

## 第41回日本化学療法学会総会

会期: 平成5年6月17, 18日

会場: 日本都市センター, 全共連ビル

会長: 園井乙彦 (帝京大学医学部第二内科)

## 一般演題

## 001 プロトタイプMRSAとヘテロタイプMRSAの耐性発現機構の本質の違いについて

鈴木映子・堀賢  
園田純子・平松啓一  
順天堂大, 医, 細菌

目的: *mecA* 構造遺伝子の本来の調節機構である *mecRI*, *mecI* 遺伝子を完全な形で持つ MRSA は, メチシリンに対して感受性を示す。N 315 株で代表されるこのような MRSA はプロトタイプ MRSA と考えられる。この *mecA* 本来の調節遺伝子はきわめて不安定で  $10^{-5}$  の頻度でメチシリン耐性変異株が出現する。一方, 臨床から分離される軽度耐性 MRSA の多くは, 一部の細胞 ( $10^{-4}$ ~ $10^{-8}$ ) がメチシリン高度耐性を示す。このような特徴的な耐性パターンを示す MRSA はヘテロタイプ MRSA と言われる。我々はヘテロタイプ MRSA とプロトタイプ MRSA の耐性パターンのメカニズムの違いについて検討した。

方法: (1) SPIRAL PLATER (グンゼ産業) により, 種々の濃度のメチシリン含有平板を用い, population analysis を行う。また, 培養温度 (30°C および 37°C) や, 2% NaCl 添加の耐性度におよぼす影響について検討する。(2) Newcombe の再塗布テスト法により, 出現した耐性株が自然突然変異によるものなのか, あるいは薬剤に接触することにより出現する適応によるものなのかを検討する。

結果および考察: メチシリン含有平板を用いた population analysis の結果, プロトタイプ MRSA である N 315 株はメチシリン  $2 \mu\text{g/ml}$  で,  $10^8$  のうち  $10^5$  のクローンが増殖阻止されたが約  $10^3$  の耐性クローンが存在した。この耐性クローンはメチシリン  $2 \mu\text{g/ml}$  から  $512 \mu\text{g/ml}$  で出現したが, メチシリンの濃度にかかわらず出現率は一定 ( $10^{-5}$ ) だった。一方, ヘテロタイプ MRSA である臨床分離株 JO 13, JO 18, JO 60 (メチシリンに対する MIC: 8~ $16 \mu\text{g/ml}$ ) では,

$10^4$  から  $10^8$  に 1 個の割合で耐性クローンが存在し, メチシリン高濃度よりも低濃度で出現率は高かった。しかも 30°C における培養や, 2% NaCl を添加することにより明らかな耐性度の上昇が見られた。Newcombe の再塗布テストの結果, プロトタイプ MRSA, N 315 株は, 再塗布したものの方が数倍高い耐性菌数が得られ, 耐性菌出現のメカニズムは薬剤に接触する前に決定される突然変異によるものであることが考えられる。また, ヘテロタイプ MRSA, JO 18, JO 60 では再塗布してもしなくても耐性菌数に変化はなく, その出現メカニズムは, メチシリンに接触することによりおこる適応によるものであることが考えられ, 耐性菌出現メカニズムに違いのあることが明らかになった。

## 002 黄色ブドウ球菌におけるゲンタマイシン耐性遺伝子について

杉浦 睦  
帝京大学医学部臨床病理

目的: 本邦で分離される MRSA の大部分は GM を始めとする多くのアミノグリコシド系薬に耐性を示す。GM, SISO, AMK, TOB 等に耐性を示す場合は, 6'-アセチル転移酵素と 2"-リン酸転移酵素の両活性を有する双頭酵素の産生菌である。TOB, AMK 等に耐性を示す場合は, 4',4"-アデニル転移酵素の産生菌であり, KM 等に耐性を示すのは 3'-リン酸転移酵素を産生する場合である。アミノグリコシド系薬は, これらの修飾酵素に対する基質として重複しているため, 薬剤耐性パターンの上からは, 産生される酵素を確定することは難しい。これらの酵素の遺伝子の塩基配列を明らかにし, その特異性の高い部分を増幅することによって, 各酵素の保有の有無が解明できると考えた。今回は, GM を基質とする双頭酵素の塩基配列の決定を行った。

方法: まず, TK 053 株のプラスミド上の双頭酵素を支配する遺伝子 (aphD-aacA) が存在する DNA 断片をクローン化した。塩基配列の解析と決定には, 日立蛍光式自動 DNA シーケンサ SQ 3000 型を用い

た。

結果と考察: 双頭酵素を支配する遺伝子, *aphD*-*aacA* は, 479 個のアミノ酸からなる, 分子量 56,852 の蛋白をコードすることが推定された。この分子量は, 我々がさきにゲル電気泳動法により算出した分子量 56,000 にほぼ一致していた。また, この蛋白の等電点は 4.6, 平均疎水性は -0.59 であり, 親水性の蛋白であることが推定された。Duncun らによって解析された, 染色体上の *aacA*-*aphD* 遺伝子と比較すると, 双頭酵素をコードする *aacA*-*aphD* の遺伝子部分はまったく同一であった。この遺伝子は, 3'-リン酸転移酵素の遺伝子 (*aphA*) の塩基配列に相同性の高い領域と, アセチル転移酵素 (*aac*) に相同性の高い領域とから成り立っていた。この塩基配列の特異性の高い領域を増幅することにより, アミノグリコシド系薬耐性に関わる修飾酵素の解析に応用したいと考えている。

### 003 メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) における *arbecacin* (ABK) 耐性メカニズムの検討

浅田和美・平松啓一  
順天堂大学医学部細菌学

目的: ABK は MRSA に対し高い抗菌力を有すると考えられているが, 最近臨床検体から ABK 耐性の MRSA が分離されるようになってきた。今回我々は MRSA からの ABK 耐性株の出現率, およびその耐性機構についての検討を行ったので報告する。

方法: 1. 種々のアミノグリコシド修飾酵素を持った MRSA 株を用い  $10^7$ - $5 \times 10^6$  CFU を ABK 10  $\mu$ g/ml 含有のハートインフュージョン (HI) 寒天平板に塗布し, 37°C で 48 時間培養後, 耐性株の出現率を測定した。2. 感受性臨床分離株と, そこから得られた ABK 耐性株を 1 系列とし, RNA を抽出後, APH (2'') 遺伝子 DNA をプローブにして同 mRNA の比較定量を各系列ごとおよび ABK 存在下, 非存在下で行った。3. 各系列の染色体 DNA, プラスミド DNA を個別に抽出し, 制限酵素で消化後, APH (2'') 遺伝子 DNA をプローブとしてサザン解析を行った。

結果: 1. ABK 10  $\mu$ g/ml で選択した結果 APH (2'') をもつ臨床分離株からのみ  $10^{-6}$ ~ $10^{-7}$  の頻度で耐性変異株が出現したのに対し APH (3') のみ, AAD (4') のみをもつ株からは耐性変異株は出現しなかった。2. 耐性変異株はその親株と比較して

APH (2'') の mRNA の増加が観察された。ABK の刺激により mRNA 量に変化はみられなかったことから, 変異株の mRNA の増加は構成的であると考えられた。3. サザン解析の結果から, 親株では染色体性に 1 コピーの APH (2'') を持っていたものが耐性変異株では 2 コピーに増加していることが観察された。

考察: ABK 耐性変異株は APH (2'') をもつ株から比較的高頻度に出現することが示された。そのメカニズムとしては, APH (2'') の遺伝子の増加 (おそらくトランスポゾンの転移によるものと考えられる) が mRNA の増加をおこし ABK 耐性をもたらすものと推察された。

### 004 黄色ブドウ球菌の段階的ニューキノロン (NQ) 耐性獲得のメカニズムとその頻度の検討

堀賢<sup>1)</sup>・大下嘉弘<sup>2)</sup>・平松啓一<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>順天堂大学・医・細菌, <sup>2)</sup>湧永製薬・医薬開発部

目的: 1992 年度日本細菌学会総会, 日本化学療法学会において, 黄色ブドウ球菌は自然突然変異により, 少なくとも 2 つのステップを経てオフロキサシン (OFLX) 耐性を獲得したことを報告した。今回はその耐性のメカニズムと突然変異率について検討した。

方法: NQ 剤感受性黄色ブドウ球菌の臨床分離株と, それから選択したノルフロキサシン (NFLX) 耐性で OFLX 軽度耐性の変異株 (1st step mutant) と, NFLX, OFLX 両剤に耐性の変異株 (2nd step mutant) を 3 種 1 系列として, MSSA, MRSA 各 2 系列および 1st step mutant と同程度の NQ 耐性を示す臨床分離株 8 株を使用して, 以下の実験を行った。

(1) 各系列ごとに親水性の NFLX に暴露し HPLC を用いて菌体内に蓄積した NFLX 量を測定した。

(2) 各系列ごとに DNA gyrase の A-subunit の遺伝子 *gyrA* について部分塩基配列を決定した。

(3) 様々な OFLX 耐性を示す臨床分離株に対し, DNA gyrase の A-subunit の restriction length polymorphism 解析を行った。

(4) 96 穴細胞培養用プレートを用いて簡便化した培養系を使って, 1st step mutant とそれらと同程度の NQ 耐性を示す臨床分離株について, 耐性化の突然変異率を Luria-Delbruck 変法にもとづいて算出した。

結果: (1) 同一系列中の株間では, NQ 剤の耐性度にかかわらず菌体内に蓄積された NFLX 量に有意

差がなかった。

(2) 2つのステップを経てOFLX剤にも耐性化した変異株(2nd step mutant)にのみ, *gyrA*に特異的な点突然変異が観られた。

(3) この点突然変異はOFLXのMICが12.5  $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性株にのみ特異的に観られた。

(4) それぞれのステップにおける突然変異率は,  $0.64\sim 2.84\times 10^{-8}$ で, *in vitro*で分離された変異株と臨床分離株の間では, 有意差がなかった。

考察: 以上よりOFLX耐性株は2つのステップを経ることで比較的高頻度に出現することがわかった。2ndでのOFLX耐性化にはDNA gyraseのA-subunitの変異が関与していることが強く示唆された。また1st stepでのNQ耐性化には新しいメカニズムが関与していることがわかった。

#### 005 高度メチシリン耐性黄色ブドウ球菌の耐性度が低下したトランスポゾン挿入変異株の解析

巻 秀樹・山口高広・村上和久  
塩野義製薬研究所

目的: 高度メチシリン耐性 *S. aureus* SRM 551株に Tn 918を挿入して得た耐性低下変異株 *S. aureus* SRM 563株(昨年総会で発表済み)の解析を行った。

方法: 塩基配列はチェインターミネーター法で決定した。*S. aureus*の形質転換はCaCl<sub>2</sub>法にて行った。自己溶菌速度は50 mM Glycine-0.01% Triton X-100 Buffer (pH 8.0)に懸濁した菌のOD<sub>620</sub>経時変化で測定した。PBP 2'は膜画分をSDS-PAGE後, コマシー染色して定量した。

結果: *S. aureus* SRM 563株のTn 918挿入部位は, 分子量38.5 kdの蛋白質をコードすると推定される1,053 bpのオープンリーディングフレーム内の最下流より111 bp上流であった。Tn 918挿入により, この蛋白質はC末端が欠失することがわかった。また, この蛋白質はこれまでに報告のある蛋白質とは相同性を示さなかった。Tn 918挿入領域近傍をプライマーにしたPCRの結果, この領域は*S. aureus*に共通に存在することがわかった。SRM 563株のDNAで他の*S. aureus*を形質転換し, 対応する遺伝子を変異株のものと置き換えたところ, 高度耐性株では耐性度は大きく低下したが, 中等度耐性株では耐性度はそれほど低下しなかった。自己溶菌速度は形質転換体で増大する例が多かった。また,  $\beta$ -ラクタム薬によるPBP

2'産生の誘導がみられた高度耐性株の形質転換体では, PBP 2'産生が構成的となった。しかし, 形質転換においては本遺伝子と*mecA*とはリンクしていなかった。

考察: 本研究で同定された遺伝子は*mecA*近傍の*mecI*や*mecR 1*とは別の, さらには*femA*や*femB*とも異なる遺伝子であり, そのコードする蛋白質は, 少なくともC末端が欠失するとメチシリン耐性や自己溶菌速度が変化することから, 溶菌酵素または細胞壁合成あるいは, その調節に関わることが示唆された。

#### 006 メチシリン耐性発現における*mec*調節遺伝子(*mecR 1*, *mecI*)の機能

栗原京子・近藤典子・平松啓一  
順天堂大・医・細菌学

目的: *mec*特異的調節遺伝子(*mecR 1*, *mecI*)を有するN-315株は, メチシリン(DMPPC)に感受性だがセフォキシチン(CFX)に耐性の特殊なMRSAである。この株から高頻度でDMPPCの高度耐性株が出現する。これら耐性株では*mecA*転写が抑制されており, 同時に*mecI*遺伝子にpoint mutationが入っていることが確認されている。調べた限りでは臨床分離のすべての高度耐性株においても*mecI*遺伝子のpoint mutationや欠損が認められる。今回我々は, *mecI*の機能と耐性発現の関係を明らかにする目的で以下の実験を行った。

方法: 1. *mec*領域DNAのクローニング: N-315から調節遺伝子を含んだ*mec*領域DNAと高度耐性MRSA(MR 108)から得た*mecA*遺伝子との組換えプラスミドpRM1を作製した。

2. MSSAへの導入: MSSA株(*S. aureus* 1039)を宿主として用いた。gene pulser(BIO-RAD)を使用し, 2.5 kV, 25  $\mu\text{F}$ , 100  $\Omega$ の条件でelectroporationを行った。

結果および考察: pRM1を導入して得られた形質転換株*S. aureus* 1,039(pRM1)のDMPPCおよびCFXに対する最小発育阻止濃度(MIC)は, 1.56  $\mu\text{g/ml}$ および12.5  $\mu\text{g/ml}$ ~25  $\mu\text{g/ml}$ で, 親株である1,039株と比較してDMPPCに対しては同一であったが, CFXに対しては2~3管耐性度が上昇し, N-315株と同様の耐性パターンを示すことが分かった。現在, *mecI*遺伝子に変異を導入したプラスミドを作製し, メチシリン耐性の発現について検討中である。

007 *mec* 領域 DNA の同定とその構造について

伊藤輝代・鈴木映子  
上代美奈子・平松啓一  
順天堂大学, 医学部, 細菌学教室

目的: メチシリン耐性遺伝子は, 本来の黄色ブドウ球菌にはない外来 DNA (*mec* 領域 DNA) の上に存在する。我々は, この外来 DNA の由来および役割を明らかにする目的で, 黄色ブドウ球菌 N 315 株を使用し, *mecA* 遺伝子上流の染色体 DNA のクローニングを行い外来 DNA の同定を試みた。

方法: 黄色ブドウ球菌 N 315 株の染色体 DNA を制限酵素 *Sau* III A 1 にて切断したのちプラスミド pACYC 184 をベクターとしてクローニングを行った。目的とするクローンはコロニーハイブリダイゼーション法により選択した。得られたクローンより *Hind* III 断片を調製し, これをプローブとして用いてドットプロット法により MSSA には存在しない外来 DNA であることを確認すると同時に, サザン解析を行い染色体上の遺伝子地図を作製した。

結果および考察: サザン解析の結果, N 315 株の場合, *mecA* を含む *Hind* III 断片の上流に約 2.2 kb, 2.6 kb, 7.1 kb, 5.5 kb, 2.5 kb, 9 kb の *Hind* III 断片が存在することが明らかとなった。MSSA SA 113 株を対照としてこれらの DNA 断片をプローブとしてもちいてドットプロット法を行いこれらの領域が MSSA には存在しない領域であることを確認した。すなわち, 少なくとも 33~34 kb の外来遺伝子領域が存在することが明らかとなった。30 株の MRSA を用いて同様にこれらプローブに対する反応性を調べたところ, N 315 株と同様にこれらすべてのプローブに反応するもの, および一部のプローブのみ反応するものと, MRSA 株のなかでも菌株により違いが見られた。

さらにこれら外来 DNA の上流までクローニングを行い外来 DNA の全体像を明らかにして行きたい。

## 008 PBP 2' 産生性からみた各種 MRSA 判定法の比較

菅野治重・斉藤知子  
千葉大学検査部

相原雅典  
天理よろづ相談所病院臨床病理

小栗豊子  
順天堂大学中央臨床検査室

菅原和行  
長崎大学検査部

斉藤充弘・矢嶋隆一・関口 深  
ダイナポット総合研究所

目的: 臨床検査室で汎用されている各種 MRSA 判定法の評価を目的として, PBP 2' 産生性との相関性を検討した。

材料と方法: 1990 年に全国の国立大学病院から集菌した *S. aureus* 300 株を用いた。PBP 2' の検出はダイナポット社で作成した特異抗体により測定した。MRSA 判定法は, MIPIC, DMPPC, CZX に対する MIC, 各種ディスク法, 抗菌剤含有培地によるスクリーニング法について検討した。

結果: 希釈法は MIPIC の成績が良く, 2% 食塩添加培地で, PBP 2' 産生株の 98.2% (215/219) が  $\geq 4$   $\mu\text{g/ml}$  の MIC を示し, PBP 2' 非産生性株の 100% (81/81) が  $\leq 2$   $\mu\text{g/ml}$  の MIC を示した。NCCLS ディスク法でも MIPIC の成績が良く, PBP 2' 産生株の 98.2% (215/219) が MRSA と判定され, PBP 2' 非産生性株の 98.8% (80/81: KB ディスク), 92.6% (75/81: センシディスク) が MSSA と判定された。昭和一濃度法は CZX の成績が良く, PBP 2' 産生株の 94.1% (206/219) が MRSA と判定され, PBP 2' 非産生性株の 80.2% (65/81) が MSSA と判定された。栄研三濃度法は MIPIC で, PBP 2' 産生株の 97.3% (213/219) が + ~ - と判定され, PBP 2' 非産生性株の 97.5% (79/81) が 3+ ~ 2+ と判定された。MRSA スクリーン培地では, PBP 2' 産生株の 99.1% (217/219) が MRSA と判定され, PBP 2' 非産生性株の 98.8% (80/81) が MSSA と判定された。

考察: 各種 MRSA 判定法の成績は PBP 2' 産生性と高い相関性を示した。PBP 2' の検出は MRSA の検出精度の向上とともに, 検査の迅速化において有用と思われた。

009 MRSA, *P. aeruginosa* 複数菌感染症に対する FOM+SBT/CPZ 併用療法の基礎的・臨床的検討-I

林 泉<sup>1)</sup>・桜井雅紀<sup>1)</sup>・一木昌郎<sup>1)</sup>  
塩谷譲司<sup>2)</sup>・吉田 隆<sup>3)</sup>・新井田昌志<sup>3)</sup>  
小川正俊<sup>4)</sup>・香本晃良<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 癌研究会附属病院内科, <sup>2)</sup> 同 中央検査

<sup>3)</sup> 明治製菓(株)薬品総合研究所

<sup>4)</sup> ファイザー製薬(株)新薬開発センター

MRSA, *P. aeruginosa* 複数菌感染症に対する FOM+SBT/CPZ の併用効果について検討した。

方法: 臨床分離 MRSA, *P. aeruginosa* に対する FOM+SBT/CPZ の① FIC index を求め, ② 投与 3 時間後血中濃度下での併用効果を検討した。③ MRSA+*P. aeruginosa* 複数菌感染をきたした症例に FOM, SBT/CPZ の併用療法を行った。④ 両菌それぞれに対する FOM, SBT/CPZ 同時投与での殺菌曲線を agardilution 法で検討し, ⑤ 両菌混合培養下での併用効果を FIC index, 殺菌曲線で検討し, ⑥ 形態変化を電顕で経時的に観察した。

結果: ① FIC index (MRSA, *P. aeruginosa*): 相乗効果 (43%, 47%), 相加効果 (50%, 53%), 不関 (7%, 0%)。② 両剤を併用し FOM 2g, SBT/CPZ 2g 投与 3 時間後血中濃度 (50, 30 µg/ml) の有効範囲に入ってくる MRSA (30 株) は FOM で 23 → 70%, SBT/CPZ で 40 → 77% に, *P. aeruginosa* (30 株) は FOM で 67 → 100%, SBT/CPZ で 87 → 100% と増加した。③ 併用療法で有効な症例, ④ の MRSA, *P. aeruginosa* の FIC index は 0.75, 0.75 であったが, 併用下での殺菌曲線で 6 時間後に生菌数 log reduction=2.0, 1.3 と強い殺菌効果を認めた。⑤ 両菌混合培養下の FIC index で MRSA は FOM 1/8 MIC, SBT/CPZ 1/4 MIC の点で 0.375 を示し, *P. aeruginosa* は FOM 1/2 MIC, SBT/CPZ 1/4 MIC の点で 0.750 を示した。殺菌曲線を FOM 64, SBT/CPZ 32 µg/ml で描くと log reduction は MRSA 2.0, *P. aeruginosa* 3.5 と強い相乗効果を示した。⑥ FOM 1/4 MIC, SBT/CPZ 1/2 MIC を同時に加えた場合, 著しい菌の破壊像を *P. aeruginosa* で観察された。

考察: MRSA+*P. aeruginosa* 複数菌感染症に FOM+SBT/CPZ の併用は有効である。In vitro で有効性を検討する場合, 薬剤投与 3 時間後血中濃度で殺菌曲線にて log reduction を見るのが良い。

010 MRSA 感染時の菌交代例と混合感染マウスにおける併用効果について

—VCM と CAZ の併用に関する考察 第 2 報—

松岡喜美子・金廣郁子

永富由美子・松原正樹

大阪府立病院臨床検査科微生物

長岐為一郎・伊藤香織・森田 健

田口邦夫・田村 忍・富田晃代

荻野久美子・福田一郎

日本グラクソ(株)筑波研究所

我々は, *S. aureus* 検出患者の治療中に菌交代に経過した時, いかなる菌種が臨床材料より分離されたかについて調査した。さらに in vitro, in vivo の両面から MRSA と緑膿菌との混合感染に対して CAZ と VCM の組合せによる併用治療効果を検討し以下の成績を得た。

1. MRSA と MSSA 分離例における同時分離菌では, 非発酵菌の検出は, MRSA で 60.5%, MSSA で 14%, 酵母様真菌の検出は, MRSA 33.7%, MSSA 4.8% であった。

2. MRSA 分離例の非発酵菌に対する薬剤感受性は CFS, NTL, CAZ, OFLX の順に良好であった。

3. VCM と CAZ の in vitro 併用効果は, MRSA, 緑膿菌の両菌に対して拮抗作用はみられなかった。

4. マウスの感染実験においては, MRSA 存在下で緑膿菌の毒性が, 増強され, 単独感染ではほとんど死亡しない菌量を投与しただけでマウスは死亡した。

5. In vivo での併用は, 混合感染に対して臨床投与量以下で有効であった。

6. VCZ と CAZ の組合せによる投与は, MRSA から緑膿菌への菌交代に対して有効であることが示唆された。

011 MRSA と緑膿菌の混合感染モデルにおける VCM と cefclidin の併用効果

後藤美江子<sup>1)</sup>・菅野谷幸恵<sup>1)</sup>・安岡 彰<sup>1)</sup>

岡 慎一<sup>1)</sup>・見上 孝<sup>2)</sup>・勝 謙政<sup>2)</sup>

大屋 哲<sup>3)</sup>・木村 哲<sup>1)</sup>・島田 馨<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京大学医科学研究所・感染症研究部

<sup>2)</sup> エーザイ(株)・つくば研究所

<sup>3)</sup> 三共(株)・生物研

目的: MRSA 感染症に対し, VCM は有用な薬剤の

1つである。しかし、VCMは緑膿菌などグラム陰性桿菌には抗菌力を示さず、菌交代現象をおこす可能性がある。また、MRSA、緑膿菌ともに compromised host に感染症を起こす菌であり、時に状態の悪い患者において、この両者の混合感染を経験する。我々は今回、VCMと優れた抗緑膿菌活性を示す cefclidin (CFCL) の併用効果を *in vitro*, *in vivo* の系で検討した。さらに両剤併用による腎毒性の増強についても検討した。

方法: MRSAは臨床分離株2株、緑膿菌はATCC 27853株と臨床分離株1株を使用した。それぞれの菌による混合感染モデル2組で検討した。*In vitro* の系は *in vitro* pharmacokinetic system を用い、MRSAと緑膿菌を混合培養し、VCM、CFCLの薬剤濃度を1g、1時間、12時間毎2回点滴時の血中濃度の推移にシミュレートさせ、経時的に生菌数を24時間まで測定した。*in vivo* の系は *in vitro* と同じ菌の組合せで、マウスの腹腔に菌を接種、感染1時間後に薬剤を皮下投与後の血中生菌数を経日的に7日までとめた。また、同様の薬剤投与により、7日後の生残率により、ED<sub>50</sub>をもとめた。

結果: *In vitro* の系ではMRSA、緑膿菌とも実験開始時10<sup>5</sup>~10<sup>6</sup>CFU/mlの生菌数が6時間後に10<sup>2</sup>CFU/mlレベルまで減少、その後、そのレベルを維持した。感染マウスを用いた系では特に生残率の検討で、無処置群および単独投与群に比較しても有意に併用効果がみられた。ラットを用いた腎毒性検討ではその増強は認められなかった。

## 012 薬剤濃度シミュレーションシステムを用いたMRSAと緑膿菌との混合培養での薬剤の殺菌効果

辻 明良<sup>1)</sup>・菅野利恵<sup>1)</sup>・久家智子<sup>2)</sup>  
山口恵三<sup>1)</sup>・五島瑳智子<sup>1)</sup>・高田利彦<sup>3)</sup>

高瀬由美子<sup>3)</sup>・吉田 隆<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 東邦大学医学部微生物学教室

<sup>2)</sup> 医療短期大学

<sup>3)</sup> 明治製薬薬品総合研究所

MRSA感染はcompromised hostでの感染で、複数菌感染として発症することが多く、特に緑膿菌との混合感染例が多い。今回、基礎的にMRSAと緑膿菌との混合培養での薬剤の殺菌効果を濃度シミュレーションシステムを用いて検討し、さらにマウス混合感染についても検討した。

濃度シミュレーションシステムでの検討は、Muel-

ler-Hinton brothを用い、ボトル内に*S. aureus* No.235 (MRSA, 約10<sup>8</sup>cfu/ml) および*P. aeruginosa* E7 (約10<sup>8</sup>cfu/ml) を混合接種し、薬剤を添加した。薬剤の濃度推移はマウス血中濃度 (20 mg/kg, 皮下投与) を使用し、その濃度変化はPC-9801 (NEC) により制御させた。経時的にそれぞれの生菌数を測定し、薬剤の殺菌効果を検討した。使用した薬剤は arbekacin (ABK), gentamicin (GM), vancomycin (VCM), netilmicin (NTL) である。マウス混合感染 (*S. aureus* No.235 1.5×10<sup>8</sup>/mouse + *P. aeruginosa* E7 4.4×10<sup>8</sup>/mouse) での検討は、白血球減少マウスを用い、腹腔内に混合感染し、感染1時間後に薬剤を投与、7日後の生残率よりED<sub>50</sub>値をもとめた。

濃度シミュレーションシステムにおける混合培養でのABKの殺菌効果は*S. aureus* に対し殺菌維持時間、回復時間の延長がみられ、*P. aeruginosa* では回復時間の延長が認められた。GMは*P. aeruginosa* に対しては殺菌維持時間の短縮、*S. aureus* では殺菌維持時間、回復時間のわずかな延長が認められた。VCMは*S. aureus* に作用するものの、*P. aeruginosa* に対しては弱く、増殖抑制効果も短かった。また白血球減少マウスにおける混合感染での防御効果はABKが優れ、次いでGM、NTLの順であった。この結果は濃度シミュレーションでの殺菌効果の結果と相関していた。

## 013 MRSA、患者入院病室からのMRSA分離状況について

川角 浩

日本医科大学微生物免疫

目的: MRSAの汚染分布を知る目的で、MRSA患者がいる病室といない病室についてMRSAを採取し、その特性について、コアグララーゼ型、エンテロトキシンならびにTSST-1毒素の産生性、薬剤感受性分布の3点から検討を行った。

結果: 検出率は、A病室、B病室ともに15箇所中13箇所 (86.7%) であった。しかしながら、A病室由来のMRSA 44株中、32株 (72.7%) がコアグララーゼII型、エンテロトキシンAおよびTSST-1を産生し、7薬剤以上に耐性を示した。一方B病室由来のMRSA 34株中、毒素非産生株が、24株 (70.6%) を占め、また17株 (50.0%) が1薬剤 (AZT) のみに耐性を示した。コアグララーゼ型別は、A病室由来44株では、II型、38株 (85.4%)、III型、2株 (4.5%)、

IV型, 2株 (4.5%), V型1株 (2.3%), 型別不能株1株 (2.3%)であった。一方B病室由来34株では, II型, 23株 (67.6%), III型, 2株 (5.9%), V型, 3株 (8.8%), VII型, 2株 (5.9%), 型別不能株2株 (5.9%)であった。

考察: 以上の結果より, A, B2病室内のMRSAの性状が異なることが確認された。また, A病室由来の菌の性状については, 入室患者から分離されたMRSAの性状に類似しており, A病室の汚染は, 患者由来であることが, 強く示唆された。

またB病室においても, A病室由来株と同様に6薬剤以上に耐性を示し, コアグラゼII型でTSST-1を産生する6株 (17.6%)を認め, これらの高度耐性株または低度耐性株のどちらかが, どのように感染症の発生に関与するか今後検討する予定である。

#### 014 複合ゲノタイピングによるMRSA院内感染菌の解析

近藤典子・Yasmin Abu Hanifah

吉田辰巳・平松啓一

順天堂大, 医, 細菌

目的: 院内感染菌の追跡調査には, 個々の臨床分離株の鑑別を行うことが必要である。従来のコアグラゼ型や薬剤耐性型などでは十分な鑑別力が得られない。そこで今回, 3種類のゲノタイピング法を組み合わせることで個々の院内感染菌の鑑別の試みを行ったので報告する。

方法: 1987年から1989年にKuala LumpurのMalaya大学病院で経時的に臨床分離されたMRSA 50株について,

(1) 23sリボゾームDNAをプローブとして用い, サザン解析を行った。(リボタイピング法)。

(2) IS 431をプローブとして用い, サザン解析を行った。(ISタイピング法)。

(3) パルスフィールド電気泳動で解析した。

結果: 全50株はリボタイピング法により5タイプ, ISタイピング法により19タイプ, パルスフィールド電気泳動により26タイプに分類された。さらにこれらの3つのタイピング法を組み合わせると, 41タイプに分類可能となった。

考察: このように, 複数のゲノタイピング法を組み合わせることによってより詳細な鑑別が可能になることが明らかになり, さらに改良を加えれば個々の菌株をすべて遺伝学的に区別することが可能であると考えられた。

#### 015 MRSA 付着スリッパ, ガウンの除菌法

足立タツ子・山本千恵子

尾家重治・神谷 晃

山口大学病院・薬剤部

目的: MRSA 気道定着患者 (気管切開施行) の環境調査で, スリッパ・ガウンが高濃度汚染を受けていることが判明した。そこでこれらの迅速な除菌法について検討した。

方法: ①調査対象: MRSA 気道定着患者の病室に頻回に入室したナースのスリッパ裏面, および当病室に常備の供用ガウンについて調査した。

②除菌法: スリッパでは消毒用エタノールの噴霧, 消毒用エタノールによる清拭および粘着マットの効果について検討した。また, ガウンは消毒用エタノール噴霧および回転式紫外線ロッカー (10分間) の効果について検討した。

③MRSA 検出法: スリッパは生食で湿らせた滅菌ガーゼで清拭し, ガウンは切り取って滅菌生理食塩水含有の瓶に入れて振とう・超音波処理後, メンブランフィルター法により生理食塩水中のMRSAを検出した。

結果: スリッパ: 粘着マット使用前後の黄色ブドウ球菌数の変化は,  $624 \pm 1,916$  個  $\rightarrow$   $310 \pm 730$  個/スリッパ ( $n=11$ ) であり, その除菌効果はほとんど認められなかった。一方, 消毒用エタノール噴霧では  $106 \pm 93$  個  $\rightarrow$   $1.0 \pm 1.6$  個/スリッパ ( $n=6$ ) と99%の除菌効果が得られ, また消毒用エタノール清拭では  $50 \pm 25$  個  $\rightarrow$  0 個/スリッパと完全な除菌効果が得られた。

ガウン: 消毒用エタノール噴霧前後の黄色ブドウ球菌数の変化は,  $52 \pm 40$  個  $\rightarrow$   $2.0 \pm 1.8$  個/100 cm<sup>2</sup> ( $n=6$ ) であり, その除菌効果は約96%であった。一方, 回転式紫外線ロッカーでは,  $139 \pm 120$  個 (胸部),  $497 \pm 1,129$  (脇部) とそれぞれ0 個/100 cm<sup>2</sup> ( $n=6$ ) と完全な除菌効果が得られた。

なお, スリッパ裏面では検出黄色ブドウ球菌中のMRSAの比率は約51%, ガウンでは100%であった。

考察: MRSAが高濃度に付着したスリッパ, ガウンの迅速で簡便な除菌法として消毒用エタノールの噴霧は有用である。

016 大腸菌における AmpC の細胞内輸送に関する GroE (Hsp 60 および Hsp 10) の役割

石井良和・大野 章・山口恵三

五島瑛智子・井上松久<sup>1)</sup>

東邦大学 (医) 微生物

<sup>1)</sup>北里大学 (医) 微生物

目的: 大腸菌において penicillinase (Bla) は、熱ショック蛋白の一つである GroE (cytoplasm 中に存在し GroES と GroEL のサブユニットからなる) の作用によって三次元構造の構築が抑制され cytoplasmic membrane に運ばれる。続いて分泌装置として機能する Sec 蛋白集合体を経由して periplasm に分泌され、活性体となる機構が知られている。一方、誘導型 cephalosporinase (AmpC) は、Bla と同様に periplasmic space に存在する分泌蛋白の一種であるが、その分泌機構に関してはいまだに不明である。AmpC の分泌機構を解明することは、 $\beta$ -lactam 系薬剤に対する耐性機構を理解する上で重要である。そこで今回は、AmpC の分泌に対する GroE 蛋白の関与について検討した成績を報告する。

方法: *Escherichia coli* MC 4100 (*groE*<sup>+</sup>), *E. coli* NRK 233 (*groES* 619), *E. coli* NRK 117 (*groEL* 44) および *E. coli* CK 1953 (*secB*: Tn 5) を host として用いた。また *ampC* は *Enterobacter cloacae* の染色体遺伝子から pHSG 398 に cloning した後、各々の host に塩化ルビジウム法で transformation した。Transformant と host について寒天平板希釈法による MIC の測定を行った。AmpC の分泌速度は、パルスチェイス法で検討した。

結果および考察: Host の MIC は、CET に対し、それぞれ *E. coli* MC 4100 8  $\mu\text{g/ml}$ , *E. coli* NRK 117 16  $\mu\text{g/ml}$ , *E. coli* NRK 233 16  $\mu\text{g/ml}$ , *E. coli* CK 1953 16  $\mu\text{g/ml}$  であった。AmpC を導入した菌株の MIC はそれぞれ *E. coli* MC 4100 の場合 512  $\mu\text{g/ml}$ , *E. coli* NRK 117 128  $\mu\text{g/ml}$ , *E. coli* NRK 233 64  $\mu\text{g/ml}$ , *E. coli* CK 1953 512  $\mu\text{g/ml}$  となった。またパルスチェイス法の結果から、*E. coli* NRK 117 および *E. coli* NRK 233 の AmpC 分泌速度が *E. coli* MC 4100, *E. coli* CK 1953 の場合と比較して遅延が認められた。したがって、AmpC の分泌には GroE の関与が重要であることが示され、Bla の場合と一致する。現在まで Bla は、GroE が分泌に関与する唯一の periplasmic 蛋白として知られている。今回の検討から

AmpC も Bla と同様に GroE がその分泌に関与していることが確認された。

017 外来患者尿由来大腸菌に対するニューキノロン剤の MIC 測定結果について

福島修司・森山正敏・野村 栄

横浜市立市民病院泌尿器科

峰谷かつ子・田口敦二・池田葉子

山村哲夫・渡部悦子

横浜市立市民病院中央検査科細菌室

目的: 広く使用されているニューキノロン剤の耐性化の動向を知るために尿より検出された大腸菌の MIC を測定した。

方法: 1990 年 10 月より 1992 年 9 月までの 2 年間に泌尿器科外来に受診した患者を対象とし、検尿で感染症が疑われた患者の尿を培養し、得られた大腸菌に LFLX, NFLX, OFLX, ENX の 4 種薬剤の MIC を測定した。測定方法は化学療法学会標準法に従った。

結果: 2 年間に外来患者から検出された細菌は 567 株であった。その中で大腸菌がもっとも多く 349 株 (61.6%) を占めていた。

大腸菌が検出された患者の臨床診断は急性単純性膀胱炎が圧倒的に多く、なかでも女性の膀胱炎が 85.4% を占めている。そのほか腎う腎炎、前立腺炎、副こう丸炎であった。

1990 年 10 月より 1 年間の MIC 測定株数は 173 株で、その 90% は 0.2  $\mu\text{g/ml}$  以下であった。4 種薬剤の中でいずれかが 3.13  $\mu\text{g/ml}$  を示した菌株が 3 株あり、6.25  $\mu\text{g/ml}$  以上を示したのが 1 株みられた。

1991 年 10 月より 1 年間では 175 株が測定され、やはり 0.2  $\mu\text{g/ml}$  以下で 90% を越えている。

4 種薬剤のうち 3.13  $\mu\text{g/ml}$  を示した菌株が 1 株、6.25  $\mu\text{g/ml}$  以上を示したのが 4 株みられた。このうち 1 株は ENX に対し 100  $\mu\text{g/ml}$  であった。最初の 1 年に比し、2 年目は 6.25  $\mu\text{g/ml}$  以上を示した株数が増えているが、 $\chi^2$  検定では有意差は出ていなかった。この 2 年間に 6.25  $\mu\text{g/ml}$  以上を示した症例では既往にニューキノロン剤の 2 週間を越える服用があった。

MIC の測定結果を累積分布曲線に示すと、4 種薬剤間にはほとんど違いはなかった。

考察: MIC の測定結果は大部分が低値であって、耐性菌と思われるものはごく少数であった。一般に薬剤の使用量の増加が耐性菌の増加にもなると言われ、ニューキノロン剤も例外ではない。ことに 2 週間を越える使用は耐性化をもたらす可能性があり、基礎疾患の



ある尿路感染症に対しては治療の難しさがある。

018 低濃度オフロキサシン中で多剤同時耐性となった *K. pneumoniae* および *E. coli* の分離およびその性状

増田剛太<sup>1)</sup>・山口 剛<sup>1)</sup>  
古谷利通<sup>2)</sup>・外山圭助<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 都立駒込病院感染症科

<sup>2)</sup> 東京医大第1内科

目的: グラム陰性菌の多剤同時耐性化にはいくつかの機序が知られる。今回我々は sub-MIC 濃度の薬剤を含む培地で、*K. pneumoniae* または *E. coli* を1夜培養すると多数の多剤耐性変異菌が出現することを観察した。また臨床分離株の中でもこれらの菌と類似の耐性株が存在することを確認した。

方法: OFLX 感受性 *K. pneumoniae* と *E. coli* を 1/2 MBC または 1/4 MIC OFLX を含む液体培地で1夜培養し得られた菌株を娘株とし、その寒天平板法による MIC を測定し、各々の親株の MIC との比を求め、耐性化 (比 $\geq$ 4) の指標とした。

結果: 親株 *K. pneumoniae* および *E. coli* に対する OFLX の MIC は 0.03~0.1  $\mu\text{g/ml}$  であったが、OFLX 耐性菌として得られた変異株は親株の 4~16 倍高い MIC 値を示した。これらの耐性菌は CP, MINO に対しても同時に耐性を獲得していた。さらにこれらの変異菌は PIPC, CTX, AZT に対しても弱い耐性化傾向を示したが IPM および GM に対する MIC の変化は見られなかった。このような耐性化傾向は *E. coli* よりも *K. pneumoniae* でより顕著に見られた。

考察: sub-MIC 濃度の OFLX で *K. pneumoniae* および *E. coli* を選択すると構造的に関連の薄い多くの抗生物質に耐性化した菌株が得られた。これらの菌はその MIC のパターンから大腸菌で報告される *mar* 変異である可能性が高い。1991 年に駒込病院で分離された *K. pneumoniae* 33 株を調べたところそのうち 1 株は上記の耐性菌と同じ耐性パターンを示した。上に示した *in vitro* の実験と臨床から分離された菌のパターンを考え合わせると臨床における抗生物質の使用には慎重を期さなければならないことが示唆される。

019 *P. pseudomallei* の薬剤感受性の検討

大森明美・Tavatchai Jariyasethpong  
Prasit Tharavichitkul・渡辺貴和雄

真崎宏則・川上健司

永武 毅・松本慶蔵

長崎大学熱帯医学研究所内科

はじめに: *Pseudomonas pseudomallei* 感染症は、東南アジアにおける風土病的感染症であるが近年、東南アジアとの交流の増大に伴い本邦での症例も報告されるようになってきた。今回我々は、タイ国において *pseudomallei* による心嚢炎を経験し、MIC とその付着について若干の知見を得たので報告する。

症例: 症例は 60 歳タイ人男性。生来健康。1991 年 5 月下旬より労作時呼吸困難、熱感にて発症。近医にて胸部 X 線写真上心陰影拡大を認め、結核性心膜炎が疑われ新三者療法を開始されるも軽快せず、心膜切開術を目的にラジビチ病院に紹介された。紹介時軽度の白血球増多と肝腎機能障害を認めた。入院後 3 日目の心膜切開術では、心嚢液は膿性で好中球を多数認め膿性心嚢炎の診断にて CEZ の点滴静注と CVA/AMPC の投与が開始されるも無効。1 週間後に培養結果より *P. pseudomallei* が起炎菌と同定され、CAZ 3g/day の点滴静注と DOXY 200 mg/day の投与により軽快した。チェンマイ大学医学部附属病院で 1986 年に血液から分離された *P. pseudomallei* 菌株の各種薬剤に対する感受性の検討では、チェンマイ大学でのディスク感受性菌の成績では、PIPC, CAZ などの第 3 世代セフェム, CP, TC などが感受性であった。また 11 株について MIC を測定した。MIC<sub>50</sub> が 6.25 以下の薬剤は PIPC, CVA/AMPC, IPM/CS, 第 3 世代セフェムの CTX, CTRX, CAZ, ニューキノロンの CPFIX, TFLX, さらに TC 系であった。ヒト喉頭上皮細胞の microvilli 上に *P. pseudomallei* は付着した。

まとめ: *P. pseudomallei* は全身の化膿性病巣と敗血症に特徴づけられる多剤耐性の強毒菌であり、今後輸入感染症として注意すべき病原細菌である。

020 *Serratia marcescens* の検出状況と薬剤感受性ならびに血清型について (第2報)

三澤成毅<sup>1)</sup>・小栗豊子<sup>1)</sup>・猪狩 淳<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>順天堂大学中検, <sup>2)</sup>同 医学部臨床病理

*Serratia marcescens* は第3世代セフェム剤や新キノロン剤などの登場によりその分離頻度が減少したといわれている。しかし、最近になってこれらの薬剤にも耐性を示す株が認められるようになり、その動向が再び注目されている。我々はすでに昨年の本学会において *S. marcescens* の臨床材料からの検出状況と薬剤感受性、血清型について報告した。今回はさらに1992年の分離株についても同様の検討を行ったので、前回までの成績との比較と耐性株の検出状況についても報告する。

材料および方法: 使用菌株は1992年1月から同年12月までに当院中検にて各種臨床材料より分離された *S. marcescens* 合計174株を使用した。薬剤感受性の測定は2価イオン濃度調整 Mueller Hintonbroth (Difco) を用い、MIC-2000 system (Dynatech) により測定した。使用薬剤は PIPC, CMZ, CTX, IPM, GM, AMK, TC, OFLX を用いた。また、血清型にはセラチア O 群別用血清 (デンカ生検) を用いた。

成績: *S. marcescens* 174株の由来材料は前年までの成績と同様に喀痰がもっとも多く全体の約50%を占め、次いで尿が約29%を占めていた。菌型別の分離頻度は O4, O5型が優位であり、前年の成績と同様の傾向を示していたが、その他に O12型とその混合型の頻度が増加していた。由来材料別の菌型分布は喀痰、咽頭では O4, O5型が優位であったが、尿と膿・分泌物では低濃度であり、尿では O12型とその混合型の占める割合が高い成績であった。また、頻回検出例の菌型はほとんどが同一の血清型であった。薬剤感受性は使用8剤中 IPM の抗菌力が優れていたが、耐性株の出現が認められた。その他の薬剤についても前年の成績に比べて耐性株の占める割合が増加していた。使用8剤の耐性パターンは1剤 (TC) 耐性をもっとも多く全体の約62%を占めていた。IPM 耐性株はその頻度は低いものの他の7剤すべてに耐性を示す多剤耐性株であり、そのほとんどが同一病棟の患者尿に由来していた。

021 液体培地法でのグラム陰性桿菌に対する aztreonam (AZT) の MIC 値と filament 形成

古谷利通<sup>1)</sup>・増田剛太<sup>2)</sup>

外山圭助<sup>1)</sup>・山口 剛<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>東京医科大学第一内科

<sup>2)</sup>都立駒込病院

目的: AZT を、グラム陰性桿菌に液体培地内 (macrodilution method) で作用させたところ、著明な filament 形成が見られた。そこで、filament 形成の MIC 測定におよぼす影響を検討した。

方法: 使用菌株は、駒込病院で分離された、*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter* sp., *S. marcescens*, *P. aeruginosa* である。MIC 値は液体培地法と寒天平板法により求めた。殺菌曲線は、培養開始前、3時間、6時間、24時間後の菌数から求めた。

結果: ①寒天平板法による AZT の MIC は、*E. coli* 0.05~0.2 μg/ml, *K. pneumoniae* 0.013~0.1, *Enterobacter* sp. 0.025~50, *S. marcescens* 0.025~0.78, *P. aeruginosa* 0.78~12.5 であった。②液体培地法で試験管底に形成された filament を菌増殖による混濁の一部とみなして MIC を求めると、*E. coli* 0.05~>200, *K. pneumoniae* 0.39~50, *Enterobacter* sp. 0.025~100, *S. marcescens* 100~>200, *P. aeruginosa* はすべて >200 であった。filament 形成は、特に *S. marcescens*, *P. aeruginosa* で著明であった。③光顕的観察と、殺菌曲線の結果より試験管底に形成された沈殿物を filament であると確認後、上清の混濁のみを指標として MIC を求めると、*E. coli* 0.05~0.39, *K. pneumoniae* 0.013~0.1, *Enterobacter* sp. 0.025~100, *S. marcescens* 0.05~3.13, *P. aeruginosa* 0.78~6.25 と沈殿物を含んだ測定値に比して低値であり寒天平板法での MIC とほぼ同様の値を示した。

結論: 液体培地法 (macrodilution method) を用い、AZT の MIC 値を求める際には、filament 形成を認めることがある。MIC 値が生菌数の増減を知る指標の一つであることを考えると、filament のように、巨大化した生菌が形成した肉眼的沈殿物は MIC 測定に際して除外する必要がある。

022 *P. aeruginosa*, *E. cloacae*, *C. freundii*  
に対する抗菌剤の併用効果に関する研  
究

三嶋廣繁・和泉孝治・伊藤邦彦

玉舎輝彦\*・佐藤 勝\*\*

\*岐阜大学産科婦人科

\*\*エーザイ(株)東京研究所

目的: Compromised host の増加とともに、原因菌不明の難治性感染症が増加傾向にある。そのため、抗菌域拡大および抗菌力増強の目的で、イミペネム (IPM) が、他の  $\beta$ -ラクタム剤やアミノ配糖体剤と併用される頻度が高くなっている。今回、我々は、IPM と種々の薬剤の併用効果について、*in vitro* および *in vivo* にて評価した。

方法: *P. aeruginosa*, *E. cloacae*, *C. freundii* の臨床分離株を用いて、IPM と他の薬剤との併用効果をディスク拡散法およびチェッカーボード法で検討した。また、抗菌剤含有液体培地を用いて、時間-殺菌曲線を描いた。さらに、ラットを用いた動物実験で、*in vivo* での評価も行った。

結果: *P. aeruginosa* の 100%, *E. cloacae*, *C. freundii* の約 50% に IPM は、ピペラシリン (PIPC)、セフトジジム (CAZ)、アズトレオナム (AZT) などの他の抗菌剤と拮抗現象を示した。また、アミカシン (AMK) とは相乗作用を示した。*In vivo* の動物実験でも、同様の現象が認められた。

考察: 重症難治性感染症に対する治療では抗菌剤の併用法に注意するべきである。

023  $^3\text{H}$ -thymidine ( $^3\text{H}$ -TdR) uptake を  
用いた最小発育阻止濃度 (MIC) と細  
胞内発育阻止最小細胞外濃度 (MIEC)  
の新しい測定法

—*Legionella pneumophila* を用いて—

橘川桂三・伊志嶺朝彦

仲本 敦・斉藤 厚

琉球大学第一内科

目的: レジオネラ肺炎においては *in vitro* の薬剤感受性と *in vivo* の抗菌効果の間に相違がみられる。この相違を少なくし有効な抗菌剤を選択するために、より感度の高い MIC の測定法と実用的な MIEC 測定法の確立を試みた。

方法: *L. pneumophila* (ATCC 33152) を用いた。

MIC は 21 抗菌剤を用い、菌量は最終濃度  $10^6 \sim 10^7$ /ml で、BSYE 液体培地を用いた micro-dilution method ( $0.001 \sim 128 \mu\text{g/ml}$ ) との比較検討を行った。96 穴マイクロプレートに液体培地、抗菌剤、菌液、および  $^3\text{H}$ -TdR を加え、 $\text{CO}_2$  インキュベーターで培養した。3 日後と 7 日後に回収し比較検討した。MIEC は 12 抗菌剤を用い以下の方法で測定した。ヒト単球に菌を貪食させ遠心洗浄した。単球と抗菌剤 ( $0.001 \sim 128 \mu\text{g/ml}$ ) を 24 時間培養後、遠心洗浄した後単球を破壊した。96 穴マイクロプレートに  $100 \mu\text{l}$  の破壊した単球液、 $100 \mu\text{l}$  の BSYE 液体培地および  $^3\text{H}$ -TdR を加え 7 日後に測定した。

結果と考察: 1) レジオネラにおける MIC の判定は従来の 3~4 日では十分ではなく、7 日間が必要である。2) 我々の MIC 測定法では、 $\beta$ -ラクタム剤は効果が期待できなかった。3) 細菌の DNA 合成を示す  $^3\text{H}$ -TdR uptake を用いたこの測定法は、沈澱を観察するより薬剤の細菌に対する効果を直接見ることができ、感度が高い。4) 沈澱で観察する micro-dilution method による MIC の判定日は、 $^3\text{H}$ -TdR uptake による判定とほぼ同じになる日数にすべきである。5) 単球のファゴソーム内のレジオネラ菌には、リファンピシンを除き効果が期待できない。6) 細胞内増殖菌であっても、MIC にて感受性のある抗菌剤が有効と考えられる。7) 肺病巣の菌数を考えると、 $10^5 \sim 10^6$  だけでなく、 $10^7$  あるいは  $10^8$ /ml の細菌に対して抗菌力を示す抗生剤を選択する必要がある。

024 2 倍希釈法測定 MIC 値の統計学的観察  
法の検討

金沢 裕

新津医療センター病院内科

倉又利夫

K.K. ニチエー

目的: ディスク (D) 法などの寒天平板拡散法ではその測定値は阻止円径など連続した数値を介して MIC などの連続的数値が表現されるのでただちに統計学的観察ができる。一方 2 倍希釈法では濃度段階とその採り方により同一測定対照でも異なる値を示す。また同一 MIC を示し  $\bar{X} - X_n = 0$  でも標準偏差 (SD) は 0 ではなく、MIC は  $1 \sim 1/2$  MIC を示すにすぎないのでただちには統計学的観察は困難である。同一検体に対する 2 倍希釈法の log MIC は正規分布を示すこと (金沢, メディアサークル 19: 257, 1974) を根拠にして統計学的処理が可能な手段を加えることがで

きたので報告する。

検討方法: 正規分布集団 ( $0, \sigma^2$ ) で 2 倍希釈法で同一 MIC を示す際の  $\sigma$  は危険率 ( $\alpha$ ) 0.05 で 0.2551 (対数表現) との値がえられているのでこの数値を組み入れて統計処理を行った。

検討材料: ①藤井, 桑原 (1966) の同一 5 菌株, 5 薬剤, 31 施設の MIC 集計, ② Chemotherapy · 1971 ~ 1992.5 に記載された日本化学療法標準法  $10^8$  接種で求められた 20 コ以上の値の示されている *S. aureus* 209 P の 22 組と *E. coli* NIHJ の 28 組 MIC の集計, ③微量液体希釈法標準法 (五島委員長: 1989) の 5 菌種 8 薬剤の MIC の集計。

実験成績:  $\alpha = 0.05$  で SD · 対数表現 (棄却限界 · 整数表現) で示すと, ①では変動中のもっとも狭いものは 1.11 (5.00), ②平均が 2.28 (5.47) と 2.46 (6.48), ③では最大幅の 1 組合せを除いての平均は 0.982 (6.78) であった。

考察ならびに結論: log MIC が正規分布を示すことを利用して 2 倍希釈法 MIC の変動を統計学的に観察した。その結果 MIC の変動の棄却限界幅はいずれも  $(5.0 \leq)^2$  の成績がえられた。この値は 2 倍希釈法 MIC と他方法 MIC の比較, ディスク法の精度管理限界設定, break point の調整などに役立つと考えられる。

## 025 臨床分離株の抗菌薬感受性

—イミペネムを中心とした全国サーベイ成績—

イミペネム薬剤感受性研究会

代表 猪狩 淳

順天堂大 · 臨床病理

本研究会は 1988 年以来各種臨床材料分離株の常用抗菌薬に対する感受性を, 全国各地の病院臨床検査部の協力を得て調査している。今回は 1991 年 9 月 ~ 12 月に分離された菌の感受性成績について報告した。

本サーベイ参加協力施設: 全国各地の臨床検査部 123 施設。試験菌株数: 総計 33,375 株。

菌株の同定検査および薬剤感受性試験は各々の施設で実施し, その結果を所定の調査用紙に記入, これらを回収し, 集計, 解析した。

感受性試験は NCCLS にもとづく K-B ディスク拡散法である。

IPM に対しきわめて高い感性率 ( $\geq 90\%$ ) を示した菌種は *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. pneumoniae*, *E. faecalis*, *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae*, *M. (B.) catarrhalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *C. freundii*, *Proteus group*, *S. marcescens*, *B. fragilis group* であった。なお, CNS, *P. aeruginosa*, *A. xylosoxidans*, は 75~85%, *S. aureus*, *P. cepacia* は 50~60% の株が感性であった。*X. maltophilia*, *Flavobacterium spp*, MRSA, *E. faecium* の感性率は各々 7%, 29%, 26%, 19% であった。

MRSA については, ABK, NTL に対する感性率が高く, 入院患者由来株では, それぞれ 85%, 75% であり, MINO には 55%, IPM には 21% であった。

以上, IPM は多くの臨床分離株の菌種に対し, 強い抗菌力を示し, 抗菌スペクトルが広い抗菌薬である。しかし, *S. aureus*, 特に MRSA に対しては, 以前にみられたような抗菌力はなく, IPM 耐性 MRSA が多くみられるようになった。

## 026 Sub-MIC 濃度における抗菌剤の細菌におよぼす影響—第 6 報—

高橋孝行 · 国分勝弥

神奈川県衛生看護専門学校附属病院検査科

桜井 磐 · 今井健郎 · 石田裕一郎

吉川晃司 · 松本文夫

同 内科

山口恵三

東邦大学医学部微生物学教室

目的: 我々は, これまで本学会において sub-MIC 濃度における抗菌剤の臨床的意義を明らかにする目的で, sub-MIC 濃度の種々  $\beta$ -ラクタム剤下での好中球の食菌作用, 殺菌能および尿路上皮細胞に対する付着能におよぼす影響を報告してきた。今回は MRSA に対する sub-MIC 濃度下での影響を検討したので報告した。

対象および方法: 対象は健康成人の 10 例, 高齢者, 糖尿病患者および腎不全患者それぞれ 4 例での白血球機能について比較検討した。使用菌株は喀痰由来 (No.1), 膿汁由来 (No.9) MRSA 菌株を用いた。検討薬剤は DMPPC, CEZ, CMZ, IPM, GM, ABK, MINO, VCM, OFLX, TEIC 計 10 薬を用いた。MIC の測定は日本化学療法学会標準法に準じて行った。ヒト好中球の調整は Ficoll-Conray 重層法に準じて行った。測定にはヒト多核白血球 (PMN) 浮遊液を用い, 1/4 MIC 濃度の抗菌剤で処理した MRSA 菌浮遊液を加え, ピーク値を求めた。

結果および考察: 健康成人ヒト好中球の 1/4 MIC 濃

度抗菌剤で処理したMRSAの殺菌能(CL)は、処理群でGM, TEICがNo.1株で各々1.031, 1.175, No.9株で1.227, 1.122と有意に亢進したが、OFLX, MINO, DMPPC, CEZ, CMZ, VCM処理群では低下傾向をみた。高齢者群のsub-MIC処理MRSAに対するCLは、処理群で亢進傾向はみないが、各薬剤共に未処理群に比し低下傾向であった。糖尿病群は膿汁由来MRSAで未処理群に比し、CLがTEICで1.057と亢進傾向をみた。腎不全患者群は未処理群に比べて、各薬剤で低下傾向を認め、TEIC, GM, IPM, CEZ, CMZでは比較的影響は少ない傾向であった。両MRSA株はDMPPC, CEZ, CMZ, IPM, OFLXに対して、健常成人未処理群に比し、腎不全、高齢者で各薬剤とも低下傾向を示し、同様にGM, ABK, MINO, VCM, TEICで腎不全が各薬剤とも低下傾向を示した。

以上、抗菌剤の臨床使用において高齢者、腎不全患者などcompromized hostでの薬剤の選択は、病態に応じてこれら各薬剤を選択使用すべきであると考えられる。

## 027 ディスクを用いたFOMと他剤との抗菌併用効果

出口浩一・横田のぞみ・古口昌美  
鈴木由美子・鈴木香苗・深山成美  
石原理加・小田清次

東京総合臨床検査センター研究部

橋本 一

北里研究所附属生物機能研究所

高田利彦

明治製菓株式会社薬品総合研究所

FOMと他の抗菌性物質との抗菌併用効果が数多く報告されていることから、日常診療の場においてそれらを迅速かつ簡易に証明することを目的に、FOM含有培地における他薬剤のディスクを用いた抗菌併用効果を検討した。

口演においては、Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, そして *Pseudomonas aeruginosa* を対象としたFOM無添加平板, FOM 50 µg/ml含有寒天平板を用いた結果を主に報告した。FOM無添加寒天平板に形成されたディスク阻止帯平均値(mm)に比較して、FOM 50 µg/ml含有寒天平板におけるそれには、MRSAではCTM, FMOX, SBT/

CPZの各々に $P \leq 0.05$ , ABPCは $P \leq 0.01$ , *K. pneumoniae* および *M. morganii* ではCTM, SBT/CPZ, PIPC, CPFIXのいずれにおいても $P \leq 0.01$ , そして *P. aeruginosa* ではCAZに $P \leq 0.05$ で有意差をもって大きな阻止帯が認められた。さらにこうした傾向はFOM 12.5 µg/ml含有寒天平板を用いた成績にも観察された。以上の結果、FOM含有寒天平板上における他薬剤のディスク阻止帯は、菌種と薬剤の違いを超越して、ほぼ普遍的に拡大し得ること、そこにおける抗菌併用効果はFOM 1/4~1/16濃度、すなわちFOMのsub MIC濃度存在下において生じることが示唆された。上記に示したように、FOM+他薬剤の抗菌併用効果はほぼ普遍的に生じる。しかし、そこにおける効果は対象菌種と薬剤により程度の差が生じる。これらのことから、FOM含有寒天平板による他薬剤のディスク感受性試験は、FOMとの併用に最適な薬剤を選択する上での簡便なスクリーニング試験法である。

## 028 担癌患者を主とした重症感染症に対するFOM+FMOX時間差攻撃療法にステロイド少量短期間加えた治療—多施設共同試験

一木昌郎<sup>1)</sup>・林 泉<sup>1)</sup>・宇塚良夫<sup>2)</sup>  
野口行雄<sup>3)</sup>・宍戸晴美<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 癌研究会附属病院

<sup>2)</sup> 帝京大学市原病院

<sup>3)</sup> 埼玉県立ガンセンター

<sup>4)</sup> 国立療養所東京病院

目的: 重症感染症に対するFOM+FMOX時間差攻撃療法にステロイド少量短期間加えた治療の臨床的検討を多施設共同試験で行う。

対象: 上記4施設に入院中の重症感染症患者で、基礎に肺癌25例、その他の悪性腫瘍5例を含む呼吸器を主とした重症感染症39例(男性32例、女性7例、平均66歳)である。

方法: FOM 2gをone shot静注(15例)または点滴(24例)にて投与し、60分後にFMOX 1g(4例)、2g(35例)を60分間で点滴静注した。FMOXのボトルに水溶性プレドニン(27例)1回10mg、ハイドロコチゾン(12例)300mgを3日間加えた。

成績: 細菌学的効果; 治療前喀痰等から分離された菌はMRSA 10株を含む31株であったが、消失12、菌交代7、減少8、不変4(消失率=61.3%)であり、MRSAは50%消失した。治療後出現菌は *P. aer.*

uginosa 4 株, MRSA 2 株を含む 8 株であった。

臨床効果: 著効 9, 有効 21, やや有効 6, 無効 3 (有効率 76.9%) であり, FOM one shot 静注群で著効率 47%, 有効率 86.7% と高かった。有効群では 3 日目までに下熱し, CRP は 10 mg/dl 以下に下がるが, 白血球数は 3 日目では無効群よりやや高く, 7 日目以後下がる。

副作用: 臨床的副作用は認められなかった。臨床検査値において GOT・GPT が軽度上昇したものの 5 例, GPT・ALP 軽度上昇 1 例あった。ステロイドによる悪影響はなかった。

結語: 担癌患者などの重症感染症に対し, FOM + FMOX 時間差攻撃療法にステロイド少量短期間加える治療はきわめて有用である。

## 029 セフェム剤の目的別分類

石橋貞良

岩手県立大病院薬劑科

近年, セフェム系第三世代の乱用で起こったと言われる MRSA 菌感染症の治療に困窮し, 従来, 副作用が強いことから筋注だけが認められていたバンコマイシンとアルベカシンが, MRSA 菌に対し強い感受性があることから静注も認められたことにより, 上記感染症であればただちにこれらの薬剤を使用しているのが一般病院の現状である。しかし, 演者はバンコマイシンとアルベカシンの腎臓に対する副作用の強いことが言われていることから, これらの薬剤を使用せず, 下記の療法を提案し良い結果を得ている。

1. 感受性ディスクは, ペーパー上の結果報告だけに頼らずディスクを実際自分の目で観る。
2. 経口投与のできる患者には, 極力最初から注射剤を使用せず経口投与から初める。
3.  $\beta$ -ラクタム環のついている抗生物質, いわゆるペニシリン系, セフェム系, カルバペネム系, モノバクタム系の薬剤は, たとえ併用療法にも使用しない。

現在, 当院では ST 合剤 +  $\alpha$  によって行っているが, ラストチョイスと考えているバンコマイシン, アルベカシンを用いるに至っていない。また, 現在その内服剤は販売されていないが, フシジン酸が強い感受性を示すことが観察された。

今回, 演者の発表した目的菌別と適用科別に分類されたセフェム系の薬剤の表を正しく使用することにより, 治療上困難な耐性菌の出現の減少が期待できる。以上のことから, MRSA 菌の治療に限らず, その治

療にはただちに新薬に走らず古い薬剤でも十分に治療できることが推測できる。

## 030 抗菌薬の臨床試験における被験者の同意取得状況に関する検討

松島敏春・田野吉彦・木村 丹  
田辺 潤・寒川昌信・原 宏紀  
安達倫文・中村淳一・矢野達俊  
宮澤貞夫・小橋吉博  
川崎医科大学附属川崎病院内科 (II)

平成 2 年 10 月から「医薬品の臨床試験の実施に関する基準」(GCP) にもとづいて, 抗菌薬も臨床試験を行うよう義務づけられている。その一つとして被験者の人権を保護すべく, 被験者の同意を得なければならない。我々は文書にて同意を得ることとし, その結果, どれくらいの頻度で同意が得られ, どのような人から同意が得られないかを知ることを目的として, prospective な検討を行ってきた。

平成 2 年 10 月から 4 年 12 月までの 27 か月間に当科に入院し, 試験抗菌薬投与の対象と考えた 137 名の患者で, 回収した同意書のファイルを検討し, 同意の得られなかった患者については, その背景を検討した。また 4 年 12 月の段階で医師の説明状況を GCP にのっとりて作製したアンケート票で調査し, 口頭にて同意を得ている某国立大学内科の説明状況とも比較した。その結果 137 名の患者のうち 134 例で同意が得られていた。1 例は開始翌日配偶者が中止を申し込んできた。この 1 例を含み同意の得られなかった 4 例では, 性格やそれまでの既往の医療に対する不満が理由であった。無記名でのアンケート調査では, 説明はしてあるものの必ずしも十分とはいえず, 某国立大学の方でより十分な説明がなされていた。文書で同意が得られる率は 137 例中 133 例, 97% と予想していたよりはるかに高く, この方法による同意取得が可能であると考えられる。今後は説明を詳しくする努力や, 患者自身からの同意を得る努力が必要と考えた。

## 031 臨床分離緑膿菌の各種抗菌剤に対する薬剤耐性および交叉耐性について

宮田愛子・原 哲郎  
田村 淳・河原條勝己  
明治製菓薬品総合研究所

目的: 臨床分離緑膿菌 305 株の薬剤耐性状況を調べるため主に  $\beta$ -ラクタム, アミノ配糖体の薬剤感受性

および交叉耐性について検討した。また、 $\beta$ -ラクタマーゼ、アミノ配糖体不活化酵素の検討も実施したので、合わせて報告する。

方法: 1990~1992年に臨床材料から分離された緑膿菌305株を用いた。MIC測定は、化学療法学会標準法に従い寒天平板希釈法で行った。測定薬剤はPIPC, SBPC, CPZ, CAZ, CPM, AZT, IPM, CFS, AMK, ASTM, ABK, GM, TOB, ISP, DKB, OFLX, FOMの計17薬剤を用いた。 $\beta$ -ラクタマーゼについては、各菌株より抽出した粗酵素液を用いUV法でCETの分解活性をみた。アミノ配糖体不活化酵素については、耐性菌数株について抽出した粗酵素液を用い、Bioassay法で行った。血清型別は、メיאッセイ緑膿菌を用いて測定した。

結果および考察:  $\beta$ -ラクタム間で交叉耐性が認められたが、その中でIPMと他の $\beta$ -ラクタムとは交叉耐性が認められない株も多かった。またアミノ配糖体間でも交叉耐性が認められたが、アミノ配糖体と $\beta$ -ラクタムあるいはIPMとは交叉耐性が認められない株も多かった。すなわち、CAZ<sup>r</sup> ( $\geq 12.5 \mu\text{g/ml}$ ) 75株、IPM<sup>r</sup> ( $\geq 12.5 \mu\text{g/ml}$ ) 89株がCAZ<sup>r</sup>+IPM<sup>r</sup>になると49株に減少した。また、DKB<sup>r</sup> ( $\geq 12.5 \mu\text{g/ml}$ ) 63株がDKB<sup>r</sup>+CAZ<sup>r</sup>になると32株、DKB<sup>r</sup>+IPM<sup>r</sup>で31株に減少した。また、3剤耐性のCAZ<sup>r</sup>+IPM<sup>r</sup>+DKB<sup>r</sup>は20株と減少した。したがって、CAZ, IPM, DKBの3剤の使い分けが耐性菌に対しても有効であると考えられた。CAZのMIC値から21株の菌を選び $\beta$ -ラクタマーゼ活性を測定したが、CAZのMIC値と $\beta$ -ラクタマーゼ活性とはおおむね相関が認められたが、例外も数株存在した。また、DKB耐性菌のアミノ配糖体不活化酵素による不活化を検討したが、従来言われているアセチル化酵素活性はほとんど認められなかった。

### 032 緑膿菌のO-側鎖の形態と血清抵抗性、薬剤感受性への影響

三角博康・重松美加・江口克彦

岡田 薫・澤江義郎

九州大学医学部第一内科

緑膿菌のLPSの長さを比較すると長いタイプ、短いタイプおよび中間タイプの3種に分けられる。これらのちがいはO-polysaccharide side chains (O-側鎖)の長さによって決定されている。同時に急速凍結置換固定法を用いた電顕的観察により菌体外膜表層に認められる線維状構造との相関が明らかとなり、O-

側鎖の長い株では外膜の外側に30 nm程度の長さの線維状構造として観察される。一方、O-側鎖の短い株、あるいは中間型の株ではこの線維状構造は観察されない。今回、緑膿菌臨床分離株を線維状構造の認められる群(A群)と認められない群(B群)に大別し、これらの形態的差異が血清抵抗性、薬剤感受性におよぼす影響を検討した。

血清抵抗性はSerum bactericidal assayで比較した。薬剤感受性は日本化学療法学会標準法に準じて $\beta$ -ラクタム系(PIPC, CPZ, CAZ, AZT, IPM)、アミノ配糖体系(GM, AMK, TOB)、new quinolone系(OFLX, CPM, TFLX)薬のMICを測定した。

結果はA群がB群に比べserum-resistantであった。PIPC, CPZ, CAZ, AZTの $\beta$ -ラクタム系薬ではA群がB群より耐性側にあるものが多く、アミノ配糖体系、new quinolone系では両群に差は認められなかった。

以上の結果から長いO-側鎖は血清抵抗性に関与しており、抗生剤に対する抵抗性には薬剤によって異なっているといえる。

### 033 緑膿菌における栄養要求性とカルバペネム系薬剤の抗菌力

長曾部紀子・野々山勝人・井田孝志

岡本了一・井上松久

北里大, 医, 微生物

緑膿菌に対するカルバペネム系薬剤の外膜透過性は、他の $\beta$ -ラクタム剤より優れているにもかかわらず、化学療法学会標準法に従った培地では、本来の抗菌力が評価され難いことを大屋等(AAC 35)は報告している。我々は塩基性物質を含んでいない最小培地(M9)では、緑膿菌に対するIPMの抗菌力が増強され、その原因は酵素誘導能の効率の悪さであることを報告した。今回、他のカルバペネム系薬剤を新たに加え、その抗菌力に影響をおよぼす因子についてさらに検討した。

1992~1993年度臨床分離菌202株について栄養要求性を検討したところ、1株はメチオニン、2株はメチオニンとスレオニン要求性であり、残りの199株は非栄養要求性を示した。対照として用いた臨床分離大腸菌の栄養要求性株は63株中21株(33%)であった。臨床分離菌に対するIPM, MEPM, PAPMの抗菌力はMHに比べM9で著明に増強され、特にMEPM感受性菌でその傾向が強く見られた。一方、CAZやPIPCのMICは、中等度耐性菌で若干の変動

が認められたが、ほとんどの菌株では培地による MIC の変動は見られなかった。M9 培地で IPM と MEPM の抗菌力の差を PAO 1 を用いて調べたところ、IPM と MEPM 両薬剤の  $\beta$ -ラクタマーゼ誘導能は蛋白当たりの活性に差は認められなかったが、1 ml 当たりの活性では IPM > MEPM であった。さらにディスク法により、MEPM のディスク周囲に 2 重リングが形成され、それは M9 で増大された。この時、2 重リング中には形態の変化を受けた生菌が確認された。以上の結果から、IPM に比べ M9 での MEPM の抗菌力の強さは、培地中の  $\beta$ -ラクタマーゼの誘導能 (ml 当たり) の差違と MIC を求める時の 2 重リングが形成されるより少ない菌数の場合に認められることがわかった。

#### 034 最近分離された緑膿菌の薬剤感受性と血清型別について

杉田久美子・三村嘉寿男  
田吹和雄・西村忠史  
大阪医科大学小児科

新しい  $\beta$ -ラクタム剤、キノロン剤の開発の半面、緑膿菌薬剤耐性化が問題となっており、緑膿菌感染症は今日でも発症するときわめて難治性である。したがって、本症の治療に際しては分離緑膿菌の薬剤感受性の動向を考慮する必要がある。そこで、1988 年～1991 年に分離された緑膿菌の薬剤感受性を調べ、1987 年以前と比較し、その血清型、Protease, Elastase 産生能について検討した。

1988 年～1991 年に分離した 103 株に対する PIPC, CFS, CAZ, IPM/CS, AZT, GM, TOB, AMK, NFLX の MIC<sub>90</sub> はそれぞれ 12.5, 3.13, 3.13, 3.13, 12.5, 6.25, 1.56, 6.25, 1.56 で、TOB, NFLX の抗菌力がもっとも優れていた。しかし MIC が 100  $\mu$ g/ml 以上の高度耐性株もすべての薬剤で認められた。次に PIPC, CFS, GM, TOB, AMK において MIC<sub>90</sub> の年次的推移をみると、1983 年以前と比較すると 1984 年以降では 1～2 管悪くなっていた。IPM, AZT, NFLX の MIC<sub>90</sub> では、1988 年～1989 年と比較すると 1990 年～1991 年では、1～2 管悪くなっていた。血清型について年次的推移をみると、1985 年以前では G, I, A, B 型が、1986 年では E, H 型が、1988 年～1989 年では G, I 型が優位であった。1990～1991 年では E 型が 44.4% ともっとも多く、次いで I, B 型であった。血清型と薬剤感受性の関係については、GM, TOB, AMK, PIPC, AZT において E 型が

他の血清型に比較して高い MIC 値を示した。Protease, Elastase 産生能では、Protease, Elastase 産生株は、全年度で 77.4～98.7% を占めたが、1988 年以降で、Protease 産生, Elastase 非産生株が増加していた。

結語: 1976～1991 年の臨床分離緑膿菌に対する有効薬剤の抗菌力を調べたが 1988 年以降各薬剤とも耐性化傾向を認めた。

#### 035 Imipenem 耐性緑膿菌の薬剤感受性と ceftazidime と tobramycin の併用効果

高橋公毅・渡辺正治・菅野治重  
千葉大学医学部附属病院検査部

IPM 耐性緑膿菌の薬剤感受性、IPM 耐性緑膿菌の産生する  $\beta$ -lactamase の種類および集塊とした IPM 耐性緑膿菌に対する CAZ と TOB の併用効果について検討したので、その成績を報告する。

成績:

##### 1. IPM 耐性緑膿菌の年度別分離頻度

1988 年 4.9%, 1989 年 7.3%, 1990 年 12.0%, 1991 年 14.3% および 1992 年 18.1% で、IPM 耐性緑膿菌は年毎に増加していた。

##### 2. IPM 耐性緑膿菌の薬剤感受性

Cation-adjusted Mueller-Hinton broth を用い、微量液体希釈法により測定した。CAZ, PIPC, TOB, AMK および ISP の MIC range は、それぞれ 2～64, 4～>128, 1～>32, 2～>32 および 1～>32 であった。

IPM 耐性緑膿菌に対する  $\beta$ -lactam 剤の 2 剤間の MIC の相関をみてみると、IPM 耐性株では、CAZ と PIPC は交差耐性を認めない株が多く、特に CAZ は 70% 以上の株が感受性を示し、抗菌力ではもっとも優れた成績であった。10 薬剤に対する IPM 耐性緑膿菌 28 株の耐性率をみてみると、 $\beta$ -lactam 剤の中では、CAZ が 28.6% でもっとも低く、アミノグリコシド系薬剤では、TOB が 39.3% でもっとも低く、FOM に対しては 100% が耐性株であった。

##### 3. $\beta$ -lactamase の種類

IPM と CAZ に感受性を示す 2 株、IPM 耐性で CAZ に感受性を示す 2 株および IPM と CAZ に耐性を示す 2 株を用いた。IPM を基質とした場合、6 菌株はいずれも IPM を分解できなかった。CER を基質とした場合には、5 株に CER 分解能が認められ、特に IPM と CAZ の両剤に耐性を示す 2 株には強い活性が認められた。



## 4. 集塊菌に対する併用効果

IPM 耐性緑膿菌 No.23 株の集塊菌に対する CAZ と TOB の併用効果は、CAZ と TOB の同時作用で殺菌効果が一番優れており、時間差併用では、CAZ を先行作用させる方が TOB を先行作用させるよりも優れた殺菌効果が認められた。

## 036 抗癌剤投与担癌マウスにおける cefodizime (CDZM) と sisomicin (SISO) の緑膿菌感染に対する併用治療効果

古川哲心・宇治達哉

三宅美行・兵頭昭夫

大鵬薬品工業株式会社製薬センター化学療法剤研究所

出口浩一

東京総合臨床検査センター研究部

目的: 臨床分離緑膿菌に対する CDZM とアミノ配糖体系抗生剤 (AGs) の *in vitro* 併用で優れた効果の得られることを共同研究者の出口らが報告している。今回、*in vivo* による併用効果について抗癌剤投与担癌マウスを用いた感染治療実験を行い、またそのメカニズムの解明についても若干の検討を行った。

方法: 薬剤は AGs として sisomicin (SISO) および dibekacin (DKB) を用いた。*In vitro* 併用効果 (FIC index) は checkerboard 法により行った。感染治療実験には Ehrlich 腹水癌マウスに cyclophosphamide を投与したものをを用い、CDZM 耐性、AGs 感性の緑膿菌を腹腔内に感染させ、5 日後の生存率より ED<sub>50</sub> を求め、FED index を算出した。またマウス腹腔内菌数についても検討した。併用におけるメカニズムの解明として *in vitro* PAE ならびにマウス PMN と薬剤単独および併用による協力殺菌作用について検討を行った。

結果: 供試した 27 株の緑膿菌に対して全株に *in vitro* 併用効果が認められ、平均 FIC index は CDZM+SISO で 0.419, CDZM+DKB で 0.594 であった。感染治療実験に用いた 5 株に対して FED index は CDZM+SISO が 0.27~0.63, CDZM+DKB が 0.19~0.92 を示し、全株に併用効果が認められた。FED index で両併用で相乗を示した *P. aeruginosa* 46078 株を用いて行ったマウス腹腔内菌数測定ではともに併用で著しい菌数減少が認められた。また PAE の検討では AGs 単剤の PAE を CDZM 添加により 1.1~2.8 倍延長させた。SISO または DKB と CDZM の併用でもっとも FED index の優れていたそ

れぞれ 46027 株および 46078 株に対する PMN の貪食能は併用により著しく強められた。

考察: *In vivo* における CDZM と AGs との併用治療実験でも *in vitro* で期待される効果が得られた。その効果の解明についての検討で、PMN による貪食殺菌は併用により強められ、また PAE では AGs に CDZM を添加することにより延長が認められた。これらのことが今回 *in vivo* で *in vitro* と同様の優れた併用効果が得られた理由のひとつと考えられた。

037 抗緑膿菌 lipopolysaccharide (LPS) モノクローナル抗体の *in vitro*, *in vivo* における抗菌学的特性の解析

秋山盛登司・田尾 操・宇都宮嘉明

大石和徳・高橋 淳・松本慶蔵

長崎大学熱帯医学研究所内科

Matthew Pollack

Uniformed services university of health science

はじめに: 我々は今回抗緑膿菌 LPS モノクローナル抗体である Ld 3-2 F 2 の *in vitro*, *in vivo* における抗菌活性を解析した。さらに第三世代セフェム剤である ceftazidime との併用効果も検討しその結果興味ある結果が得られたので報告する。

方法: *In vitro* assay においては opsonophagocytic assay にて検討し、*in vivo* assay では mouse thigh infection model を応用した。なお *in vivo* ではそれぞれ正常マウス、好中球減少マウスにおいて検討した。

結果: *In vitro* において Ld 3-2 F 2 は緑膿菌に対して補体依存性の opsonophagocytic killing が認められた。さらに 50% の人吸収血清 (補体) 濃度において好中球の非存在下でも緑膿菌の殺菌が観察され新しい知見を得た。またそれぞれ sub-optimal な濃度での Ld 3-2 F 2 と ceftazidime 間において明らかな抗菌力の相乗効果が認められた。Mouse thigh infection model では Ld 3-2 F 2 i.v. 投与群ではコントロール群に比較し thigh 内の菌数、生存率とも明らかに有意な投与効果を示した。*In vitro* におけると同様に抗菌作用において ceftazidime との併用効果を認めた。

考察: 以上の結果より抗緑膿菌 LPS モノクローナル抗体は *in vitro*, *in vivo* において明らかな抗菌作用を示した抗生剤との併用効果の可能性を示した。また thigh infection model は *in vivo* においてモノクローナル抗体の効果を評価する上で有用なモデルと考えら

れた。

038 緑膿菌に対するFOMとキノロン剤との併用効果（キノロン剤の殺菌力におよぼすFOMの影響）

高田利彦・高瀬由美子・高山吉弘  
新井田昌志・天野昭一・吉田 隆  
明治製菓薬品総合研究所

目的: 現在, 難治性感染症の原因菌の1つである緑膿菌において, 各種薬剤の耐性化が進み, 臨床の場においても問題視されている。そこで今回我々は, 緑膿菌に対するFOMとキノロン剤の併用効果をキノロン剤の殺菌力におよぼすFOMの影響という観点から検討した。

結果: 緑膿菌に対するキノロン剤の殺菌力におよぼすFOMの影響について検討した結果, 次の成績が得られた。①使用したすべてのキノロン剤において, FOM前処理により殺菌力の増強が認められた。②FOM前処理により認められたキノロン剤の殺菌力の増強効果は, PIPC, CAZ, IPM/CS, GMおよびEMの前処理では, 認められなかった。③マウス感染治療実験においても優れた併用治療効果が認められた。④FOM前処理菌に対するキノロン剤作用時の形態観察では, FOMおよびキノロン剤単独作用時に比較し, 数多くの溶菌像が観察された。⑤併用効果の認められたFOMの作用時において, 外膜蛋白には変化が認められないものの, 菌体表層を疎水性に傾けることがわかった。

考察: FOMの前処理によりキノロン剤の緑膿菌に対する殺菌力が増強されることが, 形態観察を含めた *in vitro* および *in vivo* において認められた。また, 併用効果の認められたFOMの作用により菌体表層を疎水性に傾けることがわかった。しかし, この併用効果がFOMの作用により菌体表層を疎水性に傾けることと関係があるのかどうか, あるいは他のメカニズムによるものなのか, さらに検討が必要であると考えらる。

039 緑膿菌全身感染モデルにおける抗菌薬と抗exotoxin Aモノクローナル抗体との併用効果

宮崎修一・三宅美行・東 康之  
山口恵三・五島瑛智子  
東邦大学医学部微生物学教室

目的: *P. aeruginosa* 感染症は, 抗緑膿菌剤で治療しても満足できる治療効果が得られない場合があり, 難治性細菌感染症の代表である。その原因の1つとして, 本菌種が多くの毒性物質を産生することがあげられよう。それら産生物質の中で, exotoxin Aはマウスに対してもっとも毒性が強い。今回, 抗exotoxin Aモノクローナル抗体を使用する機会を得たので, その有用性を検討した。

材料と方法: 菌株はexotoxin Aを産生する *P. aeruginosa* PA 103株(親株)とexotoxin Aを産生ほとんど産生しなくなったPA 103-29株(変異株)を用いた。これら2株によるマウス全身感染モデルにmeropenem, gentamicinまたはモノクローナル抗体単独投与群とモノクローナル抗体とこれら抗菌剤併用投与群における生残率と死亡直前マウス各臓器中生菌数およびプラズマ中exotoxin AとLPS量を測定した。なお, 抗モノクローナル抗体は住友製薬㈱より分与を受けた。

結果および考察: PA 103株とPA 103-29株のLD<sub>50</sub>はそれぞれ $2.1 \times 10^6$ と $2.7 \times 10^7$ cfu/mouseとなり, exotoxin Aを産生する株の菌力が約10倍強いことを確認した。そこで, 感染菌量をほぼ10LD<sub>50</sub>に設定し, meropenemとgentamicinのED<sub>50</sub>を求めたところ, PA 103株感染群ではそれぞれ0.625と0.198mg/mouseであり, PA 103-29株感染群ではそれぞれ0.098と0.031mg/mouseとなった。次に, それぞれのED<sub>50</sub>値の4分の1量の抗菌剤とモノクローナル抗体(10μg/mouse)を併用投与した群では, モノクローナル抗体および抗菌剤単独投与群に比べ生残率が高くなった。この結果は抗菌剤との併用投与によりモノクローナル抗体の有用性を示唆している。また, 死亡直前のマウスプラズマ中のexotoxin A量を測定したところ, モノクローナル抗体投与群ではexotoxin Aの検出されないマウスの割合が多い傾向を認めた。

## 040 臨床分離緑膿菌におけるキノロン耐性機構の検討

北村昭浩・星野一樹・佐藤謙一  
早川勇夫・長田恭明  
第一製薬探索第一研究所

目的: 緑膿菌におけるキノロン耐性機構に関しては、標的酵素である DNA gyrase の変異, 外膜の変異の報告がされており, キノロン高度耐性株はこの2種の耐性機構をとともに獲得することにより耐性化していると考えられている。今回, 我々は臨床分離キノロン耐性緑膿菌より DNA gyrase を精製し, DNA gyrase の変異によるキノロン高度耐性化について検討したので報告する。

方法: 感受性測定法: 日本化学療法学会標準法に従って測定した。DNA gyrase 精製法およびキノロンの DNA gyrase 阻害活性の測定法; 井上らの方法<sup>1)</sup>により行った。

結果および考察: 臨床分離キノロン耐性緑膿菌4株および標準株 (PAO 1株) より DNA gyrase を精製し, これらの DNA gyrase に対する各種キノロンの阻害活性値を測定した。その結果, 4株中3株より精製した DNA gyrase に対するオフロキサシン (OFLX) の阻害活性値は, PAO 1由来変異株 (gyr A) より精製した DNA gyrase に対する阻害活性値とほぼ同等 (標準株の約8倍) であったのに対し, 他の1株 (DNS 5002) より精製した DNA gyrase に対する OFLX の阻害活性値は標準株の約400倍に上昇していた。また, DNS 5002株および PAO 1株より精製した DNA gyrase のサブユニット A および B の組み合わせを変えて再構成した DNA gyrase に対する OFLX の阻害活性を測定した結果から, DNS 5002株の DNA gyrase はサブユニット A の変異により高度耐性化していることが明らかとなった。以上の結果より, 臨床分離緑膿菌には少なくとも2種のサブユニット A の変異した DNA gyrase が存在しており, キノロン高度耐性化には DNA gyrase の高度耐性変異も関与していることが確認された。

1) Inoue Y et. al. 1987. J. Bacteriol. 169: 2322 ~2325

041 緑膿菌における  $\beta$ -lactamase 誘導に関する検討

荒木春美・大懸直子・堀りつ子  
南新三郎・保田 隆・渡辺泰雄  
富山化学工業株式会社総合研究所

目的: これまで我々は, *E. cloacae* や *S. marcescens* の誘導  $\beta$ -lactamase が菌体外に漏出し, 感染巣内に長時間残存することを報告した。今回, 臨床材料からの分離頻度が高い緑膿菌を用い, 誘導  $\beta$ -lactamase の菌体外への漏出とその安定性について検討した。

材料と方法: 使用薬剤として,  $\beta$ -lactamase 誘導能の異なる IPM, CAZ, PIPC を用いた。臨床分離緑膿菌28株を用い, 薬剤添加 (各 1/4 MIC) 24時間後の培養液中  $\beta$ -lactamase 活性を菌体内・外に分けて測定した。この28株の中から3剤に感受性の誘導型  $\beta$ -lactamase 産生株 (S-1278) を選び, 0.1~12.5  $\mu$ g/ml の薬剤存在下で培養し, 24, 48時間後の菌体内外の  $\beta$ -lactamase 活性を測定した。さらに, ラット pouch 内に S-1278 株を感染させ, 薬剤投与 (20 mg/kg, i.v.) 後の pouch 内  $\beta$ -lactamase 活性を菌体内・外に分けて経日的に測定した。 $\beta$ -lactamase の安定性は, ヒト各種体液 (血清, 尿, 胆汁, 腹水, 胸水) を用いて検討した。 $\beta$ -lactamase 活性は CER 100  $\mu$ M を基質とする UV 法にて測定した。

結果および考察: 臨床分離緑膿菌28株の薬剤作用時の菌体内・外  $\beta$ -lactamase 活性は, 多くの株で IPM > CAZ > PIPC の順に高く, 誘導能の高い薬剤作用時に  $\beta$ -lactamase が菌体外へ漏出しやすいことが示された。S-1278 株に種々の濃度の薬剤を作用させた場合, 0.2  $\mu$ g/ml 以上の IPM 作用時に48時間後まで高い菌体外活性が認められた。ラット pouch 内感染実験においても, IPM 投与群の pouch 内で3日後まで高い菌体外活性を認めた。また, 緑膿菌  $\beta$ -lactamase は, 胆汁を除くヒト各種体液中において比較的安定であった。

以上, 緑膿菌に  $\beta$ -lactamase 誘導能の高い薬剤を作用させた場合, 誘導産生された  $\beta$ -lactamase が菌体外へ漏出し, 感染巣内に長時間残存する可能性が示唆された。

042 7位側鎖にカルボキシル基を持つセフェム剤に対する耐性に関する $\beta$ -ラクタマーゼの性質

東 康之・若林亜紀子  
渡辺裕二・峯 靖弘  
藤沢薬品開発第一研究所

目的:我々は第27回緑膿菌感染症研究会において、7位側鎖にカルボキシル基を持つセフェム剤に特異的に耐性を示す *Pseudomonas aeruginosa* を見出し、その耐性が主に $\beta$ -ラクタマーゼによることを報告した。今回、それらの菌株の産生する $\beta$ -ラクタマーゼの諸性質を明らかにした。

方法: *P. aeruginosa* #11005 株は米国、ニュージャージー州で分離された株である。本菌株より、硫酸分画、疎水性クロマト、ゲル濾過、クロマトフォーカシングにより $\beta$ -ラクタマーゼを均一精製した。

結果: *P. aeruginosa* #11005 株から精製した酵素の分子量は32Kであった。基質特異性はCERよりもABPCを、ABPCよりもMIPICをより高率に分解し、OXA型PCaseの性質を示した。また、CAZはこの酵素によつて緩やかにではあるが分解された。既知のOXA型PCaseと比較すると、等電点はOXA-2と同じであり、低濃度でのCAZ分解活性では、OXA-1, 3~7はCAZを分解しなかったのに対し、*P. aeruginosa* #11005 株の産生する $\beta$ -ラクタマーゼおよびOXA-2のみ、CAZを分解した。また、OXA-1, 3~7はCAZに対する親和性が低かったが、*P. aeruginosa* #11005 株の産生する $\beta$ -ラクタマーゼはCAZに対する親和性が高かった。

考察:以上の結果から本酵素はMatthewのいうOXA型のPCaseに分類されるものと考えられた。セフェム剤は緑膿菌の外膜透過性が低いとされていることから、本菌株においては、加水分解速度は小さいものの薬剤に対する親和性が高い $\beta$ -ラクタマーゼのために、耐性化していると考えられた。

043 緑膿菌プラスミド由来Oxyiminocephalosporinase-II遺伝子の他菌種での発現について

角田光子・伊豫部志津子  
群馬大学・医学部・薬剤耐性実験施設  
三橋 進  
エビゾーム研究所

Oxyiminocephalosporinase IIはいわゆる、extended-spectrum  $\beta$ -lactamase と呼ばれるもののうち、もっとも多種類の $\beta$ -lactam 剤を水解する酵素である。この酵素をコードする遺伝子は緑膿菌で見出されたが、そのプラスミド pMS 350 には挿入された形で存在し、由来が緑膿菌以外の菌種にある可能性もある。今回我々は、pMS 350 の Oxyiminocephalosporinase-II 遺伝子をクローニングし、臨床分離腸内細菌科の菌種での発現をみたので報告する。

方法:緑膿菌プラスミド、pMS 350 から4Kbの制限酵素断片を得、大腸菌ベクター pHSG 398 につなぎ、大腸菌においてIPM, CAZ, 耐性を発現するクローンを分離した。さらにこの断片を広宿主域プラスミド pMS 360 につなぎなおし各種臨床分離腸内細菌科の菌種 (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *S. marcescens*, *E. cloace*, *C. freundii*) での酵素活性とMICについて検討した。酵素の基質としてCER, IPM を使用した。 $\beta$ -lactam 剤としてCAZ, AZT, CTX, CFX, PIPC, CBPC, IPM, MPM, FCE 22101, SY 5555, CP 70429 を使用した。

結果と考察:各種腸内細菌プラスミド pMS 353 保有菌では $\beta$ -lactamase 比活性は10~20倍以上あがりました。プラスミド保有菌はセフェム剤、カルバペネム剤、ペネム剤にも耐性化した。これらの $\beta$ -ラクタム剤の使用により選択され、種々の菌種においても発現することがわかり、この種の遺伝子が腸内細菌科菌種においても広がる可能性が示唆された。

#### 044 当院における臨床分離緑膿菌の感受性および分布状況について

富沢真澄

いわき市立総合磐城共立病院中央検査部

椎木一雄・菅野和幸

同 口腔外科

目的: 緑膿菌による感染症は、難治感染の原因になりやすく、また院内感染の原因菌として重要な菌種である。今回当院における緑膿菌の現状を分布状況、血清型別、感受性より検討したので報告する。

方法: 菌株は、臨床由来 120 株を使用した。ただし重複を避けるため 1 患者 1 菌株とした。感受性の測定は寒天平板希釈法にて 79 株を使用し、菌量  $10^6$  CFU/ml,  $37^{\circ}\text{C}$  18 時間培養後判定した。血清型別には、モノクローナル抗体メッセイ緑膿菌 (明治製薬) を使用した。

結果およびまとめ: 分離頻度は、10.5% で大部分が入院由来であった。血清型別では、G 型 36.4%, E 型 16.1%, B 型 12.1%, A 型 10.5% の順であり、G 型, E 型, A 型では喀痰, B 型では尿より多く検出された。感受性の  $\text{MIC}_{80}$  は, GM, AMK, ABK, 12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , TOB 3.13  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , IPM, CS-533 12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , SM-7338 6.25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , NFLX, OFLX 3.13  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , LFLX 6.25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , TIPC, PIPC, LMOX, MINO, 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , CPZ 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , CAZ 12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , AZT 6.25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , FOM > 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であった。抗 MRSA の薬剤として VCM の使用と共に菌交代としての緑膿菌の増加が危惧され、当院でも菌交代の症例がみられた。緑膿菌の院内感染では、患者に大きな負担を強いることになりそのため感染経路の遮断が重要である。

#### 045 臨床分離緑膿菌のヒト好中球による *in vitro* における sero type, pyocin type および外膜蛋白の変化と薬剤感受性について

長谷川美幸・小林寅詔・西田 実

三菱油化ビーシーエル・化学療法研究室

臨床分離緑膿菌に各種の抗緑膿菌薬を  $35^{\circ}\text{C}$  で接触させるとその一部の分離菌のコロニー形態が変化し血清型、ピオシン型の異なった細胞が出現することを報告した。

本報では菌にとって“stress”となり得る感染宿主の成分、血清存在下での好中球の影響について検討を加えた。ヒト新鮮好中球  $1.0 \times 10^7/\text{ml}$  に試験菌の *Pseudomonas aeruginosa* をそれぞれ 40% ヒト血清の存在下で接触させ  $35^{\circ}\text{C}$ , 24 時間内に再分離した本菌の血清型、ピオシン型、薬剤感受性および外膜蛋白の変化について検討した。薬剤感受性は PIPC, CFS, CAZ, IPM, GM, NFLX および PL-B について測定した。

好中球処理による血清型変化に伴い各性状が比較的高率に変化することが判明した。さらに、これら血清型の変化は単一なものではなく、いくつかの血清型が同時に出現する例があった。*P. aeruginosa* の type strain ATCC 27853, MCTC 10490 においても変化が認められ全般的に typable に変化する傾向となった。現在までの検討において抗菌剤処理等では type strain の血清型は変化せず、その他の株も non type に変化するものが多く今回は異なる挙動を示した。

TA 21 株を好中球処理し、1, 3, 24 時間後の各種性状を比較したところ、血清型は変化しないがピオシン型が 24 時間後に 29 型から 5 型に変化し外膜蛋白下の構成量が減少した。しかし薬剤感受性に差は認められなかった。

IS 株では 1, 3, 24 時間後に血清型、ピオシン型の多様な変化に伴い GM の耐性化、PIPC, NFLX の感性化等および外膜蛋白下の消失や構成量減少が見られた。同様に著明な血清型変化を示した IR 株では、性状変化に伴い PL-B の耐性化、 $\beta$ -lactam 剤、GM に感性化する傾向があり、これらの外膜蛋白は元株に認められない  $\text{D}_2$  蛋白が検出された。

*P. aeruginosa* の一部の株は血清存在下での好中球処理により外膜蛋白または lipopolysaccharide の血清型抗原決定基に変化を生じ、porin 構成部の変化による薬剤透過変動から薬剤感受性が変動するものと推測された。

#### 046 臨床分離緑膿菌の抗緑膿菌薬による *in vitro* serotype, pyocin type および薬剤感受性の変化と外膜蛋白との関連

小林寅詔<sup>1)2)</sup>・長谷川美幸<sup>1)</sup>・西田 実<sup>1)2)</sup>

宮崎修一<sup>2)</sup>・五島達智子<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 三菱油化ビーシーエル・化学療法研究室

<sup>2)</sup> 東邦大学医学部微生物学教室

臨床分離緑膿菌には各種の抗緑膿菌薬の存在下で、*in vitro* および *in vivo* で serotype を含む epi-

demiological typesが変化しやすい“convertible cells”と安定な“non-convertible cells”が存在することがある。

今回は、*in vitro*において、各種抗緑膿菌薬の接触により serotype やコロニー形態が変化した緑膿菌を対象として、pyocin type や抗菌薬感受性の変化と外膜蛋白構成の関連性について詳細に検討した。

その結果、serotype の変化に伴い、pyocin type、薬剤感受性が変化する例が多く認められた。これらの変化は抗緑膿菌薬の種類に関係なく生じる。また薬剤感受性について感性菌は耐性化し、耐性菌は感性菌に変化する傾向もみられた。このような現象に伴う外膜蛋白の構成の変化では、従来報告がある 45 Kd の D<sub>2</sub> 蛋白の欠損による一部の薬剤に対する耐性化や外膜蛋白全体の構成量の増減が認められた。従来試験菌として用いた 1 R 株は各種抗緑膿菌薬に対する耐性株で PIPC を 2 MIC で接触させると IPM, CAZ, GM に感受性となり欠損していた D<sub>2</sub> 蛋白が認められた。

#### 047 Ampicillin と cefozopran (SCE - 2787) 2 剤同時投与時の髄液移行

大倉完悦・春田恒和

黒木茂一・西尾利一

神戸市立中央市民病院小児科

小林 裕

前神戸市立看護短期大学

Cefozopran (CZOP; SCE-2787) は化膿性髄膜炎の主要起炎菌に対する抗菌力が優れている。黄色ブドウ球菌性髄膜炎家兎における単剤の髄液中移行の成績を第 40 回西日本支部総会で報告した。今回は ampicillin との同時投与時における両剤の髄液中移行について検討した。

方法: 既報のとおり髄膜炎家兎に両剤を 100 mg/kg 混合および単独静注後、経時的に髄液および血液を採取し、HPLC 法で測定した。各濃度値から最高血中濃度 (S-C<sub>max</sub>) および髄液中濃度 (C-C<sub>max</sub>)、AUC 髄液血清比百分率 (AUC 比)、髄液中濃度半減期 (C-T<sub>1/2</sub>) および血中濃度半減期 (S-T<sub>1/2</sub>) を算出した。

結果: CZOP は単剤群 (5 羽) 同時投与群 (5 羽) の順に、S-C<sub>max</sub> 309, 267 μg/ml, C-C<sub>max</sub> 14.4, 16.7 μg/ml, 3 時間までの AUC 比 11.6, 14.5%, C-T<sub>1/2</sub> 149, 173 分, S-T<sub>1/2</sub> 43.6, 48.0 分で、いずれも両群間に有意差がなく、同時群の C-T<sub>1/2</sub> に延長傾向を認

めたのみであった。一方、ABPC は単剤群 (5 羽)、同時投与群 (5 羽) の順に S-C<sub>max</sub> 109, 115 μg/ml, C-C<sub>max</sub> 5.03, 5.58 g/ml, 3 時間までの AUC 比 11.3, 10.3%, C-T<sub>1/2</sub> 42.1, 44.4 分, S-T<sub>1/2</sub> 28.6, 29.5 分で、いずれの項目でも両群間に差を認めなかった。

考察: 以上の結果から、CZOP と ABPC の同時投与がそれぞれの髄液中移行におよぼす影響はほとんどないと考えられた。過去の成績から ABPC と他の β-lactam 剤 2 剤同時投与が髄液中移行におよぼす影響は ABPC により強くみられ、その影響の程度と β-lactam 剤の血中蛋白結合率は相関しないと推定されている。しかし、蛋白結合率の低い CPR では ABPC の髄液中移行が増加したから、蛋白結合率が低い本剤の髄液移行に興味をもたれたが、結果は以上のとおりであった。2 剤投与における髄液中移行の影響は、それぞれの組合せで実験的に検討するほかないと考えられた。

#### 048 抗菌薬の髄液、前立腺移行の検討

牧之瀬信一・後藤俊弘・大井好忠

鹿児島大学医学部泌尿器科

山内大司・萱島恒善

佐賀県立病院好生館泌尿器科

目的: 薬剤の組織移行は、各種感染症の治療効果を左右する重要な因子である。抗菌剤の前立腺移行については多くの報告がみられるが、前立腺組織と前立腺液への移行を同時に検討した報告は少ない。今回、4 種類の抗菌剤について前立腺組織、前立腺液、髄液への移行性について検討し報告した。

対象と方法: 腰椎麻酔または硬膜外麻酔下に経尿道的な前立腺切除術を行った前立腺肥大症患者 42 名を対象に、PIPC (1 g, 30 分点滴)、CTM, OFLX, MINO (200 mg, 単回) 投与後、2.5 時間から 3 時間目に血清、髄液、前立腺組織、前立腺液を採取した。薬剤濃度の測定はすべて bioassay で行い、血清、前立腺組織、髄液内濃度は Agar well 法を、前立腺液内濃度は Paper disk 法を用いて測定した。

結果: OFLX の前立腺組織内濃度と対血清比 (P/S) は 2.85±3.25 μg/g, 2.17±2.13, 前立腺液内濃度と対血清比は 1.23±0.75 μg/ml, 0.94±0.39 とともに良好な前立腺移行を示し、髄液中濃度も 0.61±0.47 μg/ml と低濃度ではあるが髄液への移行が認められた。MINO の前立腺組織内濃度は 1.82±0.51 μg/g と比較的良好な移行を示した。しかし、PIPC

のP/Sは $0.25 \pm 0.22$ と前立腺への移行性は低く、CTMの前立腺組織、前立腺液、髄液内の各濃度は測定限界値以下であった。

まとめ: 4剤のなかで前立腺への移行性をもっとも優れていたのはOFLX, ついでMINOであり、PIPC, CTMの移行性は劣っていた。髄液への移行も前立腺の移行と同様の傾向を示した。

#### 049 唾液によるニューキノロン薬血中濃度モニタリング (TDM) の検討

柴 孝也・進藤奈邦子・坂本光男  
中澤 靖・前澤浩美・吉田正樹  
酒井 紀  
東京慈恵会医科大学第二内科  
斎藤 篤  
東京慈恵会医科大学柏病院総合内科

目的: ニューキノロン薬の吸収・排泄におよぼす制酸剤の影響について種々の検討を重ねている。その際に、唾液中濃度を測定することによりニューキノロン薬の血中濃度モニタリング (TDM) の可能性を知る目的で、血中濃度と唾液中濃度との相関についても検討した。

方法: 使用したニューキノロン薬はすでに臨床使用されているオフロキサシン (OFLX), 開発中のY-26611, Q-35の吸収・排泄について検討した際、あわせて唾液中濃度を測定した。OFLX (N=4), Y-26611 (N=6) そしてQ-35 (N=6) をそれぞれ200mg内服した際の血中、および唾液中濃度をHPLC法により経時的に測定した。

結果: OFLXの血中濃度と唾液中濃度の間には $r=0.91$ と有意な正の相関が認められた。Y-26611は内服初期では血中濃度の10%以下の値であったが、2時間以降では約10%に保たれた。Q-35では内服1時間までは10%以下と低く、2~3時間では56%~98%高くなり、その後比率は低下する傾向が認められた。

考察: OFLX, Y-26611, Q-35について血中濃度と唾液中濃度との相関を検討したところ、高濃度ではバラツキを認められるものの、有意な正相関を認めた。唾液中濃度から血中濃度の類推の可能性が示唆され、採血の困難な患者や外来患者でのTDMへの応用が期待される。

#### 050 細菌内ATP測定による抗菌剤血中濃度測定を試み

吉田正樹\*・進藤奈邦子・坂本光男  
中澤 靖・前澤浩美・柴 孝也  
斎藤 篤・酒井 紀  
東京慈恵会医科大学第二内科  
\*柏病院総合内科

目的: 現在、体液内抗菌剤濃度測定法には、HPLC法とペーパーディスク法が行われている。しかし、経済的、時間的に問題があり、臨床に役立てるには困難が多い。特に、排泄臓器である腎臓に障害のある腎不全患者では、その血中濃度を迅速測定したい場合にしばしば遭遇する。そこで我々は、抗菌剤の体液内濃度を簡便に測定する方法を検討した。

方法: Luciferin - Luciferaseを用いたChemiluminescence法を用いて*E. coli* Kp株の細菌内ATPを測定し、菌数との関係を検討した。一定量のOfloxacin (OFLX)中に検定菌*E. coli*を浮遊し、一定時間後に遠心にて菌を回収し、ATPを測定し、検量曲線を作製した。未知量の検体についてATPの減衰曲線より薬剤血中濃度を求めた。

結果: 細菌内ATPと生菌数は良い相関性を示した。OFLX中での細菌内ATPの変化は時間とともに低下する傾向がみられた。一定時間後、細菌内ATPとOFLX濃度は負の相関を示した。ペーパーディスク法による血中濃度とATP測定による血中濃度では相関がみられた。

考察: Chemiluminescence法を用いた細菌内ATPの測定は簡便であり、短時間に測定が可能である。抗菌剤の体液内濃度測定法として有用となる可能性が示唆された。

#### 051 ノルフロキサシン (NFLX) の有色動物における眼内動態

三井幸彦  
徳島大学

石田了三・伊澤 成・町田正明  
小室正勝・大久保秀夫  
杏林製薬㈱中央研究所

目的: クロロキンなどメラニン親和性の強い薬剤の長期投与は、眼組織障害を起こすことが知られている。キノロン剤はメラニン親和性が強いと言われていたが、NFLXは有色動物における眼内動態の研究に

乏しい。そこで有色動物の眼内動態を [ $^{14}\text{C}$ ]-NFLX を用いて検討した。

方法: ピーグル犬および有色兎に [ $^{14}\text{C}$ ]-NFLX 30 mg (犬) または 50 mg (兎)/kg/日, 2週間経口投与, または 0.3% 点眼液を 1 回 1 滴, 1 日 5 回, 2週間点眼し, 投薬終了後 3, 24 時間, 1 週間, 1 か月および 6 か月 (経口のみ) 兎では 24 時間に「虹彩・毛様体」, 「脈絡膜+網膜色素上皮」および「網膜内層」の区分で採取し, 液体シンチレーションカウンターで放射能濃度を測定した。また上記組織の採取手技について検討した。

実験結果: 測定値の平均値を表に示す。

考察: NFLX は経口投与後, 虹彩・毛様体, 脈絡膜・網膜色素上皮に高濃度に蓄積し長期残留する。これらの組織に対する影響は検討しなければならないであろう。障害の発生は急性ではなく, 慢性または遅発性のことが多いので, 長期の観察が要求されるであろう。網膜内層の濃度はぶどう膜, 網膜色素上皮内濃度の 1% 以下と低い。点眼によるぶどう膜への蓄積は少ない。

投与方法	動物	時間	組織内濃度 ( $\mu\text{g eq/g or ml}$ )				
			虹彩・毛様体	脈絡膜+網膜色素上皮	網膜内層	房水	血清
経口	犬	3h	240	379	3.1	0.35	3.1
		24h	297	433	0.9	0.22	0.4
		1週	177	192	nd	nd	nd
	兎	1月	174	276	0.3	nd	nd
		6月	95.8	89.6	nd	nd	nd
		24h	22	90	0.9	0.01	0.5
点眼	犬	3h	8.9	1.5	nd	0.06	nd
		24h	6.7	2.0	0.04	nd	nd
		1週	7.5	2.1	0.02	nd	nd
	兎	1月	5.8	1.7	nd	nd	nd
		24h	3.0	3.7	nd	0.00	nd

n=4 (血清は 2), nd=測定限界以下

## 052 CPM の Rat 胆汁中排泄におよぼすエタクリン酸の影響

宮司厚子・西谷 肇・杉山 肇  
徳村保昌・山口守道・大谷津功  
宮下 琢・青木ますみ・芳賀敏昭  
斧 康雄・国井乙彦  
帝京大学第 2 内科

目的: 我々は肝細胞質内の  $\beta$ -ラクタム剤の carrier protein としての肝 glutathione S-transferase (GST) の役割について検討してきたが, 今回, GST に共有的に結合するエタクリン酸 (EA) を Rat に投

与し cefpiramide (CPM) の胆汁中排泄におよぼす影響について検討した。

方法: 雄 SDrat を用い CPM 20 mg/kg を頸静脈から投与しその 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120 分後に胆汁を採取し HPLC を用い CPM の量を測定した。エタクリン酸の影響は, EA 10 mg/kg を CPM 投与 2 分前に投与し (EA 群), EA 非投与群 (control 群) と胆汁中の CPM 排泄量について比較した。

成績: 胆汁中 CPM 排泄量は control 群 (n=5) に比べ EA 群で有意に増加しており, 10 分までの時間あたりの CPM 排泄量は control 群  $170.5 \pm 118.8 \mu\text{g/kg/min}$  に対し EA 群では  $641.5 \pm 285.5 \mu\text{g/kg/min}$  であった。120 分までの累積回収率は control 群  $42.7 \pm 16.1\%$  に対し EA 群では  $81.0 \pm 34.5\%$  であった。

考察: EA 投与群で胆汁中 CPM 排泄量の有意な増加がみられた。EA は肝 GST と強く結合するが CPM の胆汁中排泄の増加との関連について血中濃度への影響も含め検討する予定である。

## 053 Levofloxacin の口腔領域の組織移行におよぼす制酸剤の影響

岩重洋介・佐藤田鶴子・石垣佳希  
阿部 葵・山口昌彦・柳井智恵

日本歯科大学歯学部口腔外科学教室第 1 講座

目的: ニューキノロン剤 levofloxacin (LVFX) の口腔領域の組織移行におよぼす制酸剤の影響をウサギを用いて検討した。

方法: New Zealand White 種ウサギ雄, 体重 2.5~3.0 kg を前日より禁食とし, LVFX 20 mg/kg と SM 散 260 mg/kg を同時に経口投与した。血清は投与後 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240 分の各時点で耳静脈より採取し, 組織は血清と同時に屠殺後, 舌, 顎下腺, 耳下腺, 下顎骨を摘出し, 試料とした。

薬剤濃度はペーパーディスク法による bioassay にて測定し, 測定結果を用いて薬動学的解析を行った。

結果: 血清では  $T_{\max}$  1.54 h,  $C_{\max}$  2.85  $\mu\text{g/ml}$ , AUC 11.61  $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$ , 舌は  $T_{\max}$  1.77 h,  $C_{\max}$  4.09  $\mu\text{g/g}$ , AUC 16.53  $\mu\text{g} \cdot \text{h/g}$ , 下顎骨は  $T_{\max}$  2.18 h,  $C_{\max}$  2.18  $\mu\text{g/g}$ , AUC 11.96  $\mu\text{g} \cdot \text{h/g}$  であり各々は LVFX 単独の投与群と比較すると,  $T_{\max}$  にほとんど差がなく,  $C_{\max}$  では下顎骨を除いて併用群の方が 0.68~0.81 倍低下しており, AUC においては下顎骨を除いて血清では 0.39 倍, 各組織では 0.37~0.67 倍



併用群に減少が認められた。

考察: ニューキノロン剤は制酸剤に含まれる Al, Mg, Ca により吸収・排泄に大きな影響を受けることが一般的に知られている。歯科では軽い胃腸障害を防ぐ目的で健胃消化剤である SM 散や整腸剤である EM 散などが頻用されている。SM 散の成分は消化酵素・Mg・Na・Ca などと、チョウジ末・ウイキョウ末などの生薬の混合されたものであり、今回の実験結果から組織移行に SM 散の影響を少なからず受けていることがわかった。このことよりニューキノロン剤と制酸剤を併用する場合にはその組成を十分考慮し、選択することが望ましいといえる。

## 054 抗生物質坐剤の体内動態におよぼす解熱鎮痛坐剤の影響

—Ampicillin 坐剤と Diclofenac 坐剤併用—

吉山友二・山本悦子・西川佐枝

北里大学薬学部病院薬局学教室

厚田幸一郎・黒山政一・村瀬勢津子

小林輝明・朝長文弥

北里大学病院薬剤部

三浦寿男

北里大学病院小児科

アンピシリンは、その広い抗菌スペクトラムと優れた抗菌力より、多くの感染症に有効な抗生物質として臨床に広く使用されている。これまでの注射剤のような疼痛、血管確保のわずらわしさなどがなく、また経口剤でみられる拒薬、服薬困難な症例にも確実な投薬が可能である直腸内投与坐剤が開発され、臨床に供されている。特に小児においては、これまでの剤形の欠点を補いつつ、カプリン酸ナトリウムの添加により高い血中濃度を得る有用性を併せ持っている。アンピシリン坐剤は、小児感染症に適用されることから解熱鎮痛坐剤が併用されることがある。これまでインドメタシン坐剤およびジクロフェナク坐剤の併用によりモルヒネ坐剤の体内動態変動が報告されている。本研究目的は、アンピシリン坐剤の体内動態におよぼすジクロフェナク坐剤併用の影響を検討することにある。

雄性日本白色家兎および健康成人を対象として、ヘルペン坐剤 250 だけ (アンピシリン 250 mg) またはヘルペン坐剤 250 およびボルタレンサゴ 50 mg (ジクロフェナク 50 mg) を直腸内挿入し、投与後経時的に採血した。血中アンピシリン濃度を HPLC 法で測定し比較検討した。

ヘルペン坐剤とボルタレンサゴ併用例の血中アンピシリン濃度はヘルペン坐剤単独使用例に比して高値で、併用により吸収促進した。

抗生物質療法を要する感染症例においては、対症療法として解熱鎮痛坐剤が併用される。これまで抗生物質坐剤と解熱鎮痛坐剤併用時における抗生物質の体内動態は報告されていない。今回、アンピシリン坐剤の吸収がジクロフェナク坐剤併用により促進した。

このように抗生物質坐剤と解熱鎮痛坐剤間にならぬかの相互作用が示唆され、臨床に取扱いに注意が必要と考えられる。

## 055 Cefodizime による細菌感染症患者末梢血リンパ球サブセットの変動

—特に糖尿病患者での検討—

辻野守泰・平井裕一・中畑 久

小沼富男・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: Cefodizime (CDZM) は BRM 作用を有すると報告されている。我々は本学会で、compromised host のモデルとして糖尿病 (以下 DM) 患者の多核白血球と CDZM の協力的殺菌作用について報告したが、今回は DM 患者の急性細菌感染症罹患症例を対象に、CDZM での治療前後で末梢血リンパ球サブセットを分析し、本剤の免疫機構への影響について検討した。

方法: 急性細菌感染症に罹患した DM 群 (15 人)、健康者 (N) 群 (8 人) を対象に、薬剤使用前および使用開始後経過を追って末梢血リンパ球サブセットを 2 color flow cytometry (FACScan) で測定した。

結果: D 群、N 群とも急性期は末梢血総 T 細胞比率が低下を示し、重症例ほど低下が著しい (特に 50% 以下) 傾向であった。N 群では使用薬剤の種類を問わず、感染症が軽快するにつれ末梢血総 T 細胞比率は上昇を示した。D 群では CDZM で治療を受けた症例 (5 例) では N 群同様軽快に従い末梢血総 T 細胞比率の上昇が見られたが、他剤で治療を受けた症例 (10 例) はこの動きが明らかでなかった。総 T 細胞については上記の通りであるが、T 細胞の亜分画については一定の傾向は見られなかった。

考察: 重症細菌感染症急性期に末梢血総 T 細胞比率が減少することは従来より報告されている。また加齢

に伴うT細胞の絶対的減少は、高齢者に易感染性をもたらすひとつの要因とされる。すなわち末梢血総T細胞比率の持続的低下は感染症の治癒に不利と考えられる。今回の検討で、CDZM投与を受けたDM患者群ではN群同様しだいに末梢血総T細胞比率の上昇が観察されたことは、本剤のBRMとしての一面を反映するものと考えられた。また、このことから本剤のcompromised hostの細菌感染症治療への有用性が示唆された。

## 056 Roxythromycinによる座瘡治療とその奏効機序

赤松浩彦・朝田真木・黒川一郎

西嶋攝子・朝田康夫

関西医大皮膚科

丹羽耕三

丹羽免疫研究所

目的: Roxythromycin (RXM) による座瘡治療の有効性とその奏効機序の検討。

方法: 男1例, 女16例, 年齢14歳~26歳で, 病型は尋常性座瘡16例, 膿疱性座瘡1例の計17名の座瘡患者をRXM (Rulid®) 1日当り150mg~300mgを用いて治療した。また治療開始前に, 座瘡病巣より分離同定した*Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) に対するRXMの最小発育阻止濃度(MIC)を検討した。さらにRXMの活性酸素(ROS)におよぼす影響を, 好中球系とcell-freeのxanthine-xanthine oxidase系を用いて調べた。

結果: 投与期間2~11週, 平均6週にて著効4例, 有効10例, 無効3例, 有効率は82.4%であった。RXMの*P. acnes*に対するMICは0.05~100 $\mu$ g/mlであった。またRXMは好中球由来の3種類のROX ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH^-$ ) すべてを有意に抑制したが, cell-freeのROS産生系であるxanthine-xanthine oxidase系では, 3種類のROSに対して有意に影響をおよぼさなかった。

考察: RXMは, 座瘡治療において有用な抗生物質であると考えられた。その奏効機序に関しては, 1) 座瘡の発症機序に関与している重要な因子の1つである*P. acnes*に対する抗菌作用, 2) 座瘡の重要な炎症惹起因子の1つである好中球由来のROSに対する抑制作用, が考えられた。

## 057 高齢者の白血球機能

—化学発光法と食菌ブランク法による検討—

細部高英・町田豊平・小野寺昭一

鈴木博雄・清田 浩・後藤博一

高見澤重教・三谷比呂志・川原 元

五十嵐宏・遠藤勝久

東京慈恵会医科大学泌尿器科

目的: 高齢者の易感染性を検討するため, 高齢者の白血球機能を各種生菌刺激による化学発光法と食菌ブランク法によって評価した。

対象と方法: 高齢者30名(年齢73~95歳)を対象とし, 末梢血を採取し, 以下の化学発光法と食菌ブランク法により白血球機能を評価した。また, 25~35歳の健常人20名を対照として測定した。

1. 化学発光法; 100倍希釈した全血を33 $\mu$ g/mlのluminol存在下で*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, および*C. albicans*の4標準菌株 $10^8$ cfu/mlの生菌により刺激し, 白血球の化学発光量をBiolumat LB 9505 Cで測定した。白血球の化学発光量は, その最大値(peak CL)を採用した。

2. 食菌ブランク法; *S. aureus* Cowan 1株の死菌 $1 \times 10^9$  cfu 2mlを径60mmのシャーレに撒き1時間静置後, 上清を除去し, 死菌薄層を作製した。この薄層に被検者の全血2mlを重層し, 37°Cで1時間培養後数回洗浄し, 死菌薄層をGiemsa染色した。そして, 白血球の死菌貪食により生じたブランクの面積比を光顕下で算出し, 貪食能とした。以上の測定項目より, どの菌種の生菌刺激による高齢者の化学発光量が健常人のそれらと比べ劣っているのかを検討し, その結果と貪食能との関連性についても比較検討した。

結果: 高齢者の全血化学発光量は, 健常人のそれらに比べ*C. albicans*刺激において平均値で低下していたが, 他の3菌種の生菌刺激では差が認められなかった。また, 食菌ブランク法による白血球貪食能は, 高齢者は健常人に比し低下傾向を認めたが, 有意差はなかった。

考察: 以上の結果より, 高齢者では特に真菌群に対し易感染性であることが示唆された。

## 058 抗生物質の菌—血小板反応におよぼす影響

第1報: 黄色ブドウ球菌による血小板凝集反応におよぼすエリスロマイシンの影響

碓井之雄・大島赴夫・一幡良利  
大友俊允・嶋田甚五郎  
聖マリアンナ医大・微生物

目的: 血小板は様々な物質と反応して粘着, 凝集, 放出反応等を引き起こし, 血液凝固のみならず, 心筋梗塞等の循環器疾患にも深い関わりがあることが知られている。また, 血小板は様々な微生物と反応して同様な凝集, 放出反応を引き起こす。このなかで黄色ブドウ球菌は強い凝集活性を持つことが知られ, 感染性心内膜炎や播種性血管内凝固症候群の発症との関連で興味を持たれている。一方, sub-MIC 濃度での抗生剤による細菌の代謝や毒素産生性の変化については多くの報告があるが, 抗生剤存在下での菌—血小板反応について検討した報告は見当たらない。今回, 我々はエリスロマイシンの sub-MIC 濃度で培養した黄色ブドウ球菌の血小板凝集活性と細胞表層の変化について検討したので報告する。

方法: 菌は本大学中央検査室で分離された臨床株 *S. aureus* SMU-92-1 を用いた。血小板凝集はアグリゴメーターを用いて測定した。

結果: エリスロマイシン非存在下での培養で得られた菌体のヒト血小板との反応では最大凝集が 64% であったのに対して, エリスロマイシンの sub-MIC 濃度 0.025~0.1  $\mu\text{g/ml}$  においては, 93~95% 凝集を示し血小板凝集活性は上昇した。この時, フィブリノーゲン結合因子 (CF) 活性は 1:30 で変化しなかったが, コアグラゼ活性は明らかに濃度依存的に低下した。また, エリスロマイシンの血小板に対する直接の影響を見たところ, 濃度依存的にコラーゲンあるいはブドウ球菌による凝集活性を阻害した。

考察: エリスロマイシン存在下では黄色ブドウ球菌のコアグラゼ産生は抑制された。しかし, エリスロマイシン処理により CF 活動に変化はなく, 菌体の血小板凝集活性が保持された。このことは, 血小板凝集活性と CF 活性は相関するという我々の報告 (Med. Sci. Res. 18: 687, 1990) を裏づけている。

## 059 マイタケによる肝炎症状改善効果について (その1)

久保恵子  
榎岡国まいたけ  
難波宏彰  
神戸女子薬科大学

目的: 担子菌子実体中にはレンチナンのように腫瘍免疫賦活化作用を有するものや, 血圧降下や高脂血症および播種性血管内凝固作用をもつ物質が各々抽出されている。演者らはマイタケ (*Grifola frondosa*) に細胞性免疫を活性化し, 抗腫瘍性を示す  $\beta$ -glucan が存在することを報告してきた。近年, 肝炎が免疫調節機構の異常によって起こると報告されたことから, マイタケによる肝炎症状の改善効果について調べた。

方法: (1) ICR 系マウスに  $\text{CCl}_4$  を投与し, 急性肝炎モデルおよび (2) C57BL/6 系マウスに肝ホモジネート液に含まれる肝特異リポ蛋白 (LSP) を投与し, 自己免疫性肝炎モデルを作製した。これに, マイタケ粉末, あるいは各種抽出物質を各々経口投与し, 症状改善の程度と, 自己免疫性肝炎モデルマウスのリンパ球の活性について検討した。

結果: 急性肝炎モデルマウスでは, 熱水可溶性物質の投与により GOT, GPT 共に 0.7~0.8 と有意の差で低下し, 自己免疫性肝炎マウスでも GOT, GPT の改善が認められたことから, 脾臓よりリンパ球を調整し,  $^3\text{H}$ -チミジンの DNA への取り込み量を調べたところ, マイタケ粉末投与により全脾細胞, NWC 付着および非付着細胞のいずれも有意の差をもって活性化が認められた。さらに各種マイトジェンに対する反応性から, 抑制されていた Ts 活性が回復することが推定された。

考察: 肝炎時には Ts 活性が抑制され, Tc や Th による細胞障害が起こると考えられるが, マイタケは Ts 機能を回復させ, Tc, Th 活性を抑制することによって症状改善を行うと推定した。

060 メチシリン耐性表皮ブドウ球菌の感染  
防御効果について

一幡良利・伴野秀司・三浦竹彦  
大島赴夫・碓井之雄・大友俊允  
嶋田甚五郎

聖マリアンナ医科大学微生物学教室

さきの本学会で、メチシリン耐性 (MRSE) と感性 (MSSE) 表皮ブドウ球菌のうち、莢膜保有株がマウスに対して病原性を有する事実を述べた。今回、それらの菌株の感染防御効果についてマウスを用いて検討したので報告する。

使用菌株はマウス致死性を有し、莢膜血清型 II 型である MRSE の OH 49 株と MSSE の J 31 A 株ならびに莢膜保有代表株の SE-360 株を用いた。各菌株の形態的観察は、フェリチン抗体法を応用した電子顕微鏡により行った。抗血清は SE-360 株加熱死菌菌体をウサギに免疫し作製した。治療薬剤は合成セファロスポリン系抗生剤の cefozopran を用いた。マウスの感染防御能は各菌株を 8% ムチン添加  $10^7$  CFU に調整した溶液を、マウス腹腔内へ接種し、抗血清による被動性感染防御活性と薬剤 (1,000~0.2 mg/kg) の各種濃度での治療効果を観察した。このとき、各々の最小活性を 1 単位とし、その 1/2~1/100 量での併用効果も測定した。

マウス致死性を有する菌株はいずれも電顕的に厚い莢膜保有像が観察された。MRSE の OH 49 株と MSSE の J 31 A 株の被動性感染防御活性は莢膜保有代表株の SE-360 株より作製した抗血清で 3 倍希釈で、100%、10 倍希釈で 60% のマウスに防御活性を示した。Cefozopran による治療実験は、OH 49 株では 31.3 mg/kg で 100%、7.8 mg/kg で 80%、J 31 A 株では 7.8 mg/kg で 100%、3.9 mg/kg で 60% のマウスに効果があった。このとき、感染防御活性を示さない量である抗血清 (100 倍希釈) と薬剤 1.0 mg/kg の組み合わせでも両株に併用効果がみられた。

莢膜保有代表株より作製した抗血清で MRSA、MSSE 株に感染防御活性を示した事実は、従来より報告 (J. Appl. Bact. 71, 1991) しているように、食菌能の特異的昂進によるものと考えられる。また、cefazopran は MRSE 株に対して有効な薬剤であり、抗血清との併用療法も可能であると思われる。

061 大腸菌外膜蛋白に対する IgG 抗体の試験管内抗菌作用の検討

川原元司・大井好忠  
鹿児島大学泌尿器科

Liset G. Human, Gerald J. Domingue  
Tulane University, Department of Urology,  
Microbiology and Immunology

目的: *E. coli* S-23 (O6) 由来のポーリン蛋白に相当する外膜蛋白 (Omp) は強い免疫原性を示し、腎盂腎炎モデルにおいて抗 Omp 抗体は抗 LPS 抗体とともに腎からの細菌排除に関与していることを既に報告した。*E. coli* S-23 はヒト血清に抵抗性であり、抗 Omp-IgG 抗体による血清感受性の増強作用を調べる目的でウサギ抗血清の試験管内殺菌作用を検討した。

材料と方法: 抗血清の抗 Omp および抗 LPS 抗体価は ELISA で測定した。血清の殺菌作用の検討には Taylor 法ならびに Micro-assay 法を用い、補体 (モルモット血清) 存在下に経時的に生菌数を測定した。

結果: *E. coli* S-23 に対する抗血清の殺菌効果は認められなかったが、Taylor 法で反応 15 分から 2 時間まで免疫前血清の 71~86% の生菌数を示し、Micro-assay 法でも生菌数は増加したが、抗 Omp 抗体価 6,400 から 200 を示す抗血清と補体の組み合わせでは抗体価依存的に作用 4 時間まで対照 (免疫前血清) の 50~20% の生菌数に抑制された。他の血清抵抗性の尿路分離株でも殺菌効果は得られず、作用 4 時間で対照の 34~72% の生菌数を示した。

考察と結論: グラム陰性菌の血清抵抗性を規定する細菌側因子として外膜蛋白を含めた莢膜および外膜の構造上の特性が考えられている。今回の検討では抗 Omp-IgG 抗体は血清抵抗性の *E. coli* S-23 および他の菌株に対してモルモット補体併用下にも殺菌効果を示さず、血清感受性の増強は認められなかった。免疫前血清を対照とすると増殖は低く抑えられたことから、抗 Omp-IgG 抗体は補体系と協力的に作用しているものと考えられた。

## 062 抗ヘルペス活性を有する antisense DNA アナログの膜透過性と生物活性

東海林洋子<sup>1)</sup>・嶋田甚五郎<sup>1)</sup>・水島 裕<sup>1)</sup>  
 岩沢篤男<sup>2)</sup>・中村良子<sup>3)</sup>・井上一弘<sup>3)</sup>  
 東 晃吉<sup>3)</sup>・桜井正之<sup>3)</sup>・西村千夫<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 聖マリアンナ医大・難病治療研究センター

<sup>2)</sup> 昭和大学藤が丘病院病理

<sup>3)</sup> ローマン工業

目的: 未来世代の医薬品といわれる antisense DNA の細胞内 bioavailability に着目し, Herpes simplex virus (HSV) をターゲットとする antisense DNA のアナログを合成し, 各アナログの生物活性と細胞内の移行量および細胞内分布の関連について比較検討した。

方法: antisense DNA アナログとして, phosphodiester 結合 (D-oligo), phosphorothioate 結合 (S-oligo), methylphosphonate 結合 (MP-oligo) を持つものを合成した。対照として sense 配列の S-oligo とアシクロビルを用いた。african green monkey の腎上皮細胞 Vero 細胞に HSV-I, II 型を感染させ, 各アナログの細胞変性 (CPE) 抑制効果を 5 段階評価した。また, 各アナログの 5' 末端に <sup>32</sup>P を標識し, 細胞に取り込まれた放射活性を測定し, 細胞内移行量を算出した。毒性は MTT 法にて調べた。S-oligo の細胞内分布についてはロータミンを標識し, 共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。

結果: 今回検討したアナログ中 antisense 配列の S-oligo の CPE 抑制効果が一番強く, アシクロビルより効果があった。HSV-I 型より II 型に良く効いていた。しかもその効果は 7 日後も持続していた。細胞内取り込み量は S-oligo が一番高く, 生物活性と良く関連した。S-oligo の約 50% は膜に結合していた。しかし 50 μm 以上の濃度では, sense 配列の S-oligo でも CPE 抑制効果がみられた。検討した濃度の範囲ではどのアナログにも毒性は認められなかった。また, S-oligo はほとんどが核に存在し, 一部細胞内小器官に分布していた。

考察: 細胞内移行量に相関し, antisense 配列の S-oligo がアシクロビル以上の抗ヘルペス活性を有していた。核に分布することから, その効果は核で発現されているものと思われた。しかし塩基配列非特異的反応も見られ, 細胞膜結合画分とも関連があるものと思われた。今回検討した結果から, S-oligo は HSV に対して有効な抗ヘルペス剤になり得るものと思われ

た。

## 063 肺炎球菌の薬剤感受性の動向

一経口抗菌剤を中心に一

小栗豊子・三澤成毅・矢島英代

順天堂大学付属病院中検

猪狩 淳

同 医学部臨床病理

肺炎球菌は呼吸器感染症や化膿性髄膜炎の起炎菌として重要であるが, 近年, β-ラクタム剤耐性肺炎球菌が急増し, 注目されている。一方, 本菌種による感染症の治療に適用される経口抗菌剤の種類も増加した。そこで, 臨床材料由来肺炎球菌を用いて, 経口抗菌剤に対する感受性を検討した。

材料および方法: 使用菌株は 1990 年より 1992 年の 3 年間に各種臨床材料より分離された肺炎球菌を用いた。薬剤感受性測定は微量液体希釈法により行った。使用培地は 1990 年分離株は 2% ウマ溶血血液加 Trypticase Soy broth (BBL) を用い, その後は 2 価イオン調整 Mueller Hinton broth (Difco) にウマ溶血血液 (2%), 酵母エキス (0.5%), NAD (15 μg/ml) を添加したものを用いた。肺炎球菌の菌型の決定は市販型別用血清 (デンマーク製) を用いて荚膜膨化試験により決定した。使用薬剤は PCG, CTM, CEX, CCL, CFIX, CPDX, EM, TC, OFLX などである。

成績: PCG 耐性株 (軽度耐性株も含む) は年度とともに増加しており, 1992 年では約 27% に達した。CCL には約 17% が, EM には約 43% が耐性であると考えられた。OFLX 耐性株は 1~2% と少なく, また, VCM 耐性株は認められず, すべての株が 0.5 μg/ml 以下の濃度で発育が阻止された。経口セフェム剤では CCMT-PI, CDTR-PI, CFTM-PI の抗菌力が優れていた。キノロン剤では TFLX, SPFX が優れており, MIC<sub>90</sub> は 0.25 μg/ml であった。PCG 耐性株の菌型は優位菌型である 23, 19, 6 型が多かった。

結論: 肺炎球菌の経口抗菌剤に対する感受性は VCM, 新キノロン剤 (SPFX, TFLX) が優れていた。経口セフェムでは最近開発されたものでは優れた抗菌力を示したが, ペニシリン耐性株が急激に増加していることから, 耐性株の動向に注意する必要がある。

064 *S. pneumoniae* および viridans streptococci に対する  $\beta$ -lactams の抗菌活性

古口昌美・横田のぞみ・鈴木由美子  
鈴木香苗・深山成美・石原理加  
小田清次・出口浩一  
東京総合臨床検査センター研究部

1992年に検出した *Streptococcus pneumoniae* と viridans streptococci の  $\beta$ -lactams などの耐性株の割合と、合わせて両者の薬剤感受性パターンを検討した。

*S. pneumoniae* の PCG-低感受性株 (PISP) は 20.0%, PCG-耐性株 (PRSP) は 2.0%, EM-耐性株 40.0% であったが, PISP+PRSP に対する  $\beta$ -lactams の MIC は PCG に比較して CTX はやや低い方に, ABPC はほぼ同等, 次いで ASPC, PIPC, CEZ, CTM, FMOX の順に高い方に分布しており, PISP+PRSP の EM 耐性は 54.5% だった。

一方, viridans streptococci の PCG-低感受性株は 24.0%, PCG 耐性株は 12.0% であったが, それらの株は *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius* subsp. *salivarius* の割合が高いものの *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis* にも認められた。そして, PCG-低感受性+PCG-耐性 viridans streptococci に対する  $\beta$ -lactams と EM の MIC は, 上記の PISP+PRSP に比較して ABPC と CTX が 1~2 管高い方に分布しているものの, そこにおける MIC は総じてみると PISP+PRSP に対するそれとほぼ同等だった。

上記により, PCG-低感受性もしくは耐性を示す *S. pneumoniae*, および viridans streptococci に対する  $\beta$ -lactams の MIC は, PCs よりも大部分の CEPs は高い方に分布すること, さらにこれらの EM 耐性株が高い割合であることから, 両者の多剤耐性化が示唆された。

そして, 両者における薬剤耐性パターンはほぼ同等であることから, 両者は共通の耐性機構であるものと考えられた。

文 献

出口浩一, 他: 近年に検出した臨床分離株に対する Aspicillin の抗菌活性. Jap. J. Antibiotics 46: 295~309, 1993

065 ペニシリン耐性肺炎球菌の分離状況

吉永陽一郎・長井健祐・山田秀二  
山田 孝・津村直幹・沖真一郎  
荒巻雅史・阪田保隆・富永 薫  
本廣 孝  
久留米大学小児科学教室

目的: ペニシリン (PC) 耐性肺炎球菌は近年増加傾向にあり, 多剤に対し耐性を示すことより, 重症感染症では薬剤感受性検査が必要である。当科および関連施設で分離された肺炎球菌の各種抗菌剤に対する MIC を測定し, PC 耐性株の分離状況, 各薬剤の抗菌力を検討した。また最近 PC 耐性株による髄膜炎を経験したのであわせて報告する。

症例: 1歳6か月男児。全前脳症と先天性水頭症にて生後1か月時に VP シヤントを施行された。化膿性髄膜炎の診断を受け, CTX, ABPC で治療開始。髄液より肺炎球菌分離した。治療2日後には除菌できたが, 臨床症状, 炎症反応に改善傾向なく, 硬膜外膿瘍出現。オキサシリンディスク感受性検査で耐性株であったため, CP 併用し, 膿瘍ドレナージを行い改善した。分離菌の PCG に対する MIC は 1.56  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であった。

結果: 1981年3月から1993年12月までに当科および関連施設で分離, 保存された肺炎球菌 218 株を検討した。全体では PCG の MIC が 0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以上を示したのは 45.9%, 1.56  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以上は 26.6%, MIC<sub>50,90</sub> は 0.05, 1.56  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であった。

カルバペネム系の IPM, PAPM, MEPM, L-627 はいずれも良好な抗菌力を示し, MIC<sub>50</sub> は 0.006~0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , MIC<sub>90</sub> は 0.05~0.39  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であった。VCM は 0.1~1.56  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の間にすべての株が分布した。年次変遷でみると 85 年以降 PCG 耐性株は増加し, PCG に対する MIC が  $\leq$  0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以上の株の分離率は, 90 年 56.0%, 91 年 57.1%, 92 年 65.6% であった。小児科開業医, 関連 2 次病院, 大学病院と施設別にみるといずれも 85 年以降耐性株の増加があり, 91 年以後の PCG の MIC が 0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以上の株は, それぞれ 54.5%, 63.4%, 64.5% で, 施設間に明らかな違いはなかった。

066 ペニシリン低感受性肺炎球菌に対する  
各種抗菌剤の抗菌力およびPBP結合  
親和性

田村 淳・斉藤早紀子・原 哲郎  
宮田愛子・清水博之・河原條勝己  
明治製菓薬品総合研究所

目的: 臨床分離のペニシリン感受性肺炎球菌 (PSSP; PCGのMIC値が $\leq 0.05 \mu\text{g/ml}$ ) およびペニシリン低感受性肺炎球菌 (PISP; PCGのMIC値が $\geq 0.10 \mu\text{g/ml}$ ) に対する数多くの $\beta$ -ラクタム剤および一部の他の抗菌剤の抗菌力を測定し、有効な薬剤について検討した。また、一部のPSSPおよびPISPのPBPに対するPCGおよび他の $\beta$ -ラクタムの結合親和性を測定した。

方法: 1989~1992年に分離されたPSSP 90株、PISP 68株を用いた。MIC測定は、化学療法学会標準法に従い、寒天平板希釈法で実施した。測定薬剤は、 $\beta$ -ラクタム剤、その他EM, JM, TC, CP, OFLXについて実施した。PBP結合親和性の測定は、PSSP 1株とPISPの中でもっともPCGに耐性を示した1株について膜画分を調整し、 $^{14}\text{C}$ -PCGと測定薬剤との競合結合試験で実施した。さらに、PCR法を用いて、PBP 2b産生遺伝子の変異について検討した。

結果および考察: 測定した $\beta$ -ラクタム剤すべてで、PSSPに比較してPISPでほぼ同様にMIC値の上昇が認められ、交叉耐性を示した。PISPに対して、ペニシリン系ではPCGの抗菌力がもっとも優れたが、 $1.56 \mu\text{g/ml}$ 以上の耐性株も3株認められた。経口セフェム系のCDTR、注射用セフェム系のCZON、CTXなど、カルバペネム系のIPMは、PCGより抗菌力が優れ、全株 $0.78 \mu\text{g/ml}$ 以下のMIC値であった。PBPについて検討した結果は、PSSPでPBP 1a, 1b, 2x, 2a, 2b, 3の6本のバンドが確認された。また、PISPでは、PBP 1a, 2a, 2bの結合親和性が低下していた。さらに、PCR法の結果、PISPでは、PBP 2b産生遺伝子の塩基配列にPSSPのそれと異なる部位が検出された。

067 ペニシリンに耐性を示す肺炎球菌の判  
別に関する基礎的検討

西部浪江<sup>1)</sup>・新保博美<sup>1)</sup>・川上小夜子<sup>1)</sup>  
杉浦 睦<sup>2)</sup>・生方公子<sup>2)</sup>・紺野昌俊<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 帝京大学医学部・附属病院中央検査部細菌検査室  
<sup>2)</sup> 同 臨床病理

昨年から本年にかけて、各種の臨床検査材料から分離された肺炎球菌76株の薬剤感受性を測定し、以下の成績を得た。

ペニシリンGに対して $0.1 \mu\text{g/ml}$ 以上のMICを示す株を耐性菌とみなすと、51.3%の耐性率であった。ペニシリン耐性の判定に用いられるオキサシリンに $1 \mu\text{g/ml}$ 以上の値を示す株は59.2%であった。これらのペニシリン耐性菌のほとんどは、エリスロマイシンとミノサイクリンに対しても耐性を示していた。

しかしながら、ペニシリンやオキサシリンの感受性分布図を描くと、明瞭な2峰性の分布をしておらず、耐性菌と感性菌の判別がきわめて不明瞭であった。むしろ $0.13 \mu\text{g/ml}$ に谷間があり、これより感性側の菌はわずかに13%に過ぎなかった。

Difcoの肺炎球菌型別用抗血清を用いて型別を行った成績では、型別可能であった株では、19型が17株、6型が10株、抗血清のFに凝集する株が7株であった。15年前に我々が行った型別の成績とは明らかに異なっていた。

一方、ペニシリン耐性菌のPBPを検索した成績では、いくつかのグループに分かれるようで、①1aのバンドが薄い株、②2aのバンドが薄い株、②2bが認められない株、等が見いだされた。

ペニシリン耐性菌にペニシリン、オキサシリン、セフジニルを作用させた際の経時的な殺菌効果は、MIC以上の濃度ではペニシリン系で明らかに殺菌効果が強く、セフェム系薬では弱いことが示された。

現在、我々は肺炎球菌の薬剤感受性測定に際して、血液寒天培地とオキサシリン $1 \mu\text{g}$ 含有ディスクを主に使用しているが、寒天平板希釈法でMICを測定した成績と不一致の株が多く認められている。その理由は、一夜培養した菌では菌数のばらつきが大きいこと、培地の組成の影響を受けやすいことと推定している。今後は、誤判定を防ぐために、感受性分布が比較的明らかであったアンピシリン含有のディスク等の作成を考えている。

068 ペニシリン耐性 *S. pneumoniae* の  
PBP<sub>s</sub> パターンと Cefdinir の結合親和  
性

池田文昭・横田好子・峯 靖弘

藤沢薬品工業株式会社開発第一研究所

菅野治重

千葉大学医学部付属病院検査部

目的: 我々は本邦で分離されたペニシリン耐性 *S. pneumoniae* を対象に PBP<sub>s</sub> パターンの分類を試みた。また、これらの株 PBP<sub>s</sub> に対する  $\beta$ -ラクタム薬の結合親和性と抗菌活性との関連性を検討した。

方法: PBP<sub>s</sub> は 5% 馬血清加 Todd Hewitt Broth で 10% CO<sub>2</sub>, 5~6 時間静置培養後の菌体を集菌し In-sonator で水冷下超音波処理 (180 v, 10 min) 後、膜画分を 5 mg/ml に調整し, [<sup>14</sup>C] PCG を用いて常法に従い検出した。また、 $\beta$ -ラクタム薬の PBP<sub>s</sub> 結合親和性は [<sup>14</sup>C] PCG の 50% 結合阻害濃度 (IC<sub>50</sub>) を求めた。MIC は 2% 馬溶血液加 Mueller Hinton Broth によるマイクロイオン法で 10<sup>4</sup> CFU/well の接種で実施した。溶菌活性は A<sub>580nm</sub> の吸光度の変化を測定し、薬剤作用 6 時間後に 0.1 減少させる最小濃度を求め最小溶菌作用濃度 (MLC) と定義した。

結果: ペニシリン感性 *S. pneumoniae* 5 株には、いずれも Tomasz らの報告した 1a, 1b, 2a, 2b および 3 に加えて 2b と 3 の間に新しいバンドが検出された。一方、ペニシリン耐性 *S. pneumoniae* 17 株には 1a, 1b ないし 2b のバンドの消失あるいは別の位置に新しいバンドの出現等が確認され、5 種のパターンに分けられた。CFDN はペニシリン感性株の PBP<sub>s</sub> に対し、1a, 1b, 2a および 3 に強い結合親和性を示したが、耐性株の 1b, 2a および 2b に対する親和性は低下していた。しかし、3 に対してはまったく影響がなかった。ペニシリン感性株、1 株と耐性株、2 株の PBP<sub>s</sub> に対する AMPC, CCL, CTM, CXM, CPDX, CFIX および CFDN の I<sub>50</sub> と MIC, MLC の相関性を検討した結果、PBP-2a に対する親和性が MIC と相関 (r=0.81) し、PBP-2b に対する親和性が MLC と相関 (r=0.81) した。

考察: ペニシリン耐性 *S. pneumoniae* には多様な PBP<sub>s</sub> の変異が認められた。各種  $\beta$ -ラクタム薬の PBP<sub>s</sub> 結合親和性の比較成績から、抗菌活性の低下には PBP-2a に対する親和性が関与し、溶菌活性の低下には 2b に対する親和性が関与していることが示唆

された。

069 臨床分離  $\beta$ -lactam 剤耐性 *Streptococcus pneumoniae* の耐性機構

野路弓子・小此木研二

武田薬品創薬第三研究所

出口浩一

東京総合臨床検査センター研究部

目的:  $\beta$ -lactam 剤耐性 *S. pneumoniae* の分離頻度が我が国でも急増している。さきに、我々は 1987 年分離耐性株における PBP 1a の欠損および PBP 1b の薬剤低親和性を報告した。今回、第 40 回日本化学療法学会西日本支部総会で報告した 1992 年分離の小児由来  $\beta$ -lactam 剤耐性 *S. pneumoniae* の耐性機構を詳細に検討した。

方法: 薬剤感受性は 10% 牛血液加 TSA を用いた寒天平板希釈法により測定した。PBP は PAGE およびフルオログラフィーで検出した。

結果: 臨床分離 *S. pneumoniae* の中に  $\beta$ -lactam 剤感性株、中等度耐性株、高度耐性株が存在し、標準感性株 Type I に比べて中等度耐性株は ABPC および CCL に 16 倍、高度耐性株は 64~256 倍耐性であった。いずれの耐性株にも感性株と同様 5 つの PBP, 1a, 1b, 2a, 2b, 3 が検出された。PBP 1b および 3 の薬剤親和性に株間で差はなかったが、耐性株では PBP 1a, 2a, 2b が薬剤低親和性で、特に高度耐性株では標準感性株 Type I に比べ ABPC および CCL に対して PBP 1a は 100 倍以上、PBP 2a は約 40 倍、PBP 2b は約 30 倍低親和性化していた。また、PBP 1a, 2a および 2b に対する IC<sub>50</sub> と MIC との間に 1 対 1 の高い相関性が認められた。

考察: 今回調べた臨床分離耐性株では PBP 1a, 2a および 2b が  $\beta$ -lactam 剤に低親和性化しており、PBP 1a の欠損および PBP 1b の変化が認められた 1987 年分離の耐性株とは異なっていた。*S. pneumoniae* では PBP レベルでの多様な耐性化の機構があると考えられる。



## 070 北大病院における黄色ブドウ球菌と緑膿菌の分離状況について

佐藤 清

北大医学部付属病院検査部

齋藤 玲

北大医療技術短期大学部

目的: 細菌検査の目的で提出された各種臨床材料より黄色ブドウ球菌 (以下ブ菌) と緑膿菌の分離状況および薬剤感受性について検討したので報告する。

方法: 1992年度に分離された菌株についてブ菌はCoagulase type, Enterotoxin, TSST-toxin (デンカ生研), 緑膿菌については免疫血清型別 (メリアッセイ) を用いてそれぞれ検討した。また, 各種抗生剤について治療標準法に従い, 平板希釈法で薬剤感受性 (MIC) も検討した。

成績: 1987年から1992年度までに提出された材料より分離されたブ菌は87~90年で3-3.4% 91~92年度では4-5-8%と年次増加していた。MRSAの頻度は87~91年で24-27-28-24-49%であったが92年度では65%と顕著な増加が認められた。緑膿菌は87~90年までは4-6%とブ菌より分離率は高いが91~92年度では6-5%と減少傾向を示していた。MRSAと他菌種の複数分離は緑膿菌, 大腸菌, *E. cloaca*, *X. maltophilia*, *Acinetobacter*, *M. morgani*, *S. marcescens*, *Enterococcus*, *S. epidirmidis*, *Candida* などであった。喀痰, 膿に緑膿菌 (34~22%) が多かった。大腸菌は尿 (54%) *Klebsiella*, *X. maltophilia*, *S. marcescens* などは喀痰に多く *Enterococcus*, *S. epidirmidis* は尿, カテーテルに多く *Candida* は喀痰に多かった。ブ菌のコアグラーゼ型別は87~89年まではIV型が優位を占めていたが90年以降II型が59~60%と増加し諸家の報告と類似した成績であった。緑膿菌の型別は87~88年A, G型が多く89~90年A, E, G型, 91~92年度ではG, E, A型と34%以内で変化している成績であった。緑膿菌の型別では内科の喀痰にA型が多く外科では喀痰, 膿ともG型が優位をしめ内科と外科においてその分布は異なっていた。薬剤感受性の成績はブ菌はDMPPC, MPIPIC共90年以降6.25 µg/ml以下に分布している株は認められなかった。VCM, HBK, では3.13 µg/ml以下に分布している株が多く, MRSAに対するVCM, HBKには耐性株は認められなかった。緑膿菌の感受性ではHBK, CAZ, IPMの3剤が6.25 µg/mlで80~73%とピークが認

められたがAZTでは12.5 µg/mlにピークがあった。

071 東北地方で分離された *S. aureus* の抗生物質感受性とβ-lactamase活性の年次推移について

高橋 洋・庄司 聡

菊地宏明・渡辺 彰

東北大学抗酸菌病研究所内科学部門

目的: 1992年に東北5県の各施設で分離された *S. aureus* の抗生物質感受性およびβ-lactamase活性を測定し, これまでの成績と比較検討した。

方法: 1992年に東北地方5施設 (弘前大学医学部附属病院, 平鹿総合病院, 山形県立中央病院, 磐城共立病院, 仙台厚生病院) において分離された *S. aureus* 292株に対する各種抗生物質のMIC, およびβ-lactamase活性を測定した (β-lactamaseはBromocresole purpleを指示薬としPCGを基質としたpH指示薬法により定性的に測定した)。

結果および考察: MRSA (DMPPCのMIC $\geq$ 16 µg/ml) の分離頻度は292株中128株, 43.8%で, 1991年度 (41.3%) よりは若干の上昇を示しているが, 各施設別にみると, 増加の続く施設もあれば減少してきている施設もあり, 一定の傾向はみられなかった。その他1992年度分離株に対する各種抗生物質の抗菌力は, MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub>, でみると1991年度とほぼ同等であった。これらの薬剤のうちでMRSAに対する抗菌力が期待できるのはABK, MINO, RFP, VCM, の4薬剤のみであったが, そのうちで耐性株が認められなかったのは, MIC $\leq$ 2.0 µg/mlに全株が分布したVCMのみであった。β-lactamase活性については, 1992年度では, *S. aureus* 全体の44.9%に認められた。β-lactamase活性とメチシリン耐性に関しては, 近年報告されてきているように, むしろ逆相関傾向を示している。

## 072 黄色ブドウ球菌の自己溶菌におよぼす抗菌剤の影響

—第2報 併用効果と自己溶菌活性—

安達由香・加藤義朗・柴田兼良  
松田耕二・真田 実・中川 晋  
萬有製薬株式会社つくば研究所創薬研究所

井上松久

北里大学医学部微生物

目的: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) に対して,  $\beta$ -ラクタム抗生物質が, その自己溶菌を誘導すること, さらにその中でイミペネム (IPM) がもっともその作用が強いことを報告した<sup>1)</sup>。今回は IPM/CTM 併用効果<sup>2)</sup>の作用機作を考える上で, この自己溶菌作用が重要な因子であることが示唆されたので報告する。

方法: IPM に対して低度耐性 8 株 (MIC $\leq$ 3.13  $\mu$ g/ml), 中・高度耐性 11 株 (MIC $\geq$ 6.25  $\mu$ g/ml) の臨床分離株を用いた。

溶菌活性はさきに報告した方法に準じた<sup>1)</sup>。溶菌速度は, 初速度で示した (%/min, %はコントロール群を 100 とした場合の相対値)。併用効果は寒天平板チェッカー法によった。mecA, mecR, femA gene の検出は PCR 法によった。

結果と考察: 臨床菌株 19 株中 13 株は併用効果を示した。併用効果の指標である SR (Synergistic ratio: 1/FIC) と溶菌速度は明らかに正の相関が見られるのに対し, SR と耐性度では相関関係は見いだせなかった。また, 溶菌速度は, 併用効果の認められる菌株では平均 0.198, 併用効果の認められない菌株では平均 0.046 となり, 両群には 1%の危険率で統計的有意差が認められ, 自己溶菌と併用効果は明らかな関連があった。また mecA, mecR, femA はすべての菌株で認められたことより, 自己溶菌と併用効果はこれらとは別の因子で支配されていることが示唆された。

非会員共同研究者 中村景子

1) 第 65 回日本細菌学会総会抄録 G-1-5

2) Chemotherapy 40: 789~798, 1992

## 073 *Mycoplasma pneumoniae* に対するマクロライド系抗菌剤アジスロマイシンの *in vitro*, *in vivo* における効果

石田一雄・田中宏典・竹村 弘  
吉田良滋・水兼隆介・松本哲哉  
菅原和行・賀来満夫  
長崎大学医学部臨床検査医学

朝野和典・須山尚史・古賀宏延  
河野 茂・原 耕平  
長崎大学医学部第二内科

目的: *Mycoplasma pneumoniae* は, 異型肺炎の主な起炎病原体であり, その治療には, 従来よりエリスロマイシンやミノサイクリンが有効とされている。近年開発されたマクロライド系抗菌剤は, 従来のマクロライド系抗菌剤に比べ抗菌力のスペクトルが拡大しており, 種々の病原菌に対し有効であるといわれているが, マイコプラズマに対しても従来のマクロライド系抗菌剤より有効であるといわれている。今回我々は, *Mycoplasma pneumoniae* に対するマクロライド系抗菌剤アジスロマイシンの *in vitro* および *in vivo* における効果を検討したので報告する。

材料および方法: 各種抗菌剤 (5 種) の最小発育阻止濃度は, 微量液体希釈法を用い測定した。 *in vivo* における効果を検討するため, 6 週齢のゴールデンハムスターに, 経気管的に *Mycoplasma pneumoniae* を感染させた後, 経口的に各種抗菌剤を投与し, 治療後, 肺内菌量を測定し, 治療効果を判定した。

結果および総括: アジスロマイシンの 90% 最小発育阻止濃度は, 0.00195 ( $\mu$ g/ml) 未満であった。これに対し, 比較に用いた抗菌剤の 90% 最小発育阻止濃度は, エリスロマイシンが, 0.0156, ミノサイクリンが, 0.5, ロキシスロマイシンが, 0.0312, オフロキサシンが, 1 であった。また, *in vivo* においては, アジスロマイシンは, エリスロマイシンに比較しても良好な効果を示した。

## 074 *Mycoplasma pneumoniae* に対するニューキノロン系抗菌剤 AM 1155 の *in vitro*, *in vivo* における効果

田中宏典・石田一雄・竹村 弘  
吉田良滋・水兼隆介・松本哲哉  
菅原和行・賀来満夫  
長崎大学医学部臨床検査医学

朝野和典・須山尚史・古賀宏延  
河野 茂・原 耕平  
長崎大学医学部第二内科

目的: *Mycoplasma pneumoniae* は、異型肺炎の主な起炎病原体であり、その治療には、従来よりエリスロマイシンやミノサイクリンが有効とされているが、近年開発されたニューキノロン系抗菌剤は、グラム陽性菌、陰性菌に対して幅広い抗菌力を有しており、最近の報告ではマイコプラズマにも有効であるといわれている。今回我々は、*Mycoplasma pneumoniae* に対するニューキノロン系抗菌剤 AM 1155 の *in vitro* および *in vivo* における効果を検討した。

材料および方法: 各種抗菌剤 (7種) の最小発育阻止濃度は、微量液体希釈法を用い測定した。*in vivo* における効果を検討するため、6週齢のゴールドンハムスターに、経気管的に *Mycoplasma pneumoniae* を感染させた後、経口的に各種抗菌剤を投与し、治療後、肺内菌量を測定し、同時に肉眼的な肺炎の広がりを観察し治療効果を判定した。

結果および総括: AM 1155 の最小発育阻止濃度は、0.015~0.06 ( $\mu\text{g/ml}$ ) であった。これに対し、比較に用いた各種ニューキノロン系抗菌剤の最小発育阻止濃度は、0.5~2の間に分布し、またエリスロマイシンは、0.0039~0.0156、ミノサイクリンは、0.25~0.5であった。また、*in vivo* においても、AM 1155 は、エリスロマイシンに比較してもやや良好な効果を示した。

## 075 Q-35 の *in vitro*, *in vivo* における抗 *Mycoplasma pneumoniae* 活性

合原幸子・荒井澄夫  
久留米大学細菌学

我々は、ニューキノロン系抗菌剤が抗 mycoplasma 活性を有することを報告してきた。(Antimicrob. Agents Chemother. 36 (6), 1322, 1992; 37 (2),

1993 in press)。本報告では新しく開発されたニューキノロン系抗菌剤である Q-35 の *M. pneumoniae* に対する活性を検討した。

材料および方法: *M. pneumoniae*; 臨床新鮮分離株 50 株を用いた。MIC, MBC; microtiter 法で測定した。Macrolide 耐性株の誘導; EM, JM の添加液体培地で培養し、最終的にマクロライド耐性株を 19 株作製した。*M. pneumoniae* の感染モデルの作製; 5週齢のシリアンゴールデンハムスターを用い *M. pneumoniae* の新鮮分離株 (No.242) を経気道的に接種した。薬剤は経口投与とし、投与後 24 時間後に肺組織からの *M. pneumoniae* を定量培養した。なお、すべての実験は 1 群 5 匹とした。

結果: *in vitro* 活性; Q-35, OFLX, CPFX, EM, JM, TC, MNC の MIC<sub>50</sub> は 0.39, 0.78, 0.78, 0.006, 0.024, 6.25, 1.56  $\mu\text{g/ml}$  であった。また MBC<sub>50</sub> は 0.78, 1.56, 6.25, 50, 50, 100, 100  $\mu\text{g/ml}$  であり、ニューキノロン系抗菌剤では MBC/MIC 値は低く、macrolide, tetracycline では、その値が高くニューキノロン系が cidal に作用することが明らかになった。Macrolide 耐性株に対する Q-35 の MIC<sub>50</sub> は 0.39  $\mu\text{g/ml}$  であり、また MBC<sub>50</sub> は 0.78  $\mu\text{g/ml}$  であった。*In vivo* 活性; 感染 1 日後 Q-35, OFLX, OPFX の 200, 100 mg/kg/day を 5 日間投与したものは、Q-35, OFLX の 200 mg/kg/day 投与群で有意の *M. pneumoniae* の減少が認められた。感染 5 日間経過後薬剤投与を開始した群では、薬剤を 5 日間投与群では Q-35, OFLX 200 mg/kg/day で有効であったが、100 mg/kg/day では無効であった。また 10 日間の連続投与群では Q-35 の 200, 100 mg/kg/day で有効であったが、OFLX の 100 mg/kg/day で無効であった。CPFAX はすべての系で無効であった。

結論: Q-35 は *in vitro*, *in vivo* のいずれの系でも抗 *M. pneumoniae* 活性を示した。

## 076 レジオネラに対するニューキノロンおよびニューマクロライドの抗菌活性

岩本雅典・山下祐子・松田治子  
東山康仁・光武耕太郎・宮崎義継  
田中研一・橋本敦郎・前崎繁文  
朝野和典・賀来満夫・古賀宏延  
河野 茂・原 耕平  
長崎大学医学部第二内科

目的: レジオネラ感染症に対し、ニューキノロン系

およびマクロライド系抗菌薬の有用性が確認されている。近年これらの抗菌薬の開発が進んでいるが、レジオネラに対する抗菌活性について検討したので報告する。

方法: 使用菌株は, *L. pneumophila* serogroup 1~6, *L. bozemauii*, *L. dumoffii*, *L. longbeachae*, *L. gormanii*, *L. jordanis* の 11 菌株 (標準菌株) を用いた。対象とした薬剤は, ニューキノロン系抗菌薬として, OFLX, TFLX, SPFX, OPC-17116, T-3761, NM-394, Q-35 の 7 薬剤。マクロライド系抗菌薬として, EM, CAM, RXM, AZM, YM-17 K の 5 薬剤, 計 12 薬剤を用いた。

MIC の測定は MIC-2000 システムを用いた微量液体希釈法で測定し, 判定は 2 日後に行った。

感染動物実験は, SPF ハートレイモルモット (3~4 週齢, 雄) に, *L. pneumophila* serogroup 1 を経気道的に行った。

結果: *Legionella* 属 11 菌株に対する MIC では, ニューキノロン系抗菌薬で, TFLX の *L. gormanii* に対する抗菌活性がやや劣ったが, それ以外はすべての菌株に優れた成績を示した。またマクロライド系抗菌薬では, すべての薬剤が EM より優れた抗菌活性を示した。

感染動物実験では, OFLX, SPFX, CAM が優れた効果を示した。

#### 077 アムホテリシン B の体内動態に関する研究

村瀬勢津子・望月真弓  
黒山政一・朝長文弥  
北里大病院・薬剤部

杉田 修  
サントリー(株)医薬センター

目的: アムホテリシン B (AMPH) は古い抗真菌剤であるが, 今なお内臓真菌症の治療には重要である。しかしながら副作用の面で臨床使用が難しくその体内動態に関しても不明な点も多い。そこで AMPH の至適投与方法を検討する目的で, 改めて体内動態に関して一連の検索を企図し検討を重ねてきた。今回は特にラットにおける蓄積性と代謝について検討したので報告したい。

方法: 蓄積試験; ウィスター系雄性のラット (6 週齢) に AMPH 0.5 mg/kg/day の用量を尾静脈より単回および 7 日間連続投与した。最終投与後 4.5 時

間, 3 日, 7 日および 14 日目の血液および臓器 (肝臓, 肺臓, 腎臓および脾臓) を採取するとともに尿および糞便を毎日 12 時間ごとに 14 日間回収した。試料中の AMPH 濃度は HPLC で測定した。

*In vitro* 代謝試験; AMPH 濃度を 2.0  $\mu\text{g/ml}$  として NADPH を加えた。反応は肝ミクロゾーム (MS; 終濃度 5.0  $\mu\text{g/ml}$ ) を添加して開始した。反応時間を 30 分とし, その間適宜反応液を採取した。試料中の AMPH 濃度は同様に HPLC で測定した。

結果および考察: AMPH は投与後 3 日間で血中および臓器中濃度ともに定常状態に達した。7 日目までの成績では特に臓器への蓄積性は認められなかった。一方単回投与 14 日後の尿および糞便ならびに臓器からは, 投与量の約 60% の AMPH が回収された。MS を酸素材料とした代謝実験では, 反応液中からの AMPH の消失は二相性を示し, AMPH の代謝には複数の代謝酵素または代謝経路の存在が示唆された。

以上 AMPH の体内動態を検証するには代謝も考慮する必要が示唆された。

#### 078 YM broth における *Aspergillus fumigatus* に対する抗真菌剤の作用の検討

—併用効果について—

前崎繁文・田中研一・宮崎幸重  
松田治子・光武耕太郎・野田哲寛  
朝野和典・古賀宏延・河野 茂  
原 耕平  
長崎大学第二内科

目的: *Aspergillus* 属に対しては優れた抗真菌活性を有する薬剤が少なく, 重症の *Aspergillus* 感染症の治療には抗真菌剤の併用投与が試みられる。今回, 我々は臨床分離 *Aspergillus fumigatus* 株に対する抗真菌剤の併用効果について *in vitro* で検討したので若干の考察を加えて報告する。

実験方法: 臨床分離 *Aspergillus fumigatus* 3 株を使用した。培地は YM broth を用い, 培養条件はすべて 30°C にて振蕩培養し, 測定は Macrodilution 法にて行った。接種菌量は  $10^6$  spore/ml とし, 併用効果は FIC index を算出し検討した。次に AMPH を 1 時間前投与し, その後 MCZ, FLCZ および itraconazole を添加したときの FIC index も検討した。

結果: 同時投与の併用効果の検討では, AMPH+FLCZ にて 2 株が相乗効果を示し, AMPH+MCZ に

て1株が相乗効果, 1株が相加効果を示し, AMPH+itraconazoleでは1株が相乗効果, 1株が相加効果を示した。アゾール系の2剤による併用効果は相乗および相加効果を認めた株はなく, MCZ+itraconazoleおよびFLCZ+itraconazoleでは拮抗を示した。また, AMPHを前投与したときの併用効果はすべての他の薬剤との組み合わせにおいて同時投与の時の併用効果よりも優れた結果を示した。

#### 079 イトラコナゾール静脈内投与における 実験的肺アスペルギルス症の治療

山本善裕・宮崎治子・宮崎義継  
光武耕太郎・田中研一・岩本雅典  
前崎繁文・橋本敦郎・朝野和典  
賀来満夫・古賀宏延・河野茂  
原耕平

長崎大学医学部第二内科

目的: Triazole系抗真菌剤 itraconazole は, アスペルギルス属に対し強い抗菌活性を示すためアスペルギルス症の治療薬として期待され, 臨床的にも有用性が報告されている。しかし水に難溶性であるため, 経口剤のみが使用されていたが, より高い有効性を期待して注射剤が開発された。今回我々は, 免疫低下状態としたラットに経気管的に *A. fumigatus* を感染させ, 実験的肺アスペルギルス症を作成し, itraconazole 注射剤の治療効果を検討したので報告した。

方法: 低蛋白食, ステロイド投与により免疫低下状態としたSDラット(5週齢)に経気管的に *A. fumigatus* を感染させ, 40% hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin 溶液に溶解した itraconazole を7日間静脈内投与し, 生存率を無治療群, amphotericin B 投与群と比較した。

結果: 無治療群は全例感染後15日までに死亡した。Itraconazole (10 mg/kg) 投与群は amphotericin B 投与群とともに100%の生存率を示した。

考察: 水に難溶性の itraconazole は hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin 溶液に溶解することにより静脈内投与が可能となり, 実験的肺アスペルギルス症において良好な治療成績が得られた。このことは今後, 臨床的にも注射剤の有用性および安全性が確認されれば重症のアスペルギルス感染症の治療薬としてきわめて有効な薬剤となることが期待される。

#### 080 *Candida albicans* の病原性と TNF 産生誘導能

普天間光彦・比嘉太・仲本敦  
新里敬・宮良高維・稲留潤  
小出道夫・普久原浩・橋川桂三  
斉藤厚・草野展周\*

琉球大学第一内科, \*同 検査部

目的: 近年, 深在性真菌症の増加は臨床上大きな問題となりつつある。その中で深在性カンジダ症はもっとも頻度が高いが, その病原因子に関してはいまだ不明な点も多い。今回我々は *Candida albicans* の経気道感染モデルを作製し, 敗血症性ショックの機序の中で大きな役割を演じている Tumor necrosis factor (TNF) の産生誘導能を測定し, その病原性との関連を検討した。また G-CSF 予防投与の効果を検討したので報告する。

方法: SPF マウス (BALB/c 生後7週齢, 雄) を cyclophosphamide (CY) を用いて免疫低下させ, *Candida albicans* 9232 株の酵母を経気管接種により肺カンジダ症を作成し, 経時的に血清および BALF 中の TNF 活性を Bioassay 法にて測定した。In vitro ではマウス肺胞マクロファージを LPS, *C. albicans* にて刺激し TNF 産生誘導能を比較検討した。また, G-CSF 予防投与の効果を肺内生菌数および血清・BALF 中 TNF 活性より検討した。

結果: CY 処理マウスにおいては感染6時間後より血清 TNF 活性の上昇を認めたが, 無処理マウスや CY 処理マウスに G-CSF を投与した群では感度以下であった。BALF 中 TNF 活性は血清同様 CY 処理マウスにおいて高値を示し, G-CSF 投与群では有意に低下を求めた。生菌数では G-CSF の投与により経時的に有意に菌数の減少を認めた。In vitro では LPS と同様 *C. albicans* においても TNF 産生誘導が認められた。

考察: *Candida albicans* は in vitro において TNF 産生を誘導することが示され, in vivo では好中球減少モデルにおける血清・BALF 中 TNF 活性の上昇が認められ特に感染局所における活性が高く病原性との関連性が示唆された。このモデルに対する G-CSF 予防投与の効果発現の機序として, 好中球を増加させ菌体の処理を促進するとともに肺内および血清の TNF 活性を抑制することもその1つと考えられた。

## 081 深在性真菌症治療剤における感受性試験の検討

星野和夫・江田孝志・小張憲次  
瀬戸 勇・越智 滯・丸山昭治  
俣ビー・エム・エル

目的: 全国の医療機関から依頼のあった真菌検査目的の臨床材料より分離された菌株を用い, 真菌菌種同定および, 菌株別 MIC 測定を行い若干の知見を得たので報告する。

方法および対象: 1992年10月~93年1月にもっとも多く分離された *Candida* 属4菌種, と *Aspergillus* 属を対象とした。薬剤は AMP-B, MCZ, FCZ, 5-FC, の4種それぞれの薬剤に対して, サブロープロス (SB) と SAAMF 培地を用い, 液体微量マイクロプレート法と, MIC 2000 で MIC 値を測定した。サブロープロスは完全阻止点を, SAAMF 培地は IC 99 をもって MIC 値とした。

### \*被検菌種と菌株数

菌種	一般材料	血液	計
<i>C. albicans</i>	181	14	195
<i>C. tropicalis</i>	64	7	71
<i>C. grablata</i>	72	10	82
<i>C. parapsilosis</i>	17	22	39
<i>Aspergillus</i> sp.	30	...	30

AMP-B は SB ではすべての菌種に対して 3.13 以下, MCZ は SAAMF では 1 菌株を除いてすべての菌種に対して 3.13 以下の MIC 値を示した。FCZ は比較的高い値であったが, SB と SAAMF は *C. tropicalis* で最大 10 管, 平均 7.7 管の差が見られた 5-FC では FCZ と同様の傾向が見られた, AMP-B は SAAMF で高い傾向を示し, MCZ は両培地で近似した MIC 値であった。

考察: 真菌の MIC 値は薬剤と使用培地の組み合わせにより大きく変動する事例が見られた。これは測定方法の不統一によるものであり早期統一化が必要である。

## 082 アゾール系抗真菌剤が奏効した腹腔内膿瘍の3例

花谷勇治・蓮見直彦・浅越辰男  
三吉 博・高見 博・小平 進  
帝京大学第一外科

アゾール系抗真菌剤が奏効した腹腔内膿瘍の3例を

経験したので報告した。

症例1: 65歳男性, 残胃癌のため残胃全摘術を行った。術後10日目より 37~38°C 台の発熱と白血球数増加 (21,800/mm<sup>3</sup>) を認め, 左側胸部痛および全身倦怠を訴えた。CT スキャンで左横隔膜下膿瘍と診断し, sulbactam/cefoperazone を投与したが無効であった。ドレーン抜去部から *C. albicans* が検出され, 血中  $\beta$ -グルカン値が 24.3 pg/ml と陽性であった。Fluconazole 200 mg/日投与により2日目から解熱し, 全身状態の改善を得た。血中  $\beta$ -グルカン値は治療開始後1週間で 2.9 pg/ml と正常化した。

症例2: 65歳男性, 穿孔性胃潰瘍に対し保存的治療を施行中, 全身倦怠感が出現し, 37~38°C 台の発熱を認めた。CT スキャンで胃小弯と肝左葉に囲まれて膿瘍形成を認めたため, cefmetazole と clindamycin を投与したが無効であった。血液培養は陰性であったが, 血中  $\beta$ -グルカン値が 313.5 pg/ml と高値を呈した。Fluconazole 200 mg/日投与により2日目から解熱し, 全身状態の改善を得た。

症例3: 60歳男性, 穿孔性十二指腸潰瘍に対し穿孔部単純閉鎖術を行った。術後1週間を経過しても 38°C 台の発熱が続き, 全身倦怠を訴えた。CT スキャンで右横隔膜下に膿瘍形成を認め, 血中  $\beta$ -グルカン値が 15.9 pg/ml と陽性であった。Miconazole 600 mg/日投与により2日後から解熱し, 全身状態の改善を得た。血中  $\beta$ -グルカン値は治療開始後10日目には 4.1 pg/ml と正常化した。

なお, fluconazole, miconazole 投与に起因すると思われる自他覚的副作用ならびに臨床検査値異常は認めなかった。

考察: 上部消化管病変に関連した腹腔内膿瘍では真菌の関与も念頭に置くべきと思われる。診断には CT スキャンと血中  $\beta$ -グルカン定量が有用であった。アゾール系抗真菌剤は副作用が少なく有用な薬剤と考えられた。

### 083 造血器疾患に合併する深在性真菌感染症における抗体感作ラテックス凝集反応によるカンジダ抗原検出法の有用性

岩崎博道・中山 俊・上田孝典  
 福島俊洋・河合泰一・吉村輝夫  
 津谷 寛・中村 徹  
 福井医科大学第一内科

山下政直  
 同 検査部

目的: 造血器疾患患者は原疾患により、あるいはその治療により immunocompromised host となることが多く、合併する感染症に対する対策が重要な問題点となっている。最近では深在性真菌感染症、特に深在性カンジダ感染症の増加が指摘されているが、その確定診断はきわめて困難である。今回我々は抗体感作ラテックス凝集反応による2種のカンジダ抗原検出法を用いて深在性真菌感染症診断における有用性を検討した。

方法: 1992年2月から1年間に当科に入院した造血器疾患患者28例(leukemia 11, MDS 6, lymphoma 4, myeloma 2, その他5)と健常者2例を対象とした。血中カンジダ抗原検出法は糖蛋白抗原を検出するCAND-TEC (Ramco) と、細胞壁マンナンを検出するLA-極東(極東製薬)とを用いた。

結果: 対象患者は以下の様に分離した。真菌症確診群(2例: 血液培養陽性。いずれも *Candida*) および真菌症疑診群(8例: 抗真菌剤有効)を真菌症群とした。また、非真菌感染症群(11例: 通常の抗生剤有効), colonization群(3例), さらに健常者群2例を非真菌症群とした。1:2をcutoff titerとしたときのCAND-TECとLA-極東の陽性率はそれぞれ、真菌症確診群では100%(2/2), 50%(1/2), 真菌症疑診群では100%(8/8), 63%(5/8), 非真菌感染症群では36%(4/11), 0%(0/11), colonization群では67%(2/3), 0%(0/3), 健常者群では0%(0/2), 0%(0/2)であった。これらの検出法についての評価するとCAND-TEC (>1:2)では感度100%, 特異性63%を示し、LA-極東では感度70%, 特異性100%を示した。

結論: 今回の結果からCAND-TECは感度に優れ、LA-極東は特異性に勝ることが示され両者を組み合わせて用いることにより的確な診断が可能になることが

推測された。両検査法とも迅速性に富む方法なので造血器疾患に合併するカンジダ感染症に対する迅速な診断および治療方針決定にはきわめて有効と考えられた(厚生省がん研究助成金の援助を受けた)。

### 084 血清学的真菌診断法が有用であった難治性血液疾患に合併した深在性真菌症の3例

中山 俊・岩崎博道・上田孝典  
 綿谷須賀子・福本雅和・津谷 寛  
 中村 徹  
 福井医科大学第一内科

山下政直  
 同 検査部

目的: 難治性血液疾患の経過中において真菌感染症は重要な合併症の1つであるが確定診断が困難であり近年血清学的補助診断法が注目されている。今回我々は既存の診断法に加え、新しい方法であるFactor Gを利用する(1→3)- $\beta$ -D-グルカンマイクロプレートキット(G-test)が診断、治療効果判定に大きな役割を果たしたと考えられる3症例を経験した。

症例1: 54歳, 女性。1987年発症の多発性骨髄腫。1992年7月の化学療法後, 肺炎, 呼吸不善を併発した(WBC 200/Ul)。抗細菌性抗生剤にて改善せず(咽頭培養にて *Candida* +), 8/5 (1) CAND-TEC  $\times$  4 (2) Fungal index 53 (3) G-test (plasma) 70.84 pg/ml (4) mannan Ag (+) (5) D-ara./cr. 22.83  $\mu$ mol/mg とすべて高値を示し, FLCZ 400 mg/day の投与を開始した。臨床所見は改善し, 検査所見も 8/28 には (1)  $\pm$  (2) 3.9 (3) 56.37 (4) — (5) 4.92 と著明に改善した。

症例2: 41歳女性。1992年発症のAML。6/5からの地固め療法後, 38°C発熱をきたし(WBC 400  $\mu$ l), 抗細菌性抗生剤にて解熱せず, 6/23にはG-test 12.12 pg/mlであり, FLCZ 400 mg/dayの投与が開始された。7/4には37°C以下へ解熱しG-testも改善した。

症例3: 18歳, 女性。1990年発症のEvans症候群。PSL 25 mg/dayにて維持されていたが, 1992年6/20髄膜炎を発症した。髄液より *Cryptococcus* spが検出されFLCZ 400 mg/dayの投与が開始され, 後には5 FC 6 g/dayも追加となり, 60日後髄液培養検査は陰性化した。しかし頭部症状は持続し, また *Cryptococcus* 抗原価は34倍であり, 抗真菌剤投与を継続し, 1992年1月には症状の消失, 抗原価の低下( $\times$ 8)を

認めた。

結語: 以上の症例より G-test を含めた各種血清学的真菌診断法の臨床応用は深在性真菌症の診断, 治療効果判定に非常に有用と考えられた。

## 085 Fluconazole の 1 日 800 mg 投与の臨床的有用性の検討

橋口浩二・玉田貞雄・多田羅治  
木村雅司・窪田好史・岸本寿男  
沖本二郎・中林美枝子・二木芳人  
副島林造

川崎医科大学呼吸器内科

目的: 易感染性宿主の増加に伴い真菌感染症がその予後を左右する重要な因子の 1 つとして注目されている。現時点では *Candida* 属や *Aspergillus* 属をはじめとする真菌感染症に対してもっとも抗菌力の優れている薬剤はポリエンマクロライドである amphotericin B (AMPH) であるがその毒性による副作用のため経静脈的には使用できない場合が少なくない。そこで, そのような症例に対し抗 *Aspergillus* 活性は劣るが安全性の高い fluconazole (FLCZ) を大量投与することにより治療し, その臨床効果および副作用発現について検討した。

対象と方法: 1992 年 5 月から 1993 年 6 月までの 14 か月間に川崎医科大学附属病院に入院していた深在性真菌症患者 6 例を対象とした。年齢は 53 歳から 73 歳で平均年齢 65 歳, 男性 5 例・女性 1 例であった。肺 *Aspergilloma* 2 例, 感染性嚢胞 (*Aspergillus*) 1 例, 肺 *Mucor* 症 1 例, 髄膜炎 (*Cryptococcus*) 1 例, 置換弁感染症 (*Candida*) 1 例であった。FLCZ は 800 mg/day を経口もしくは経静脈的に投与した。投与期間は 7~136 日間で AMPH, RFP, 5-FC などとの併用療法を行った例もあった。

成績: 臨床効果が認められたものは 2/6 例 (33.3%) で感染性嚢胞 1 例, 髄膜炎 1 例であった。原因真菌の消失は 3/4 例 (75%) に認められ, *A. fumigatus* 2 例, *C. neoformans* 1 例であった。副作用の発現は 2/6 例 (33.3%) に認められ, 2 例とも肝機能低下であったが FLCZ 投与中止により速やかに改善した。

結語: 菌消失率は 75% であったが, 臨床効果は 33.3% とやや低いものであった。副作用の発現は 33.3% に認められたが全例一過性の肝機能障害であり薬剤投与中止により速やかに正常に復し重篤な副作用は認められなかった。

AMPH 投与困難例では FLCZ の大量投与は有用な

治療法の 1 つと成り得たが肝機能低下をはじめとする副作用に細心の注意を払う必要があると考えられた。

## 086 *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron* (平成 3 年 6 月~平成 4 年 5 月) の各種化学療法剤に対する感受性

田中香お里・田中保知・伊藤正志  
加藤はる・加藤直樹・渡辺邦友  
上野一恵

岐阜大学医学部附属細菌気性菌実験施設

五島瑛智子

東邦大学医学部微生物

島田 馨

東京大学医科学研究所感染症部

清水喜八郎

東京女子医科大学内科

原 耕平

長崎大学医学部内科

臨床細菌学的に重要な *Bacteroides fragilis* と *Bacteroides thetaiotaomicron* の各種化学療法剤に対する感受性の動向を監視する目的で, 平成 3 年 6 月から平成 4 年 5 月に研究班 (班長, 島田 馨) により収集されたこれら菌種の各種抗菌薬に対する感受性を測定した。使用した菌株は *B. fragilis* 195 株, *B. thetaiotaomicron* 58 株で, 使用抗菌薬は ABPC, PIPC, CEZ, CPZ, CZX, CFX, CMZ, CTT, LMOX, CBPZ, IPM, CVA/AMPC, SBT/CPZ, MINO, CLDM, OFLX, metronidazole (MTN) の 17 種類とした。MIC は寒天平板希釈法で測定し, 接種菌量は  $10^6$  CFU/ml とした。*B. fragilis* に対する MIC<sub>90</sub> は MTN と IPM が 0.78  $\mu$ g/ml でもっとも優れ, ついで CVA/AMPC であった。*B. thetaiotaomicron* では MTN がもっとも優れた抗菌力を示し (MIC<sub>90</sub>, 0.78  $\mu$ g/ml), ついで IPM (MIC<sub>90</sub>, 1.56  $\mu$ g/ml), CVA/AMPC (MIC<sub>90</sub>, 6.25  $\mu$ g/ml) であった。いずれの菌種においても過去の成績と比較し, IPM 耐性株の増加は認められなかった。



## 087 マウス腹腔内膿瘍モデルを用いた YP-14 の *in vivo* 抗菌力の評価

田中保知・渡辺邦友・田中香お里  
加藤はる・加藤直樹・上野一恵  
岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設

目的: piperacillin (PIPC) は *Bacteroides fragilis* の産生する cefuroximase (CXMase) に不安定であり, *B. fragilis* が関与した混合感染における PIPC の有用性は必ずしも高くない。ところで YP-14 は PIPC と  $\beta$ -lactamase 阻害剤である tazobactam (TAZ) を 4:1 の割合で配合した新しい薬剤である。TAZ は CXMase を阻害することが *in vitro* の検討で明らかとなっている。そこで演者らはマウス腹腔内感染モデルを用い, CXMase を産生し, PIPC に高度耐性の *B. fragilis* と PIPC 感受性の *E. coli* の混合感染に対する PIPC 単独と YP-14 の *in vivo* における効果を比較検討した。

方法: マウスは C57 BL/6J を用い, 接種菌に *B. fragilis* GAI 0588 株 (PIPC/YP-14 の MIC=100/6.25) および *E. coli* 31053 株 (1.56/1.56) を用いた。PIPC および YP-14 250 mg/kg (PIPC 力価) を菌接種直後 (早期投与群) または菌接種後 1 日目 (遅延投与群) から 1 日 4 回皮下投与し, 膿瘍重量および膿瘍中生菌数におよぼす影響を検討した。

結果: マウス 1 匹当たりの膿瘍重量はいずれの実験群も対照群との間には有意差は認められなかったが, YP-14 早期投与群の膿瘍重量はもっとも小さく, YP-14 遅延投与群と比べて有意に小さかった。膿瘍中の *B. fragilis*, *E. coli* 生菌数は, YP-14 早期投与群でいずれももっとも少なく, 特に *B. fragilis* 菌数は対照群, YP-14 遅延投与群, および PIPC 早期投与群との間に有意差が認められた。

結論: YP-14 および PIPC 投与による腹腔内膿瘍の重量減少効果および膿瘍中生菌数減少効果は早期投与群において遅延投与群よりも高い傾向がみられた。また YP-14 によるこれらの *in vivo* 効果は PIPC 単独よりも高いと考えられた。

## 088 *Bacteroides fragilis* の外膜に存在する 51 kDa 蛋白質の機能

中野正之・後藤直正・西野武志  
京都薬大微生物

目的: *Bacteroides fragilis* は, 腸管内に常在する嫌

気性グラム陰性桿菌であり, 日和見感染症の起因菌として臨床重要視されている。本菌は, 多剤耐性の傾向が強く, その耐性の要因の一つとして外膜透過性が考えられる。金澤らは, 昨年度本総会において, 本菌の外膜蛋白質のうち, Mr. 125,000 (125 kDa), Mr. 92,000 (92 kDa) および Mr. 51,000 (51 kDa) の蛋白質が透過孔形成能をもつことを *in vitro* の実験から見だし報告した。今回, 我々はこれらの蛋白質の内, 51 kDa の蛋白質が薬剤感受性や増殖に重要な機能をもつことを見いだしたので報告する。

方法: 51 kDa 蛋白質変異株の分離は, *B. fragilis* ATCC 25285 を変異剤で処理し, cefoxitin (CFX) 耐性を指標として行った。また, 精製した 51 kDa 蛋白質で免疫した Balb/c マウスの脾細胞とミエロマ細胞との融合により単クローン抗体産生細胞を作製した。外膜蛋白質と抗体との結合は, Western immunoblot 法により調べた。薬剤感受性は, 寒天平板希釈法により測定した。

結果・考察: 変異剤の処理により出現した CFX 耐性変異株と 51 kDa 蛋白質特異抗体 (51 kDa MAb) との反応により, これらの変異株では 51 kDa 蛋白質が減少していることを見いだした。また, 変異株の増殖速度は, 親株に比べて明らかに遅かった。これらの結果は, 51 kDa 蛋白質が, *B. fragilis* の外膜での薬剤や栄養物の透過に関与する重要な蛋白質であることを示唆する結果である。次に, *B. fragilis* の臨床分離株の外膜における 51 kDa 蛋白質の存在を, 51 kDa MAb を用いて調べたところ, 本蛋白質が減少した株を見いだした。これらの減少株では  $\beta$ -lactam 剤に対する感受性が減少しているものが多かった。これは, 51 kDa 蛋白質がこれらの薬物の外膜透過に関与する重要な孔形成蛋白質であるという結論を支持する結果である。

## 089 Detection of *Bacteroides fragilis* by the polymerase chain reaction

Ravi Jotwani, Naoki Kato,  
Haru Kato, Kaori Tanaka,  
Kunitomo Watanabe and Kazue Ueno  
Institute of Anaerobic Bacteriol. Gifu Univ.  
Sch. of Med.

*Bacteroides fragilis* is an important anaerobe which is the most frequently isolated from a variety of anaerobic bacterial infections. However, because of its oxygen sensitivity, *B. fragilis* can be inade-

quently recovered from clinical specimens. As a step to recognize further the role of this organism in a variety of infectious diseases, attempts were made to study the possible use of polymerase chain reaction (PCR) for identification of *B. fragilis*, because PCR may allow us to detect oxygen-sensitive anaerobes from numerous infectious diseases irrespective of storage condition of specimens. Reference strains and clinical isolates were used in this study. A segment of the gene encoding the neuraminidase of *B. fragilis* was amplified by PCR. Ability of the organism to produce neuraminidase was checked by fluorometry. PCR was found to be almost 100% specific and the results were in total agreement with fluorometric analysis for all the 51 strains of *B. fragilis* tested. Neuraminidase producibility was demonstrated in 5 of 22 strains of the *B. fragilis* group organisms other than *B. fragilis*, 1 of 8 strains of other anaerobic gram-negative rods, and 4 of 17 strains of *Clostridium* species; none of these neuraminidase-positive strains were positive for PCR to detect the *B. fragilis* neuraminidase gene. Sensitivity of the PCR was found to be 100 CFU per assay.

#### 090 *Helicobacter pylori* の各種抗潰瘍薬に対する薬剤感受性

藤山寛三・久保田利博・生田真澄  
山崎 透・永井寛之・後藤陽一郎  
藤岡利生・那須 勝  
大分医科大学第二内科

方法: 標準株 NCTC 11639 と臨床分離株 39 株の *H. pylori* を用い、抗潰瘍薬の sofalcone, plaunotol, bismuth, cimetidine, ranitidine, famotidine, omeprazole, lansoprazole, AG-2000, E-3810, E-3810 (チオエーテル体) NC-1300-O-3 に対する薬剤感受性を寒天平板希釈法にて測定した。さらに E-3810 (チオエーテル体) を用いて、液体培地中における *H. pylori* に対する溶菌、殺菌作用を検討するとともに、*H. pylori* におよぼす形態学的変化も検討した。また E-3810 については、他の主な一般細菌の薬剤感受性も測定した。

結果:

1. 粘膜防御因子増強剤は sofalcone 6.25~100, plaunotol 12.5~200, bismuth 12.5~400  $\mu\text{g/ml}$  とあ

る程度の抗菌力を認めた。

2.  $\text{H}_2$  ブロッカーは, cimetidine と famotidine が 400~1600, ranitidine >1,600  $\mu\text{g/ml}$  と、ほとんど抗菌力はみられなかった。

3. プロトンポンプ阻害剤では, omeprazole 12.5~200, lansoprazole 1.56~25, AG-2000 0.39~6.25, E-3810 1.56~25, E-3810 (チオエーテル体) 0.05~6.25, NC 1300-O-3 6.25~100  $\mu\text{g/ml}$  と、強い抗菌力を認めるものが多かった。

4. E-3810 (チオエーテル体) により *H. pylori* の viability 低下と形態変化が認められた。

5. E-3810 は, *H. pylori* 以外の主な一般細菌に対しては抗菌力を認めず, E-3810 の抗菌活性は *H. pylori* に選択的であることが示唆された。

結語: Lansoprazole, E-3810, およびこれらの活性体は *H. pylori* に対して優れた抗菌力を持ち, *H. pylori* 治療におけるプロトンポンプ阻害剤の有用性が示唆された。

#### 091 プロトンポンプインヒビターの *Helicobacter pylori* に対する抗菌力

山本一成・福田能啓・殿勝康司  
西谷秀樹・坂上 隆・水田年美  
山村 誠・田村和民・大野忠嗣  
里見匡迪・下山 孝  
兵庫医科大学第4内科

高見滋人・林 公子・田村俊秀  
兵庫医科大学細菌学

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 感染と消化性潰瘍の再発との間に関連性が認められている。今後の消化性潰瘍の治療には, *H. pylori* に対して抗菌作用を持つ薬剤の長期投与により潰瘍の再発率を低下させることが重要な治療命題となる。抗潰瘍薬であるプロトンポンプインヒビターの3種類(オメプラゾール, ランソプラゾール, E 3810) に体内変化物質であるランソプラゾール活性体と E 3810 のチオエーテル体の *H. pylori* に対する抗菌作用を検討した。他に抗菌薬5種類と胃粘膜防護剤の抗菌作用も検討した。対象菌株は臨床分離8菌株と標準2菌株を使用した。方法は化学療法学会の方法に従い, 200  $\mu\text{g/ml}$  以下の濃度より検討した。

結果: オメプラゾールは 25~50  $\mu\text{g/ml}$  で *H. pylori* の発育阻止が認められた。ランソプラゾールは 0.781~3.125  $\mu\text{g/ml}$  で発育阻止が認められた。活性体も同様に 0.781~3.125  $\mu\text{g/ml}$  で発育が阻止された。E

3810は0.781~3.125  $\mu\text{g/ml}$ で発育阻止が認められた。チオエーテル体では0.195~1.563  $\mu\text{g/ml}$ の低濃度で発育阻止を認めた。抗菌剤のAMPC, CPOX-PR, ロメフロキサシン, トスフロキサシン, エリスロマイシンでは0.391~1.563  $\mu\text{g/ml}$ , 1.563~6.25  $\mu\text{g/ml}$ , 3.125~6.25  $\mu\text{g/ml}$ , 0.781~1.563  $\mu\text{g/ml}$ , 0.781~3.125  $\mu\text{g/ml}$ に抗菌作用を認めたが, 1菌株がCPDX-PRに25  $\mu\text{g/ml}$ と抵抗性を持つ菌を認めた。エリスロマイシンの200  $\mu\text{g/ml}$ でも発育してくる耐性菌も1株認められた。胃粘膜防護剤の中ではブラウントールが1.563~3.125  $\mu\text{g/ml}$ ともっとも強い抗菌作用を示した。

結語: エリスロマイシンやセフェム系に耐性菌や抵抗性の *H. pylori* が存在することは, 除菌のため安易に抗生剤を投与するべきでないと考えられ, 潰瘍再発を防ぐ治療には, 抗菌作用のある抗潰瘍剤による治療法が望ましい。

## 092 眼科領域におけるMRSA感染症

笹川智幸・阿部達也・宮尾益也  
 本山まり子・大石正夫  
 新潟大学眼科

最近, 眼手術の術後感染でMRSAが検出された症例を相次いで2例経験したので, その経過を報告し, MRSA眼感染症の近年の動向につき検討した成績を述べる。

症例1は73歳女性, 右眼網膜剝離手術を施行, 約1年後に晩期ブロンベ感染を発症した。病巣よりMRSAが検出された。ブロンベ除去, arbekacin水溶液による洗滌, 点眼により治癒した。

症例2は65歳女性, 右眼網膜剝離手術後4か月経って晩期感染を発症しMRSAが検出された。症例1と同様にブロンベを除去して抗菌剤により治癒した。

従来, 眼感染症からのMRSA検出率は, 我々の眼感染症クリニックにおける1990年までの検討で約20%であったが, 1991年, 1992年には約50%に増加してきている。これらの大部分は市中感染であり, 増加の原因については不明であるが, 眼科領域における抗菌剤点眼薬の使用状況, 眼手術などcompromised eyeとしての宿主側因子などが関連するものと考えられる。

1980年より1992年までのMRSA眼感染症の臨床的背景, 薬剤感受性など検討した成績を報告する。

## 093 小児外科領域におけるMRSA感染症の疫学的検討

山東敬弘<sup>1)</sup>・横山 隆<sup>2)</sup>・市川 徹<sup>1)</sup>  
 檜山英三<sup>2)</sup>・児玉 節<sup>1)</sup>・竹末芳生<sup>1)</sup>  
 宮本勝也<sup>1)</sup>・松浦雄一郎<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 広島大学医学部第一外科  
<sup>2)</sup> 広島大学医学部附属病院総合診療部

目的: MRSA感染症は院内感染として問題となっており, 幼若小児を扱う小児外科領域においても重要な問題である。今回小児外科領域のMRSA感染症の特色を明らかにするために疫学的検討を行ったので報告する。

方法: 1983年~91年に当科病棟(成人, 小児同一フロア)で入院加療した小児外科症例より検出された57株(57症例)の*S. aureus*について各種抗菌剤のMICを測定し, コアグラゼ型, TSST-1産生性, エンテロトキシン型別(A~D)および, 1991年92年に医療従事者, 病棟環境株のコアグラゼ型, トキシン型を検討した。

結果: 小児外科患者より分離した*S. aureus* 57株中28株がMRSAであった。1987年以後は病棟内感染がほとんどで, 減少の傾向はなかった。コアグラゼIV型, エンテロトキシンA型が初期は主流であったが, コアグラゼII型に1986年より変化し, エンテロトキシン型もB, CT, ACT型へと順次変遷し高度耐性化した。この変化は, 病棟環境や医療従事者の手指よりの検出株に一致し, 鼻腔保菌株はむしろ流行型より遅れて変遷した。MRSA感染例では新生児や呼吸器感染で重症例が多く認められたが, 成人でMRSA腸炎を起こすコアグラゼII型, CT型株やACT型株では特に重篤性は認められなかった。

考察: 小児外科MRSA株も環境, 他の成人患者株に影響され, 院内感染防止対策としてこれらの対策が重要と思われた。また小児のMRSA病原感受性は成人と異なることが推測された。

## 094 消化器手術後のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) 腸炎の検討

竹末芳生<sup>1)</sup>・横山 隆<sup>2)</sup>・児玉 節<sup>1)</sup>

山東敬弘<sup>1)</sup>・平田敏明<sup>1)</sup>・板羽秀之<sup>3)</sup>

松浦雄一郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 広島大学第一外科

<sup>2)</sup> 同 総合診療部

<sup>3)</sup> 同 中央検査部

目的: 消化器外科術後において MRSA 腸炎は、現在常に念頭においておく必要がある合併症である。ここで同じ MRSA 腸炎でもただ頻回の下痢のみの軽症例や臓器障害を起こす重篤なものまであり、また発症時期も術直後から、術後やや遅れて発症するものがある。そこで以上の点を考慮し MRSA 腸炎を host, parasite, drug の面から検討を行った。

方法: 当科で過去 5 年間で経験した MRSA 腸炎 24 例と MRSA コロニー化患者 32 例において、宿主背景因子、抗生剤使用状況、細菌側因子としてエンテロトキシン型別分類を用い比較を行った。また腸炎発症時期を頻発する術後 6 日までと、散発するそれ以降にわけ検討した。

結果: 術式別の腸炎発生頻度は胸部食道全摘 15%、胃切除術 7.8%、臍頭十二指腸切除 5.5%、大腸切除術 (含む直腸切断術) 4.1% であった。宿主の背景因子ではコロニー化症例と有意の差を認めたものは性別 (腸炎例、男 95.8%) のみであり、栄養状況、年齢、肝硬変、DM、術前入院期間などは差を認めなかった。また抗生剤の種類、投与期間も差は認められなかった。各エンテロトキシン型における腸炎の発生頻度は AC 型 30.1%、C 型 5.7%、B 型 0% であり AC 型で有意に高率であった。腸炎発症時期では術後 6 日以内の早期発症が 16 例、7 日以降の晩期発症が 8 例であった。早期発症例では 39°C 以上の高熱、血圧低下、低酸素血症などを認めた中等、重症例が 75% であり末血中白血球数 6,000/mm 以下の減少例が 62.5% と晩期発症の 25%、12.5% と比べ有意に高値を示した ( $P < 0.05$ )。一方晩期発症例の特徴は長期間絶食 (11.8 日)、抗生剤長期投与 (13.9 日) であり、肝不全などの術後合併症を認めた症例に好発しており (75%)、早期発症の 25% と有意の差を認めた ( $P < 0.05$ )。

## 095 消化器外科臨床分離 MRSA に関する検討

張 遠春・岩井重富・佐藤 毅

国松正彦・西川 亨・加藤高明

大塚一秀・中川良英・加澤玉恵

斐 正徳・梶真由美・伊藤裕美子

藤井雅志・田中 隆

日本大学医学部第三外科

目的: 近年、多剤耐性黄色ブドウ球菌感染症は外科領域においても増加傾向にあるため、実際に多剤耐性 MRSA (以下 MRSA と略す) の分離状況および感受性の変遷などについて検討した。

方法: 我々は 1977 年から消化器外科領域における各種検体からの分離菌の保存を行うとともに、定期的に分離保存菌の各種抗菌剤に対する感受性試験を行ってきた。今回は MRSA の分離状況、コアグラゼ型、TSST-1 産生性および感受性変遷の分析を試みた。

成績: MRSA 感染症は 1988 年に突如出現し、以後急激な増加傾向を示した。1988 年より 1992 年 6 月までの 5 年間の総検体 2,527 検体のうち、634 検体 (25.1%) に MRSA が検出された。各種検体のうち、もっとも分離頻度が高かったのは喀痰であり、39.7% であった。次に、糞便では 30.5%、胆汁では 28.8%、ドレーンでは 26.6%、胆汁では 15.0% の順位であった。また、血液 (10.7%) にも検出された。臨床分離株の 94.6% はコアグラゼ II 型であった。また、TSST-1 産生株は 83% を占めた。MRSA 単独感染は少なく、ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌あるいは嫌気性菌などとの混合感染が多く認められた。疾患別 MRSA 感染症発生率は食道癌術後の感染 (14.8%) がもっとも多く、肺炎が多かった。次に肝・胆道・膵臓悪性疾患 (12.7%) で、主に姑息的なバイパス手術後の担癌患者で多く発生した。また、大腸癌術後の感染 (6.9%) では創感染が多く、胃癌術後の縫合不全などによる感染 (3.9%) では腹腔内感染が多かった。年度別に各種抗菌剤に対する MIC 測定によって、セフェム系、ニューキノロン系、テトラサイクリン系薬剤およびカルバペネム系薬剤などにも強い耐性化が認められた。VCM でも耐性化傾向に注意する必要がある。

結語: 多剤耐性の MRSA 感染症は、1988 年から急激に増加した。今回、我々はこの分離状況および感受性の変遷などについて検討した。

## 096 尿から分離された MRSA の性状とその患者背景

—MRSA 尿症の検討—

那須良次

十全総合病院泌尿器科

中村和枝

同 中央臨床検査科

目的: 1992年1月から1993年3月までにMRSA 109株が分離され、26株(23.9%)は尿由来株であった。今回、尿から分離されたMRSAの性状と患者背景を検討した。なお、CZX 25 µg/ml, NaCl 3%含有寒天培地上で、35°C、一夜培養後の発育の有無でMRSAを判定した。

対象: 尿から分離されたMRSA 26株。

検討項目: 1. 各種薬剤のMIC(微量液体希釈法)、2. コアグラマーゼ型、3. β-ラクタマーゼ産生能(ニトロセフィン法)、4. 患者背景 基礎疾患、抗菌剤使用、分離菌量、混合感染、膿尿、発熱、治療について。

結果: 1. 薬剤感受性: ABK, VCMは良好な感受性を有し、そのMICは全株2 µg/ml以下に分布していたが、MINOについては耐性化傾向にあった。尿由来株では喀痰由来株に比べOFLXに対する耐性株が多かった。2. コアグラマーゼ型: II型12株、IV型9株、III型1株、分類不能4株。3. β-ラクタマーゼ産生能: 18株(75%)が産生株。4. 患者背景: 1例を除いて基礎疾患あり、9例に尿路カテーテルが留置されていた。分離時26例中21例に前治療があり、内訳はキノロン14例、第三世代セフェム3例、第二世代セフェム1例などであった。分離菌量別には10<sup>2</sup>/ml 7株、10<sup>3</sup>/ml 8株、10<sup>4</sup>/ml 2株、10<sup>5</sup>/ml 9株であった。複数菌分離は21例32株あり、*E. faecalis* 7株、*P. aeruginosa* 5株、*Candida* spp. 4株、*S. epidermidis*、*Flavobacterium* spp.各3株など尿路弱毒菌が多く分離された。4例で発熱を認め、1例はMRSA単独分離例であったが、MINO, OFLX投与が奏効し、解熱、除菌された。

結語: 尿から分離されるMRSAは菌交代の結果であることが多く、菌量も少なく尿路病原性は弱い。基礎疾患を有する患者では病原性を発揮する可能性がある。尿路から全身感染に拡大する前に的確に診断し、ABK, VCMを中心とした治療を要するが、感受性の推移には注意が必要である。尿路症状のない無症候生MRSA尿症に対しては積極的な治療は不要であるが院内感染の温床となる可能性がある。

## 097 腎不全MRSA感染患者に対する化学療法

桜井孝彦・柳岡正範・安藤慎一

片山知美・早川 敏・田所 茂

星長清隆・名出頼男

藤田保健衛生大学医学部泌尿器科

目的: MRSA感染症に対して現在、我々が臨床でもっとも多く使用しているのは、vancomycin(以下VCM)やarbakacin(以下ABK)である。しかしながら、これらを腎機能患者に使用する際、投与量に十分配慮しなければならないのは周知のごとくである。今回我々は、腎不全に合併した全身性MRSA感染症に対して血中濃度をモニタリングしつつ、この2剤を使用した症例について報告した。

症例: 46歳男性。1992年10月28日死体腎移植術施行。11月4日十二指腸潰瘍による大量出血に対し、広範囲胃切除術および移植腎摘出術施行、以後血液透析を再導入し、透析膜はHPMを使用した。11月9日以降喀痰、創部膿ドレーン、便よりMRSAを検出した。

治療: 11月16日よりVCM 250 mg×1/日(静注)、ABK 100 mg×1/日(筋注)併用投与開始。投与後、1, 3, 6, 12時間後およびHD前後の血中濃度をVCM, ABK共に蛍光偏光測定法にて経時的に測定した。

結果および考察: VCMは投与後1時間で最高血中濃度となり、HDによる除去率は51.9%であった。ABKは投与3時間後に最高血中濃度となりHDによる除去率は26.4%であった。今回、HPMを使用することによりVCM血中濃度は著明に減少し、その蓄積性は認められなかった。HD管理下の患者では透析膜の性質により、大幅にdialysanceが異なると考えられ、HD前後の血中濃度モニタリングが必要と考えられた。

## 098 実験的マウス皮膚MRSA感染症への抗菌薬投与

秋山尚範・下江敬生・荒田次郎

岡山大学皮膚科

目的: MRSA皮膚感染症の各種抗菌薬による治療実験のため以下の検討を行った。

方法: シクロホスファミド処理したマウスの背部を剃毛し、癰腫由来の中等度耐性MRSA(コアグラ

一ゼIV型、ファージI・III群、mec A gene+)を皮内注射した(接種菌量 $1.7 \times 10^6 \sim 1.3 \times 10^7$ cfu/0.1 ml)。各種抗菌薬を菌接種12時間後より1日2回単独または併用投与し、菌接種3, 5, 7日目に菌量の推移および耐性化について検討した。本菌のMIC ( $\mu\text{g/ml}$ )はMPIC 32, ABPC 128<, CMZ 16, CTM 2, CZX 16, IPM 0.12, FOM 64, MINO 4, OFLX 1, TFLX 0.06, VCM 2, GM 64, FA 0.25であった。

結果:菌種の推移の検討より。CMZ筋注+FOM筋注, IPM筋注+CTM筋注, TFLX内服+IPM筋注の併用は併用効果を認めたが、OFLX内服+MINO筋注の併用は拮抗作用を示した。0.1% GM軟膏+2% FA軟膏外用を併用するも全身投与抗菌率より効果は劣った。耐性化は $\beta$ -ラクタム剤のうちでCTM, CZXなどで認められた。OFLX, TFLX, IPMなどは耐性化の傾向は少なくABPC, CMZ, MINO, VCMでは耐性化は見られなかった。CTMとIPMの併用では、CTM単独で選択されたCTMの中等度の耐性菌は同様に選択されたが、IPM単独投与時に選択されたIPMの軽度の耐性菌は選択されなかった。TFLXとIPMの併用ではTFLX単独で選択されたTFLXの軽度の耐性菌は選択されなかった。

考察:皮膚MRSA感染症に対する抗菌薬の併用療法は薬剤の組み合わせによっては抗菌力を高め耐性化対策としても有用と考える。

## 099 異物挿入部に作製したマウス皮膚MRSA感染症の観察

秋山尚範・鳥越利加子・荒田次郎  
岡山大学皮膚科

目的:異物挿入部皮膚におけるMRSA感染症の病態解明のため以下の検討を行った。

方法:シクロホスファミド処理したマウスの背部を剃毛し滅菌絹糸を縫合した。①癰腫症由来のMRSA・N株を塗布・密閉し3日目まで経時的に電顕で観察した。②N株をホルマリン処理した死菌を同様に塗布・密閉し菌塗布6時間後に電顕で観察した。③①のモデル作製1日後より1日2回計5回OFLX(2mg/マウス), CAM(2mg/マウス), OFLX+CAM内服, 0.5% Chlorhexidine gluconate, 10% Povidone iodine液外用後に電顕で観察した。N株のMIC ( $\mu\text{g/ml}$ )はOFLX 1, CAM 128<。④*In vitro*の観察としてN株+生食, N株+生食+絹糸, N株+マウス血漿, N株+マウス血漿+絹糸の変化を2日後に電顕で観察した。

結果:①菌塗布1時間後より菌の周囲に著明なfibril様構造が見られ、12時間後より菌は絹糸の周囲にmicrocolonyを形成し、膜様構造物内に存在した。3日後では膜様構造物内のelectron densityは増加した。これらはルテニウム・レッド染色陽性であった。②死菌ではfibril株構造は見られなかった。③OFLX単独内服では形態的变化は見られずCAM併用内服で菌および膜様構造物の破壊像が見られた。消毒液外用でもっとも膜様構造物の破壊像が観察された。④絹糸の存在下でのみfibril様構造が観察された。

考察:絹糸縫合部皮膚に作製したMRSA感染症の観察で菌は絹糸の存在下でfibril様構造(glycocalyx像)を出し、絹糸の周囲にmicrocolonyを形成し膜様構造物内に存在する(biofilm像)。OFLX+CAM併用内服に比べOFLX単独内服には抵抗性であり消毒液は皮膚biofilmに到達できれば有用と考える。

## 100 エリスロマイシン, アジスロマイシンの好中球走化能におよぼす影響

杉山 肇・斧 康雄・宮下 琢  
徳村保昌・大谷津功・青木ますみ  
山口守道・宮司厚子・芳賀敏昭  
野末則夫・西谷 肇・国井乙彦  
帝京大学第二内科

目的:エリスロマイシン(EM)はDPBを含む慢性下気道感染症に有効とされる14員環マクロライド剤である。その作用機序は不明な点が多いが、抗炎症作用などが想定されている。エリスロマイシンと15員環マクロライド剤(アザライド)であるアジスロマイシン(AZM)の健康人および細菌感染症患者急性期の好中球走化能におよぼす影響について*in vitro*で検討した。

方法:健康成人または感染症患者末梢血より分離した好中球をEM, AZM各薬剤各濃度(1.6, 6.25, 25  $\mu\text{g/ml}$ )存在下で60分間incubateしFMLPを走化因子としてBoyden変法で走化能を測定し、薬剤未添加群との比をChemotactic Index(C.I.)として比較検討した。さらにTNF- $\alpha$  10 U, GM-CSF 50 mgとEM, AZM 6.25  $\mu\text{g/ml}$ をそれぞれ同時にincubateして測定した結果も検討した。

結果:健康人, 患者好中球走化能はともにEM 6.25, 25  $\mu\text{g/ml}$ で有意に抑制されたがAZMは各濃度で抑制傾向を示したが有意差は認めなかった。TNF- $\alpha$ , GM-CSFにより健康人好中球は走化能の抑制を示したがGM-CSFの効果はEMにより抑制され

た。

EMの作用機序のひとつとして好中球を活性化するサイトカインに対する抑制効果が示唆された。

## 101 ニューキノロン剤の白血球ケミルミネセンス反応に対する影響

久保周太・松本哲朗・高橋康一  
原岡正志・田中正利・尾形信雄  
熊澤浄一

九州大学医学部泌尿器科

目的:我々は今までに、ニューキノロン剤である ofloxacin が白血球ケミルミネセンス (CL) 反応を増強させることを報告してきた。またその機序が ofloxacin の NADPH oxidase に対する直接作用ではなく、Protein kinase C を介するものであろうことも発表してきた。今回は ofloxacin, feroxacin, sparfloxacin, lomefloxacin, T-3761, NM-394, AM-1155, Y-26611, Q-35 のニューキノロン剤の白血球 CL 反応に対する影響を測定した。

材料と方法:白血球は成人男性末梢血液より分離したものを、 $1 \times 10^6$  個/ml に調整して使用した。CL 反応は、PMA (Phorbol Myristate Acetate) にて白血球を刺激し、ルミノール依存性化学発光を、ペルトールド LB 9505 を用いて測定した。各種ニューキノロン剤は、最終濃度が 25  $\mu\text{g/ml}$ 、100  $\mu\text{g/ml}$  になるように調整した。

結果:1) ofloxacin と feroxacin は 25  $\mu\text{g/ml}$  の濃度で白血球 CL 反応をコントロールの約 2 倍近くまで増強させた。また、100  $\mu\text{g/ml}$  でも増強を認めた。2) sparfloxacin, lomefloxacin, T-3761, NM-394, AM-1155, Y-26611, Q-35 は、25  $\mu\text{g/ml}$ 、100  $\mu\text{g/ml}$  の濃度で、濃度依存的に白血球 CL 反応を抑制した。

考察:ニューキノロン剤は、薬剤によって白血球 CL 反応に対する効果に相違が見られた。

## 102 OFLX の白血球機能賦活作用の機序に関する検討

—protein kinase C および tyrosine kinase の inhibitor の影響について—

高橋康一・松本哲朗・長藤達生  
久保周太・原岡正志・尾形信雄  
田中正利・熊澤浄一  
九州大学医学部泌尿器科

目的:ニューキノロン剤の 1 つである ofloxacin

(OFLX) は白血球機能賦活作用を有するが、その機序は不明である。今回活性酸素産生の主な経路である protein kinase C (PKC) を介する経路と tyrosine kinase (TK) を介する経路について、それぞれ inhibitor を用いて OFLX の影響を検討した。

方法:1) PKC の inhibitor として Staurosporine と H-7 を用いた。健康成人より採取した白血球  $1 \times 10^6$  /ml を PMA で刺激し、発生する活性酸素は superoxide に specific な MCCA を用い化学発光 (CL response) を lumina meter で測定。OFLX 100  $\mu\text{g/ml}$ 、200  $\mu\text{g/ml}$  存在下で enhance 効果の Staurosporine 濃度 0, 0.5, 1.0, 2.0  $\mu\text{M}$  H-7 0, 25, 50, 100  $\mu\text{M}$  での変化を測定した。

2) TK の inhibitor として Genistein を用いた。FMCP で刺激し、1) と同様に CL response を測定。OFLX 100, 200  $\mu\text{g/ml}$  での enhance 効果の Genistein 0, 0.5, 2.5, 5.0, 10  $\mu\text{g/ml}$  存在下での変化を検討した。

結果:①Staurosporine, H-7 により、PMA 刺激後の CL response は濃度依存的に低下した。②OFLX (100, 200  $\mu\text{g/ml}$ ) で CL response は増強するがその効果は Staurosporine, H-7 により有意に低下した。③FMLP 刺激による CL response も Genistein により濃度依存的に低下した。④OFLX (100, 200  $\mu\text{g/ml}$ ) での CL response は FMCP 刺激でも増強するが、Genistein によりその効果は有意に抑制された。

結論:OFLX による白血球機能活性酸素発生を増強効果は 2 つの主な発生経路がある protein kinase C と tyrosine kinase を介入する経路に関係しており、両酸素の賦活作用を介している可能性がある。

## 103 マクロライド系抗生剤による緑膿菌

—Toxin A 産生抑制作用の検討—

水兼隆介・石田一雄・吉田良滋  
田中宏典・賀来満夫・臼井敏明  
長崎大学臨床検査医学

朝野和典・古賀宏延  
河野 茂・原 耕平  
長崎大学第二内科

石井良和・平泻洋一・山口恵三  
東邦大学微生物学

目的:緑膿菌の病原因子の 1 つとして菌体外酵素の産生が知られており、その中でも Toxin A は呼吸器感染症や敗血症の発症に関連があると報告されてい

る。近年、これらの菌体外酵素の産生をエリスロマイシンなどの抗生剤が抑制することが注目されてきた。

今回、我々はエリスロマイシンによって、toxin A の産生が抑制されるという作用を総蛋白の産生も含め、経時的に観察した。さらに、toxin A 産生は菌体内ですでに抑制されていることも確認し、また、最近、登場してきた新しいマクロライド系抗生剤においても同効果の検討を行ったので報告した。

材料・方法: 供試した菌株は toxin A 産生性の高い緑膿菌 PA 103 株を用いた。使用したマクロライド系抗生剤はエリスロマイシン塩基とクラリスロマイシンで緑膿菌 PA 103 株に対する最小発育阻止濃度はエリスロマイシン塩基が 1,024  $\mu\text{g/ml}$  クラリスロマイシンが 512  $\mu\text{g/ml}$  であった。toxin A の定量には ELISA 法を、総蛋白の定量には Lowry 法を用いた。

最小発育阻止濃度以下の各濃度のエリスロマイシン存在下および非存在下で、M-9 メディアを用いて培養した後、その上清中の toxin A 量および総蛋白量を 24 時間、経時的に測定し、発育菌量も同時に測定した。また、エリスロマイシンおよびクラリスロマイシン存在下で培養した菌を超音波破碎し、菌体内の総蛋白当りの toxin A を測定し、toxin A 産生抑制効果を検討した。

結果・考察: 1. エリスロマイシンは最小発育阻止濃度以下で toxin A および総蛋白当りの toxin A 産生を抑制していた。

2. 菌体内でも toxin A の減少がみられ、菌對外への放出を阻害していたのではなく、産生そのものを抑制していた。

3. ニューマクロライドであるクラリスロマイシンでも同様の効果が認められた。

これらのマクロライド系抗生剤には菌の発育を阻止する抗菌力に加え、病原因子である toxin A の産生を抑制する作用があると考えられた。また、この作用は菌体内での toxin A の合成抑制によるものである可能性が示唆された。

## 104 各種抗菌薬の LPS 中和活性に関する検討

徳村保昌・斧 康雄・青木ますみ  
宮下 琢・大谷津功・杉山 肇  
西谷 肇・国井乙彦  
帝京大学第二内科

前回我々は Polymyxin B (PL-B) が、*E. coli* (0111: B<sub>1</sub>) 由来の lipopolysaccharide (LPS) に対する中和活性を有することを、全血 chemiluminescence (CL) 反応の LPS による増強効果を PL-B が抑制することで明らかにした。また、その中和活性の作用点が Lipid-A であることも報告した。今回、VCM, teicoplanin, AMK, KM, SM, TOB, IPM などの抗菌薬が、LPS による食細胞の CL 反応に対する増強効果 (priming 効果) を抑制するかどうかを検討した。さらに、*E. coli* 以外の LPS に対する PL-B の抗 LPS 中和活性の有無についても検討した。

方法: 食細胞は健康成人より採血し全血 0.1 ml を MEM で 10 倍希釈したものを試料とした。個々の試料に各種の抗菌薬を加えて、その最終濃度が 25  $\mu\text{g/ml}$ 、1  $\mu\text{g/ml}$  となるようにし、LPS (*E. coli* 0111: B<sub>1</sub> 由来) 1  $\mu\text{g}$  を加え 30 分間混合処理した後、ルミノール存在下に、PMA で刺激して全血 CL を測定し各薬剤の LPS の priming 抑制効果を検討した。また *E. coli* 以外の LPS (*P. aeruginosa Serratia*, *Klebsiella*, *Salmonella* 由来) についても同様な方法で PL-B と 1  $\mu\text{g/ml}$  の濃度で 30 分間混合処理し、その後 PMA で刺激して全血 CL を測定し PL-B が各菌由来の LPS の priming 効果を抑制するかどうかを検討した。

結果: PL-B は、各菌由来の LPS に対しても全血 CL 反応の LPS による priming 効果を有意に抑制した。各種抗菌薬の LPS 中和活性に対しては VCM には軽度の抑制効果を認めたが、今回検討したその他の抗菌薬には、全血 CL 反応でみる限り有意な LPS 中和活性を認めなかった。