた。今回本邦において紅斑熱と考えられた患者の血液から分離された 2 株のリケッチアが、Bitterroot 株と同様の化学療法剤感受性パターンを示したことは、改めてこの考えを裏付けるものであろう。

また前報で、OFLX, 1.0 $\mu\text{g/ml}$ および PCG, 1.0 mg/ml の濃度で発育阻止が認められるかどうかで、リケッチア種の鑑別ができるとしたが、今回の MIC の成績から、これら分離株は本邦に広く存在する恙虫病リケッチアに属するものでないという結果になるであろう。

すでに、須藤教授により片山株については薬剤感受性が測定され、TC, CP 等の有効であることが報告されているが¹⁾、我々の実験でも同様の成績が得られた。なお、キノロン剤は TC には劣るが、その MIC から、この疾患の化学療法に応用し得るものと考えられた。

終りに、紅斑熱リケッチア片山株および阿部株を分与された秋田大学微生物学教室須藤恒久教授に深甚の謝意を表します。

なお、本論文の要旨は第 36 回日本化学療法学会東日本支部総会 (1989 年 10 月, 新潟) で発表した。

文 献

- 1) 須藤恒久, 畠山 浩, 佐藤玲悦, 中村洋子, 馬原文彦: 日本で分離された紅斑熱リケッチアの各種化学療法剤に対する感受性について。感染症誌 63: 35~38, 1989
- 2) 宮村定男, 佐藤奈名枝, 多村 憲: 最近分離した恙虫病リケッチアの化学療法剤感受性について。感染症誌 59: 486~488, 1985
- 3) 宮村定男, 太田達夫, 多村 憲: 各種化学療法剤に対する *Rickettsia prowazekii*, *R. rickettsii*, *R. sibirica* および *R. tsutsugamushi* の感受性の比較。日細菌誌 44: 717~721, 1989

IN VITRO SUSCEPTIBILITY OF RICKETTSIAL STRAINS FROM
PATIENTS WITH JAPANESE SPOTTED FEVER TO QUINOLONES, PENICILLINS
AND OTHER SELECTED CHEMOTHERAPEUTIC AGENTS

Sadao Miyamura and Tatsuo Ohta*

Department of Microbiology and *Department of Biology, Niigata College of Pharmacy,
5-13 Kamishineicho, Niigata 950-21, Japan

The *in vitro* susceptibility of two rickettsial strains isolated from patients with spotted fever in Japan was determined for eight chemotherapeutic agents by the cell culture method, and compared with those of *Rickettsia rickettsii* Bitterroot and *R. tsutsugamushi* Gilliam. Tetracycline, chloramphenicol and leucomycin were almost equally effective against all strains tested. But quinolones were more active against clinical isolates and *R. rickettsii* Bitterroot (MIC, 0.78–1.56 $\mu\text{g/ml}$) than *R. tsutsugamushi* Gilliam (MIC, 25–50 $\mu\text{g/ml}$). Benzylpenicillin and ampicillin inhibited isolates and the Bitterroot strain by 50–100 $\mu\text{g/ml}$, but did not inhibit growth of *R. tsutsugamushi* Gilliam at 1,000 $\mu\text{g/ml}$.