

も存在することが示され、注目されている。P-糖タンパク質の機能を阻害する物質、カルシウム拮抗薬などが耐性克服に有効であることが見いだされ耐性の克服の研究も進んでいる。

3. 抗癌剤によるアポトーシスと薬剤耐性

アポトーシスはプログラム細胞死に伴ってよく観察される死の様式であるが、抗癌剤や放射線などの非生理的な各種ストレスで癌細胞を処理したときにも誘導され、アポトーシスの研究は癌化学療法の分野に非常に重要な情報を与えるものと思われる。アポトーシスを誘導できる抗癌剤として、トポイソメラーゼ阻害剤、アルキル化剤、代謝拮抗剤、そして、チューブリン阻害剤と様々な作用機構を有する抗癌剤が報告されているが、特にトポイソメラーゼ阻害剤によるアポトーシスが比較的良く研究されている。エトポシドなどに代表されるトポイソメラーゼ阻害剤は、トポイソメラーゼと DNA の結合体 (cleavable complex) を安定化することにより、DNA 鎖切断を導入すると考えられていた。

我々は、抗癌剤によるアポトーシスのメカニズムを解明することを目的として、抗癌剤によるアポトーシスに耐性な細胞株の樹立を試みた。ヒト単球性白血病 U 937 細胞を変異処理し、得られた変異株のクローンの中から作用メカニズムの異なるエトポシド、Ara-C 両薬剤により誘導されるアポトーシスに耐性な株 UK 711 細胞を選択した。従来知られている薬剤耐性細胞には、薬剤の細胞外への排出能の上昇、ターゲット分子の量的質的变化、修復能の亢進などにより細胞に導入されるダメージの低下が認められる。UK 711 細胞は、エトポシドにより 1 次的に導入されるトポイソメラーゼ II 依存的な DNA ダメージは親株 U 937 細胞とほとんど同じであるにもかかわらず、2 次的に発生する DNA のヌクレオソーム単位への断片化がまったく異なる点が従来の薬剤耐性細胞と異なっていた。このアポトーシス耐性 UK 711 細胞は、エトポシド、Ara-C 両薬剤はもちろんのことアドリアマイシン、マイトマイシン C、カンプトテシンなど、アポトーシスを誘導することが知られている種々の抗癌剤に耐性であった。この実験結果は、アポトーシス耐性が癌細胞の多剤耐性の原因になりうることを示唆している。

4. おわりに

抗がん剤多剤耐性の一般的性質、耐性の生化学的側面について述べた。多剤耐性に関しては P-糖タンパク質が明らかになり、あるいはカルシウム拮抗薬などが耐性克服に有効であることが見いだされて以来、その分子機構の解明が急速な勢いで進んできた。その結果、P-糖タンパク質が耐性機構の中心的役割をもつタンパク質であることがわかり、さらにもともと抗がん剤に反応しない一部のがんにもこの種のタンパク質が存在

することが示され、注目されている。一方アポトーシス耐性も抗癌剤多剤耐性に結びつくことがわかりつつある。アポトーシス研究が新規抗癌剤の開発研究に与えるインパクトは大きいといえる。

一般演題

003 ホスホマイシンは iNOS 遺伝子発現を抑制することにより一酸化窒素産生を抑制する

渡部宏臣・小林 香・三國谷雄

明治製薬(株)薬品総合研究所

目的: 一酸化窒素 (NO) は生体の恒常性の維持に関与する重要な因子の一つである。ホスホマイシン (FOM) が LPS 刺激マクロファージの NO 産生を抑制することは以前に本学会で報告した。今回、我々は FOM の NO 産生抑制の機序の解明を目的として、誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) の mRNA 発現と iNOS 蛋白質産生に及ぼす FOM の影響について検討した。

方法: チオグリコレートで誘導したマウス腹腔マクロファージを LPS で刺激した後、培養上清中の亜硝酸塩を Griess 反応法で定量することで NO の生成量を測定した。iNOS mRNA の発現は RT-PCR 法で測定した。凍結融解で調製した細胞内画分の iNOS はウェスタンブロッティング法で検出した。iNOS 活性は市販の測定キットで測定した。

結果: FOM は LPS 刺激マクロファージの iNOS mRNA 発現と iNOS 蛋白質の産生を抑制した。FOM はマクロファージ細胞内に誘導された iNOS 活性を阻害せず、無細胞抽出液中の iNOS を阻害しなかった。FOM は LPS 刺激マクロファージの NO 産生を抑制したが、TNF α + IFN γ 刺激による NO の産生を抑制しなかった。また LPS 刺激開始 2 時間目以降のマクロファージに FOM を添加しても NO の産生は抑制されなかった。

考察: FOM は、LPS 刺激マクロファージの iNOS mRNA 発現を抑制し、iNOS 蛋白質の産生量を減らすことにより、NO の産生を抑制した。従って、FOM の作用点は LPS 刺激開始時から iNOS の mRNA 発現にいたる刺激伝達経路に存在することが示唆された。

また、FOM はサイトカイン刺激による NO 産生誘導経路には作用せず、LPS 刺激による NO 産生誘導経路に選択的に作用することが示唆された。

004 Fosfomycin の好中球機能に及ぼす影響について

本田順一・杉原栄一郎・草場珠郁子

猿渡直子・大泉耕太郎

久留米大学医学部第一内科

目的: 近年、Fosfomycin (FOM) に抗菌作用以外の作用が存在することが判ってきた。そこで今回我々は、FOM のヒト末梢血好中球機能に対する影響を観察した。

方法: 正常健康人よりヘパリン加採血し、デキストラン法により好中球を分離した。FOM-Na は明治製薬株式会社より供与されたものを使用した。好中球の活性酸素産生能の測定には、DCFH-DA 法を用いた。クレブス・リンゲルフォスフェイト緩衝液で 2×10^6 /ml 濃度の好中球浮遊液を作製し、各濃度の FOM で処理した後、FMLP または LPS で好

中球を刺激し、その上清のトロンボキサン B2、ロイコトルエン B4 の産生量を EIA システムを用いて測定した。また、FOM 処理した好中球活性化上清を単核球培養系に添加し、IL-1 β 、IL-8、TNF α mRNA の発現状況を RT-PCR 法を用いて観察した。

結果と考察: FOM は 25~250 μ g/ml の濃度において、濃度依存的に、好中球の活性酸素産生能を抑制した。また、FMLP 刺激による、好中球からのロイコトルエン B4 産生を FOM は有意に抑制した。LPS 刺激による、好中球からのトロンボキサン B2 産生を FOM は抑制する傾向が認められた。好中球活性化培養上清によるサイトカイン (IL-1 β 、IL-8、TNF α) mRNA の発現が認められ、FOM 処理好中球培養上清においては、IL-8 mRNA の発現が有意に抑制された。

今回の実験において、FOM は好中球の機能を抑制し、好中球のシクロオキシゲナーゼ、リポキシゲナーゼ代謝産物の産生を減少させ、その結果、単球における炎症性サイトカインの産生を間接的に抑制する可能性が示唆された。

005 ヒト T リンパ球による Th1 型および Th2 型サイトカイン産生に及ぼす fosfomycin (FOM) の作用

森川景子¹⁾・鳥井郁子²⁾・森川 茂²⁾

¹⁾鳥根医科大学第一内科, ²⁾第一病理

目的: T helper (Th) 細胞はその産生するサイトカインのプロファイルと機能の別により Th1 型、Th2 型に分類される。Th1 は遅延型過敏症を誘導する細胞性免疫、Th2 はアレルギーや抗炎症反応における液性免疫において重要な役割をすることが明らかにされてきた。我々は FOM が T 細胞の IL-2 産生能を抑制することによりその増殖能を抑制することを報告した。今回、FOM が Th1 型および Th2 型サイトカイン産生能に対して影響を与えるかどうかを *in vitro* で検討した。

方法: ヒト末梢血より Ficoll/Hypaque 法にて単核球を採取し、ConA で 24~48 時間刺激し培養上清中に分泌された INF- γ 、IL-2、TNF α 、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 等のサイトカイン量を ELISA Kit にて測定した。エフェクター細胞の検索は FITC 標識 CD4 および PE 標識 CD27 等の単クローン抗体を用いて二重染色し、Flow Cytometry で解析した。FOM は 1.6~40 μ g/ml の濃度に培養開始時に添加した。比較対照薬剤としてクラリスロマイシン (CAM) とデキサメサゾン (DEX) を用いた。

結果: 検討した濃度範囲では FOM および CAM は TNF α 、INF γ 、IL-2 等の Th1 型サイトカインと Th2 型の IL-4 の産生を濃度依存的に抑制したが、IL-5、IL-6、IL-10 などの Th2 型サイトカインに対する抑制効果はなかった。DEX は Th1 型、Th2 型全てのサイトカインの産生を強く抑制した。FOM および CAM 添加群では CD4⁺T 細胞中に占める CD27⁻細胞の比率はコントロールと比較して変化なかったが、DEX 添加群では CD27⁻細胞の比率が著明に低下していた。

考察: 今回の結果より FOM の作用は主として Th1 型サイトカインが主体となる免疫反応を抑制することにより誘導され、この FOM による抑制作用は DEX による抑制作用とは作用機序が異なる可能性が示唆された。

006 サルコイドーシス症例由来肺胞マクロファージの IL-1 receptor antagonist (IL-1ra)/IL-1 β タンパク質モル比に及ぼすホスホマイシンの影響

三國谷雄・長井苑子・泉 孝英

京都大学胸部疾患研究所呼吸器内科

目的: サルコイドーシス (サ症) は、病変部における抗原特異的免疫反応亢進を特徴とする原因不明の慢性の全身性肉芽腫形成性疾患で、現在のところある程度有効な薬剤はステロイドだけである。類上皮細胞肉芽腫の形成維持には T 細胞の活性化に加えマクロファージの活性化が重要である。我々は、サ症症例由来肺胞マクロファージ (AM) 培養上清中の IL-1ra/IL-1 β タンパク質モル比が健常非喫煙者に比べ有意に減少していることを報告し、炎症性サイトカインとその抑制物質の産生のバランスの乱れが、炎症の進展、持続に関与する可能性を示した (Nagai, Chest 1991)。そこで、ステロイド節約作用の期待されるホスホマイシン (FOM) の、サイトカイン産生に及ぼす効果をプレドニン (PSL) と比較検討した。

方法: サ症症例の肺胞洗浄液より、E rosette 法、plastic adhesion 法により、AM を調製した。FOM あるいは PSL 1 μ g/ml 存在下で 24 時間培養し、培養上清中の IL-1 β 、IL-1ra を ELISA で定量した。mRNA 発現は 100 μ g/ml の薬剤存在下で 24 時間培養後、RT-PCR 法で検討した。

結果: FOM は、24 時間培養上清中の IL-1ra/IL-1 β タンパク質モル比を 7/8 例で上昇させた ($P < 0.05$)。FOM は IL-1ra 遺伝子発現を有意に上昇させたが (10/11 例)、IL-1ra/IL-1 β 遺伝子発現比が上昇した症例は 6/11 例だった。PSL は IL-1ra/IL-1 β 遺伝子発現比を 7/9 例、タンパク質モル比を 5/6 例で更に低下させた。

考察: ステロイドが非特異的かつ広範に生体関連物質の産生を抑制するのに対し、FOM は炎症性サイトカイン IL-1 β 産生を抑制、炎症性サイトカインの抑制物質である IL-1ra 産生を増強し、その結果、IL-1ra/IL-1 β 比を回復させることから、選択性のある抗炎症作用を発揮する可能性が示唆された。

007 ホスホマイシンの免疫薬理作用のスクリーニング

喜多英二¹⁾・芳川伸治¹⁾

三笠桂一²⁾・澤木政好²⁾

¹⁾奈良県立医科大学細菌学, ²⁾第 2 内科

目的: チオグリコレート (TGC) 誘導マウス腹腔マクロファージ培養系で巨大コロニーを形成させ得る能力が、マクロライド剤の免疫薬理活性の指標になることを我々は既に報告している (Nat. Immun.12: 326, 1993)。今回ホスホマイシン (FOM) においても同様の相関性が認められるか検討を加えた。

方法: 1) TGC 誘導マクロファージから低温トリプシン処理法で線維芽細胞を除去し、24 穴平底プレートに 10⁴/well の濃度でマクロファージをまいた。FOM を 0~100 μ g/ml の濃度で添加し、培養液を 4 日毎に交換しながら 28 日間培養を継続した。その間 well 内の細胞数の測定と形態変化の観察を続けた。培養終了時に形成された巨大コロニー数を倒立顕微鏡下で測定した。2) 各種濃度の FOM 添加 TGC 誘導マクロファージを 100 ng/ml の LPS で 24 時間刺激し、上清中の TNF- α ・IL-1 濃度を ELISA 法で測定した。

結果・考察: FOM は低濃度においては巨大コロニーを誘

導しなかったが、高濃度 (20 µg/ml 以上) においてはマクロライド剤より強い誘導能をしめした。同時にサイトカイン産生抑制も高濃度で有意であった。このことからマクロライドと同様に FOM においても巨大コロニー誘導能と免疫薬理活性に相関性があると考えられた。

008 LPS 刺激によるマウスサイトカイン産生性への Fosfomycin の影響について

松本哲哉・館田一博・古谷信彦
宮崎修一・山口恵三

東邦大学医学部微生物学教室

目的: Fosfomycin は本来の抗菌作用以外に、抗アレルギー作用、難治性疾患の症状緩解効果など特殊な作用を有している。これらの作用は総括すると抗炎症作用が主体であると考えられるが、その機序を始め詳細はいまだ十分に解明されていない。

我々は昨年の第 43 回日本化学療法学会総会において、マウス緑膿菌内因性敗血症モデルを用いて、fosfomycin の投与によって生存率の有意な上昇を認めること、抗菌作用を有しない fosfomycin 鏡像体を用いても同様の効果が得られること、さらにその機序として fosfomycin による炎症性サイトカイン産生の抑制が考えられることなどを報告した。

今回はさらに *in vivo* において、fosfomycin によるサイトカイン産生性への影響をより単純化して考えるために、サイトカイン誘導物質として LPS を用いて検討を行った。

方法および結果: SPF の ddY マウス (4~6 週令, 雄) に fosfomycin 鏡像体 100 mg/kg を 1 日 2 回 3 日間腹腔内投与し、その後 LPS (*E. coli* O55: B5, Difco) 100 µg を各マウスに接種し、時間経過に従ってマウス心血を採取した。サイトカインの測定は市販の ELISA キットを用いて行った。その結果、血中 TNF- α は fosfomycin 鏡像体の投与によって有意に抑制されたが、IL-6 はむしろ血中濃度の有意な上昇を認めた。

考察: これらの結果から fosfomycin は *in vivo* における LPS 刺激下において、炎症性サイトカイン産生性に影響をおよぼすことが示唆された。

011 *Streptococcus milleri* group に発現する sialyl Lewis^x 様抗原への fosfomycin を含む各種抗菌薬の影響

村上欣也・弘田克彦・根本 謙
小野恒子・松尾敬志・三宅洋一郎
徳島大学・歯学部・口腔細菌学講座
同 歯科保存学第一講座*

目的: 菌性閉鎖腫瘍の起因菌である *Streptococcus milleri* group は、口腔のみならず全身の腫瘍形成性起因菌として注目されている。本菌群の病原性の一つに、莢膜多糖抗原があげられているが、我々は既に本菌群の莢膜には sialyl Lewis^x (sLe^x) 様抗原が存在することを報告している。sLe^x は腫瘍マーカーとして臨床検査に使用されているが、現在では炎症反応に関与する細胞接着分子としても注目されている。抗菌薬の治療効果には、抗菌作用とは別に sub-MIC の細菌への影響が重要な鍵となることが指摘されているため、本研究では sub-MIC 濃度の FOM を含む各種抗菌薬の *S. milleri* group に発現する sLe^x 様抗原への影響について検討した。

材料と方法: 使用菌株; *S. milleri* group (*S. constellatus*

5 株, *S. intermedius* 6 株, *S. anginosus* 7 株)

抗菌薬と鏡像体: PC-G, CDTR, EM, OFLX, MINO, SM, FOM, FOM 鏡像体

sLe^x 様抗原への FOM 鏡像体と各種抗菌薬の影響; FOM 鏡像体と sub-MIC 濃度の抗菌薬をそれぞれ添加した BHI 溶液中で *S. milleri* group を一定時間 37 °C で培養後、洗浄し、一次抗体に sLe^x と特異的に反応する mAbsNH-3, 二次抗体に HRP 標識 goat-anti-mouse IgM を使用し、ELISA 法にて測定した。

biofilm 中の sLe^x 様抗原への FOM および鏡像体の影響; celldesk (SUMILON) 上に形成した biofilm に、FOM および鏡像体をそれぞれ添加し、一定時間 37 °C で培養した。各 celldesk を洗浄後、一次抗体に mAbsNH-3, 二次抗体に FITC 標識 goat-anti-mouse IgM を使用し、ACAS570 レーザーサイトメーター (488 nm) にて測定した。

結果および考察: *S. milleri* group に発現する sLe^x 様抗原は、PC-G, FOM および FOM 鏡像体を作用させることにより特に低下した。その他の抗菌薬では、菌株によって発現抑制効果は異なっていた。また、ACAS570 レーザーサイトメーターによる測定では、FOM および FOM 鏡像体を作用させることによって、biofilm 表層の sLe^x 様抗原の発現が低下した。*S. milleri* group の組織への付着、biofilm 形成には、sLe^x 様抗原が関与していると考えられる。従って、sLe^x 様抗原の発現抑制は組織への付着、biofilm 形成の阻害につながると思われる。FOM は抗菌作用以外に、抗炎症作用に代表される興味深い作用を有するが、FOM 鏡像体にも莢膜などの菌体表層構造の変化、病原因子産生量の低下などの作用を有する可能性がある。FOM 鏡像体 Na 塩は抗菌力がなく、また毒性もきわめて低くマウス腹腔内投与では LD₅₀ が 2,000 mg/kg であるので、大量投与、長期投与が期待でき今後の詳細な検討が必要と考える。

012 *In vitro* における緑膿菌バイオフィームに対する Fosfomycin (FOM) の影響

原 哲郎・荒明美奈子
明治製菓株式会社総合研究所
小林宏行

杏林大学・医学部・第一内科

目的: 慢性気道感染症の難治化要因の一つとして、近年細菌による局所でのバイオフィーム形成が注目されている。緑膿菌バイオフィームに対して現在のところ抗菌剤単剤での十分な効果は期待できない。我々は第 42, 43 回日本化学療法学会総会において、臨床分離緑膿菌を使用し、試験管内バイオフィームに対して FOM が GM, CAZ, OFLX と併用することにより形成阻害および破壊作用を示すことを報告した。また、第 44 回同学会において、FOM との併用により、OFLX の緑膿菌バイオフィーム内への透過性が亢進することが報告された。今回、緑膿菌の glycoaryx 産生に及ぼす FOM の影響を検討し、若干の知見を得たので報告する。

材料と方法: 使用菌株; 臨床より分離した呼吸器由来緑膿菌数株を使用した。

供試薬剤: Fosfomycin (FOM)。Glycoaryx の測定; AP 培地で 10⁸ CFU/ml の緑膿菌浮遊液を作成し、96 well マイクロプレートに 100 µl/well 接種した。37 °C 5 日間培養し、プレート底面にバイオフィームを形成させ、静かに菌液を吸引後、トルイジンブルーにより染色、塩酸にて抽出後、620 nm にて OD を測定した。FOM は菌液接種と同時に添加した。また、この時同時に濁度を測定し、菌の増殖を観察し

た。

結果: FOM の 1/4, 1/8 MIC 濃度において緑膿菌の glycocaryx の減少が認められた。この濃度では菌の増殖は無添加対照と変化なかった。FOM は緑膿菌の glycocaryx 産生を抑制し、抗緑膿菌剤との併用でバイオフィルムに対して効果を示すと考えられる。

014 細胞内寄生菌のヒトマクロファージ内増殖に及ぼす fosfomycin の影響

笹原武志・小松洋子・井上松久

北里大学・医・微生物

目的: fosfomycin (FOM) は菌体の細胞壁合成酵素を選択的に阻害することによって得られる抗菌効果以外に、免疫細胞の機能に様々な免疫修飾作用を及ぼすことが知られている。今回我々は fosfomycin がマクロファージ内に取り込まれた細胞内および細胞外寄生細菌に対してどのような影響を及ぼすか検討した。

方法: U 937 細胞株を PMA 存在下で 3 日間刺激することによって分化させたマクロファージに *Y. enterocolitica* あるいは *S. aureus* を 10^6 で感染後、gentamycin あるいは lysostaphin により細胞外菌を溶菌し、一定時間後の細胞内生菌数を測定した。スーパーオキシド (SO) 産生は chemiluminescence 法で測定した。

結果および考察: 細胞内寄生細菌 (*Y. enterocolitica*) に対して FOM は濃度依存的にその菌の細胞内増殖を促進した。一方、細胞外寄生菌 (*S. aureus*) に対して僅かであるが細胞内生存率を上げた。その際 FOM に比較的感受性である MSSA は、耐性である MRSA に比べて細胞内生存率を低下させた。このことはマクロファージに感染した細菌の fosfomycin に対する感受性と細胞内寄生性によってその消長が異なることによると考えられる。FOM 添加後に観察された SO 産生の抑制の程度は、非感染マクロファージより *Y. enterocolitica* 感染マクロファージにおいて顕著であった。H 標識 FOM は添加 2 時間以内に細胞内へ透過した。以上の結果から、FOM は短時間内に細胞内へ透過し、細胞外寄生菌よりも細胞内寄生菌のマクロファージ内での生存や増殖を助けてしまう可能性があることが示唆され、その要因の一つとして FOM が細胞内寄生菌の感染を受けたマクロファージの SO 産生能をさらに強く抑制するためではないかということが考えられた。

015 ホスホマイシンの動物細胞への取り込み

小林 香・三國谷雄・渡部宏臣

明治製菓(株)薬品総合研究所

目的: ホスホマイシン (FOM) は白血球に取り込まれ、細胞内寄生菌に抗菌力を発揮する。しかし、FOM の動物細胞への取り込み経路などの詳細は不明である。今回、我々は FOM の動物細胞への取り込み機構の解明を目的として、マクロファージなど動物細胞への取り込みを検討した。

方法: 1) マウス腹腔マクロファージ、マウス由来マクロファージ様細胞 J 774.1, 線維芽細胞 L 929 および白血病系ガン細胞 P 388 を使用した。2) 5×10^6 の細胞を FOM 存在下で培養後、細胞外 FOM を洗浄除去し、凍結融解により細胞を破壊した後、遠心して細胞内画分を調製した。3) 細胞内および外の FOM 量は FOM 高感受性大腸菌変異株に対する抗菌活性で定量した。

結果: マクロファージは 37℃ で時間依存的、用量依存的

に FOM を細胞内に取り込むが 0℃ では取り込まなかった。同様に J 774.1, L 929, P 388 の各細胞も 37℃ で FOM を取り込むが 0℃ では取り込まなかった。マクロファージ細胞内に取り込まれた FOM は 37℃ で細胞外に排出されたが、0℃ では排出されなかった。また、グリセロール-3-リン酸、2-デオキシグルコースおよびヨードアセトアミドはマクロファージの FOM の取り込みを部分的に阻害し、FOM の鏡像体も FOM の取り込みを用量依存的に阻害した。

考察: FOM はマクロファージ細胞内に能動的に取り込まれ、細胞外より高濃度に蓄積した。取り込まれた FOM はエネルギー代謝依存的に排出されることが示唆された。また FOM 取り込み経路の少なくとも一部はリン酸基を持つ化合物の取り込み経路と共通であることが示唆された。FOM は白血球以外の細胞にも取り込まれることから、白血球以外の細胞に侵入した FOM 感受性細菌に対しても抗菌活性を発揮することが期待される。

016 外科領域における *Bacteroides* 属に対する硫酸 Cefpirome の臨床第 IV 相試験

中山一誠¹⁾・山地恵美子¹⁾・出口浩一²⁾

深山成美²⁾・近藤啓史³⁾・小池能宣⁴⁾

澤田康夫⁴⁾・井上 聡⁶⁾・真辺忠夫⁷⁾

真下啓二⁷⁾・品川長夫⁸⁾・木下博明⁹⁾

塚本忠司⁹⁾

セフピロム外科領域感染症研究会

¹⁾ 日本大学三外

²⁾ 東京総合臨床検査センター

³⁾ 国立札幌病院外科

⁴⁾ 市立札幌病院外科

⁵⁾ 天使病院外科

⁶⁾ 川崎市立井田病院外科

⁷⁾ 名古屋市立大学一外

⁸⁾ 名古屋市厚生院外科

⁹⁾ 大阪市立大学二外

セフェム系注射薬セフピロム (CPR) は、承認時に厚生省より 2 項目の付帯事項が示され、そのうちの 1 項目が CPR の市販後における *Bacteroides* 属についての有効性、細菌学的効果および耐性化傾向の有無を含めた症例報告を行うことである。

CPR は 7 施設、36 例の外科領域感染症例に投与した。内訳は外傷・手術創等の表在性二次感染 7 例、肛門周囲膿瘍 6 例、腹膜炎 9 例、ダグラス窩膿瘍 1 例、骨盤腹膜炎 3 例、腹腔内膿瘍 2 例、胆嚢炎 2 例、胆管炎 4 例、肝膿瘍 1 例、膿胸 1 例であった。その内 *Bacteroides* 属が検出された症例は 23 例であった。

全般改善度は著明改善 2 例、改善 16 例、やや改善 2 例、不変 1 例、悪化 1 例、判定不能 1 例、改善率は 81.8% (18/22) であった。

細菌学的効果は消失 11 例、減少 2 例、菌交代 5 例、不変 3 例、不明 2 例で、消失率は 76.2% (16/21) であった。

副作用は 1 例も認められなかった。

017 虫垂炎術後の抗菌薬の選択

—いよゆる第 3 世代セフェム薬の見直し—

川井邦彦・炭山嘉伸・草地信也

有馬陽一・青柳 健・吉田祐一

東邦大学外科学第三講座

目的: MRSA の急増で第 3 世代セフェム薬は敬遠されがちであるが、グラム陰性桿菌や嫌気性菌に対する広い抗菌力はすてがたい。そこで、術中汚染が強く、術後感染が多い虫垂炎手術で、同系の薬剤の有効性を CDZM を用い、CTM と比較検討した。なお、今回、第 3 世代セフェム薬とは、黄色ブドウ球菌には抗菌力が乏しく、グラム陰性菌、嫌気性菌に強い抗菌力を有する薬剤を示し、比較的最近発売された FMOX, CPR, CZOP などの薬剤とは区別した。

対象: 18 歳以上の虫垂炎手術 145 例を CTM 93 例と CDZM 52 例で比較した。投与方法は、両薬剤とも、術中から 2 g を生食 100 ml に溶解し、約 1 時間かけて点滴静注した。

結果: 腹水分離菌は 59 株で、両群に差はなく、*E. coli* 30 株、*Klebsiella* spp. 11 株、*Enterococcus* spp. 10 株、*B. fragilis* 6 株などであった。術後感染は CTM 群: CDZM 群 (以下同) 15.1 % (14/93): 9.6 % (5/52)、創感染 11.8 % (11/93): 7.7 % (4/52)、腹腔内膿瘍 5.4 % (5/93): 1.9 % (1/52) であった。感染巣からの分離菌は CTM 群では *P. aeruginosa* 6 株、*E. coli* 7 株、*B. fragilis* 4 株、*E. cloacae* 2 株などであった。CDZM 群では、*Enterococcus* spp. 2 株、*Acinetobacter* 1 株、*P. aeruginosa* 1 株であった。CTM 群の術後感染発症 14 例中 7 例でさらに抗菌薬を要し、うち 2 例は再手術が行われた。CDZM 群の術後感染例では創の開放と膿瘍の洗浄で治癒した。

結論: CDZM 群では CTM 群に比べ、術後感染発症率が低く、重症腹腔内膿瘍が少なかった。術後に MRSA が分離された症例はなかった。虫垂炎手術は侵襲は小さいが汚染度は強いことから、第 3 世代セフェム薬は良い適応であると考えられた。

018 急性虫垂炎の原因菌に関する臨床細菌学的検討、特に嫌気性菌 *Bilophila wadsworthia* について

秋枝洋三・鈴木俊明・安楽直顕
中山一誠¹⁾・山地恵美子・平田浩子
川口 広²⁾・松山秀樹³⁾・渡辺哲弥⁴⁾
糸川冠治⁵⁾・八ツ橋輝海⁶⁾・小林寅詰⁷⁾

¹⁾ 日本大学医学部第三外科

²⁾ 同 細菌研究室

³⁾ 板橋中央病院外科

⁴⁾ 高島平中央総合病院外科

⁵⁾ 横浜いずみ台病院外科

⁶⁾ 横須賀市民病院外科

⁷⁾ 三菱化学ビーシーエル化学療法研究部

1994 年 8 月から 1995 年 5 月までに虫垂切除術を施行した急性虫垂炎 34 症例を対象として臨床細菌学的検討を行った。

方法は虫垂切除術後、虫垂漿膜面を消毒、剥離し、その内側の虫垂組織の一部を培養、同時に虫垂内容についても細菌培養、同定を行った。培養は好氣的嫌氣的培養を施行した。

34 症例の性別内訳は男性 26 例、女性 8 例であり、年齢は、7 歳から 62 歳であり、炎症の程度はカタル性 6 例、蜂巣炎性 11 例、壊疽性 17 例であった。29 症例から細菌を検出し、2 種以上の混合例は 26 例であった。虫垂内容と虫垂組織で同一菌種が分離された症例は、好気性菌で 22 例、嫌気性菌で 23 例であった。*B. wadsworthia* は 3 例にのみ検出され、何れも壊疽性の症例であった。

B. wadsworthia は壊疽性穿孔性虫垂炎から分離される新

菌種である。また、 β -lactamase 産生性が高く、 β -lactam 剤に対して耐性傾向を示す。*B. wadsworthia* の検出および材料の輸送に関しては、嫌気性輸送容器シードチューブ (栄研) の使用が望ましい。

019 穿孔性腹膜炎 (一次レベル) 想定菌種の薬剤感受性パターン

出口浩一・鈴木由美子・石原理加
石井由紀子・中澤ありさ

東京総合臨床検査センター研究部

目的: 新鮮臨床分離株の穿孔性腹膜炎 (一次レベル) 由来想定菌種の薬剤感受性パターンを検討した。

方法: 近年に、当所で検出したいわゆる穿孔性腹膜炎 (一次レベル) と考えられる臨床分離株の *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Peptostreptococcus* spp., *Clostridium* spp., *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp. の計 290 株を対象とし、ABPC, SBT/ABPC, PIPC, CEZ, CTM, CMZ, SBT/CPZ, CLDM 等の MIC を測定すると共に、 β -ラクタマーゼ産生の有無をチェックした。

結果: *Enterococcus faecium* と *Enterococcus avium* には多剤耐性株が多く、*E. coli* および *K. pneumoniae* には ESBLs 産生を示唆する株が散在していた。*Peptostreptococcus* spp. と *Clostridium* spp. に対する PCs と CEPs の MIC は感性側に大部分が分布していたが、両菌属の CLDM 耐性株は 2 割強および 3 割、*Bacteroides* spp. と *Prevotella* spp. の β -ラクタマーゼ産生株の割合は高かった。 β -ラクタマーゼを産生したこれらの菌種に対する大部分の β -lactams の MIC は高い方に分布しており、両菌属の CLDM 耐性株が高い割合であったが、両菌属の β -ラクタマーゼ産生株に対する SBT/ABPC, SBT/CPZ の MIC は低い方に分布しており、*Bacteroides* spp. と *Prevotella* spp. が産生する β -ラクタマーゼに対する SBT の強い阻害効果が示唆された。そして、供試した嫌気性菌に対する MIC₉₀ は SBT/ABPC がもっとも低い値を示していた。

考察: 穿孔性腹膜炎には嫌気性菌が関与する割合が高いが¹⁾、*Bacteroides* spp. と *Prevotella* spp. は β -ラクタマーゼ産生株が多い²⁾。そして、これらの β -ラクタマーゼは indirect pathogenicity になり得ることも考えられることから³⁾、穿孔性腹膜炎を対象とした Empiric therapy においてはこれらを考慮した薬剤の選択が大切である。

文 献

- 1) 出口浩一, 他: 近年に検出した臨床分離株の β -ラクタマーゼ産生性。Jap. J. Antibiotics 48: 421~426, 1995
- 2) Finegold S M: Anaerobic Infection in Humans; An Overview. Anaerobe: 3~9 (1995 Academic Press), 1995

020 下部消化管術後感染症に対する Isepamicin と第 2 世代セフェムの併用効果

正宗良知・國井康男
国立仙台病院外科

目的: 下部消化管の手術対象患者の多くは、悪性腫瘍あるいは高齢などによる感染防御機能の低下により易感染状態にある。また手術の多数例は消化管の解放を伴うため感染の機

会が多く、その起炎菌は消化管由来のグラム陰性菌、嫌気性菌が多く検出される。術後の感染症に対する第一選択薬には一般的に第2世代セフェムが用いられる。ここではグラム陰性菌に強い抗菌力を持つアミノ配糖体 Isepamicin (ISP) を併用する効果について多施設共同での検討を行った。

対象と方法: 1994年6月から本年6月までに実施された下部消化管手術患者のうち、感染症を発症した35症の患者に対してISPを400mg×1回/日で投与し、これにCefotiam (CTM) 1g×2回/日、Cefmetazole (CMZ) 1g×2回/日、Cefuroxime (CXM) 1.5g×2回/日のいずれかを併用投与し、有効性・安全性の評価を行った。

また、薬剤投与前に起炎菌の分離を行い、薬剤の単独および併用時の感受性を測定した。

結果: 患者背景は男性19例、女性16例で、平均年齢は60歳であった。基礎疾患は直腸癌が最も多数を占めた。発症した感染症は表在性二次感染が27例、腹膜炎が8例であり、それぞれの有効率は92%、71%であった。また、併用薬別の有効率に差はみられなかった。

患者の起炎菌はグラム陰性菌が全体の64%を占め、主なものは*E. coli*、*P. aeruginosa*であった。グラム陽性菌では*E. faecalis*がもっとも多く19%を占めた。

4例に副作用および臨床検査値異常がみられたが、臨床問題なく経過した。

分離されたグラム陰性菌に対するMIC_{50,90}はISPにおいて0.78、3.13 μg/ml、CTMでは0.39、>100 μg/ml、CMZでは3.13、>100 μg/ml、CXMでは6.26、>100 μg/mlであった。またFIC-indexに関しても評価を行った。

会員外共同研究者: NTT東北病院 渡邊 至、東北労災病院 今岡洋一、仙台赤十字病院 桃野 哲、豊島 隆、古川市立病院 豊田統夫、阿部 基、宮城県立がんセンター 大内清昭、神山泰彦

021 食道癌術後MRSA感染対策とその効果

—基礎的・臨床的検討—

草地信也・炭山嘉伸・川井邦彦
有馬陽一・青柳 健・吉田祐一
東邦大学外科学第三講座

目的: 胸部食道癌手術は手術操作が頸部・胸部・腹部におよぶ大侵襲手術であり、術後呼吸器感染と食道吻合部の縫合不全による頸部・縦隔膿瘍が多く、特にMRSA感染が問題となる。今回、食道癌術後のMRSA感染の予防対策について、基礎的・臨床的に周術期管理を検討した。

方法: 1. 基礎的検討; 体重250~300gの雄ラットを静脈麻酔下に開腹し、大弯側胃切除により作製した胃管形成ラットの十二指腸内にMRSA腸炎患者から分離した教室保存のMRSA328GTS株の生菌を接種し、便中のMRSAの生菌数の推移をみた。実験群として、術前カナマイシン(KM)・メトロニダゾール(MTN)投与群、術後第3世代セフェム薬ラタモキセフ(LMOX)投与群、第1世代セフェム薬セファゾリン(CEZ)投与群をn=5で設定し、未処置のコントロール群と比較した。2. 臨床的検討; 胸部食道癌手術51例を1990年3月で前期(23例)、後期(28例)にわけて術後感染発症率、MRSA感染発症率、感染部位、分離菌を比較検討した。なお、前期症例は術後数日間の予防的人工呼吸管理、頸部食道器械吻合、抗菌薬は第2または3世代セフェム薬の長期投与(平均8.9日)であった。一方、後期症例では術後第1病日からの自発呼吸、抗菌薬は第1世代セフェム薬(CEZ)短期投与(平均5.4日)で管理した。

結果: 1. 10⁶ cfuのMRSA接種による基礎的検討では、正常胃ラットの便中からMRSAは検出されなかったが、胃管形成ラットでは接種後3日まで10⁶ cfuのMRSAが検出され、形成胃管ではMRSAの増殖が明らかとなった。胃管形成ラットに10⁶ cfuのMRSAを接種すると、KM・MTN投与群、LMOX群ではコントロール群、CEZ群に比し便中のMRSAが増加した。2. 臨床的には、術後MRSA感染発症率は26.1% (6/23): 3.6% (1/28)、呼吸器感染発症率は17.4% (4/2): 3.6% (1/28)、頸部膿瘍は95.7% (22/23): 3.6% (1/28)であった。

結論: 呼吸不全を予防し、第1世代セフェム薬(CEZ)の短期投与が菌交代症によるMRSAの増殖を抑えたことが食道癌術後MRSA感染の予防に有効であった。

022 全国各地から収集された肺炎球菌の疫学

—3年間の血清型別の成績とそのバックグラウンド—

村木智子*・五十嵐厚美*・旭 泰子*
生方公子*・紺野昌俊*

帝京大学医学部臨床病理*、「ペニシリン耐性肺炎球菌研究会」

目的: 本邦におけるPRSPの疫学を3年間にわたって調べた成績を報告する。

菌株: 全国48施設から送付を受けた菌株は、1993年度; 1,001株、1994年度; 1,220株、1995年度; 2,034株である。血清型別にはSerum institute (Denmark)の抗血清を使用した。感性・耐性の識別は、PBP遺伝子の解析から、PSSP: ≤0.063 μg/ml、PISP: 0.125~0.25 μg/ml、PRSP: ≥0.5 μg/mlとした。

結果: 3年間の収集菌株では、PSSP; 57.7%、PISP; 10.7%、PRSP; 31.6%であった。PSSPは種々の血清型に分類されたが、もっとも検出頻度の高いのは3型(20%)で、次いで6、19、14型であった。殊に、3型において90%以上がムコイド株であることが注目された。一方、PISPでは6型と23型が各30%、19型が25%、14型が7%弱であったが、PRSPでは19型が50%と高率で、次いで23型が35%、6型が11%という比率であった。

病巣由来が確実である髄液由来; 45株、血液由来; 93株、胸水由来; 8株においては、髄液では6型(33.3%)の比率が高く、次いで19型(22.2%)で、その他に23、14、4型が認められたが、年齢分布の上からは小児では3歳以下、成人例(1/4)では50~60歳台が多かった。これに対し、血液では60歳台の患者からの分離がもっとも多く、分離菌の血清型は3、6、19、23型がほぼ20%台の同率で、次いで14型であった。髄液、血液由来株では、PRSPは各々33%、43%含まれていた。一方、喀痰でのPRSPの比率は36%で、耳漏(45%)や鼻咽腔(46%)、咽頭擦過液(50%)に比して低いのが特徴であった。

考察: 血清型の違いによる病巣の特異性が推察された。

025 ペニシリン低感受性肺炎球菌によるCBA/Jマウス肺炎モデルに対するLVFXの治療効果

石田佳久¹⁾・黒坂勇一¹⁾

大谷 剛¹⁾・山口恵三²⁾

¹⁾第一製薬・創薬第一研究所

²⁾東邦大学医学部微生物学教室

目的: 肺炎球菌は市中呼吸器感染症の代表的な起因菌であり、近年、ペニシリン耐性株の分離頻度が増加して問題とさ

れている。我々は、ペニシリン低感受性肺炎球菌による CBA/J 系マウス肺炎モデルを用いて、キノロン剤 LVFX の治療効果を検討した。CBA/J 系マウスでは免疫抑制処置を施すことなく肺炎球菌による肺炎を惹起することが可能であり、本感染系はより臨床を反映した肺炎モデルと位置づけられる (Tateda et al, AAC. 1996. 1520~1525)。

材料と方法: 動物; CBA/J 系マウス, 雄, 5~6 週齢。菌株: 臨床分離ペニシリン低感受性肺炎球菌 SPI-13 株 (PCG の MIC: 0.78 $\mu\text{g/ml}$)。感染モデルの作出; トッドヒューイット液体培地に菌株を接種して 4 時間振盪培養後, 1×10^8 CFU/ml に調製した菌液を噴霧接種した。薬剤; LVFX (供試菌株に対する MIC: 0.78 $\mu\text{g/ml}$), CFX (同: 0.78 $\mu\text{g/ml}$) および ABPC (同: 1.56 $\mu\text{g/ml}$) を用いた。薬剤は感染 2 時間後から 1 日 3 回連続 5 日間経口投与し, 最終投与翌日の肺内菌数を測定した。薬剤濃度測定; バイオアッセイ法。殺菌曲線; 各薬剤の 40 mg/kg 投与時に肺内で達成される最高濃度の存在下に供試菌株を振盪培養した。

成績および考察: 本モデルでは感染後 1 週間以上にわたって約 $10^6 \sim 10^8$ CFU/g の接種菌が肺から検出された。本モデルに対する LVFX の治療効果は用量依存的であり, 1 日量 120 mg/kg (40 mg/kg \times 3) で肺内から接種菌を除菌したが, CFX および ABPC は明瞭な薬効を示さなかった。LVFX の治療効果が認められた 40 mg/kg 投与時の各薬剤の感染マウス体内動態を検討した結果, LVFX は良好な経口吸収性および肺組織移行性を示したが, CFX は経口吸収性で, ABPC は肺組織移行性で劣っていた。また, この時の各薬剤の肺内最高濃度における殺菌曲線からは, LVFX は短時間で強い殺菌力を示すが, CFX の殺菌力は LVFX と比較して弱く, ABPC は殺菌作用を示さないことが明らかとなった。以上から, 本モデルに対する LVFX の治療効果は良好な体内動態を背景とした肺におけるペニシリン低感受性肺炎球菌に対する強い殺菌作用に基づくものと考えられた。

029 劇症型 A 連鎖球菌感染症患者分離株に対する抗菌薬の *in vitro* および *in vivo* の効果についての検討

戸塚恭一¹⁾・志関雅幸¹⁾・松井由香¹⁾
大江健二²⁾・清水可方³⁾・内山竹彦¹⁾

¹⁾ 東京女子医科大学感染対策科

²⁾ 国保旭中央病院中央検査科, ³⁾ 同 麻酔科

目的: 劇症型 A 群連鎖球菌感染症は急激な経過をとることから抗菌薬の効果は必ずしも明かではない。細胞壁合成阻害薬よりも蛋白合成阻害薬の有効性を示唆する報告も見られる。劇症型 A 群連鎖球菌感染症患者から分離された *S. pyogenes* 株に対する clindamycin (CLDM), minocycline (MINO), clarithromycin (CAM), penicillin G (PCG), cefozopran (CZOP) の *in vitro* および *in vivo* における抗菌効果について検討した。

方法: *S. pyogenes* S 株を使用した。各薬剤の 4 MIC 濃度を使用して殺菌曲線を求めた。また各薬剤の 4 MIC, 2 時間接触における PAE を求めた。*in vivo* の検討では 5 週齢 ICR マウスに 10^8 CFU の細菌を腹腔内に接種して, 2 時間後から CLDM, MINO, CAM, PCG, CZOP, また 6 時間後から CLDM, MINO, CAM, PCG の 50 mg/kg を各群 8 匹の背部皮下に 2 時間毎に 4 回投与した。その後の生存率を 10 日間にわたり観察した。

結果: 殺菌曲線では 6 時間後の生菌数 ($\Delta \log_{10}$ CFU/ml) は CLDM, MINO, CAM, PCG, CZOP で各々 +0.5,

-1.1, +0.2, -3.9, -4.1 であった。PAE は各々 3.5 時間, 3.7 時間, 4.0 時間, 4.3 時間, 2.6 時間であった。2 時間後治療開始群の 4 日後生存率は各々 75 %, 100 %, 12.5 %, 50 %, 62.5 % であった。6 時間後治療開始群の 1 日後生存率は各々 62.5 %, 25 %, 25 %, 25 % であった。

考察: 殺菌曲線では β -ラクタムが優れていたが, *in vivo* の効果では CLDM, MINO が優れていた。より重症と考えられる 6 時間後治療では CLDM が優れていた。

031 *Enterococcus faecium*, PRSP および MRSA に対する RP59500 等各種抗菌薬の検討結果

井上松久・嶋田基五郎・斎藤 厚
上田 泰, 他 15 施設

VREF Survey 研究会

現在欧米で問題となっている VCM 耐性 *E. faecium* の我が国における動向を全国 18 施設の協力により検討した。

材料・方法: 1995 年 4 月以降 1996 年 5 月末までに各施設において分離, 同定された *E. faecium* 1,244 株, PRSP 276 株, MRSA 1,211 株および *E. gallinarum* 19 株, *E. casseliflavus* 8 株, *Enterococcus* 属 16 株, 合計 2,774 株を調べた。感受性検査は寒天平板法, 液体希釈法によって調べた。特に VCM 耐性菌については, 検査の結果 MIC 4 $\mu\text{g/ml}$ 以上の菌株は VCM 6 $\mu\text{g/ml}$ を含む BHI 寒天平板 (Difco) を用いて再検討し, 増殖した菌株はさらに PCR 法によって *van* 遺伝子の確認を行った。

結果: RP 59500 は良好な MIC を示し, 8 $\mu\text{g/ml}$ 以上の菌株は MRSA 1 株, PRSP 0 株, *E. faecium* 25 株であり, この内の MIC 16 $\mu\text{g/ml}$ を示した菌株は *E. faecium* から 4 株検出された。しかし, 今回の調査では, MRSA, PRSP, *E. faecium* からは VCM 耐性菌は検出されなかった。

一方, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* が *E. faecium* 株と同定された菌株から検出され, かこれらの菌株から PCR 法によって *vanC1*, *vanC2* が検出された。また, この内の *E. gallinarum* 1 株は *VanB* による耐性であることが判った。

考察: 今回の調査結果から RP 59500 は優れた抗菌力と他剤と交差耐性を示さないこと, VCM 耐性菌は分離されないことが判った。VCM 自然耐性菌とされている菌種がヒト由来菌として検出された。また, その 1 株は *vanB* を保有しており VCM の今後の動向を注意すべきである。

032 ヒト病巣由来 *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. avium* に対する Vancomycin および Teicoplanin の抗菌力について

平田浩子・川口 広・山地恵美子²⁾
秋枝洋三³⁾・渡辺哲弥⁴⁾・糸川冠治⁵⁾
中山一誠¹⁾

¹⁾ 日本大学医学部第三外科, ²⁾ 同 細菌研究室

³⁾ 秋枝病院外科

⁴⁾ 高島平中央総合病院外科

⁵⁾ 横浜いずみ台病院外科

耐性化が問題となっている腸球菌属の中で, *E. faecalis*, *E. faecium*, および *E. avium* の 3 菌種に対して, ヒト病巣由来株各 27 株に対する Vancomycin, Teicoplanin および, ニューキノロン薬の抗菌力および感受性について検討した。

薬剤感受性測定は, 日本化学療法学会標準法による寒天平板希釈法により測定した。接種菌種は全て 10^6 CFU/ml によ

り Microplanter を用い施行した。使用薬剤は、Vancomycin (VCM), Teicoplanin (TEIC), AM-1155, Levofloxacin (LVFX), Ciprofloxacin (CPFX), Tosufloxacin (TFLX), および, Sparfloxacin (SPFX) の 7 薬剤である。

E. faecalis に関しては、VCM は全ての株は 0.78~3.13 $\mu\text{g/ml}$ に分布した。TEIC では、全ての株は 0.025~0.39 $\mu\text{g/ml}$ に分布した。ニューキノロン薬に関しては、TFLX, AM-1155, SPFX の順に感受性を示した。*E. faecium* に対しては、VCM は、0.39~1.56 $\mu\text{g/ml}$, TEIC で 0.025~1.56 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、ニューキノロン薬では、6.25 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性株が 1 株認められた。*E. avium* では、VCM は 0.39~6.25 $\mu\text{g/ml}$, TEIC で 0.05~0.78 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、ニューキノロン薬では、TFLX, AM-1155, SPFX の順に感受性を示した。6.25 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性株に対するパルスフィールド電気泳動の結果、同一菌株は認められなかった。

034 潰瘍面分離 MRSA に対する外用抗菌剤の抗菌力についての検討

吉田哲憲¹⁾・藤井 暁²⁾・横山統一郎¹⁾
杉原平樹²⁾・南本俊之²⁾・本田耕一³⁾
大岩 彰³⁾・本間賢一⁴⁾・石川隆夫⁵⁾

- ¹⁾市立札幌病院形成外科
²⁾北大形成外科
³⁾形成外科メモリアル病院
⁴⁾帯広厚生病院形成外科
⁵⁾旭川厚生病院形成外科

目的: メチシリン耐性ブドウ球菌 (MRSA) は院内感染の原因菌として大きな問題となっており、黄色ブドウ球菌に抗菌力が乏しい第 2・第 3 世代セフェムの汎用が MRSA 増加の一因と考えられている。形成外科領域では潰瘍面から検出される MRSA に対する治療が問題となるが、外用剤として用いられる抗生物質あるいは抗菌剤に対する耐性の現状は明らかにされていないといえない。そこで、われわれは北大形成外科において潰瘍面より分離された MRSA に対する外用抗菌剤の抗菌力について検討した。

方法と材料: 北大病院形成外科に入院中の皮膚潰瘍患者の創面から分離された 56 株の MRSA を対象として外用剤で使用される抗生物質あるいは抗菌剤を中心として MIC を測定した。MIC の測定を行った薬剤はゲンタミシン (GM), フラジオマイシン (FRM) (neomycin), パシトラシン (BC), テトラサイクリン (TC), クロラムフェニコール (CP), フシジン酸 (FA), ムピロシン (mupirocin), バンコマイシン (VCM), アルベカシン (ABK), スルファジアジン銀 (AgSD) であった。

結果:

抗菌剤	MIC ($\mu\text{g/ml}$)												
	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
GM		9	10	1	1		3	3	6	13	15	1	
FRM				1					8	24	11	3	9
BC										16	29	3	8
TC			1	14	2	1	9			2	17	10	
CP							16	31	5		3	1	
FA	20	6	30										
AgSD									2	13	34	7	
mupirocin	1	16	39										
VCM						37	19						
ABK		2	10	17	20	7							

考察: MRSA 感染症に対する治療にはアルベカシン, バンコマイシンの全身投与が行われるが、局所療法剤として使用されるフシジン酸, mupirocin は同等以上の高い抗菌力を有しており、有用な薬剤と考えられた。また、スルファジアジン銀の抗菌力も期待できると思われた。

035 MRSA に対する局所除菌薬としての mupirocin の殺菌力の評価

青木泰子

筑波大学臨床医学系内科

目的: MRSA の鼻腔除菌を用途とする mupirocin の局所除菌薬としての有用性を評価するため、殺菌力を *in vitro* で検討した。

方法: MRSA123 株 (患者由来 100 株と医療従事者鼻腔由来 23 株) の MIC を微量液体希釈法で測定した。褥瘡由来 1 株の殺菌曲線を測定し、接種菌量の多寡と有機物混入の影響を、他の抗菌薬 (vancomycin, arbekacin, polymyxin-B) や、消毒薬 (povidone iodine = PVP-I) と比較した。有機物としては基礎培地を Mueller-Hinton broth, および、10% カジトンプロスとし、羊血球 10, 50% 添加の影響を検討した。

結果: 測定株の MIC は 0.125~0.5 $\mu\text{g/ml}$, MIC₉₀ は 0.25 $\mu\text{g/ml}$ であった。接種菌量 10⁸ CFU/ml 以下では 24 時間後に殺菌的效果を示したが、6 時間までの殺菌力は弱かった。接種菌量 10⁸ CFU/ml 以上では殺菌率が低下し、殺菌的效果は得られなかった。羊血球添加時の殺菌力は低下したが、培地の種類の影響は受けなかった。対照薬 PVP-I は 5~10 分以内に完全な殺菌効果を示したが、有機物混入時に殺菌力を失った。他の抗菌薬はいずれも有機物混入の影響を全く、あるいは、ほとんど受けないが、菌量増加時や短時間での殺菌力は比較的弱かった。

考察: mupirocin は MRSA に対し、局所投与で得られる濃度で優れた殺菌効果を示す。有機物混入の影響を PVP-I より受けにくく、鼻腔除菌には有効と推定される。一方、接種菌量増加時の殺菌力が弱く、血球添加時にも殺菌力が低下することから、褥瘡等の感染巣では効果不十分な可能性が示唆され、耐性菌発現の危険性も踏まえ、感染巣への適応は慎重に考慮すべきと思われる。

036 MRSA に対する vancomycin と imipenem/cilastatin の *in vivo* 併用効果

戸塚恭一・志関雅幸
松井由香・内山竹彦

東京女子医科大学感染対策科

目的: MRSA に対して vancomycin (VCM) と carbapenem 系を含む β -lactam との *in vitro* における併用効果が報告されている。マウス大腿感染モデルを使用した MRSA 感染症に対して imipenem/cilastatin (IPM/CS) と VCM の *in vivo* における併用効果および *in vitro* の PAE を検討した。

方法: MRSA-N 株を使用した。MIC は微量液体希釈法によった。感染 4 日, 1 日前に cyclophosphamide をそれぞれ 150 mg/kg, 100 mg/kg を投与して白血球数を減少させた。対数増殖期の細菌 5×10^5 CFU を 3% ムチンに懸濁して両大腿に接種し, 2 時間後より背部皮下に IPM/CS 1 mg/kg または 2 mg/kg と VCM 5 mg/kg または 10 mg/kg の単独または併用にて 1 時間毎に 8 回投与した。経時的に大腿部を除去してホモジェネートを作成し, 一部を寒天平板に培養して生菌数を求めた。薬剤投与後に薬剤投与前の生菌数に回復するまでの時間を ERT として表した。PAE は各薬剤を 1/2 MIC~4 MIC で 2 時間接触させて求めた。

結果: MIC は VCM 2 μ g/ml, IPM 16 μ g/ml であった。VCM 1 mg/kg, 2 mg/kg, IPM/CS 5 mg/kg はコントロールに近い増殖曲線で ERT は 0 であった。VCM 1 mg/kg + IPM/CS 5 mg/kg で 2.9 時間, IPM/CS 10 mg/kg で 3.1 時間, VCM 1 mg/kg + IPM/CS 10 mg で 3.9 時間, VCM 2 mg/kg + IPM/CS 10 mg/kg で 5.2 時間の ERT であった。*in vitro* の PAE は VCM が 1.9~2.6 時間, IPM が 2.6~3.5 時間, 併用では 2.7~6.5 時間であった。

考察: VCM と IPM/CS の併用により *in vivo* においても併用効果が認められた。単独では明かな効果を示さない低用量の両薬剤により併用効果が認められた。

037 アルベカシンの MRSA に対する殺菌効果

中澤 靖・猿田克年・坂本光男
進藤奈邦子・前澤浩美・吉田正樹
柴 孝也・酒井 紀

東京慈恵会医科大学内科学講座第二

目的: アルベカシン (ABK) は MRSA に対して抗菌力を持つ薬剤である。ABK が MRSA や緑膿菌に対し短時間殺菌力について優れていることを前回の化学療法学会において報告した。更に MRSA について長時間における殺菌効果について検討し VCM と比較した。また併用投与も念頭に置いて IPM を加えた検討も行った。

方法: ABK を 1/2 MIC, 1 MIC, 2 MIC 濃度で調整した Muller-Hinton broth に臨床分離 MRSA 株を接種し, 37°C にて振盪培養後 1, 2, 4, 6, 24 時間でサンプリングして Muller-Hinton agar に塗布し生菌数を測定した。同様に VCM を単独の場合と ABK と IPM, VCM と IPM の併用の場合を検討した。

結果: ABK と VCM の MRSA に対する殺菌効果を比較すると, 6 時間まででは ABK の方がより強く殺菌されていたが, 24 時間まで検討すると VCM に比べ ABK では容易に再増殖する傾向があった。しかし IPM を併用することにより ABK 単独投与で認められた再増殖が抑制された。この効果はさらに IPM 濃度を高くすることにより増強された。

考察: ABK は MRSA に対して優れた短時間殺菌力を有しているながら, VCM に比べ容易に再増殖を招くことがわかった。このことが ABK の MRSA 感染症における臨床効果に影響を及ぼしている可能性がある。この再増殖を抑制するのに IPM の併用が有効であることがわかり, 臨床での ABK と IPM の併用が有効であることの一つの要因と考えられた。

038 2 種類の MRSA が感染し骨髄炎と慢性気管支炎を来した例

稲村延子¹⁾・塩谷譲司¹⁾
桜井雅紀²⁾・林 泉²⁾

¹⁾癌研究会附属病院細菌室, ²⁾同 内科

目的: 同一患者の異なった部位から分離された MRSA の性質を調べ, 感染症の病態および菌の性質に合った適切な治療を行うことができたので報告する。

方法: 肺癌の手術を行った 62 歳の男性が術後に胸腔ドレーンから MRSA ①を分離した。この MRSA ①は合併切除した第 6 肋骨付近の胸膜外に進展し, 第 6, 7 胸椎の骨髄炎を起こしたため, 骨の搔爬と骨移植, 筋肉での充填術を行った。また, この患者は基礎に慢性気管支炎を持っており, 喀痰から MRSA ②が検出された。この MRSA ①, ②の性質を薬剤感受性, ファージ型, パルスフィールド電気泳動法 (PFGE) による解析で検討した。

結果: MRSA ①/②の各種薬剤感受性は VCM 1/1, ABK 0.5/1, FOM >1,024/>1,024, MINO 32/0.5, RFP 0.063/>128, ST 1/1, CZOP 64/64, CFPM 256/256, IPM 32/32, FMOX 64/64, SBT/ABPC 32/32 μ g/ml で, ①, ②とも VCM, ABK には感受性であったが, ①は MINO 耐性, RFP 感受性, ②は逆に MINO 感受性, RFP 耐性であった。ファージ型では MRSA ①は MR 29, MR 83 A, K 15 に溶菌するが, MRSA ②は型別不能であった。PFGE で検討したものでは明らかにバンドの型が異なっていた。

治療: MRSA ①に対し, FOM + VCM の時間差攻撃療法を 3 ケ月間行った。肝機能を血液で, 腎機能を血液と尿で厳重にチェックしつつ治療を続け, 順調に経過し治癒した。後療法として RFP + ST を経口投与した。MRSA ②に対しては MINO 200 mg 分 2 の投与を 14 日間行い, ABK 10 mg を 1 日 4 回 13 日間吸入し除菌し得た。

考察: MRSA の閉鎖性感染は積極的に治療しなければならぬと同時に, その MRSA は上気道などにコロニー化している MRSA と同一なのかをよく検討し対策に結びつける必要がある。また, 骨髄炎のような MRSA の難治感染症に対する VCM の長期投与に際しては, 肝, 腎機能に注意しつつ行う必要がある。

039 北大病院における緑膿菌の分離状況について

佐藤 清¹⁾・齋藤 玲²⁾・清水義徳³⁾
菊池 仁³⁾・井上真美子³⁾・有働康代³⁾

¹⁾株ゴシヨウ・メディカルプロダクツ

²⁾北海道大学医療技術短期大学部

³⁾北大病院検査部

目的: 北大病院において, 各種臨床材料より分離された緑膿菌について, 材料別分離頻度, 血清型別の分類および薬剤感受性などの成績について検討したので報告する。

方法: 1976 年 4 月~1996 年 3 月までの 20 年間に分離さ

れた緑膿菌について以下の検討を行った。免疫血清型別の分類は、緑膿菌免疫血清（デンカ生研）およびメイヤッセイ緑膿菌（明治製菓）を使用した。また、薬剤感受性の測定は Gentamicin (GM), Tobramycin (TOB), Arbekacin (ABK), Ceftazidime (CAZ), Imipenem (IPM), Aztreonam (AZT), Norfloxacin (NFLX), Ofloxacin (OFLX), Ciprofloxacin (CPFX) の 9 剤について、日本化学療法学会標準法に準じて 10^6 CFU/ml の菌液をマイクロプランター（佐久間製作所）を用いて接種し、最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。

成績：1976 年～95 年に提出された臨床材料は 284,567 件で、分離された緑膿菌総数は 17,501 株 (6.1%) であった。年度を通じて分離株数のもっとも少なかった年は 1993 年で 16,233 件中 586 株 (3.6%) であった。血清型別の分布は 1976 年～93 年で A (23%), G (21%), E (13%) 型の順に多く、1994 年～95 年は B, G (21%), A (16%), I (13%) 型の順に分布していた。一方、E (6%) 型ではその分布に顕著な減少傾向が認められた。

感受性に用いた株は 1976, 78, 88, 92 年度中に保存した株 (2,700) について測定した結果を MIC₉₀ で比較すると、ABK ($\leq 6.25 \mu\text{g/ml}$), TOB ($\leq 6.25 \mu\text{g/ml}$), GM ($\geq 12.5 \mu\text{g/ml}$) であった。CAZ, AZT, IPM の 3 剤は $12.5 \sim 25 \mu\text{g/ml}$ であった。また Quinoln 系では CPFL, NFLX ($\leq 3.13 \mu\text{g/ml}$) が良い感受性を示していた。

考察：本院における緑膿菌の年度別平均分離率は 6.1% であった。免疫血清型別の分布は A, B, E, G, I 型が多いが 1993 年では E 型が顕著な減少を示していた。感受性の良い薬剤は ABK, TOB, CPFL, NFLX などであった。

041 *P. aeruginosa* に対する MEPM の抗菌効果と投与方法の検討

—CPR, IPM との比較—

長谷川裕美¹⁾・金井厚子²⁾

乙黒一彦²⁾・清水喜八郎²⁾

¹⁾東京女子医科大学第二病院小児科

²⁾北里研究所

目的：第 44 回日本化学療法学会総会において、*P. aeruginosa* に対する CPR, IPM の殺菌作用, PAE, postantibiotic sub-MIC effect (PA SME) を検討し、*in vitro* auto-simulation system を用いた血中濃度動態での抗菌効果との関連性について報告したが、今回、MEPM について同様の検討を行い、上記 2 薬剤と比較した。

材料：薬剤; MEPM, CPR, IPM。菌株; *P. aeruginosa* 臨床分離 20 株, ATCC 27853, PAO-1。

方法：(1) 上記 22 株に対する 3 薬剤の MIC を寒天平板希釈法にて測定した。(2) 22 株に対する 3 薬剤の殺菌作用, PAE を *in vitro* にて比較検討した。(3) 臨床分離 kl 9 株に対し、MEPM (2 MIC, 2 h) 作用後、洗浄除去した PAE 期の菌に、同薬 sub-MIC を作用し、PA SME を検討し、CPR, IPM と比較した。(4) Simulation system を用い、血中濃度動態での抗菌効果を検討した。

結果：(1) MIC₉₀/MIC₅₀ [$\mu\text{g/ml}$] は、MEPM: 0.4/6.3, IPM: 1.6/6.3, CPR: 6.3/50 であった (MEPM>IPM>CPR)。(2) 2 MIC 作用 4 h の殺菌効果 [$-\log_{10}$ cfu/ml] の平均値は、IPM (2.7) > MEPM (2.1) > CPR (1.6), 2 MIC 2 h 作用時の PAE [h] の平均値は、IPM (2.0) > MEPM (1.4) > CPR (-0.2) であった。(3) MEPM 前処理後の MEPM sub-MIC の抗菌効果は、前処理 (-) 時に比べ増

殖抑制作用増強を示し、その程度は CPR より強力であったが、IPM で認められた殺菌作用増強は認められなかった。(4) MEPM 0.5 g 0.5 h 点滴静注では time above MIC (1.8 h) を経過した後も殺菌作用、再増殖抑制作用 (6~7 h) を認め、その程度は CPR より強力であったが、IPM よりやや弱い傾向を示した。

考察：MEPM は、*P. aeruginosa* に対し、IPM, CPR に比べ優れた MIC 値を示した。しかし、抗菌効果 (殺菌効果, PAE, PA SME) は、IPM と CPR の中間的な特徴を示し、このことは、特に投与間隔を考える上で重要となるとともに、これらの一因として PBP に対する親和性の違いが関与することが示唆された。

045 脂肪酸および植物油の黄色ブドウ球菌に対する増殖抑制効果の検討

秋元義幸・濱島 肇

笹津備規・新井武利

昭和薬科大学微生物学研究室

目的：リノール酸等の脂肪酸は黄色ブドウ球菌に対して抗菌性を有するといわれている。一方、精製ツバキ油およびオリーブ油はアトピー性皮膚炎のスキンケアに用いられており、前者についてはアトピー性皮膚炎の改善に有効であったという報告がある。そこで精製ツバキ油等の植物油脂による黄色ブドウ球菌に対する増殖抑制効果を検討した。

方法：試料は脂肪酸としてリノール酸とオレイン酸、植物油脂として局方ツバキ油、精製ツバキ油、オリーブ油および精製ホホバオイルを使用した。その他スクワランと流動パラフィンを使用した。検定菌には *S. aureus* FDA 209 P を用いた。試料を BHI 液体培地に充分混和させた後、検定菌を接種し、37℃ で振盪培養した。660 nm における吸光度を測定し菌の増殖を記録した。

結果および考察：各試料の濃度段階における増殖を比較し、50% 阻止濃度 (ID 50) を求めた。リノール酸およびオレイン酸の ID 50 はそれぞれ $1.6 \mu\text{g/ml}$ および $6.0 \mu\text{g/ml}$ であった。局方ツバキ油、精製ツバキ油およびオリーブ油の ID 50 は、それぞれ $3.5 \mu\text{g/ml}$, $35 \mu\text{g/ml}$ および $100 \mu\text{g/ml}$ 以上であった。しかし精製ホホバオイル、スクワランおよび流動パラフィンには測定範囲においては増殖抑制効果は認められなかった。以上のように、精製ツバキ油とオリーブ油がリノール酸等の脂肪酸に比べて穏やかな増殖抑制効果を示すことを明らかにした。したがって、精製ツバキ油がアトピー性皮膚炎のスキンケアに有効であった理由として、乾燥性皮膚を改善するだけではなく、患部に存在する黄色ブドウ球菌の増殖を抑制した結果であると考えられる。

046 臨床分離コアグララーゼ陰性ブドウ球菌の感受性について

渡邊正治¹⁾・久保勢津子¹⁾・菅野治重²⁾

¹⁾千葉大学医学部附属病院検査部, ²⁾同 臨床検査医学講座

目的：最近のコアグララーゼ陰性ブドウ球菌 (以下 CNS) の分離状況と薬剤感受性について検討した。

方法：1995 年 1 月から 12 月の 1 年間に当検査部に提出された検体のうち CNS が純培養あるいは優位に分離された 529 検体 (入院 428, 外来 101) を検討対象とした。同定と感受性は、マイクロスキャン WalkAway (デイド) を用いた。

結果：CNS が分離された入院患者由来検体は、膿 40%,

尿 11%, 血液 11%, カテ先 10% の順で多く, 外来患者由来検体では, 膿 (41 検体) と尿 (33 検体) で約 73% を占めた。菌種別では, 入院で *Staphylococcus epidermidis* がもっとも多く 329 株, 次いで *S. haemolyticus* 28 株, *S. capitis* 21 株の順であった。外来では, *S. epidermidis* 56 株, *S. haemolyticus* 8 株, *S. saprophyticus* 3 株の順であった。NCCLS 法および化療標準法における MRSA の判定基準を適用し, MPIPC に対する MIC: $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ の株を感性株とすると, *S. epidermidis* 20.2% (75 株/371 株), *S. haemolyticus* 27% (10/37), *S. capitis* 43.5% (10/23), *S. saprophyticus* 100% (6/6), *S. simulans* 0% (0/6) であった。IPM に対する MIC: $\leq 4 \mu\text{g/ml}$, CMD に対する MIC: $\leq 8 \mu\text{g/ml}$ の株を感性株とすると *S. epidermidis* ではそれぞれ 26.5%, 96.8%, *S. haemolyticus* 32.4%, 70.2%, *S. capitis* 56.5%, 73.9%, *S. hominis* 70%, 90%, *S. saprophyticus* 100%, 100%, *S. simulans* 0%, 50% であった。VCM には, 耐性株は見られなかったが, MIC: 4 $\mu\text{g/ml}$ の株が 15 株に認められた。

結果: *S. epidermidis* は, 入院外来共多く分離され, 検体別では膿がもっとも多かった。MPIPC と IPM の感受性はよく相関していたが, MPIPC と CMD の感受性は, 相関性が低かった。NCCLS が提唱しているように MRSA の判定法を CNS に対して全てのセフェム剤に用いるのは問題があると思われた。

047 臨床分離エリスロマイシン高度耐性大腸菌のマクロライド不活化酵素に対するクラリスロマイシン (CAM) とロキシシロマイシン (RXM) の反応性

河辺哲寛・谷口和夫
小原康治・澤井哲夫

千葉大・薬・微生物薬品化学

目的: マクロライド (ML) は日本では主としてブドウ球菌や連鎖球菌に対して使用されるが, 西欧では広範な感染症に使用されている。エリスロマイシン (EM) 耐性菌での ML 不活化酵素に関しては既に大腸菌では EM エステラーゼや ML 2'-リン酸化酵素 [MPH (2')] が知られている。また, これら ML 不活化酵素活性の簡便 NMR 測定法も確立されている¹⁻¹⁰⁾。今回は MPH (2') I 型と II 型および EM エステラーゼについて, その性状を比較し, 更に新 ML の CAM や RXM の不活化酵素に対する反応性に関して報告する。

方法: 使用菌株: *E. coli* Tf 481 A, L 441 D, BM 2506, BM 694/pAT 63。ML 力価検定菌 *B. sub.* ATCC 6633。薬剤 (化療略号): EM; CAM, RXM, OL, TAO, MDM, MOM, SPM, LM, JM, RKM, TS。MIC 測定: 化療抗菌薬感受性測定法, 1990。粗酵素液での ML 不活化: 粗酵素液 0.8 ml, OL (125 $\mu\text{g/ml}$) 0.1 ml, 40mMATP 0.1 ml で 37°C 反応, 残存力価測定。酵素精製, 分子量測定, 等電点測定: カラムクロマトなど。SDS-PAGE 後の銀染色。等電点電気泳動。

結果・考察: MPH (2') I は 14 員環 ML に, MPH (2') II は 14 および 16 員環 ML に不活化活性を示し, I 型は誘導型酵素であった。各々の酵素化学的性状は至適 pH 8.2・8.2, 至適温度 40°C・40°C, 分子量 30 k・48 k, 等電点 6.2・5.3 であった。また, MPH (2') 産生菌に対する MIC は CAM < RXM で, EM エステラーゼ産生菌では逆であった。Tf 481 A と L 441 D は EM100 $\mu\text{g/ml}$ 前処理で

EM に対する MIC は各々 800, 800 から >800, >800 に, CAM では 400, 400 から 800, >800 $\mu\text{g/ml}$ に上昇したのに対し, RXM では変化が認められなかった。CAM と RXM は MPH (2') I と II に関して EM ほど不活化されず RXM は特に II 型に全く不活化されなかった。また, EM エステラーゼにはいずれも EM より強い抵抗性を示した。

文 献

- 1) J. Antibiot., 41: 823, 1988
- 2) Antimicrob. Agents Chemother. (A. A. C.), 33: 1354, 1989
- 3) FEMS Microb. Lett., 97: 89, 1992
- 4) J. Am. Soc. Mass Spectro., 3: 563, 1992
- 5) Tetrahedron, 49: 9221, 1993
- 6) Jap. J. Antibiot., 46: 818, 1993
- 7) Microbios, 79: 231, 1994
- 8) Jap. J. Antibiot., 48: 437, 1995
- 9) A. A. C., 39: 2359, 1995
- 10) A. A. C., 40: 1036, 1996

048 エリスロマイシン誘導体の構造と耐性菌に対する活性

朝賀俊文・櫻村政人・鈴木啓子
大谷内理香・小野武夫・沼田和生
明石 敏・長手尊俊・森本繁夫

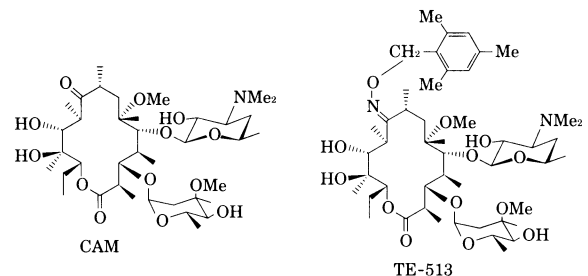
大正製薬株創薬研究所

目的: エリスロマイシン耐性菌に有効な新規マクロライド化合物の創薬

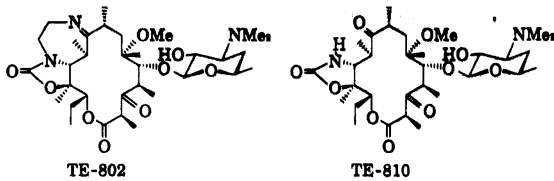
結果:

(1) エリスロマイシン耐性黄色ブドウ球菌に対する合成研究

6-O-メチルエリスロマイシン (CAM) の 9 位ベンジルオキシム体に弱いながら黄色ブドウ球菌の構成型耐性菌に対し抗菌活性が認められた。そこで 9-置換オキシム誘導体を各種合成し, 抗菌力の向上を目指したところ, CAM の MIC が $\geq 1,600 \mu\text{g/ml}$ の *S. aureus* J-109 に対し TE-513 では 6.25 $\mu\text{g/ml}$ まで活性を上昇させることができた。



(2) エリスロマイシン耐性肺炎球菌に対する合成研究
6-O-メチルエリスロマイシン (CAM) の 3 位 cladinose を除去し, 水酸基を酸化して得られた 3 位 ketone 体 (ketolide) に中等度耐性肺炎球菌に対する抗菌作用が認められた。そこで各種 3 位 ketone 体を合成し抗菌力の向上を試みたところ, CAM の MIC が 0.78~1.56 $\mu\text{g/ml}$ であるのに対し TE-802, TE-810 では 0.05~0.10 $\mu\text{g/ml}$ まで活性を上昇させることができた。



049 ケトライド: TE-802 および 810 の抗菌作用

明石 敏・鈴木啓子・大谷内理香
杉田和彦・小野武夫・櫻村政人
朝賀俊文・長手尊俊・森本繁夫

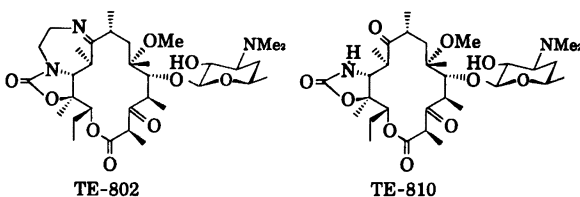
大正製薬(株)創薬研究所

目的: クラリスロマイシン (CAM) の誘導体として 3 位の中性糖 (クラジノース) をケトン体に変換したケトライド: TE-802 および 810 を合成, それらの抗菌活性および体内動態を検討したのでその特徴を報告する。

結果:

- 1) ケトライドの物性面での特徴として, 酸に対する安定性が CAM と比較して著しく向上していた。
- 2) TE-802 および 810 は, CAM とほぼ同様, グラム陽性菌, グラム陰性菌の一部に対して抗菌力を示したが, *S. aureus* のマクロライド誘導体耐性菌, *S. pneumoniae* のマクロライド耐性菌の一部および *E. faecalis* に対して CAM よりも優れる *in vitro* 抗菌力を示した。
- 3) マウス全身およびマウス肺感染モデルにおける薬効試験では, TE-802 および 810 の *in vivo* 抗菌力は CAM と比較して優れていた。
- 4) 体内動態面において TE-802 と 810 は異なる動態を示した。すなわち, TE-802 はアジスロマイシンと同様に持続性を示したのに対して, TE-810 は高い血中および臓器内濃度を示した。

これらの化合物の作用機作およびその他の抗菌力の特徴については現在検討中である。



050 Azithromycin の腸内細菌叢に及ぼす影響 —小児臨床例における検討—

岩田 敏¹⁾・上牧 勇²⁾・磯畑栄一²⁾
横田隆夫²⁾・楠本 裕²⁾・佐藤吉壮²⁾
南里清一郎²⁾・老川忠雄²⁾・秋田博伸³⁾
小林寅詰⁴⁾・砂川慶介⁵⁾

- 1) 国立霞ヶ浦病院小児科
- 2) 慶応義塾大学医学部小児科
- 3) 聖マリ安娜医科大学小児科
- 4) 三菱油化ビーシーエル
- 5) 国立東京第二病院小児科

アザライド系抗生物質である Azithromycin (AZM) について, 小児臨床例の腸内細菌叢に及ぼす影響を検討した。

方法: 対象は感染症で入院もしくは通院した小児 5 例 (男

児 2 例, 女児 3 例, 年齢 1 歳 2 ヶ月～9 歳 2 ヶ月, 体重 9.99～24.8 kg) で, AZM を 1 回 10.0～19.6 mg/kg, 1 日 1 回, 3～5 日間経口投与し, 投与前, 中, 後の糞便を採取して, 糞便 1 g 中に含まれる各種細菌の同定および菌数計算を行った。同時に糞便中の AZM 濃度, *Clostridium difficile* D-1 抗原の測定も行った。また一部の分離菌株について AZM の最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。

成績: AZM 投与中の糞便内細菌叢の変動は症例により若干のばらつきが認められたが, 主要な好気性菌のうち *Escherichia coli* をはじめとする Enterobacteriaceae は全症例で投与前および投与後に著明に減少する傾向が認められた。Enterococcus は一部の症例で属内での菌交代が認められたが, 全体としては大きな変動は認められなかった。その結果好気性菌総数は 2 例で軽度の減少が認められた。嫌気性菌では優勢菌種である *Bifidobacterium*, *Bacteroides* が投与前および投与後に軽度の減少を示した症例が 2 例認められたが, 嫌気性菌総数はいずれの症例においても大きな変動は認められなかった。ブドウ糖非醗酵性グラム陰性桿菌や真菌の異常な増加が認められた症例は認められなかったが, 5 日間投与した 1 例で投与中に *Candida* が好気性菌の優勢菌種となっていた。C. difficile および C. difficile D-1 抗原はそれぞれ 3 例で検出されたが, その消長と便性に関連性はなかった。5 日間投与した 1 例で試験期間中に軽度の下痢が認められた。糞便中の AZM は, 全ての症例で投与前および投与終了後 25 日までの検体から検出され, その濃度は 0.8～2,116.0 μg/g であった。糞便分離株の薬剤感受性の検討では, Enterococcus と Bacteroides で AZM 投与終了後に MIC の高い菌株が分離される傾向が認められた。

考察: AZM は, 投与後長期間にわたり糞便中に排泄されるが, 小児の腸内細菌叢に及ぼす影響は比較的少ない薬剤と考えられる。

051 小児急性呼吸器感染症に対する抗生物質使用についてのアンケート調査

岩田 敏¹⁾・佐藤吉壮²⁾
秋田博伸³⁾・砂川慶介⁴⁾

- 1) 国立霞ヶ浦病院小児科
- 2) 富士重工業健康保健組合総合大田病院小児科
- 3) 聖マリ安娜医科大学小児科
- 4) 国立東京第二病院小児科

小児急性呼吸器感染症に対する抗生物質の使用状況, 病因診断の実施状況についてアンケート調査を行った。

方法: アンケートを送付したのは, 日本小児感染症学会会員の小児科医 (I 群) 56 名, 茨城県小児科医会会員の勤務医 (II 群) および開業医 (III 群) 122 名, 国立霞ヶ浦病院の客員医師の内茨城県小児科医会会員ではない開業医 (IV 群) 40 名の計 218 名で, 回答は無記名方式とし, 1996 年 1 月に回収した。アンケートの集計は各群毎に行い, 咽頭炎・扁桃炎, 気管支炎, 肺炎の各疾患別に解析した。

成績: アンケートが回収できたのは I 群 44 名, II 群 28 名, III 群 31 名, IV 群 23 名で, 回収率は 57.8 % であった。抗生物質の使用については, 原則として使用するという回答は, 肺炎ではいずれの群でも 90 % 以上であったが, 咽頭炎・扁桃炎では I 群 7 %, II 群 11 %, III 群 32 %, IV 群 35 %, 気管支炎では I 群 68 %, II 群および III 群 93 %, IV 群 91 % と各群で差が認められた。抗生物質の適応を決定する際に参考とする所見としては, 発熱, 全身状態, 咽頭発赤, 聴診所見, 白血球数, 血清 CRP 値, 胸部 X 線所見が多かったが,

細菌学的検査についてはI群で63%, II群で39%が参考としているのに対し, III群, IV群では17~19%と低かった。使用する抗生物質の種類は各群で特に大きな差はなかったが, キノロン系薬はIV群で使用される機会が多かった。投与期間は平均で咽頭炎・扁桃炎3~7.8日, 気管支炎5~8日, 肺炎6.5~12.8日であったが, 咽頭炎・扁桃炎ではI群, 肺炎ではIII群, IV群でやや長くなる傾向が認められた。病因診断については, A群溶血レンサ球菌抗原の検出など一部を除き, 各疾患群共にIII群, IV群で実施されていない場合が多かった。

考察: 小児急性呼吸器感染症の診療の場では, 病因診断がなされることなく多くの症例に抗生物質が投与されている場合が少なくないと考えられ, 抗生物質の適正使用という観点からみると改善への努力が必要である。

052 群馬県内病院での小児急性呼吸器感染症における細菌学的検討 (肺炎球菌を中心として)

高見 璞*・天田憲夫・下山定利
本間哲夫・佐藤英生・深澤利之
設楽利二・富所隆三・深澤信博
曾根克彦・丸山健一・竹内東光
星野 弘・荒川浩一・松島 敏
渡辺喬三郎・森川昭廣

公立富岡総合病院小児科*
群馬県小児感染免疫研究会

目的: 小児の細菌性呼吸器感染症において, 肺炎球菌は依然として大きな比重を占めている。さらに最近耐性菌の増加が目され第2のMRSAともいわれている。そこで今回われわれは群馬県下の各病院における小児の呼吸器系感染症において, 肺炎球菌を中心としてその検出状況, 薬剤感受性, PISPあるいはPRSPの検出率などについて検討を行ったので報告する。

方法: 使用した菌株は1995年10月より1996年2月までの間に群馬県内群大関連病院の検査室にて分離された菌株を用いた。由来材料は呼吸器系を中心に咽頭粘液, 喀痰, 鼻腔, 扁桃, 耳漏などより採種した。同定はコロニーの集落形態あるいは鏡検にて行った。薬剤感受性の測定は一部の検体はディスク法, さらに全ての検体について日本化学療法学会の基準に準じてMICの測定を行った。なおPC-G耐性肺炎球菌の定義は米国臨床検査標準委員会に従い分類した。

結果: 肺炎球菌の検出は106株分離された。その由来材料は殆ど咽頭粘液であった。肺炎球菌の年次別検出率をみると, 全体の2~3%の検出率であるが年とともに増加する傾向を示した。

肺炎球菌106株中PISR, PRSP株は48%を占めた。各施設間でのPISPの出現率は, 一施設では36%で他の施設での50~54%より少し低値であったが地域差といえる程ではなかった。またPRSPは2施設にて各1株ずつ検出された。

検出された菌の主要経口抗生剤のMIC₉₀は肺炎球菌でCDTR-PI, CFTM-PIが0.25 µg/mlでもっとも優れた感受性を示した。またディスク法とMICとの相関は大きな違いを見せ問題点を示した。

054 重症感染を思わせた夏カゼ小児例の臨床的検討

—抗生剤の有用性, アデノクロンの試用について—

寺嶋 周・目黒英典・早川真名
河野美子・猪股弘明・前田直美
帝京大学医学部附属市原病院小児科

目的: 年齢層0~5(7)歳児の発熱の主因は感染症といえる。夏期はHerpangina, 咽頭結膜熱(PCF)等のウイルス感染が多発し抗生剤が汎用される。市原市周辺では1996年5月頃より感染症サーベランス情報の如くPCF症状を主訴として来院する小児が増加している。38.5℃以上の高熱が4日以上続く, 全身状態の悪化, CRP 5.0 mg/dl以上・核左方移動や好中球増多等の重症感染を思わせる小児について抗生剤の有用性, 呼吸器症状を主徴とした際はアデノクロンの試用成績を検討した。

対象および検討内容: 1996年5月~8月の間の当科外来患者で①38.5℃以上の高熱が4日以上続く。②全身状態の悪化を見る。③CRP 5.0 mg/dl以上・明らかな好中球増多または核左方移動を認める。これら2項目以上を満たす26例(外来患者15, 入院患者11)を対象とした。年齢は9ヶ月~10歳(5歳以下19)また男児13例, 女児13例。一般血液検査, CRP, 培養(細菌, アデノウイルス), 病原迅速診断(Strep A plus, 肺炎マイコプラズマ抗原(直接蛍光抗体法), アデノクロン, RSVテストバック)を主要な検査項目とした。臨床経過観察は抗生剤の有用性判定の一助とした。対象症例の臨床診断は滲出性扁桃・咽頭炎(気管支炎, 中耳炎, 胃腸炎併発例あり)14例, 気管支炎・肺炎7例, 無菌性髄膜炎・伝染性単核症・Herpangina+脱水症・マイコプラズマ肺炎各1例である。

結果およびまとめ: 病原診断し得たのは, マイコプラズマ肺炎1例, 滲出性扁桃炎6例(アデノウイルス), PSSP 3例, *H. influenzae* 3例, *M. catarrhalis* 1例(全て二次感染と推定)であった。抗生剤前投与例およびCRP強陽性または好中球増多例にCEDN, CPDX-PR, CFTM-PI, CDTR-PI, AMPC, EM, CAM, MINO, CTRX, SBT/ABPC, PAPM/BPが投与されたが, 総合的にみて5例のみ有効と思われた。アデノクロンは滲出性扁桃炎, CRP強陽性例の病原診断に有効と考えられる。

058 産婦人科領域感染症における血中 cytokine の変動と Panipenem/Betamipron の臨床効果

千村哲朗

山形県産婦人科カルベニン研究会

目的: 炎症反応機構における各種 cytokine の発動は, 産科領域において Romero (1988) の最初の報告以来, 各種 cytokine の chorioamnionitis との関係が羊水中での変動で検討されている。しかし産婦人科領域感染症での血中変動についての報告はきわめて少ないのが現状である。こうした背景から, Panipenem/Betamipron (PAPM/BM) の産婦人科感染症に対する臨床効果と, 本剤投与時の血中 IL-6, IL-8 の変動を感染マーカーとしての意義から検討したので報告したい。

方法: Cytokine の測定は PAPM/BM 投与前後において, 血中 IL-6, IL-8 の測定 (ELISA 法, SRL) による。PAPM/BM の臨床効果は 35 例を対象とした。

結果および考察: PAPM/BM 投与時の血中 IL-6, IL-8 の

推移の検討では、CRPの変動に比してIL-6の下降傾向は早い。投与前値の両者の相関率は高いが、IL-8の高値は2/9例のみに与えられ低下傾向を示している。PAPM/BMの各種感染症に対する臨床効果の検討では、有効率35/35(100%)を示し、細菌学的効果は28/31(90.3%)を示した。

以上の結果から、産婦人科領域感染症に対するPAPM/BMの高い臨床効果と安全性が示唆される。またinitial treatmentとしてのPAPM/BM投与時の血中IL-6の変動は、CRPの変動より迅速性と病態の予後を適確に示し、感染マーカーとしての意義が示唆されよう。

059 黄色ブドウ球菌 *norA* 変異株に対するキノロン剤の抗菌力と疎水性との関係

竹之内俊・大屋 哲

三共株式会社第二生物研究所

薬剤排出による *norA* 耐性変異株に対するキノロン剤の抗菌力は、親水性キノロン剤に比べ疎水性キノロン剤が優れているとされてきたが、これが正しいか否かを検討した。

野生株 SA-1199 に比べ、その *norA* 変異株 SA-1199 B では *norA* 遺伝子転写レベルが高かった。DNA gyrase A, B subunit および topoisomerase IV A subunit に耐性に異なる変異は認められなかった。疎水性パラメータ $\log P_{app}$ を *n*-octanol-Britton Robinson buffer (pH 7.0) 系で測定すると、キノロン剤 11 剤の $\log P_{app}$ と抗菌力低下との相関性は高くなかった ($r=0.61$)。プログラム cLogP を用いて $\log P$ (cLogP) を求め、QSAR+, HANSCH 3 X を用いて量的構造活性相関解析を行った。キノリン骨格を有するフルオロキノロン 40 化合物においても抗菌力低下の程度と cLogP との相関性は低く ($r=0.47$)、むしろ 7 位置換基のかさ高さおよび 8 位置換基のかさ高さとの相関が高かった ($r=0.87$)。キノロン剤の蓄積を Chapman & Georgopapadakou の方法に準じて蛍光強度で測定した。Norfloxacin の SA-1199 B への蓄積は SA-1199 に比べて有意に低く、CCCP 添加により増加した。Norfloxacin とほぼ同等の親水性を示す CS-940 はこれら 2 株の蓄積に差はなく、CCCP による影響も受けなかった。

以上により、*norA* 変異によるキノロン剤の抗菌力低下の程度は、必ずしもキノロン剤の疎水性と相関するものではないと考えられた。

会員外協力者: 田畑富美子・岩田依子・半沢宏之・菅原美恵

060 黄色ブドウ球菌トポイソメラーゼ IV の精製とキノロン剤の阻害活性

田中眞由美・小野寺宜郷

佐藤謙一・早川勇夫

第一製薬創業第一研究所

目的: 黄色ブドウ球菌におけるキノロン剤の標的酵素は、遺伝子の耐性変異の研究より第一にトポイソメラーゼ IV であり、DNA ジャイレースは第二であると考えられるようになった (Ferrero ら, Mol. Microbiol. 13: 641, 1994)。しかし、酵素学的には未だ詳細な研究はなされていない。そこで、我々は黄色ブドウ球菌のトポイソメラーゼ IV の高発現系を構築、大量精製し、それに対するキノロン剤の阻害活性を測定した。

方法: トポイソメラーゼ IV 遺伝子 *grlA* および *grlB* を各々 pMAL-c 2 (NEB) に接続して構築した発現ベクターを大腸

菌 MC 1061 に形質転換した。これを LB 培地中で対数増殖期まで培養後、IPTG 処理によるマルトース結合蛋白質との融合蛋白として発現を誘導した。集菌、洗浄後、リゾチーム処理し、超速心沈清をアミロースレジンカラムに吸着し、10 mM マルトースにより溶出した。透析、濃縮後、Factor Xa によりマルトース結合蛋白質を切断し、デカネーション活性を測定した。活性測定は大腸菌トポイソメラーゼ IV のデカネーション活性測定法に準じて実施した。

結果: 精製した *GrlA* 蛋白質および *GrlB* 蛋白質を単独および再構成しデカネーション活性を測定した結果、再構成時のみ活性が存在し、SDS-PAGE により各々約 90 kDa と 79 kDa であることが確認された。この酵素を用い、レボフロキサシン、シプロフロキサシン、スパルフロキサシン、トスフロキサシン等既存キノロン剤の阻害活性を測定した。いずれの薬剤においてもトポイソメラーゼ IV 阻害活性が DNA ジャイレース阻害活性より高く、黄色ブドウ球菌では、DNA ジャイレースより低濃度でトポイソメラーゼ IV が阻害されることが明らかとなった。

061 PZFX 作用時に得られた *S. aureus* の微小コロニーの性状

満山順一¹⁾・山田 尚¹⁾・前花淳子¹⁾

黒瀬朱美子¹⁾・高畑正裕¹⁾・南新三郎¹⁾

渡辺泰雄¹⁾・成田弘和¹⁾・山口恵三²⁾

¹⁾富山化学工業(株)総合研究所

²⁾東邦大学医学部微生物学教室

目的: 我々は *S. aureus* に PZFX の 1 MIC 作用時の再増殖菌中に親株と形態および感受性が同じコロニーと、発育が遅く感受性が 1/2 に低下した微小コロニー (Small colony variant: SCV) が出現し、さらさらにこの SCV を PZFX 存在下で再増殖させても得られるコロニーの感受性がほとんど変化しないことを報告している。

今回、我々は SCV における *gyrA*, *gyrB*, *grlA* の変異および薬剤の菌体内取り込みを CPFIX 再増殖株と比較したので報告する。

方法: 使用株は *S. aureus* SA 113, SA 113 に 1 MIC の PZFX を作用させて得た SCV の TR-24, TR-24 に再度 PZFX を作用させて得た SCV の TRPZ-1, SA 113 に 1 MIC の CPFIX を作用させて得たキノロン剤中等度耐性株の CR-3, CR-3 に再度 CPFIX を作用させて得たキノロン剤高度耐性株の CRCP-9 を用いた。MIC の測定は微量液体希釈法、*gyrA*, *gyrB* および *grlA* のキノロン耐性決定化領域 (QRDR) の DNA 塩基配列はシデオキシ法で、また菌体内取り込み量の測定は平井らの方法に準じて行った。

結果および考察: CPFIX 再増殖 1 代目の CR-3 は *grlA* 80 番目の Ser が Phe に、また 2 代目の CRCP-9 は *grlA* の変異に加え、*gyrA* 88 番目の Glu が Lys に変異していたのに対し、PZFX 再増殖株の TR-24, TRPZ-1 は *gyrA*, *gyrB* および *grlA* のいずれの QRDR にも変異が認められなかった。

CR-3, CRCP-9 における菌体内取り込み量は、いずれの薬剤においても SA 113 と有意な差は認められなかった。

一方、TR-24 における菌体内取り込み量は、いずれの薬剤においても SA 113 の約 1/2 に低下したが、CCCP 添加の影響は親株と同様であったことから、SCV における菌体内取り込み量の低下は *norA* による薬剤排出亢進によるものではなく、薬剤の取り込み減少によるものと考えられた。

以上、CPFIX 再増殖コロニーは、1 代目で *grlA* が、2 代目で *grlA* に加え *gyrA* が変異することにより高度耐性化す

るのに対し、SCV は菌体内取り込み量が減少することによりキノロン剤に対する感受性が 1/2 に低下したものと考えられた。

062 新規ニューキノロン系抗菌剤 CP-99, 219 の *in vitro* 抗菌活性

松永敏幸・大石佐奈美・杉本奈扶美
佐藤 和・小川正俊・下岡新雄
ファイザー製薬株式会社中央研究所

目的: 新規経口用ニューキノロン系抗菌剤である CP-99, 219 の臨床分離株に対する最小発育阻止濃度 (MIC) ならびに殺菌作用を OFLX, CPMX, TFLX および SPFX と比較した。

方法: 臨床分離株に対する MIC の測定は、日本化学療法学会標準法に準拠した寒天平板希釈法 (接種菌量: 10^8 CFU/ml) で行った。また、殺菌作用については、増殖曲線に及ぼす影響から検討を行った。

結果: CP-99, 219 のグラム陽性菌に対する MIC₉₀ (μ g/ml) は、MSSA 0.05, MRSA 6.25, *S. pyogenes* 0.20, PCG 感受性 *S. pneumoniae* 0.20, PCG 耐性 *S. pneumoniae* 0.20, *S. agalactiae* 0.20, *E. faecalis* 0.78 であり、その抗菌力は概して OFLX, CPMX, TFLX および SPFX より優れていた。一方、CP-99, 219 のグラム陰性菌に対する MIC₉₀ (μ g/ml) は、*N. gonorrhoeae* 0.05, *M. catarrhalis* 0.025, *E. coli* 0.10, *K. pneumoniae* 0.05, *E. cloacae* 0.10, *P. mirabilis* 0.39, *H. influenzae* 0.025, *P. aeruginosa* 1.56, *A. calcoaceticus* 0.05 であった。CP-99, 219 の *P. aeruginosa* に対する抗菌力は、試験薬剤中で CPMX に次いで強かった。また、*B. fragilis* に対して CP-99, 219 はもっとも優れた抗菌活性を示し、MIC₉₀ は 0.39 μ g/ml であった。

S. aureus PT-1032 の増殖曲線に及ぼす影響の検討において、CP-99, 219 は 1 MIC で速やかな殺菌効果を示した。対照キノロン剤では 24 時間作用後に菌の再増殖が認められたが、CP-99, 219 では再増殖を認めなかった。また、*P. aeruginosa* PT-93065 に対して、CP-99, 219 は SPFX と同様に 1 MIC で速やかな殺菌効果を示し、24 時間作用でも菌の再増殖を認めなかったが、OFLX, CPMX および TFLX では再増殖が認められた。

063 *Haemophilus influenzae* の PBP_s に対する β -ラクタム系薬の親和性と PAE との関係

旭 泰子・村木智子・五十嵐厚美
生方公子・紺野昌俊

帝京大学医学部臨床病理

目的: *H. influenzae* の PBP_s に対する β -ラクタム系薬の親和性の特徴と、PAE との関連を明らかにすることを目的とした。

方法: *H. influenzae* (TK-422 株) の PBP_s に対する β -ラクタム系薬 (10 薬剤) の親和性は ³H-PCG を用いて解析した。PAE は Mueller-Hinton broth (2% 不活化ウマ溶血液, NAD 添加) を用いて測定した。その際の形態変化は位相差顕微鏡下で観察した。

結果: 被験薬は PBP_s に対する親和性からおおよそ 3 つのグループに分けられた。一つは ABPC, CCL, CFIX, CTM で、これらの薬剤は PBP_s に対する親和性が $1B \geq 3a+3b > \gg 2$ であり、MIC は劣るものの溶菌に関わると

推定される PBP 1 B に対する親和性が高かった。これらのうち、ABPC は $2 \times \text{MIC}$ 以上、1 h の作用で 0.1~0.8 h の PAE を示した。

第二のグループは PIPC, CTX, CDTR, CZOP である。PBP に対する親和性は $3a+3b > \gg 1B < \gg 2$ のパターンであった。これらの薬剤の作用では、菌は filament 化しながら溶菌した。2 \times ~8 \times MIC, 1 h 作用させたのみでは PAE は -0.4~-0.5 h で、PAE がプラスに転じるには 32 \times MIC というきわめて高い濃度を必要とした。この濃度での PBP 親和性は、PBP 1 B と 2 に対する親和性がほぼ 100% に達していた。

第三のグループは、PAPM と FRPM である。これらの薬剤の親和性パターンは $1B=2 > 3a+3b$ であった。MIC は 2.0 μ g/ml と劣っているが、MIC よりも低い濃度 (1/16 \times MIC) から細胞は球状化した。溶菌はこの球状化細胞から生じた。PAPM は MIC, 1 h 作用で 1.6 h の PAE を示したが、この時の PBP 1 B に対する親和性は 100% であった。

結論: *H. influenzae* においては MIC の優れている薬剤が必ずしも PAE に優れていない。細胞を filament 化させる薬剤に比べて、球状化させる薬剤の方が菌の再増殖が遅いために、プラスの PAE 値を示すものと考えられた。

064 肺炎球菌の PBP 2 X 変異に伴う薬剤感受性変化について

北山理恵子・南新三郎・満山順一
山田 尚・松村尚樹・前花淳子
渡辺泰雄・成田弘和

富山化学工業株式会社総合研究所

目的: 我々は、第 44 回本学会総会において、PBP 2 X の 550 番目のスレオニンからアラニンへの置換によって、オキシイミノセファロsporin に耐性化すると同時に PIPC に感受性化することを報告した。今回、 β -ラクタム剤感受性と PBP 2 X のアミノ酸変異の関係を明らかにする目的で、以下の実験を行った。

材料および方法: 使用菌株として PSSP の D-993 株、およびオキシイミノセファロsporin で選択して得られた 2 種類の ORSP の *pbp 2x* をそれぞれ homologous recombination により D-993 株に導入した transformant の TXM 8 (⁶⁵¹Glu \rightarrow Gly) および TDX 5 (⁶⁵⁰Thr \rightarrow Ala) を用いた。使用薬剤としてペニシリン剤 14 剤、セフェム剤 13 剤を用いた。薬剤感受性は、5% 綿羊血液含有 BHIA を用いた寒天平板希釈法で測定した。

結果および考察: Transformant に対する MIC を D-993 株と比較した結果、セフェム剤では TXM 8, TDX 5 ともに変化しないか上昇する傾向を示し、そのうち 4 倍以上 MIC の上昇した薬剤はオキシイミノセファロsporin であった。またペニシリン剤の MIC は TXM 8 に対しては、変化しないかまたは 2 倍上昇したが、TDX 5 に対しては ABPC と CBPC 以外はすべて低下し、特に 1/4~1/8 に低下した薬剤は PEPC, AMPC, PIPC, DMPPC, MDIPC, MPIPC, MCIPC および ASPC であった。

次いで、同じ側鎖を 6 位と 7 位に持つセフェム剤とペニシリン剤の TDX 5 に対する MIC 変化を比較した結果、同じ側鎖を持っていても、セフェム剤は MIC が上昇し、ペニシリン剤は低下する傾向を示したことから、TDX 5 の感受性化はペニシリン骨格を持つ化合物に対して起こると考えられた。

以上、PBP 2 X の ⁶⁵¹Glu \rightarrow Gly 置換はオキシイミノセファ

ロスボリン耐性化に関与しており, $^{500}\text{Thr}\rightarrow\text{Ala}$ 置換はオキシミノセファロスポリン耐性化に加え, AMPC, PIPC, DMPPC, MDIPC などのペニシリン剤に対する感受性化に関与していた。

065 放線菌の AAC (3) による 3"-N-Acetyl-*ar*bekacin の生成とその抗菌活性

堀田国元¹⁾・池田洋子²⁾・近藤信一²⁾

¹⁾国立予防衛生研究所生物活性物質部

²⁾微生物化学研究所薬化学部

目的: 抗 MRSA アミノグリコシド抗生物質 (AG) である ABK は, 不活性化酵素修飾部位を有するにもかかわらず, APH (2'')/AAC (6') をも中等度耐性菌の低頻度出現しか報告されていない。その要因として, 1 位の側鎖 AHB による修飾酵素の作用の妨害があげられる。今回は放線菌由来の AAC (3) を用いて ABK と関連 AG のアセチル化反応を行い, アセチル化物の構造と抗菌活性を調べた。

方法: *Streptomyces griseus* の AAC (3) 遺伝子をクローン化した *S. lividans* TK 21/pANT 3-1 から粗酵素液を調整し, AG 0.25 mg/ml, AcetylCoA 5 mM, リン酸緩衝液 (pH 7.0) 100 mM, 粗酵素液 10% (v/v), 反応液量 0.1 ml, 37°C の条件で反応を行った。抗菌活性とアセチル化物生成は, 抗菌検定とシリカゲル TLC によりモニターした。アセチル化物の構造はイオン交換クロマトで精製後, MS と NMR により決定した。

結果: 2 時間の反応で, DKB は不活性化されたが, ABK と AMK の反応液の活性は低下しなかった。しかし, TLC によって ABK の完全変換を認めた。長時間反応では AMK も同様に変換された。詳細な構造解析の結果, DKB は 3-NH₂ がアセチル化されていたが, ABK と AMK は, DKB と異なり, 3"-NH₂ (3-アミノグルコースのアミノ基) がアセチル化されていた。そして, 3"-N-acetylABK のみが顕著な抗生物質活性を示した。

考察: DKB や KM の 3-NH₂ をアセチル化する放線菌の AAC (3)¹⁾ は, 1 位に AHB 側鎖を有する ABK と AMK の 3"-NH₂ をアセチル化した。これは AHB の影響であり, さらに, 3"-N-acetylABK は顕著な抗菌活性を示すという新事実が明らかになった。2'-N-acetylABK²⁾ が活性なことと併せ, ABK はそのアセチル化物が活性を示すことが他の AG と明白に区別できる利点であり, AAC (3) をもつ菌は ABK 耐性となりにくいと判断できる。

文 献

1) J. Antibiot. 41: 94, 1988.

2) *ibid.*, 49: 458, 1996.

実験協力者の砂田亜津子氏に感謝いたします。

066 新しい *ar*bekacin (ABK) 修飾酵素 AAC (4''') による *am*ikacin (AMK) の修飾部位の検討

藤村 茂・渡辺 彰・高橋 洋

庄司 聡・菊地 暢・貫和敏博

東北大学加齢医学研究所呼吸器腫瘍研究分野

久道周彦

東北薬大第一薬化学

井上松久

北里大学医学部微生物学

目的: 第 42 回の本学東日本総会において我々は東北地方

の臨床分離 MRSA の中に, 新しい ABK の修飾酵素 AAC (4''') 保有株が存在することを報告した。今回は, ABK と類似の構造を示す AMK に対し, AAC (4''') による修飾部位の検討を行ったので報告する。

対象と方法: 使用菌株は東北地方の臨床分離 MRSA の中で ABK に耐性 (MIC \geq 6.25 mg/ml) を示し, AAC (4''') の保有を確認した 5 株を用いた。この 5 株に対する AMK の MIC は全株で 25 mg/ml 以上であった。AMK の chemical shift の全帰属は, AMK の原末を用いて 1 H-NMR, 13 C-NMR, H-H COSY, C-H COSY, HMBC により決定した。次に被検菌株と AMK 原末を普通液体培地で 37°C 24 h 培養後 SEPAK column を用いて分離し減圧除去後, 得られた AMK 修飾体をサンプルとして, 1 H-NMR, 13 C-NMR により修飾部位の同定を行った。また, AAC (4''') の酵素学的性状について検討を加えた。

結果・考察: 今回, ABK 耐性 MRSA 株保有の ABK 修飾酵素による修飾部位は, ABK 同様, AMK も amino-hydroxy buthyl (AHB) 基の 4''' 位のアミノ基の acetylation であった。また, この ABK 修飾酵素である AAC (4''') は, gentamicin (GM) に対しては 6' 位のみ acetylation を行うことが確認された。酵素学的性質は現在検討中であるが, この AAC (4''') は, 従来より報告されている Bifunctional enzyme APH (2'') + AAC (6') の point mutation によりリン酸化機構が欠損し, アセチル化機構のみ残存した酵素である可能性が示唆された。

067 緑膿菌由来 R plasmid 上に存在する消毒剤耐性遺伝子 *qacE* Δ 1 の解析

風間 仁・濱島 肇

笹津備規・新井武利

昭和薬科大学微生物学研究室

目的: 現在各種医療機関に於いて, 多種類の消毒剤が多量に使用されている。その一方で消毒剤耐性菌の存在が報告され, 消毒剤耐性遺伝子に関する報告も数多く存在するようになった。現在までに, 8 種類の消毒剤耐性遺伝子の存在が報告されている。これらの消毒剤耐性遺伝子は塩基配列が決定されており, その耐性機構の多くは細胞からの薬剤の排出である。現在までに報告されている消毒剤耐性遺伝子の多くはグラム陽性菌由来であり, グラム陰性菌由来の消毒剤耐性遺伝子の報告は少ない。今回我々はグラム陰性菌由来の消毒剤耐性遺伝子である *qacE* Δ 1 の解析を行ったので報告する。

方法: 緑膿菌由来 R plasmid 上のインテグロン由来の消毒剤耐性遺伝子 *qacE* Δ 1 を大腸菌 C 600 株にクローニングし, 各種消毒剤に対する MIC を測定した。63 株の臨床分離緑膿菌株について PCR 法を用いて *qacE* Δ 1 の検出を行った。

結果および考察: MIC 測定の結果, 緑膿菌のプロモーターでは大腸菌内での *qacE* Δ 1 遺伝子の発現は弱く, 大腸菌のプロモーターに変えると強く発現した。検査した臨床分離緑膿菌の約半数から *qacE* Δ 1 遺伝子が検出された。*qacE* Δ 1 遺伝子が緑膿菌に広く分布していることが明らかとなった。

068 Roxythromycin は血中ステロイド濃度を上昇させる

佐藤淳子・堀 誠治・川村将弘

東京慈恵会医科大学薬理学講座第一

目的: 慢性下気道炎症性疾患の症状改善にマクロライド系薬が有効であることは周知の事実である。その作用機序につ

いてはサイトカイン産生など、抗菌力以外のものが考えられているが、詳細については未だ混沌としている。我々は、現在までに erythromycin が視床下部一下垂体系を介して、中枢性に血中ステロイドレベルを上昇させることを明らかとし、この作用が慢性下気道炎症疾患に対する有効性の機序の一つとなっている可能性を示した。この作用が新しいマクロライド系薬においても認められる作用か否かということ是非常に興味の持たれる点である。そこで今回、新しいマクロライド系薬である roxythromycin の血中ステロイドレベルに及ぼす影響について検討した。

材料と方法: Roxythromycin はエーザイ株式会社より供与された。Erythromycin は Nakalai Tesque より購入した。5 週齢の ddY 系雄性マウスに roxythromycin を腹腔内投与し、一定時間経過後、断頭採血し、血清を分離した。ステロイドの定量には硫酸蛍光法を用いた。

結果と考察: Roxythromycin の投与により、投与後 1 時間をピークとする血中ステロイド濃度の上昇が認められた。この血中ステロイド濃度の上昇効果は erythromycin より強く、また投与量依存的であり、dexamethasone の前処置により完全に抑制された。以上の結果により、roxythromycin は中枢性に血中ステロイドレベルを上昇させ、その上昇作用が慢性下気道炎症疾患に対する有効性の機序となっている可能性が示唆された。

069 CFPM (塩酸セフェピム) の口腔組織への移行と臨床分離細菌株への有効性に関する検討

鎌田伸之・真坂こずえ・立川敬子
依田哲也・朝比奈泉・榎本昭二

東京医科歯科大学歯学部口腔外科学第二講座

CFPM の口腔領域の感染症に対する有用性を検討する目的で、組織への薬剤移行性と起炎菌に対する抗菌力の検討を行った。1995 年 10 月から 1996 年 3 月までに 35 名の患者 (男性 19 名、女性 16 名、平均年齢 43.8 歳) に CFPM 1 g を静注後、血清または組織内濃度を測定し、Population Pharmacokinetics Model を用いて解析した。さらに、口腔感染症から得られた臨床分離株 163 株の MIC を求めた。

CFPM の血清中濃度は速やかに最高値 (180.9 $\mu\text{g/ml}$) に達し、8 時間後では 2.19 $\mu\text{g/ml}$ であった。顎骨嚢胞の嚢胞壁組織濃度は短時間で上昇し顎嚢胞では 0.17 時間で最高値 48.6 $\mu\text{g/g}$ 、下顎嚢胞では 0.23 時間で 52.4 $\mu\text{g/g}$ であった。これに対し腺組織への移行は、最高値は顎下腺組織の 0.58 時間で 18.2 $\mu\text{g/g}$ であった。CFPM の MIC の範囲は、口腔レンサ球菌 48 株: 0.06 以下~4 $\mu\text{g/ml}$ 、*S. intermedius* 20 株: 0.13~4 $\mu\text{g/ml}$ 、*Peptostreptococcus* sp.13 株: 0.06 以下~2 $\mu\text{g/ml}$ 、*Bacteroides* 64 株: 0.06 以下~128 $\mu\text{g/ml}$ 以上、*Fusobacterium* 5 株: 0.06 以下~1 $\mu\text{g/ml}$ 、*Veillonella parvula* 10 株: 0.06 以下~4 $\mu\text{g/ml}$ 、*Propionibacterium acnes* 3 株: 0.06~2 $\mu\text{g/ml}$ であった。

CFPM は顎骨嚢胞壁、唾液腺組織への良好な移行と十分な持続時間、また起炎菌に対する MIC から、口腔領域の感染症に臨床上有用であると考えられた。

070 Levofloxacin の膀胱組織内濃度の検討

小野寺昭一¹⁾・大西哲郎¹⁾・岸本幸一¹⁾
清田 浩¹⁾・後藤博一¹⁾・五十嵐宏¹⁾
大石幸彦¹⁾・鈴木博雄²⁾

¹⁾東京慈恵会医科大学泌尿器科

²⁾佼成病院泌尿器科

目的: 尿路感染症における抗菌薬の治療効果の予測のための臓器内濃度測定を試みとして、levofloxacin (LVFX) 投与後の膀胱組織内移行について検討した。

対象と方法: 対象は、膀胱腫瘍を有し経尿道的膀胱腫瘍切除術 (TUR-BT) とともにランダムバイオプシーを施行する予定の腎機能正常者で、組織の採取に同意の得られた 21 例である。薬剤の投与は手術開始予定時間の 2~4 時間前とし、LVFX を 200 mg 単回経口投与した。膀胱組織の採取は、手術開始時と終了時に腫瘍周囲の膀胱組織から採取し、薬剤の濃度を測定した。同時に術前、術後の血清および膀胱尿も採取し、薬剤の濃度を測定した。薬剤の濃度測定は HPLC 法にて行った。

結果: LVFX の膀胱組織内濃度の平均値は手術開始時で 3.45 $\mu\text{g/g}$ 、手術終了時で 3.27 $\mu\text{g/g}$ と高い値を示した。一方、LVFX の血清中濃度の平均値は、手術開始時で 2.08 $\mu\text{g/ml}$ 、手術終了時で 1.96 $\mu\text{g/ml}$ であり、膀胱内組織/血清濃度比はそれぞれ 1.659、1.668 であった。また、LVFX の尿中濃度の平均値は、手術開始時で 160.92 $\mu\text{g/ml}$ 、手術終了時で 63.24 $\mu\text{g/ml}$ であった。

考察: LVFX の膀胱組織内移行は良好で、血清中濃度を超える高い濃度が得られ、その推移は血清中濃度と相関がみられた。また、カテーテル非留置の複雑性膀胱炎症例を対象とした LVFX の細菌学的効果から求めた break point は、3.13 $\mu\text{g/ml}$ 付近にあるものと思われたが、その濃度は LVFX の膀胱組織内濃度に近似していた。以上の結果より、尿路感染症における抗菌薬の投与量を設定し、治療効果を予測するためには抗菌薬の膀胱組織内濃度を知ることが重要と思われた。

071 腎毒性に関する研究: Fosfomycin の腎毒性軽減作用について

川口 広・川村弘志・山地恵美子
平田浩子²⁾・中山一誠¹⁾

¹⁾日本大学医学部第三外科

²⁾日本大学医学部第三外科細菌研究室

アミノ配糖体系抗生物質の腎毒性を軽減する目的で他剤との併用による、腎皮質への影響をラットを用いて検討を行った。

方法は SD 系雄性ラット、体重 200 g を用い Dibekacin (DKB) 20 mg/kg 投与を基本投与量として、DKB 単独群、Fosfomycin 80 mg/kg 併用群、および Glucaron-Na 40 mg/kg 併用群 3 群について行った。各群の個体数は 10 であり、薬剤投与は 24 時間間隔で連続 7 日間、筋注にて行った。併用薬剤は DKB 投与 30 分前に、筋注にて行った。薬剤最終投与後、24 時間後に、ラット腎皮質を細胞分画法にて、上清、核、ミトコンドリア、およびミクロソームに分画し、DKB 濃度を Radioimmunoassay 法にて測定した。

腎皮質における DKB 濃度は、ミトコンドリアでは、DKB 単独群に比較して、併用群は何れも低値を示した。ミクロソーム分画では、Fosfomycin 併用群がもっとも低値であった。上清、核分画では濃度的に有意差は認められなかった。尿生化学的検討の結果に関しては、NAG、 β 2-microglobulin、尿上皮細胞数、および尿蛋白で、併用群はコントロール群と同様な成績を示し、DKB 単独群に比べ、有意差を示した。電子顕微鏡下での組織学的検討では、単独群で認められた近位尿管上皮細胞での中等度の好塩基性変

性や、ミクロイド体の出現は併用群では認められなかった。
Fosfomycin および Glicaron-Na は DKB の腎皮質内への蓄積を阻害することで毒性を軽減する。

072 [¹⁴C] AM-1155 のラットにおける吸収、分布および排泄

小関 望・伊澤 成
小室正勝・大久保秀夫

杏林製薬株式会社中央研究所

目的: AM-1155 は杏林製薬(株)において現在開発中の新規のキノロンカルボン酸系抗菌剤である。本薬物の体内動態を明らかにするため、¹⁴C で標識した AM-1155 ([¹⁴C] AM-1155) をラットに単回あるいは反復経口投与したときの吸収、分布および排泄について検討した。

方法: [¹⁴C] AM-1155 をラットに 10 mg/kg の投与量で単回あるいは 1 日 1 回 14 日間反復経口投与した。投与後、常法に従って血中および組織中放射能濃度、尿糞排泄を測定し、また、胆汁排泄、採取した胆汁の十二指腸内投与による腸肝循環の有無およびループ法による腸管吸収部位についても検討した。

結果: 単回投与したときの血中放射能濃度は、投与後 1 時間以内に最高濃度 1.93 μeq/ml に達した後、2.46 h の半減期で消失した。反復投与期間中の血中放射能濃度は一定の範囲を推移し、初回および最終投与後の薬物速度論的パラメーターには差がなかった。また、消化管における吸収実験では、小腸全域からの速やかな吸収が認められた。

単回経口投与後 1 時間の組織内濃度は膀胱、腎臓、前立腺および肝臓で高かったが、脳および脳脊髄液への移行は低かった。また、投与後 24 時間の各組織中放射能濃度は投与後 1 時間の 1/20 以下に減少した。一方、反復経口投与時の組織内濃度は単回投与時と大差がなかった。

尿糞排泄は単回投与後 24 時間以内に、尿に 4 割、糞には約 5 割の放射能が排泄された。また反復投与期間中の尿糞への排泄率は一定であった。

考察: ラットに [¹⁴C] AM-1155 を経口投与すると、消化管から速やかに吸収され、組織へも良好に移行することが明らかになった。また、反復投与したときの臓器・組織への蓄積・残留性はなく、速やかな排泄が示された。これらの結果は、臨床での有効性と安全性を裏付けるものと考えられる。

073 [¹⁴C] AM-1155 のラット、ウサギおよびイヌにおける代謝物の単離、同定および定量

大家 毅・小室正勝・大久保秀夫
杏林製薬株式会社中央研究所

目的: AM-1155 は杏林製薬(株)で合成された新規のキノロンカルボン酸系抗菌剤である。臨床第一相試験の成績¹⁾ から、ヒトにおいて本薬は投与量の約 9 割が未変化体として尿および糞中に排泄されることが明らかとなっている。本研究では各種実験動物での本薬の代謝物を同定し、その存在様式の種差を明らかにすることを目的とした。

方法: [¹⁴C] AM-1155 をラットに経口投与し、その尿および胆汁中の代謝物の化学構造を推定した。別に Wistar 系雄性ラット、NZW 系雄性ウサギおよび雄性ビーグル犬にそれぞれ [¹⁴C] AM-1155 を経口投与し、尿および糞中への代謝物の排泄割合を測定した。

結果: ラット胆汁および尿より、未変化体 (AM-1155)、

AM-1155 のエステル型グルクロン酸抱合体、ピペラジン環の開環した代謝物であるエチレンジアミン体 (EDA 体)、プロバンジアミン体 (PDA 体)、アミノ体 (NH₂ 体) がそれぞれ同定された。検討した 3 種の動物において尿中の放射能は主として未変化体として存在し、その他に未変化体の抱合体、EDA 体、PDA 体および NH₂ 体が微量認められた。動物種間でその存在割合に大きな差は見られなかった。経口投与後 24 時間までに尿および糞中へ排泄された放射能の中で未変化体の占める割合は、ラットで 80 %、ウサギで 90 %、イヌで 87 %であった。

考察: 本薬の臨床第一相試験の結果¹⁾、ヒトではその尿中に代謝物の EDA 体および PDA 体がそれぞれ投与量の約 0.03 % 程度認められ、その他の代謝物の存在は確認されていない。今回得られた結果は、本薬が動物種を越えて代謝を受けにくく、そのほとんどが未変化体のまま生体内で挙動することを示すものである。これらの結果は本薬の持つ強い抗菌力とあわせて、化学療法剤としての有用性を示唆するものである。

文 献

- 1) Nakashima M et al., *Anitmicrob. Agents Chemother.* 39, 2635-2640, 1995

074 アレルギー患者尿由来の peptides (MS Antigen) 投与による薬疹の根治療法

三邊武右エ門
関東通信病院耳鼻科
添田百枝
生物学治療研究所
三邊武幸
荏原病院耳鼻科

目的: 薬疹の発生頻度は年代とともに変遷し、樋口らは 1952~1957 年代はペニシリンアレルギー時代、1961 年以降は多種薬剤時代 (ピラゾロン系薬剤、抗生剤、化学療法剤、向精神剤、ホルモン剤) と名付けている。

一般に薬疹は内服による発疹とされているが、薬剤の接触によるものは、さらに高頻度と報告されている。

薬疹はアレルギーとの関係が深く、各種の治療法があるが、決め手となる治療法はみられない。我々が研究開発した peptides [MS-Antigen (MS-A と略す)] の皮下投与による薬疹の根治療法について述べる。

方法: MS-A 40 mg を生食水 2 ml に溶解し、皮下注射のみで治療経過を観察した。2~3 日に 1 回、重症例では連日投与した。まず痒みが消退し、次いで薬疹が消退治癒するのが観察された。

成績: 症例 1 19 歳男クロマイ薬疹 急性扁桃炎

クロマイ 0.5 g 内服後、全身に発疹が発生し、内服や注射などの治療をうけたが改善せず、痒みのため眠れず苦悩した。薬疹発生 7 日後に受診し、MS-A 40 mg 投与後夜はよく眠れ、さらに 1 回の投与で薬疹は消退治癒した。

症例 2 K. B. 55 歳 薬剤師 接触性皮膚炎 (薬疹)

老年の薬局勤務で、2~3 年来 1 年に 3~4 回全身に発疹が発生し、痒みが強く苦悩した。その後 2 月上旬薬疹が胸腹部に発生し、2 月上旬受診した。2 月 17 日から MS-A 7 回の投与で薬疹は消退治癒し、その後今日まで再発をみない。

症例 3 O. T. 看護婦 多発性滲出性紅斑 (薬疹)

これまで 7~8 年薬局業務に従事してきた。7 月中旬両手の指や手背に紅斑が発生し強い痒みを訴え受診した。MS-A

8回の投与で薬疹は消退治療し、元の職場に復しても再発はみられなかった。

考察: これらの第2, 第3症例に対する本剤の治療の特徴はまず痒みが消退し、ついで薬疹が治癒し、元の職場に復帰後も再発がなく根治したことである。薬疹症例37例のうち、抗生物質によるもの27例、薬剤の接触によるもの8例、アセトアミノフェンの内服1例、風邪薬によるもの1例では、いずれも良好な成績を収めた。

MS-Aは薬疹の根治療法ならびにアレルギー体質の改善などに適用されることが考えられる。

075 AM-1155のメラニン親和性と有色ウサギにおける眼内動態

伊澤成・堀 弥・小関 望
小室正勝・大久保秀夫

杏林製薬株式会社中央研究所

目的: AM-1155は杏林製薬(株)で合成された新規のキノロンカルボン酸系抗菌剤である。近年、キノロンカルボン酸系抗菌剤がメラニンに対し親和性を示すことが報告されている。今回、AM-1155のメラニン親和性を *in vitro* で検討するとともに、メラニン含有眼組織中のAM-1155の濃度定量法を確立し、有色ウサギにおける眼内動態を明らかにすることを目的とした。

方法: *In vitro*: AM-1155および各種キノロンカルボン酸系抗菌剤を牛眼由来の酸不溶性メラニンとともに25℃で24時間インキュベートし、各薬剤のメラニンに対する結合率を算出した。

In vivo: [¹⁴C] AM-1155を静脈内投与した有色ウサギの眼球を用いて、メラニン含有眼組織からのAM-1155の抽出条件を検討した後、HPLCによる眼組織内AM-1155の定量法を確立した。次に、このHPLC定量法を用いて、有色ウサギに非標識のAM-1155 30 mg/kgを1日1回、2週間反復経口投与したときの眼組織内濃度を測定した。

結果: 1. AM-1155のメラニンに対する結合率は同濃度の他のキノロンカルボン酸系抗菌剤と同様の値であった。

2. HPLCにより確立した眼組織内AM-1155の定量法の検出限界は0.05 μg/mlであり、0.05~10 μg/mlの範囲で良好な直線性が認められた。さらに、本定量法で測定した組織内濃度と放射能濃度は良く一致した。

3. AM-1155は虹彩・毛様体および網膜色素上皮・脈絡膜に最高200 μg/gを超える濃度で分布し、その消失半減期はそれぞれ12.1および10.7日であった。

結論: AM-1155は他のキノロンカルボン酸系抗菌剤と同様にメラニン親和性を有し、メラニン含有組織に高濃度で分布することが示された。また、その結合は多剤同様に可逆的であると考えられた。

076 新キノロン系抗菌薬AM-1155および類薬の光分解とモルモットにおける光毒性

草嶋久生・石田了三

杏林製薬株式会社研究センター

目的: 新キノロン系抗菌薬であるAM-1155および7種類の誘導体について、水溶液中における光分解を検討し、さらにAM-1155を含む5種類の同系薬について、モルモットにおける光毒性誘発能を評価した。

材料および方法: 1. AM-1155およびその3種の誘導体、並びにSPFX, LFLX, ENX, OFLXを含む薬液に紫外線

(UVA 500 μW/cm²)を照射し、経時的にHPLCにより残存率を測定した。2. モルモットにおいて、AM-1155, SPFX, LFLX, ENXおよびOFLXをそれぞれ経口投与後、0.5時間より3.5時間まで、除毛した背部皮膚に紫外線(UVA 400 μW/cm²)を照射し、その終了直後に皮膚上の紅斑の程度を肉眼的に観察した。また、試験期間中の血清中濃度をHPLCにより測定した。

結果および考察: 1. キノリン骨格8位にハロゲン原子を有する誘導体では、分解が速やかであった。一方、メトキシ基を有するAM-1155は3時間まで安定であった。一次速度式に基づく解析により算出した、SPFX, LFLX, ENXおよびOFLXの分解の半減期は、それぞれ1,010, 4.4, 45.6および85.3分であった。2. SPFX, LFLX, ENXおよびOFLX経口投与後のモルモットにおいて、いずれも光毒性の発現が観察され、無毒性量はそれぞれ1, 2.5, 10および10 mg/kgであった。いずれの薬物でも血清中濃度は投与量の増加と共に上昇した。SPFX, LFLX, ENXおよびOFLXの無毒性量におけるピーク血清中濃度(C_{max})は、それぞれ0.28, 0.32, 0.99および4.02 μg/mlであった。AM-1155の経口投与では、検討した最高の投与量である500 mg/kgにおいて86.6 μg/mlのC_{max}を示し、この時、光毒性の発現は認められないことから、無毒性量は500 mg/kg以上と考えられた。

結論: AM-1155は同系薬の中でも光安定性に優れ、光毒性を誘発しにくい薬物であると推察された。

077 市中の気道系感染症に対するCefetamet-pivoxilの臨床的、細菌学的効果 第2報

石原理加・鈴木由美子・石井由紀子
中澤ありさ・出口浩一

東京総合臨床検査センター研究部
嶋田甚五郎

聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター

目的: Cefetamet-pivoxil (CEMT-PI)の市中気道系感染症に対する臨床的、細菌学的効果を検討した。

方法: 東京都、神奈川県、埼玉県、千葉県内の41施設において、同一プロトコールにて431症例にCEMT-PIが投与された。一括測定で有意細菌が検出されたのは274症例(63.6%)であるが、種々の除外理由により、臨床効果解析対象は314症例、有意細菌分離解析対象は204症例であった。症例の内訳は98.1%が外来患者であり、女性が52.6%とやや多く、疾患名は咽喉頭炎53.5% 扁桃炎20.4%、急性気管支炎19.1%などであった。

結果: 疾患別臨床効果は咽喉頭炎、扁桃炎、気道気管支炎は共に85.0%以上の改善率だったが、他は症例数が少ないものの、慢性気管支炎の急性増悪66.7%、肺炎50.0%、気管支拡張症の感染時16.7%の改善率であり、1錠×2回、2錠×2回の臨床効果には差が認められなかった。

推定起炎菌別臨床効果は、CEMT適応菌種の改善率84.4%、CEMT適応外菌種69.2%であったが、*Haemophilus influenzae* 検出症例の改善率が77.6%と平均よりも低い結果であった。疾患別の推定起炎菌は扁桃炎は*Streptococcus pyogenes*、急性気管支炎と慢性呼吸器疾患の二次感染は*Streptococcus pneumoniae*、咽喉頭炎は*H. influenzae*が共に高い割合であった。除外症例からの検出菌を含めた主な菌種に対するCEMTのMIC₉₀は*S. pyogenes* 0.2 μg/ml、*S. pneumoniae* 25 μg/ml、*H. influenzae* 0.1 μg/mlであり、*S. pneumoniae*のPC低感受性または耐性株の割合は21.3%

H. influenzae の β -ラクタマーゼ産生株の割合は 30.7 % であった。

考察: 第 1 報の推定起炎菌検出率を比較すると¹⁾, *H. influenzae* と *Moraxella* subgenus *Branhamella catarrhalis* はほぼ同等, *S. pyogenes* と *Klebsiella pneumoniae* は今回の方が高く, *S. pneumoniae* はやや低下していたが, PC 低感受性株または耐性 *S. pneumoniae* の検出率は増加していた。

推定起炎菌別の臨床効果は, 背景因子も含め詳細を検討中である。

文 献

嶋田甚五郎, 出口浩一, 他: 市中の気道系感染症に対する Cefetamet-pivoxil の臨床的, 細菌学的効果. *Jap. J. Antibiotics* 48: 949~959, 1995

079 呼吸器感染症分離菌に対する各種抗菌薬の抗菌力

池本秀雄

RTI 分離菌調査研究会 共同研究世話人
順天堂大学

1981 年以来, 全国 33 施設が共同して下気道感染症 (RTI) の起炎菌と思しい細菌 (結核菌を除く) を分離, 収集し, これらの検出頻度, 患者背景, 抗菌薬感受性等の推移を調査してきた。

95 年度の症例は 459 例, 分離菌株は 567 株で, G (+) 菌対 G (-) 菌は約 1 対 2。13 年間の総症例数は 6,374 例, 年齢層別では 60 歳代が最多で 30 %, 年齢層別での RTI の病型分類では肺炎は 19 歳以下 (61 %), 80 歳以上 (35 %) が共に多く, 慢性気管支炎は加齢と共に比率が増し, 70 歳代が最多で 31 %, 気管支拡張症は 40 歳代が最多で 23 %。

検出起炎菌 (抗菌薬投与前) の年次推移をみると肺炎では肺炎球菌 (20~30 %), インフルエンザ菌 (20 %) が多く, 慢性気管支炎でも両菌が各々 25 % と多く, *B. catarrhalis* がこれらに次ぎ, 気管支拡張ではインフルエンザ菌と緑膿菌が多かった。95 年度も略同じ傾向。入院・外来別では MRSA は入院患者, インフルエンザ菌, 肺炎球菌は外来患者にそれぞれ多いが, 緑膿菌は略同率。Compromised 有りでは MRSA。無しではインフルエンザ菌がそれぞれ多かった。

PCG 耐性肺炎球菌株は年々増加し, 95 年度は I+R が 40 % に達した。RTI 病型別では少差。EM 耐性肺炎球菌株も 87 度以降漸増し, 95 年度は I+R が 52 % に上昇した。MRSA の黄色ブドウ菌に占める比率は 92 年度をピークにやや減少気味で, 95 年度は 53 % であり, MIC₉₀ は VCM, ABK は共に 1 μ g/ml。緑膿菌は PIPC, CAZ, CFZ, CZOP, IMP, AMK, CRMN, OFLX の何れにも比較的良好な感受性を示し, また 89 年度と 95 年度で大差はない。インフルエンザ菌の ABPC 感受性は 89 年度と 95 年度とでは殆ど変りがなく I+R は各々 20, 18 %。

080 呼吸器感染症におけるシプロフロキサシン細粒剤の臨床的検討

小田切繁樹¹⁾・鈴木周雄¹⁾・綿貫祐司¹⁾
高橋 宏¹⁾・高橋健一¹⁾・小倉高志¹⁾
吉池保博¹⁾・平居義裕¹⁾・石丸百合子¹⁾
鵜澤 毅²⁾・木野博至²⁾・佐野靖之³⁾
荒井康男³⁾・北條貴子³⁾・中森祥隆⁴⁾

清田 康⁴⁾・堀内 正⁶⁾・鈴木 勝⁶⁾
折津 愈⁶⁾・杉浦宏時⁷⁾・酒寄 享⁷⁾
内田 聡⁷⁾・林 泉⁸⁾・稲松孝思⁹⁾
増田義重⁹⁾・大久保隆男¹⁰⁾・池田大忠¹⁰⁾
西川正憲¹⁰⁾・谷 賢治¹¹⁾・中村俊夫¹²⁾

¹⁾神奈川県立循環器呼吸器病センター呼吸器科

²⁾三井記念病院呼吸器センター内科

³⁾同愛記念病院アレルギー呼吸器科

⁴⁾三宿病院呼吸器科

⁵⁾関東中央病院呼吸器科

⁶⁾日本赤十字社医療センター第一呼吸器科

⁷⁾久我山病院内科

⁸⁾癌研究会附属病院内科

⁹⁾東京都老人医療センター感染症科

¹⁰⁾横浜市立大学医学部附属病院第一内科

¹¹⁾横浜市立大学医学部附属浦舟病院第一内科

¹²⁾聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院呼吸器内科

目的: 呼吸器感染症に対する Ciprofloxacin (CPFX) 細粒剤の有用性を検討すること。

方法: 呼吸器感染症のうち急性咽・喉頭炎, 急性扁桃炎 (以上 I 群) と慢性気管支炎, 気管支拡張症 (感染時) (以上 II 群) を対象とし, CPFX 細粒剤を CPFX として 1 回 200 mg・1 日 3 回を食後経口投与した。投与期間は原則として, I 群では 7 日間以内, II 群では 14 日間以内とした。

結果: 総投与症例は 41 例で, 群別では I 群 14 例, II 群 27 例であった。臨床効果 (有効率) は, I 群 100 % (13/13 例), II 群 83.3 % (20/24 例), 全体では 89.2 % (33/37 例) であり, 細菌学的効果 (菌消失率) は, 全体で 73.1 % (19/26 株) であった。副作用は 4 例 (9.8 %) に 6 件の消化器症状が, 臨床検査値異常は 2 例 (5.4 %) に GPT 上昇がみられた。概括安全度での安全率は 86.8 % (33/38 例) で, 有用率は 81.1 % (30/37 例) であった。

結論: CPFX 細粒剤は呼吸器感染症に対して良好な有効性および安全性を有することが確認された。

081 慢性気道感染症の感染増悪に対する抗菌薬治療効果に及ぼす気道の器質的変化の影響

綿貫祐司・鈴木周雄

小倉高志・小田切繁樹

神奈川県立循環器呼吸器病センター呼吸器科

慢性気道感染は, 気道の解剖学的変化を基盤として感染が持続的に反復して器質的変化が進展するために, 十分な抗菌薬治療効果が得られ難い。従って, 本感染症の重症度判定には, 感染自体の重症度と共に気道既存構造の器質的変化の程度を考慮する必要がある。

最近 3 年間 (93.7~96.6) に本感染症の感染増悪で, 当科を受診した 92 例 (気管支拡張症 28 例, 慢性気管支炎 24 例, DPB 11 例, 肺気腫 9 例, 肺結核 V 型 16 例, 気管支喘息 3 例, 肺線維症 1 例) を対象とした。治療効果は起炎菌に大きく影響されるため, 起炎菌別に, 緑膿菌以外の症例群 (A 群: 42 例), 緑膿菌の症例群 (B 群: 27 例), 不明の症例群 (C 群: 23 例) に分け, 治療効果と感染増悪前の肺機能・胸部 X 線像との関係を検討した。感染症の重症度は, 体温・喀痰 (性状と量)・白血球数・CRP の各項を点数化し, その合計点数を感染重症度のスコアとした。治療効果は治療開始時と 7 日後における感染重症度スコアの改善率で評価した。

感染重症度スコアは, A 群では治療開始時の 7.4 が 7 日

後は2.0とスコア改善率は72%,同様にC群は68%の改善率であったが、B群は6.4が3.2と改善率は48%にとどまった。感染重症度スコアの改善率を指標とした化療効果と肺機能・X線像との関係は、A群では感染重症度スコアの改善率と1秒量/予測肺活量・肺活量・X線像との間に有意の相関が認められたが、B・C群では認められなかった。相関が認められたA群における疾患別の化療効果と肺機能・X線像との関係は、慢性気管支炎・肺結核V型では化療効果と肺機能との相関が認められ、気管支拡張症ではX線像における病変の拡がりと、慢性気管支炎では病変の程度との関係が認められた。

086 当院における血中分離菌の検討

桜井 磐¹⁾・石田裕一郎¹⁾・島田敏樹¹⁾
 宇都宮正範¹⁾・大坪寛子¹⁾・井上眞夫¹⁾
 松本文夫¹⁾・岡部紀正²⁾・豊田 茂³⁾
 高橋孝行⁴⁾・辻原佳人⁴⁾

神奈川県衛生看護専門学校附属病院 ¹⁾内科, ²⁾外科,
³⁾小児科, ⁴⁾検査科

目的: 近年, immunocompromised host の増加に伴い, 感染症の変貌特に原因菌の変遷には著しいものがある。我々は1982年7月より1996年6月までの14年間の期間を前半の8年間を4年ごとI期, II期, 後半の6年間を2年ごとIII期, IV期, V期に分け, 血液培養陽性例の原因菌の分離状況, 患者背景因子および予後について検討した。

対象および方法: 対象は敗血症症状を呈したため血液培養を施行した入院, 外来患者2,355例のうち血液培養陽性の368例である。血液培養は培養ボトル (brain heart infusion broth), (thioglycollate broth), (columbia broth) 増菌培地 (BBL) など3種を使用した。

結果および考察: 分離菌種は1982年7月から1994年6月までの12年間は, グラム陽性球菌が67%を占めたが, 最近の2年間は43%に低下した。一方グラム陰性菌は1992年6月までは20%以下であったが, 1992年7月から1994年6月までの2年間は44%, 最近の2年間は52%を占めていた。患者背景因子別では, 最近4年間では男女とも60歳以上が70~80%を占めた。最近の2年間では致命的基礎疾患を有する症例の分離頻度はグラム陽性球菌が75%であったのに対して, 非致命的基礎疾患を有する症例ではグラム陰性菌が73%であった。侵入門戸別では, 最近2年間では尿路および呼吸器が, それぞれ38%, 25%と比較的高割合であった。最近の2年間の死亡率は28%と比較的高率であったが, その要因としてグラム陰性菌を原因としたものの, 高齢者の占める割合が高かったためと考えられる。以上, 当院では最近の4年間, 尿路感染症由来を中心にグラム陰性菌による敗血症が増加傾向にあり, このことを配慮した適切な化学療法が肝要と思われる。

094 *Enterococcus faecium* による尿路感染症

鈴木恵三・比嘉 功・田中利幸
 平塚市民病院泌尿器科
 名出頼男・星長清隆・堀場優樹
 石川清仁・安藤慎一
 藤田保健衛生大学泌尿器科

目的: *E. faecium* はUTIの起炎菌として検出されることは稀である。本菌種はほとんどの例で複数菌か, 一時的な菌交代として認められる。継続的に単独で起炎菌として検出さ

れることは稀である。*E. faecium* に対して, 有効とされる抗菌剤はVCMを除けばほとんどなく, 重症な症例では治療が難しい。ここでは*E. faecium* による単独菌による感染が1年以上続いた症例と最近報告された文献について報告する。

対象と方法: 1992年~1996年までの間に報告された複雑性UTIの症例137例のうち,*E. faecium* によるものは7例 (単独菌5例, 複数菌2例) で, 5.1%であった。除菌効果は7例全てが, 無効であった。*In vitro* の抗菌活性を10株について測定した。被検剤はABPC, SBT-ABPC, IMP, MEPM, NFLX, SPFX, VCMである。

成績: このうちMIC₅₀, MIC₉₀ がもっとも低かったものはVCMで, それぞれ0.78, 3.13 μg/mlであった。その他の薬剤のMIC₅₀ は全て≥25 μg/mlであった。症例は66歳 (初診時) の女性である。1985年に頻尿, 排尿痛を訴え当科を受診した。尿所見はWBC#, 培養では*E. faecalis* 10⁷/mlが検出された。残尿は150~200 mlを認めた。その後1993年までの約8年間の経過を観察した。*E. faecium* が単独で10⁶~10⁷/ml 検出されたのは初診時から約6年を経た時からで, その後約1年間ほぼ継続的に検出された。膿尿は (+) ~ (++) が持続したが症状はほとんど訴えなかった。経口セフェム剤, ニューキノロン剤を一時的に投与したが全て効果をみなかった。この間残尿は初診時よりも増して, 200~250 ml 程度に達していた。副交感神経亢進剤の長期投与と自己導尿の徹底指導で, その後1年間には尿所見は, 細菌, 膿尿共に陰性化した。

考察: *E. faecium* は尿路における定着性が低く, 病原性が弱い。尿 dynamics の低下例で, 持続的にUTIの起炎菌となる。

095 尿路感染症分離菌の薬剤感受性

辻原佳人¹⁾・高橋孝行¹⁾・桜井 磐²⁾
 松本文夫²⁾・近藤 泉³⁾

神奈川県衛生看護専門学校附属病院 ¹⁾検査科, ²⁾内科,
³⁾泌尿器科

目的: 腸球菌は腸内の正常細菌叢に属する細菌で一般に病原性は弱いとされており, 特に尿路感染症は臨床的に問題とされることは少なかった。しかし, アミノ配糖体系薬や第2・3世代セフェム薬の常用に伴い分離頻度の増加が認められている。さらに最近では院内感染の原因菌として特にcompromised host における重症感染症の起炎菌として注目されている。今回われわれは*E. faecalis* の薬剤感受性について検討したので報告する。

対象および方法: 1995年4月から1996年3月までの1年間に当院の外来および入院患者で臨床症状を有し, 菌数定量が≥5×10⁴ CFU/ml, 尿沈査白血球数≥5~10個/hpfの臨床材料から分離された*E. faecalis* 47件を対象菌株とした。薬剤感受性測定は日本化学療法学会標準法に準じて行った。検討薬剤はABPC, CEZ, CTM, CZX, IPM, GM, EM, MINO, VCM, OFLX計10薬剤で行った。

結果および考察: 尿路感染症から分離された*E. faecalis* は324例中47例 (14.5%) であった。*E. faecalis* は複数菌感染症例が多く, 同時分離菌は*E. coli* が26例中11例 (42.1%) でもっとも多かった。*E. faecalis* 47株についての各種抗菌剤の薬剤感受性はABPCがもっとも優れた抗菌力を示し, 約80%の菌株が1.0 μg/ml以下で発育を阻止された。次いでIPM, MINOの順であった。また, VCMに耐性株は見られなかった。

以上 *E. faecalis* は尿路感染症として膿尿、菌量を考慮し、起炎菌と判定された場合には積極的に抗菌力スペクトラムを有する抗菌薬を用いて治療することが必要であると考えられた。

096 α -hemolytic streptococcus の尿路病原性に関する考察

阿部貴之・田中元章・原島康壽
木下英親・河村信夫

東海大学医学部泌尿器科

目的: α 型溶血を示す streptococcus 属は尿路に病原性がないとされているが、最近、 10^4 コ/ml 以上の菌数で尿から検出される例が多くなってきた。そこで UTI としての意義があるのか検討した。

方法: 1994 年度中に当院泌尿器科を受診し、尿中に 10^4 コ/ml 以上の α -hemolytic streptococcus が検出された 235 例について検討した。

結果: α -hemolytic streptococcus が検出されるのは複数菌感染のことが多く、背景因子として複雑性尿路感染症の多い 50 歳以上の患者に多くみられた。明かな病原性を示さない場合もあったが、単独菌感染で尿路炎症所見を示した例や、同一症例において常に本菌が 10^4 コ/ml 以上検出され、炎症所見が持続した例もあった。

考察: 最近、 α -hemolytic streptococcus の検出頻度が増加傾向にある。一般に本菌はニューキノロン、フォスホマイシンに感受性がないので、近年の UTI に対するニューキノロン剤の頻用が複数菌感染の中の残存菌、もしくは交代菌として増加してきたと推測される。初感染細菌として認められることもあった。治療はペニシリン系、セフェム系の薬剤で行うのが適当であろうが、実際には感受性が低いはずのニューキノロンで消失した例もあり、また α -hemolytic streptococcus の感染により重篤となった症例もないので、現時点で、本菌感染への対処は容易であると思われる。

100 小児 *Helicobacter pylori* 感染における消化管粘膜の免疫組織学的検討

高橋孝行¹⁾・辻原佳人¹⁾・豊田 茂²⁾
岡部紀正³⁾・桜井 磐⁴⁾・松本文夫⁴⁾

神奈川県衛生看護専門学校付属病院 ¹⁾検査科、

²⁾小児科、³⁾外科、⁴⁾内科

目的: *Helicobacter pylori* (HP) 感染による粘膜障害には、局所免疫反応の関与が考えられている。今回、HP 感染より胃・十二指腸粘膜に Lymphoid hyperplasia を認めた 3 例の小児について、免疫組織学的検討を行ったので報告した。

対象および方法: 対象は 9 歳 (女児)、10 歳 (女児) および 4 歳 (男児) である。いずれの症例も十二指腸に polypoid 病変を認め、胃前庭部 HP 検索 (塗抹、ウレアゼテスト、培養)、血清 HP 抗体検査を行い、HP 陽性所見が得られた。この 3 症例について胃および十二指腸粘膜組織の免疫染色を行い、免疫グロブリン陽性細胞を定量的に評価した。また、これら HP 陰性の消化管粘膜と比較した。

結果および考察:

1) HP 陽性例の胃および十二指腸粘膜では、IgG、IgA 陽性細胞が多く IgM 陽性細胞は少なかった。

2) 胃粘膜では HP 陰性例に比べ、HP 陽性例の方が、IgG、IgA 陽性細胞ともに増加していた。

3) HP 陽性例において認められた胃および十二指腸粘膜

のリンパ濾胞内では、胃に比べ十二指腸の方が IgG、IgA 陽性細胞が多い傾向にあった。

4) HP 陽性例の十二指腸粘膜においては、HP 陰性の十二指腸潰瘍と比べ粘膜固有層内の IgG、IgA 陽性細胞ともに増加していた。

以上、HP 感染を伴う胃および十二指腸粘膜では、少なくとも IgG、IgA を主体とする局所免疫反応が旺盛であることが示唆された。消化管の粘膜防御としては、IgG、IgM 陽性細胞を中心とした first defence と抗原が粘膜に侵入した場合に IgG 陽性細胞が second defence として働くことが知られている。今回の結果は、HP 感染に際し、各種免疫グロブリン細胞がその役割を果たしていることを示唆する所見と考えられた。

101 *Helicobacter pylori* に対する MIC 測定ディスク (Etest) の検討

日吉末広・星野和夫
岩井有紀・由川英二

(株)ビー・エム・エル・細菌学部

目的: 近年、消化性潰瘍と *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) の関連が問題視されており、その除菌治療として数種類の薬剤の組み合わせが試みられている。しかし、再発率・副作用の問題から薬剤選択のための感受性試験が必須である。現在、感受性試験として Disk 法および MIC 値測定が広く行われているが、前者は実際の阻止濃度が特定出来ず、後者は測定に多くの時間と労力を要する。そこで、簡便な MIC 値測定ディスク E test (AB BIODISK 社製) を用いて *H. pylori* の薬剤感受性を検討した。

方法: Amoxicillin (AMPC)、Clarithromycin (CAM)、Metronidazole (MNZ)、Tetracycline (TC) の 4 薬剤を使用し *H. pylori* 標準菌株 4 株を用いて、日内 (N 5)・日差 (5 日間) 再現性、使用培地 (10% 馬血液ミラーヒントン (DIFCO)、10% 馬血液プルセラ (BBL)、10% 馬血液 BHI (BBL))、判定時間 (4 日間) の比較、標準菌株 4 株および臨床分離株 23 株を用いて寒天平板希釈法と E test の比較を行った。寒天平板希釈法は Brucella Agar 10% 馬血液寒天培地 (BBL 社製) を使用し日本化学療法学会標準法に準じて試験した。E test は Mactarland 0.5 の菌液を綿棒で培地に塗末した後ストリップを置いて試験した。判定は両方法ともに 35℃、CO₂ 10% で 72 時間培養した。

結果: 日内・日差再現性は両結果とも 1 管差以内で良好であった。使用培地は 10% 馬血液プルセラ (BBL)、10% 馬血液 BHI (BBL) ともに、判定時間は 3~5 日が良好であった。E test と寒天平板希釈法の 2 管差までを含めた MIC 値一致率は 90.8% であった。一致しない株はその薬剤に対する耐性株で、E test は耐性域で寒天平板希釈法と比較した際、耐性側に MIC 値がずれる傾向であった。

考察: 今回検討した E test は *H. pylori* のような栄養要求性の高い菌種に対して簡便に MIC 値の測定が可能で、ルーチン検査への導入が期待できる。

102 *Helicobacter pylori* に対する薬剤感受性と併用効果の検討

星野和夫・日吉末広
岩井有紀・由川英二

(株)ビー・エム・エル

目的: 近年、消化性潰瘍と *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)

の関連が次第に明らかとなり様々な薬剤を組み合わせた除菌が試みられている。しかし、再発率・副作用の問題から薬剤選択のための感受性試験 (MIC 値) および併用効果 (FIC 値) が重要視されている。今回我々は胃生検より分離された *H. pylori* の MIC 値および FIC 値測定を行い、本菌の感受性成績および併用効果について報告する。

方法: MIC 値測定は Amoxicillin (AMPC), Clarithromycin (CAM), Metronidazole (MNZ), Tinidazole (TNZ) の 4 薬剤を使用し、寒天平板希釈法で Brucella Agar 10% 馬血液寒天培地 (BBL 社製) を使用し日本化学療法学会標準法に準じて試験した。FIC 値測定は AMPC×MNZ, AMPC×CAM, CAM×MNZ の組み合わせについて MIC 値測定と同様の方法で試験した。判定は両方法ともに 35℃, CO₂ 10% で 72 時間培養した。

まとめ:

I AMPC では、0.5 μg/ml 以上の耐性株は認められなかった。

II CAM では、約 5.3% の 0.5 μg/ml 以上の耐性株が認められた。

III MNZ, TNZ では、AMPC および CAM に比較して 5~7 段階劣る成績であった。

IV 23 株、3 種類の組合せでの併用効果は、相乗 = 19, 相加 = 3, 拮抗 = 5, nc = 42 であった。

103 水酸化アルミニウム、水酸化マグネシウム配合剤の *Helicobacter pylori* に対する作用

—抗菌薬との *in vitro* 併用効果—

長谷川美幸¹⁾・戸田陽代¹⁾・原田由紀子¹⁾
小林寅詰¹⁾・田中照二²⁾・成宮徳親²⁾
藤岡利生³⁾・那須 勝³⁾

¹⁾三菱化学ピーシーエル・化学療法研究室

²⁾慈恵医科大学第三病院・内科学第一

³⁾大分医科大学第二内科

目的: マーロックス懸濁内服用 (以下 MLX-G) は胃炎・消化性潰瘍の治療薬として広く用いられている。本薬の主な作用は制酸作用および胃粘膜保護作用である。今回は酸性領域における臨床分離 *H. pylori* に対する抗菌薬と MLX-G の併用効果を *in vitro* で検討を行った。

材料と方法: 試験菌株として胃、十二指腸潰瘍患者胃粘膜より分離した *H. pylori* 9 株および標準株として ATCC 43504 株 1 株、計 10 株を用いた。10% 馬血清加 Mueller Hinton base の半流動培地 (pH 6.0) に各試験菌を約 10⁶⁻⁷ CFU/ml に接種し、clarithromycin (CAM), amoxicillin (AMPC) および tetracycline (TC) を 32 μg/ml から 0.03 μg/ml の 4 倍希釈系列となるように加え、各々の薬剤濃度に MLX-G を 6,400, 1,600, 400, 100, 25 μg/ml となるように調製した。35℃, 好気条件で 72 時間培養後の生菌数を測定し、接種菌量の 10 倍を超えない濃度を MIC, 検出限界以下を MBC とした。

結果と考察: MLX-G を 400 μg/ml 添加することによって *H. pylori* に対する CAM の MIC は低くなる傾向が認められた。しかし TC においては逆に MLX-G の添加によりほとんどの試験菌に対し、MIC は高値化した。MBC においては CAM および AMPC とともに MLX-G の添加によって低くなる傾向が認められた。また TC の MBC は MIC 同様負の影響が認められた。MLX-G と CAM の相乗効果は特に CAM 耐性株に対して顕著であった。今回の実験で認められた

CAM との相乗作用は MLX-G 添加による pH の上昇が主な要因と考えられた。しかし AMPC との相乗殺菌作用については他の要因が関与していることが示唆された。臨床的に汎用されている MLX-G の *H. pylori* に対するこれらの作用は非常に興味深い。

104 *Helicobacter pylori* の coccoid form に対する胃炎・胃潰瘍治療薬エカベトナトリウムの作用

芝田和夫・松下忠弘

田辺製薬㈱医薬開発研究所

目的: *H. pylori* の感染経路は糞便一口または口一口である。*H. pylori* は胃から腸管を経て糞便中に排泄される際、培養法では検出不可能な coccoid form (CF) として存在し、再び胃内に侵入して桿菌形に戻り初発および再感染が惹起されると考えられている。また、CF は AMPC で誘導されることが報告されている。そこで、実験的に CF を誘導し、これに対するエカベトナトリウム (エカベト) の作用を電子顕微鏡を用いて形態学的に検討した。

方法: CF の誘導は、5% FBS を添加した brucella broth で好気培養した *H. pylori* NCTC 11637 を新鮮な同 broth 中に再懸濁した後、37℃ にて 4 日間嫌気培養することにより行った。CF に対するエカベトの作用は、尿素を添加した pH 3 クエン酸緩衝液および尿素非添加 pH 7 リン酸緩衝液中で、37℃ にてエカベトをそれぞれ 30 分および 60 分間作用させた時の形態を走査および透過型電子顕微鏡を用いて観察した。なお、CF の誘導条件は山口大・医・中沢教授よりご教示頂いた。

結果: 嫌気培養により、細胞質の密度がほぼ均一な CF が誘導された。酸性緩衝液 (pH 3) 中において、エカベトの作用を受けた CF の表面には微細な不定形物の付着および細胞質には境界が不明瞭な空隙が観察され、エカベトによる変性作用が認められた。しかし、pH 7 緩衝液中では変性作用は認められなかった。

考察: 嫌気培養による CF 誘導法は、既報の好気的に 1 週間以上も長期培養する方法と比較し、*H. pylori* の排泄経路を考慮すると、より臨床を反映した誘導法と考えている。エカベトの CF の細胞質変性作用は、正常菌体の場合 (第 41 回東日本支部総会で発表) と同様の pH 依存的な作用であると思われ、形態学的な成績より、エカベトは *H. pylori* の coccoid form に対して殺菌作用を示すと考えている。

105 *Helicobacter pylori* に対する新規プロトンポンプ阻害剤 E 3810 の *in vitro* 活性

佐藤 勝

エーザイ㈱東京研究所

目的: *H. pylori* が慢性胃炎患者の粘膜から分離されて以来、胃および消化性潰瘍との関連が注目されている。近年、酸分泌抑制剤として開発されているプロトンポンプ阻害剤は、*H. pylori* に抗菌活性を有している。今回、新規プロトンポンプ阻害剤 E 3810 およびその代謝物 (チオエーテル体) の *in vitro* おける抗 *H. pylori* 活性を、オメプラゾール (OPZ), ランソプラゾール (LPZ) およびその代謝物 (チオエーテル体), ABPC, OFLX および RXM と比較検討した。更に、走査型および透過型電顕による形態変化を観察した。

材料および方法: *H. pylori* は標準菌株および臨床分離菌株を対象とした。最小発育阻止濃度 (MIC) は 7% 馬脱纖維

血液添加 Brucella agar (BBL) を用いる寒天希釈法により求めた。最小殺菌濃度 (MBC) は 10 % 馬血清添加 Brucella broth (BBL) を用いる液体希釈法により求めた。

結果およびまとめ: E 3810 は *H. pylori* 18 株に対し OPZ より 16 から 32 倍強い活性を示した (MIC 範囲: E 3810, 0.4~3.13 $\mu\text{g/ml}$)。E 3810 チオエーテル体は OPZ および LPZ チオエーテル体より 16 倍強い活性を示した。E 3810 チオエーテル体は E 3810 より 2 倍強い活性を示した。抗生剤と活性を比較した場合、E 3810 チオエーテル体は ABPC および RXM より弱く、OFLX と同等であった。E 3810 はマクロライド耐性株に対して活性を示した。*H. pylori* に対する E 3810 の殺菌作用は、OPZ および LPZ より優れていた。走査電顕による形態変化において、E 3810 は高濃度 (4 MIC) においても著明な変化はみられなかった。ABPC は 1 MIC 濃度において、球状化、膨化およびバルジ様の形態が認められた。透過電顕による形態変化において、E 3810 は無処置群に認められない fingerprint-like structure が認められた。

会員外共同研究者: 甲斐純子

106 *Helicobacter pylori* のバイオタイプの経時変化と薬剤耐性の獲得

藤井友紀子¹⁾・濱島 肇¹⁾・笹津備規¹⁾
新井武利¹⁾・松本有右²⁾・河合 隆³⁾
西里吉則³⁾

¹⁾ 昭和薬科大学・微生物学研究室

²⁾ 八王子薬剤センター薬局

³⁾ 東京医科大学・八王子医療センター・消化器内科

目的: 我々は *Helicobacter pylori* のバイオタイプ・MIC 等の検討を第 42 回日本化学療法学会東日本支部総会にて報告している。今回は、バイオタイプの経時変化および内視鏡検査の施行回数別の MIC の分布の比較を行い、除菌療法によるバイオタイプの変化および薬剤耐性の獲得等について検討したので報告する。

実験方法: 1994 年 9 月から 1996 年 2 月までの 551 株について、患者より *H. pylori* を分離培養後 API ZYM を用い、バイオタイプを決定した。薬剤感受性の測定は Mueller Hinton Agar に馬脱繊維血を 5 % 加えて培養し、48 時間後に MIC を測定した。

結果並びに考察: バイオタイプは、1995 年 5 月以前は IIb 型がもっとも多かったが、それ以降は Ib 型が多くなった。この変化の時期を境目として除菌療法が盛んになり、除菌療法に用いられる抗生剤が *H. pylori* の菌体に何らかの影響を与えている可能性が示唆された。

除菌治療開始前に分離された菌株と治療後の菌株の MIC の分布を比較した結果、 β -ラクタム系、ニューキノロン系薬剤に関しては耐性株の増加は認められなかったが、マクロライド系薬剤であるエリスロマイシン (EM)・クラリスロマイシン (CAM) に関しては著しい増加が認められた。CAM はアモキシシリン (AMPC) と並んで除菌療法に広く使われている薬剤であり、耐性株の増加に注意が必要と思われる。

会員外共同研究者: 石垣雅子¹⁾・朝長文弥²⁾・上田剛史³⁾・東京薬科大学 藤田友嗣

108 AMPC の *H. pylori* に対する形態学的検討

池田文昭・池本晶子
寺谷紀子・横田好子
藤沢薬品新薬研究所

目的: *H. pylori* の除菌療法として現在、AMPC、CAM に PPI を加えた三剤併用の治療が実施されている。今回、我々は AMPC の本菌に対する作用の特徴および CAM 併用時の効果について形態に及ぼす影響を中心に検討した。

方法: 5 % FBS 加 Brucella Broth に懸濁した菌液に薬剤を添加し、10 % 炭酸ガス、37 °C で培養し、経時的に生菌数の測定および電子顕微鏡による形態観察を実施した。MIC は 5 % FBS 加 Brucella broth を用いるマイクロブイオン法で検討した。また、併用効果の測定はチェッカーボード法で検討した。

結果および考察: *H. pylori* に対する AMPC の MIC は本菌に球形化を誘導する濃度とよく一致し、MIC 以上の AMPC の作用により 3~6 時間目よりスフェロプラスト様構造が出現し 24 時間後には 99 % 以上の細胞が球形化した。この球形化細胞の一部は薬剤を除去することにより酵母の萌芽に類似した分裂形態を経て元のラセン状桿菌に復元した。一方、再分裂しない球形化細胞では原形質分離が認められ、分離が顕著な場合には細胞質の凝縮も認められた。*H. pylori* には少なくとも 3 つの PBP (PBP A, B および C) が検出されたが、AMPC は PBP A にもっとも高い親和性を示し、この PBP に対する親和性と MIC および球形化誘導濃度との間に高い相関性が認められた。従って、AMPC の一次標的は PBP A で、この蛋白に結合することにより球形化が誘導され増殖が阻害されるものと考えられた。AMPC は CAM との併用で相加効果しか認められなかったが、両剤の殺菌効果は併用により増強され、併用療法により短期間で高い除菌率が得られる要因の一つと考えられた。

109 ヒト病巣由来 *H. pylori* に対する Amoxicillin の *in vitro* 抗菌力と Amoxicillin の薬動力学

山地恵美子²⁾・平田浩子²⁾・川口 広²⁾
秋枝洋三¹⁾・渡辺哲弥¹⁾・中山一誠¹⁾

¹⁾ 日本大学医学部第三外科

²⁾ 日本大学医学部第三外科細菌研究室

Helicobacter pylori (*H. pylori*) と消化性潰瘍との関連が次第に明らかになり、除菌効果を得るために、数種の薬剤を組み合わせて治療が行われているのが、欧米における現状である。しかし、再発率の問題もあり、薬剤選択のための感受性試験、特に MIC 値が重要視されている。今回我々は胃生検より分離された *H. pylori* の MIC 値測定を行い、本菌の感受性成績および、Amoxicillin (AMPC) の薬動力学に関して検討を行った。

方法はヒト胃生検より分離された *H. pylori* 160 株を用い、日本化学療法学会標準法に従い、MIC 値を測定した。使用した抗菌薬は AMPC、Clarithromycin (CAM)、Metronidazole (MNZ)、Tinidazole (TNZ) である。判定は 35 °C、CO₂、10 %、72 時間培養後に行った。薬動学的検討は、AMPC 250 mg を健康成人 3 名に空腹時、経口投与し、経時的に血清中濃度を Bioassay 法により測定した。

AMPC の MIC₅₀ は 0.012 $\mu\text{g/ml}$ 以下、MIC₉₀ は 0.05

μg/mlであった。CAMのMIC₉₀は0.025 μg/ml, MIC₅₀は0.1 μg/mlであった。MNZのMIC₉₀は1.56 μg/ml, MIC₅₀は6.25 μg/ml, TNZのMIC₉₀は0.78 μg/ml, MIC₅₀は1.56 μg/mlであった。AMPCの薬動力学定数ではC_{max}は平均3.56 μg/mlであった。T_{1/2}は、1.78時間、AUC 8.65 μg・h/mlであった。

現在AMPCに対する耐性株は認められず、併用療法に関しては、薬動学的検討が必要である。

110 病原性大腸菌 O-157 ベロ毒素産生菌の抗菌薬感受性と毒素産生について

井上松久・久我明男・野々山勝人²⁾

岡本了一・笹原武志・小松洋子

平田泰良¹⁾・中崎信彦¹⁾

北里大医微生物,¹⁾同 病院検査部

²⁾北里研北本病院小児科

目的: 今年に入って病原性大腸菌 O-157 ベロ毒素産生菌による食中毒が東日本でも東京, 群馬, 神奈川等で多発しているが, 現在までの所その原因食等について詳しい事は不明である。抗菌剤と毒素産生との関係については限られた抗菌薬について文献的に1~2編報告されている。しかし, 抗菌薬と毒素産生との関係がはっきりしない。そこで, 今回抗菌薬感受性と毒素産生との関係を検討した。

材料・方法: 11株の患者由来の大腸菌 O-157 についてベロ毒素産生をベロトックス-F (デンカ生研) およびPCR法等によって確認した。抗菌薬感受性は液体培地法または寒天平板法によって検討した。抗菌薬の毒素産生との関係については, CA-YE 培地にて増殖させた対数期の菌に抗菌薬を3時間作用させ, 毒素量および生菌数をそれぞれ調べた。

結果・考察:

1) O-157株の内, VT1/VT2産生5株, VT1産生1株, VT2産生3株であり, ベロ毒素非産生は2株であった。この結果は, PCR法でも全く同じ結果が得られた。

2) 11株のうち, 1株はABPCが128 μg/ml以上, TCが128 μg/ml以上で, これは伝達性のプラスミドに存在していた。他の10株はABPC, CEZ, AMK, GM, FOM, OFLX, ST, CP, TC, KM, NFLXに感受性であった。

3) 作用機作などの点から抗菌薬CP, ABPC, KM, MINO, FOM, NFLXの6種を選び毒素産生と抗菌薬の関係を検討した。その結果NFLX, ABPC, FOMは2MIC以上の濃度では対照とあまり変わらないが, NFLX, ABPCはMIC以下の低濃度で顕著な毒素の遊離増加を認めた。CP, MINOの毒素の遊離は対照と同程度, KMはMIC以下の濃度では若干の増加があったものの2MIC以上の濃度では対照と同程度であった。

会員外協力者: 財部裕季子

111 Vero 毒素産生大腸菌 O-157・H7などの薬剤感受性パターン

出口浩一・鈴木由美子・石原理加

石井由紀子・中澤ありさ

東京総合臨床検査センター研究部

目的: Vero毒素産生大腸菌(VTEC) O-157・H7などの薬剤感受性パターンを知る目的で, 本学会標準法10⁶ cfu/ml接種の寒天平板希釈法にて, 好気的および嫌気的条件下の双方で最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。

結果: 供試株は1991年に当所が検出した1株, および

1996年に当所で検出した6株, さらに全国の協力者から分与を受けた76株の計83株(19地域26エピソード)を対象とした。血清型別の内訳はO-157・H7 75株, O-157・H(-) 6株, O-26・H11 1株, O-111・H(-) 1株であり, VT産生タイプはVT1 2株, VT2 6株, VT1&2 75株であった。

1. 好気的条件下のMIC分布

測定した8薬剤のMICは異なる分布を示していたが, CP 3.13 μg/ml, DOXY 25 μg/ml, MINO 12.5 μg/ml, KM 6.25 μg/ml, FOM 25 μg/ml, NFLX 0.2 μg/ml, CCL 25 μg/mlで, 全株の発育を阻止していたが, ABPCのMIC値>100 μg/mlを示す3株が存在していた。

MIC分布を地域別にみると, CP, KM, FOM, NFLXには大差が認められなかったが, DOXYとMINOは19地域がほぼ三つに区分された。ABPC耐性の3株は1991年に当所が検出した1株, 1996年に東海地方と都内で検出された各1株であり, いずれもO-157・H7(VT1&2産生)であった。

なお, O-26・H11, O-111・H(-)の各1株のMIC分布は, O-157 81株の累積MIC分布とはほぼ同様であった。

2. 嫌気的条件下のMIC分布

好気的条件下のMICと比較すると, CPは1~2管差, DOXY, MINO, ABPC, CCLは各々1管差程度, さらにはFOMは2~3管差にMICが低下していたが, KMは4管差にMICが上昇していた。

考察: VTEC感染症発症時の初期治療においては抗菌性物質の積極的投与が必要と考えられるが, ABPCには高度耐性株が, TCsには中程度耐性株が存在し得ること, さらに一部の薬剤においては, 好気的条件下と嫌気的条件下のMICが大きく異なることが示唆されたことから, VTECを含む感染性腸炎に対するEmpiric therapyにおいては上記を考慮することも大切である。

非会員共同研究者: 浦和医師会メディカルセンター 兩宮一彦, 江戸川医師会臨床検査センター 永塚美津枝

112 臨床分離大腸菌 O-157: H7株の薬剤感受性

新井俊彦・久保鈴子

明治薬科大学微生物

星野和夫・由川英二

(株)ビー・エム・エル

臨床分離病原大腸菌 O-157: H7株には1996年7月現在, まだ, 薬剤耐性菌は出現していないことが判った。ほとんどの分離菌株に対するSMM, TP, SM, KM, AMK, TC, MINO, CP, ABPC, CEZ, CMZ, NA, OFLXおよびRFPのMIC値はそれぞれ, 100, 0.4, 3.13, 3.13, 1.6, 1.6, 3.13, 1.6, 0.8, 0.8, 3.13, 0.1および12.5 μg/mlであった。

耐性菌のないことは, 食材からの一次感染が多いことによるのであろうが, あるいは, この菌に特有な60 Mdalのプラスミドが, Rプラスミドの受け入れを阻害しているのかもしれない。どの抗菌剤も有効であると思われるので, 腸管吸収性が悪く, しかも腸管で多数を占める偏性嫌気性常在菌に作用の少ないアミノ配糖体抗生物質などの経口投与が勧められる。生物型はすべてI型で由来の識別には役立たなかったが, コリシンを産生するものが見られた。生物性状からは, 腸管での増殖性の強い菌であることは示唆されなかった。

すべての菌株で60 Mdalのプラスミドが検出された。こ

れは、このプラスミドがこの菌の疾病起因性はなんらか寄与していることを示唆するものであろう。これらについては、すでに、このプラスミド上に、粘膜細胞に付着機能を有する Intimin の遺伝子である Eae があることが報告されている。おそらく、これがこの比較的病原活性の低い菌を小腸に安定に定着させ、それによって、Vero 毒素の吸収を可能にしているであろう。本来、この菌は小児にのみ病原性があるとされているのも定着性と関係しているのかもしれない。

114 臨床材料から分離した病原性大腸菌 (O-157) に対する経口用抗菌薬の抗菌力および感受性分布について

井田博久・星野和夫・日吉末広
小川昭男・岩井有紀・由川英二
水岡慶二

(株)ビー・エム・エル

目的: 今までに経験の無い全国的な病原性大腸菌 (O-157) 感染が多発し、O-157 感染による出血性大腸炎、重篤な合併症である溶血性尿毒症症候群 (HUS) が大きな社会問題となっている。しかし、治療に於ける抗生物質投与に関する基礎的データが不足しているのが現実である。今回我々は糞便より分離された O-157 に対する経口用抗菌薬の MIC 値測定を行い、本菌の感受性成績について報告する。

材料および方法: 1996 年 7 月、8 月に当社検査部で分離された O-157, 43 株を対象とした。MIC 値測定は日本化学療法学会標準法の微量液体希釈法で実施した。測定薬剤は、FOM, NFLX, KM, ABPC, AMPO/CVA, CCL, CFDN, CDTR, CPDX-PR, CFM-PI, MINO, CP, OFLX, LVFX, CPEX, TFLX の 16 薬剤を使用した。

まとめ:

I 2 世代以降の CEPs と NQLs 各薬剤および FOM の MIC₉₀ は何れも 0.5 μg/ml 以下で、特に NQLs の MIC は全ての株で 0.06 μg/ml 以下であった。

II PCS, MINO, CCL, KM の MIC₉₀ は 2~4 μg/ml, CP は 8 μg/ml であった。

III 被検株の VT 産生性は、VT1/2 (+/+) が 40 株、VT1/2 (-/+) が 2 株、VT1/2 (-/-) が 1 株であった。

115 臨床材料から分離した病原性大腸菌 (O-157) に対する注射用抗菌薬の抗菌力および感受性分布について

井田博久・星野和夫・日吉末広
小川昭男・岩井有紀・由川英二
水岡慶二

(株)ビー・エム・エル

目的: 今までに経験の無い全国的な病原性大腸菌 (O-157) 感染が多発し、O-157 感染による出血性大腸炎、重篤な合併症である溶血性尿毒症症候群 (HUS) が大きな社会問題となっている。しかし、治療に於ける抗生物質投与に関する基礎的データが不足しているのが現実である。今回我々は糞便より分離された O-157 に対する注射用抗菌薬の MIC 値測定を行い、本菌の感受性成績について報告する。

材料および方法: 1996 年 7 月、8 月に当社検査部で分離された O-157, 43 株を対象とした。MIC 値測定は日本化学療法学会標準法の微量液体希釈法で実施した。測定薬剤は、PIPC, CAZ, SBT/CPZ, CTM, CMZ, ABK, DKB, GM, FMOX, IPM/CS, PAPM の 11 薬剤を使用した。

まとめ:

I O-157, 43 株に対する各種薬剤の MIC₉₀ は、PIPC; 1 μg/ml, CMZ; 0.5 μg/ml, CTM; ≤0.18 μg/ml, CAZ; ≤0.13 μg/ml, SBT/CPZ; ≤0.13 μg/ml, FMOX; ≤0.13 μg/ml, PAPM; 0.25 μg/ml, IPM/CS; 0.25 μg/ml, ABK; 1 μg/ml, DKB; 1 μg/ml, GM; 0.5 μg/ml, であった。

II 今回測定した菌株は一部を除き同様な MIC パターンを示し、各薬剤とも優れた感受性分布を示した。

116 全国から受託した病原性大腸菌 (O-157) の陽性率および病原性大腸菌の O 血清型別の検討

星野和夫・日吉末広・小川昭男
井田博久・岩井有紀・由川英二
水岡慶二

(株)ビー・エム・エル

目的: 今までに経験の無い全国的な病原性大腸菌 (O-157) 感染が多発し、O-157 感染による出血性大腸炎、重篤な合併症である溶血性尿毒症症候群 (HUS) が大きな社会問題となっている。今回我々は 1996 年 7 月、8 月および 9 月に依頼のあった O-157 スクリーニングの陽性率および病原性大腸菌の O 血清型別について報告する。

材料および方法: 全国で 81 ケ所の当社営業所が各地の保健所、診療所、病院から依頼を受けた糞便。

(1) O-157 スクリーニング: 糞便を SIB 寒天培地 (極東) に塗布し、37℃, 18~24 時間培養、培地上で無色の集落を形成した菌を TSI/LIM 培地に塗布し、37℃, 18~24 時間培養大腸菌と確認出来た菌に O-157 抗血清 (デンカ生研) をあて凝集した菌を陽性とした。

(2) 病原性大腸菌検査: 糞便を BTB 寒天培地 (BBL) に塗布し、37℃, 18~24 時間培養、培地上で大腸菌と確認出来た菌に病原大腸菌免疫血清 (デンカ生研) をあて血清型別を判定した。

まとめ:

I 7~9 月の O-157 スクリーニングの受託件数は、133,242 検体で陽性率 0.45% であった。

II 7~9 月の病原性大腸菌検査の受託件数は、54,134 検体で陽性率 4.34% であった。

III 病原性大腸菌検査の陽性検体 2,351 件の O 血清 43 タイプの内上位 15 タイプは O-18=470, O-1=331, O-6=204, O-125=129, O-128=128, O-153=98, O-157=90, O-86a=74, O-169=74, O-111=68, O-25=63, O-26=61, O-148=61, O-164=46, O-114=41 以上の順位であった。

IV O-157 スクリーニングは陽性率が順次減少したが、病原性大腸菌には大きな変動は見られなかった。

117 病原大腸菌 (O-157) の各種抗菌薬に対する感受性

高畑正裕¹⁾・南新三郎¹⁾・山城芳子¹⁾
中山一誠²⁾・山地恵美子²⁾・平田浩子²⁾

¹⁾富山化学工業株式会社総合研究所

²⁾日本大学医学部第三外科

目的: 臨床から分離された病原大腸菌 (O-157) の各種抗菌薬に対する感受性を調べると共に、殺菌作用後培養液中に遊離した verotoxin 量を測定した。

方法: ヒト糞便由来の病原大腸菌 O-157, 35 株を用いた。

感受性の測定は日本化学療法学会標準法（使用培地：ミュラーヒントン寒天培地（Difco），培養温度：37℃，培養時間：20時間，接種菌量： 10^8 CFU/ml 1白金耳）に基づいて行った。また， 10^8 CFU/ml の菌液に薬剤 2 MIC を作用させ，2，6 時間後の生菌数を測定すると同時に培養液中に遊離した verotoxin 量を vero 細胞に対する殺細胞性で測定した。

結果：病原大腸菌 O-157，35 株に対する主な薬剤の MIC は β -ラクタム剤では CAZ: 0.10~0.20 μ g/ml，CTM: 0.10~0.20 μ g/ml，CEZ: 0.78~3.13 μ g/ml，CFTM: 0.20 μ g/ml，CCL: 0.78~3.13 μ g/ml，IPM: 0.20 μ g/ml であり，キノロン剤では TFLX: 0.0125~0.025 μ g/ml，LVFX: 0.025~0.05 μ g/ml であった。その他，KM: 1.56 μ g/ml，CAM: 25~50 μ g/ml，MINO: 0.78~1.56 μ g/ml，FOM: 12.5~50 μ g/ml，CP: 6.25~12.5 μ g/ml であった。今回用いた病原大腸菌 O-157，35 株の薬剤感受性は良好で，ペニシリン耐性菌が 1 株認められたのみであった。病原大腸菌 O-157，TK-806 株に対し，TFLX は短時間で強い殺菌作用を示し，作用 2 時間後に生菌数を $1/10^2$ ~ $1/10^4$ に減少させた。次いで IPM，FOM が強く，CAZ，KM の殺菌作用は弱かった。殺菌作用（2 MIC），2，6 時間後，菌体から培養液中に遊離した verotoxin 量（VT-1 換算）を測定した結果，TFLX，KM，CAZ では低く，FOM，IPM では高い傾向が認められた。

120 眼科領域における抗生抗菌剤の薬効評価とパラメータとの検討

—経口セフェム剤—

大石正夫¹⁾・宮尾益也²⁾・阿部達也²⁾

¹⁾信楽園病院眼科

²⁾新潟大学眼科

目的：抗生抗菌剤の薬効は，*in vitro* での抗菌力と薬動学的パラメータを勘案して推定している。

経口セフェム剤について，眼内動態と抗菌力との相関を検討した。

方法：対象薬剤は，Cefuroxime axetil (CXM-AX)，Cefpodoxime proxetil (CPDX-PR) および Cefotiam hexetil (CTM-HE) である。白色成熟家兎に各 50 mg/kg 1 回経口投与して，前房水および血清中濃度を測定した。これらの pharmacokinetic parameter と，*S. aureus* の各 MIC₉₀ との比を求めて，臨床効果との相関を検討した。

結果：前房水中濃度の C_{max} および AUC と MIC₉₀ の比は，CPDX-PR (0.56)，CTM-HE (0.17)，CXM-AX (0.06) および CPDX-PR (1.33)，CTM-HE (1.11)，CXM-AX (0.54) であった。血清中濃度の C_{max} および AUC と MIC₉₀ の比は，CPDX-PR (9.71)，CTM-HE (8.50)，CXM-AX (1.03) および CPDX-PR (24.77)，CTM-HE (16.29)，CXM-AX (7.48) であった。

すなわち，前房水中，血清中濃度とも，C_{max}，AUC と *S. aureus* MIC₉₀ の比は，CPDX-PR > CTM-HE > CXM-AX の順であった。

臨床効果の有効率では，CPDX-PR (100 mg × 2) 35/42，83.3 % > CTM-HE (100 mg または 200 mg × 3) 76/94，80.9 % > CXM-AX (250 mg × 3) 49/63，77.8 % の順であった。

考察：眼科感染症における経口セフェム剤の薬効は，眼内動態における前房水と血清中濃度の C_{max}，AUC と *S. aureus* MIC₉₀ との比に相関する傾向がうかがわれた。

122 小児副鼻腔炎から検出した肺炎球菌の薬剤感受性パターン

出口浩一・鈴木由美子・石原理加

石井由紀子・中澤ありさ

東京総合臨床検査センター研究部

杉田麟也

杉田耳鼻咽喉科医院（千葉市）

目的：関東，北陸，東海地方の耳鼻咽喉科および小児科を受診した 0 歳~12 歳までの小児副鼻腔炎患者から検出した *Streptococcus pneumoniae* の薬剤感受性パターンと生物型（群）を検討し¹⁾，合わせてこれらの症例におけるペニシリン低感受性または耐性株の割合を算出した。

方法：1995 年 11 月~1996 年 6 月に，上記を受診した 343 症例分の採取材料を対象にして，細菌の分離・同定などを一括して実施した。

結果：検出菌種は *S. pneumoniae* 198 株（症例検出比 58.0 %，以下同じ），*Haemophilus influenzae* 192 株（55.8 %），*Moraxella* subgenus *Branhamella catarrhalis* 106 株（30.8 %），*Streptococcus pyogenes* 22 株（6.4 %）が主な推定起炎菌であったが，総検出株数は 657 株であり，複数菌検出症例の割合が高かった。*S. pneumoniae* 198 株の内訳は PSSP 100 株（50.5 %），PISP または PRSP 98 株（49.5 %）であった。PSSP および PISP または PRSP のいずれにおいても MLs 耐性株の割合が高かったが，PSSP の MLs 耐性株は II 群では誘導型が，I 群と III 群は構成型が多く，PISP または PRSP においてもほぼ同様の MLs 感受性パターンであった。なお，api-strep によるプロファイルコードが *S. pneumoniae* に類似している *Streptococcus oralis*，*Streptococcus mitis* 等の MLs 感受性パターンも *S. pneumoniae* のそれと極めて類似して，MLs 誘導型耐性株の占める割合が高かった。なお，PISP または PRSP は III 群には存在しなかった。

考察：近年の我が国で検出される *S. pneumoniae* の MLs 耐性株は高い割合であるが，そこにおける誘導型と構成型の割合は生物型によって異なることが示唆された。そして，*S. pneumoniae* と生物学的性状が類似するいわゆる *a*-streptococci の MLs 感受性パターンが類似していることが，*S. pneumoniae* のペニシリン耐性を含む多剤耐性化における外因の一つであるとも考えられる。

文 献

出口浩一，他：第 9 回 Bacterial Adherence 研究会記録集。Vol. 9: 22~28, 1995

124 口腔癌手術時の予防的抗菌薬投与方法に関する検討

—Surveillance oral culture と頸部リンパ節

への Bacterial translocation からみた考察—

坂本春生¹⁾・内藤博之^{1, 2)}・唐木田一成¹⁾

太田嘉英¹⁾・金子明寛¹⁾・青木隆幸¹⁾

佐々木次郎¹⁾・椎木一雄^{1, 2)}

¹⁾東海大学医学部口腔外科学教室

²⁾磐城共立病院歯科口腔外科

目的：口腔癌手術時の適正な抗菌薬の予防的投与方法について検討するために，術後感染例について検討した。

方法：口腔外科にて手術を行った口腔癌患者のうち，原則として抗菌薬の術前投与を行った 20 症例を対象とした。検討した 20 例のうち術後頸部創感染を生じたのは 1 例であ

た。本例に関して、術前の surveillance oral culture, さらに日本感染症学会総会で報告したように、頸部リンパ節への bacterial translocation, 口腔腫瘍本体の培養についても検討した。頸部リンパ節への bacterial translocation は、頸部郭清時に一塊にして採取した頸部組織から、無菌的に所属頸部リンパ節を摘出した。各リンパ節を二等分し、それぞれを細菌学および病理学的検討に供した。細菌学的検討は各リンパ節を計量後、希釈 homogenize し、嫌気および好気培養を行った。

結果: 術後感染を生じた 1 例は、下顎の T4 症例であった。術後乾燥創からは、*Enterococcus*, *H. influenzae*, MRSA などが検出された。Surveillance culture では、口腔常在菌とともに *K. pneumoniae*, *H. parainfluenzae*, *S. aureus* など、手術時の腫瘍培養では *S. oralis*, *E. faecalis*, *E. corrodens* リンパ節からは、*S. constellatus*, *E. faecalis*, *E. corrodens*, *E. coli* などが検出された。

考察: 今回の結果、術前から腸内細菌群が定着し、所属リンパ節への bacterial translocation を促し、術後感染と密接に関連していた。口腔癌手術は、これらの菌の存在する field への切り込みを余儀なくされるため、監視培養とともに、腫瘍本体、および頸部リンパ節への細菌学的検討を元に抗菌薬の予防投与は、選択されるべきである。

126 カルバペネム系抗菌薬点滴静注時における抜歯後菌血症

佐々木次郎¹⁾・金子明寛¹⁾
山崎純子²⁾、小林寅詰²⁾

¹⁾ 東海大学医学部口腔外科

²⁾ 三菱化学ビーシーエル化学療法室

目的: グラム陽性球菌による IE の誘因の 70 % 以上は歯科処置と菌性感染症であると言われており、観血的歯科処置を行う場合には予防投与が必要となる。現在のところ抗菌力などから、原則的にはペニシリン投与が行われるが、ペニシリントレラント株が増加しており、これに代わる薬剤が求められる。グラム陽性球菌に対し良好な抗菌力を有するカルバペネム系抗菌薬 3 剤について歯科処置時の一過性血症の予防効果について検討した。

使用薬剤: imipenem/cilastatin (IPM/CS) 0.5 g, panipenem/betamipron (PAPM/BP) 0.5 g, meropenem (MEPM) 0.5 g。

方法: 抜歯あるいはその他の観血的歯科処置時に各薬剤を点滴静注し、処置終了までに点滴を終わらせた。静脈血を採取し、Bactec[®] (Becton-Dickinson 社) に注入、培養を行うとともに血清中薬剤濃度も測定した。さらに血液培養陽性例については検出菌を同定し、各投与薬剤に対する MIC を測定した。

結果: 投与薬剤	血液培養陽性率
IPM/CS	17.4 % (4/23)
PAPM/BP	14.8 % (4/27)
MEPM	4.2 % (1/24)

考察: 既に報告したとおり ceftriaxone, cefuroxime, clindamycin-2-phosphate, vancomycin を予防投与した際の陽性率は、それぞれ 15.0 % (3/20), 16.7 % (4/24), 54.5 % (12/22), 38.5 % (10/26) である。カルバペネム系薬剤はセフェム系薬剤と同程度かそれ以上であった。また、カルバペネムを投与した症例では菌陽性であっても、IE の起炎菌として注目される Streptococci は検出されなかった。

127 顎骨感染モデルの好中球機能に及ぼす化学療法剤の影響

一遊走能の影響—

大村真基・佐藤田鶴子・柳井智恵
石垣佳希・阿部 葵・藤城建樹
北原和樹

日本歯科大学歯学部口腔外科学教室第 1 講座

目的: 生体防御機構における白血球の果たす役割は重要であり、細菌感染症の治療に用いられる抗菌薬がその機能にどのような影響を与えるかを把握しておくことは重要である。そこで我々は、顎骨の感染症を想定して作製したウサギ下顎骨感染モデルを応用し、日常臨床の場で多用されている抗菌薬が好中球機能、なかでも遊走能にどのような影響を与えるかを比較検討したので報告する。

実験方法: NZW 種ウサギに、佐藤-Heimdaahl 法に準じて *Streptococcus mellei* NCTC 7331 と、*Bacteroides fragilis* NCTC 9343 の 2 菌種を接種して顎骨感染モデルを作製した。また、菌を接種しない外科的侵襲のみ加えたものをコントロールとした。菌接種後、3 日目、7 日目、21 日目において採血した血液より好中球を分離し、それを各濃度の抗菌薬 CFTM, CAM, SPFX と作用させ 96 穴ケモタキシスチャンパーを用いて遊走能を測定した。

結果: Infection はコントロールと比べ、3 日目、7 日目において有意に好中球遊走能は促進していた。CFTM, CAM, SPFX のいずれの薬剤も 1 μg/ml の濃度では好中球遊走能に影響を及ぼさなかったが、高濃度の CAM と SPFX では影響を及ぼした。

考察: 今回実験に用いた抗菌薬は臨床血中濃度レベルで好中球遊走能に影響は及ぼさなかったが、高濃度になると影響を及ぼす薬剤もあることから、抗菌薬の選択にあたっては、起炎菌に対する抗菌力、感染病巣への移行性だけでなく生体防御機構の観点も考慮すべきである。

131 電解食塩水の抗菌・抗ウイルス活性とその機構

堀田国元

国立予防衛生研究所生物活性物質部

目的: 隔膜で仕切られた電解槽を持つ電解装置を用いて食塩水を電気分解にかけると、陽極槽に酸性電解水 (< pH 2.7), 陰極槽にアルカリ性電解水 (pH 約 11.5) が生成蓄積する。これらの電解水の抗菌・抗ウイルス等の活性やその機構について解析した。

方法: 1) 電解水の作成: ミリ Q 水に溶解した 20 mM の NaCl 液をバッチ式小型電解装置を用いて電気分解した。2) 抗菌: *Escherichia coli* と *Bacillus subtilis* の細胞懸濁液 50 μl (10⁶-7cfu) を 2 ml の電解水に懸濁後、100 μl を栄養寒天培地に塗り広げ、37°C 一晚培養した。3) 抗 HIV: HIV を電解水と混合後、PHA-blast 細胞に感染させ、37°C 10 日間培養後、HIV p24 抗原をアッセイ (ELISA) した。4) 核酸/タンパク分解: 電解水処理した *E. coli* から核酸を抽出し、アガロース電気泳動した。タンパクは、電解水処理細胞を超音波破碎し、上清を SDS-PAGE にかけてモニターした。

結果: *E. coli* は、酸性電解水 10 秒、アルカリ性電解水 1 分、両者の等量混合液 10 秒の処理で死滅した。*B. subtilis* の死滅には、酸性水や混合水でも 3 分を要し、アルカリ水は無効であった。核酸とタンパクの分解活性の強さも酸性水、

混合水、アルカリ水の順で、抗菌活性と相関性が認められた。EtOH等のラジカル除去剤の添加によって酸性水の活性は低下した。酸性水と混合水は高い抗 HIV 活性を示した(後者の方が高い)。

考察: 酸性電解水の抗菌活性は高 ORP (酸化還元電位) が主因とされていたが、混合水 (pH と ORP が原水と同じレベル) も活性であることから、電解によって生ずる次亜塩素酸/塩素ガス (遊離塩素として 20~50 ppm) と OH[·] が、細胞の核酸やタンパク質を分解/変性するためと判断される。実際、市販の次亜塩素酸ソーダの pH と濃度を酸性電解水と同じレベルに調整するとほぼ同じ活性が出る。従って、酸性電解水は低濃度高活性次亜塩素酸溶液といえることができる。

132 *Y. pestis* に対する薬剤の *in vitro*, *in vivo* 抗菌力

辻 明良¹⁾・村井貞子¹⁾・五島瑳智子¹⁾
塚野尋子²⁾・渡辺治雄²⁾

¹⁾東邦大学医療短期大学

²⁾国立予防衛生研究所細菌部

今回、新抗菌薬を含む 18 薬剤について、国立予防衛生研究所に保存されている 22 株に対する抗菌力を測定し、また、実験感染マウスでの治療効果も検討した。使用抗菌薬は β-ラクタム薬 3 剤、アミノグリコシド薬 3 剤、マクロライド薬 2 剤、テトラサイクリン薬 3 剤、ニューキノロン薬 4 剤、その他 3 剤である。*In vitro* 感受性測定は微量液体希釈法による MIC を求めた。*In vivo* 効果の測定は *Y. pestis* No. 22 を感染菌とし、マウス腹腔内に感染後、1 時間目および 24 時間目に各薬剤を投与 (経口、皮下) し、感染 6 日目の生存率を求めた。なお、*in vitro*, *in vivo* 効果の測定は、国立予防衛生研究所のレベル 3 実験室内で行った。

In vitro 抗菌力: もっとも強い抗菌力を示したのが、ニューキノロン系 (ofloxacin, ciprofloxacin, sparfloxacin, grepafloxacin) で、その MIC₉₀ は ≤0.125 μg/ml であった。次いで cefdinir, imipenem, ampicillin, arbekacin, isepamicin, minocycline で、その MIC₉₀ は 0.25~0.5 μg/ml であった。Tetracycline, gentamicin の MIC₉₀ は 1~2 μg/ml で、erythromycin, clarithromycin, fosfomycin は、感受性が低く、その MIC₉₀ は 128 μg/ml であった。

In vivo 抗菌力: 注射薬のうち、gentamicin がもっとも治療効果がよく、0.08 mg/mouse 投与で 50% の生残率を示した。次いで arbekacin, isepamicin であった。経口薬では、ニューキノロン薬の効果が優れ、sparfloxacin は、0.08 mg 投与で 66.6% の生残率を示し、次いで ofloxacin, grepafloxacin であった。Minocycline では 2.0 mg 投与で、50% の生残率を、chloramphenicol, tetracycline, ampicillin では、全例死亡した。

133 Cefpirome およびその他 7 薬剤の主要臨床分離株に対する抗菌力の比較検討

小林芳夫・内田 博

慶應義塾大学 中央臨床検査部

CPR が市販され既に 2 年以上が経過した。その後同系統の薬剤である CFPM および CZOP が相次いで市販された。そこで今回は現在における CPR の臨床細菌学的位置付けを検討することとし、CFPM および CZOP に加え既存の CAZ, FMOX, SBT/CPZ および PIPC を比較対象薬剤として本院を含む 6 施設からの 1995 年 10 月から 12 月までの各種臨

床分離株に対する最小発育阻止濃度 (MIC) を微量液体希釈法 MIC を中心に、肺炎球菌に対しては平板倍希釈法を用いて検討した。また Etest の CPR のディスクを入手したので併せて検討した。肺炎球菌 21 株に対して CPR の MIC は 0.015 以下から 0.25 μg/ml までと 1 から 8 μg/ml までの 2 峰性の分布を示した。MRSA に対しては全ての薬剤が 128 μg/ml 以上の MIC であったが MSSA の 43 株に対しては 2 μg/ml 以下であり FMOX には 1 管劣るものの CZOP と同等であり残る薬剤よりは優れていた。*E. coli* の 50 株および *K. pneumoniae* の 47 株に対する CPR の MIC は若干高いを示す株が見られたがおおむね 1 μg/ml 以下であり、他のセフェム系薬剤とほぼ同等あるいは優れた抗菌力であった。結核菌 48 株に対しては 4~16 μg/ml に 80% が分布し CTX, SBT/CPZC および PIPC よりは優れた抗菌力であった。Etest において 2 重の阻止円が認められた株が黄色ブドウ球菌で 1 株ありこの株はいわゆる hetero-resistant strain であった。Cefpi CPR は CTX の後発薬剤として市販された薬剤であるが、現状では MIC でみる限りその開発の目的に叶う位置にあると考えられた。

134 カルバペネム耐性 *Serratia marcescens* の臨床分離状況

黒川博史・永田明義
玉井功一・荒川宜親¹⁾

保健科学研究所第一検査部

¹⁾国立予防衛生研究所細菌 血液製造部

目的: 我々は、1995 年 3 月から、カルバペネムなどに耐性を示す *Serratia marcescens* の調査を進めている。

最近、これらの株の耐性化機序としてメタロ-β-ラクタマーゼの酸性が問題となっている。この酵素は、カルバペネムを含む全ての β-ラクタム薬を分解不活化するのみならず、既存の β-ラクタマーゼ阻害剤によって阻害されないため、酸性菌の分離動向に特に注意する必要がある、今回の調査を行った。

材料と方法: 当施設において 1996 年 3 月以降分離された、*Serratia marcescens* を対象とした。

耐性株の選択基準として、①カルバペネム薬に耐性 (NCCLS の耐性基準値以上) ②ceftazidime (CAZ) と sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ) の双方に耐性を示す、とした。

MIC 値測定は、日本化学療法学会標準法に基づいて微量液体希釈法で測定した。また、選択条件②で選択した株については傾斜平板法 (日本細菌学会技術叢書 4) により、潜在的なカルバペネム薬耐性化能を検討した。

結果と考察: *Serratia marcescens* の総分離数は、1996 年 3 月から 6 月までの 4 カ月間に 1,788 株であり、そのうち耐性株と判定された株数は 55 株であった。月毎の耐性菌株数と総分離数は、それぞれ 3 月が 7/401, 4 月が 14/460, 5 月が 13/446, 6 月が 21/481 であった。これらの株は 9 つの異なる都道府県の 22 の医療施設から分離されたが、同一施設内で異なる患者から分離される場合もあり、院内感染が疑われる例もあった。7 月以降の耐性菌の分離状況と分離株の全般的な薬剤耐性傾向については総会において発表する予定である。特筆すべき問題として、これら耐性株の中に、テトラサイクリン系、ニューキノロン系、アミノグリコシド系薬剤などに対しても多剤耐性を示す株が出現しており、治療薬の選択に支障をきたす場合も危惧される。今後、多剤耐性菌の出現を早期に発見し蔓延を防止するため、各医療施設で薬剤

感受性検査がますます重要となるであろう。

135 Vitek System を用いた感受性結果の迅速性と精度について

松本治子¹⁾・梅原 毅¹⁾
高倍正典¹⁾・新井俊彦²⁾

¹⁾日本ビオメリュー・バイテック株式会社
²⁾明治薬科大学微生物学教室

目的: 臨床側から強く細菌検査報告の迅速化が望まれる一方で、感受性検査においては、検査開始後現実に即日報告がなされるケースはない。我々は、Vitek system の特徴の一つである迅速報告について、連続希釈法を採用する MIC 2000 を比較におき、その有用性を検討した。

方法: 感受性試験カードは、Vitek GNS-401, GPS-403, MIC 2000, KT 42, KT 44, KT 51, KT 55 を使用した。供試菌株は、明治薬科大学から分与された、国内において分離頻度が高い臨床由来菌株をもちいた。全ての供試菌株を、5% ヒツジ血液加コロソシア寒天培地を用いて前培養後、同時に ATB にて同定し、Vitek で同定感受性、MIC 2000 で感受性試験を行った。

上記 2 法による同定で菌種名が異なった株および Vitek にて UIO となった株については再試験を行い ATB, Vitek で同一菌種名になったものを考察対象とした。UIO については別にその感受性結果を考察した。

感受性結果に関して、Vitek, MIC 2000 で MIC 値に差が生じたものについては、その株の酵素活性試験を実施し考察を加えた。

結果: グラム陰性桿菌の場合、BNI+ では同定結果が 3 時間で 46%, 5 時間で 90% が報告され、感受性結果では、早い菌株は 4 時間で、平均すると 7 時間で 73% が報告された。グラム陽性球菌の場合、同定結果が 5 時間で 88%, 7 時間で 91% 感受性結果は、6 時間で 98% が報告された。MIC 2000 との共通薬剤についてグラム陰性桿菌、グラム陽性球菌ともに 93% 以上の高い一致率を示した。

考察: 本検討により、Vitek system がもたらす結果報告の迅速性が、治療開始後早い時期の確かな投薬判断に貢献することが期待される成績を示した。

137 同一感受性細菌別の抗菌薬作用効果の比較

一尿中抗菌薬濃度自動シミュレーターを用いた
in vitro での検討一

高橋 聡¹⁾・佐野正人¹⁾・西村昌宏¹⁾
廣瀬崇興¹⁾・塚本泰司¹⁾・平井敬二²⁾

¹⁾札幌医科大学医学部泌尿器科
²⁾杏林製薬

目的: 尿路感染症の抗菌化学療法では尿中排泄型のものを使用すると、尿中濃度が高まるために empiric therapy の結果として低感受性菌でさえ除菌される場合があるが、除菌できない場合も多い。この際、抗菌化学療法中における原因菌の感受性に変動があり得るのかを検討することは、適正な抗菌化学療法を施行するためにも、耐性化を防ぐためにも重要と考える。そこで我々は尿中抗菌薬濃度自動シミュレーターを用いて *in vitro* で抗菌薬を細菌に作用させ、菌種または菌株や抗菌薬の種類による差異も含めて感受性の変動を検討した。

対象と方法: 実験に供した細菌と抗菌薬は当科尿路分離の

P. aeruginosa と *E. faecalis* それぞれ 5 株、PAPM, MEPM, AM-1155, DU 6859 a である。我々の中等度複雑性膀胱炎モデルで抗菌薬を常用量投与時の尿中濃度推移で 3 日間作用させ、菌数曲線と経時的な MIC, MBC の変動について検討した。

結果と考察: 使用細菌を増菌し、抗菌薬作用前に 50 コロニーについて抗菌薬の MIC, MBC の分布をそれぞれ測定した。菌株や抗菌薬を変えて検討したが、当初から MIC 分布は数段階の広がりをもっていた。抗菌薬作用後には低感受性株では経時的に MIC の高い株が選択的に増菌し 3 日程度で高い株が優勢となった。しかし、高感受性株では分布が変動する前にすべて除菌された。この成績は、*P. aeruginosa* と *E. faecalis* の細菌または株間、カルバペネム系とニューキノロン系抗菌薬の薬剤間で差異を認めなかった。

138 実験的ラット膀胱結石に定着した *E. coli* に対する抗菌剤の殺菌効果

山田 博司¹⁾・高畑正裕・新村裕子¹⁾
南新三郎¹⁾・渡辺泰雄¹⁾・成田弘和¹⁾
長谷川真常²⁾

¹⁾富山化学工業株式会社総合研究所
²⁾長谷川病院

目的: 尿路感染症の主要起因菌の *E. coli* を結石に定着させ、キノロン剤を含む各種薬剤の殺菌効果について検討したので報告する。

方法: 既報¹⁾に従って実験的膀胱結石を作成したラットに各種薬剤に感受性の *E. coli* TK 779 を感染させ、7 日後から 20 mg/kg の薬剤を 1 日 2 回 3 日間投与した。最終投与 1 日後に膀胱内から結石を摘出し、平板塗抹法にて生菌数を測定した。また、治療後の結石表面を走査型電子顕微鏡で観察した。*In vitro* 試験として、1% グルコース含有生理食塩水に懸濁後、37℃ で 24 時間静置した non-growing 状態の *E. coli* と poly-lysine コート dish に定着させた *E. coli* の各々に 256 および 512 MIC 濃度の TFLX と CPFX を作用させ、経時的に生菌数の測定を行った。

結果および考察: 走査型電子顕微鏡の観察から、既に報告した *P. aeruginosa* と同様、*E. coli* の場合も結石表面にバイオフィーム様に定着した菌体が認められた。結石に定着した *E. coli* に対して、CAZ, IPM および GM では殺菌効果が認められなかったが、キノロン剤では差異があり、TFLX がもっとも強かった。もっとも殺菌効果の強かった TFLX と弱かった CPFX について、その差の要因を *in vitro* 試験で調べた。その結果、治療時のラット尿中濃度に相当する 512 MIC およびその半分の 256 MIC 濃度作用時において、non-growing 状態の *E. coli* に対し TFLX では CPFX より強い殺菌効果が認められ、poly-lysine コート dish 定着の *E. coli* に対してはさらに強い効果が認められた。以上、*in vitro* で non-growing 状態の *E. coli* に対する TFLX の強い殺菌効果が、*in vivo* で強い殺菌効果を示す大きな要因と考えられた。

文 献

- 1) 感染症学雑誌, Vol. 69, p913~918, 1995

139 セフェム系抗菌薬 (cefluprenam, ceftazidime, cefotaxime) による *E. coli* および *B. fragilis* の形態変化

佐藤 勝・八谷 滋

エーザイ(株)

三嶋廣繁・玉舎輝彦

岐阜大学医学部産婦人科

目的: 我々は、ラット子宮内感染モデルを用いて *in vivo* での抗菌薬の薬効評価を報告してきた。今回は、実験感染に用いた細菌に関して、セフェム系抗菌薬による殺菌効果、抗菌薬による形態変化を *in vitro* で検討した。

方法: *E. coli* GOG 0010 および *B. fragilis* GOG 3100 をセフェム系抗菌薬 cefluprenam (CFLP), ceftazidime (CAZ), cefotaxime (CTX) に接触させた時の殺菌効果を、薬剤濃度別 (0, 1/4, 1, 4 MIC) に、経時的に検討した。培養は、37℃ の条件下で振盪培養法を用い、*E. coli* では Mueller Hinton Broth (BBL) を用いて好気培養し、*B. fragilis* では GAM Broth (栄研) を用いて嫌気培養した。なお、接種菌量は、*E. coli* が 9.80×10^8 cfu/ml, *B. fragilis* が 2.23×10^8 cfu/ml であった。更に、菌体の形態変化を走査電子顕微鏡により検討した。

結果: *E. coli* に関しては、CFLP は、MIC 以上の濃度において殺菌的に作用した。また、CAZ, CTX は、ほぼ同等の殺菌効果を示した。*B. fragilis* に関しては、CTX がもっとも優れた殺菌効果を示し、CFLP, CAZ は、ほぼ同等の殺菌効果を示した。また、*E. coli*, *B. fragilis* の菌体は、CFLP により電顕上、薬剤濃度が高くなる程、菌の伸長化が著しいことが明らかになった。

考察: *in vitro* の結果が必ずしも *in vivo* に反映されるわけではないが、セフェム系抗菌薬間でも、殺菌力に違いがあるため、薬剤の特性を理解した上での抗菌化学療法が望まれる。

会員外共同研究者: 甲斐純子

156 ATP-binding Cassette (ABC) superfamily 欠損株を用いた Azole 系抗真菌剤の耐性機構について

山崎敏和・内田友紀子・藤井俊彦

塚口敏之・有沢幹雄

日本ロシュ研究所

目的: Azole 系抗真菌剤は現在もっとも多用されている真菌症治療薬であるが、近年その耐性菌の出現が問題視されてきている。耐性機構には様々な理由が考えられるが、我々はその一つとして efflux 機構に注目して *S. cerevisiae* の ABC transport protein である Ydr 1 ならびに Snq 2 の欠損株を用いて各種抗真菌剤の耐性機構について検討した。

方法: wild type 株と多剤耐性遺伝子 YDR1 ならびに SNQ 2 遺伝子を欠損させた *S. cerevisiae* 各株 ($\Delta ydr 1$, $\Delta snq 2$, $\Delta ydr 1 \Delta snq 2$) において各種抗真菌剤等に対する感受性測定を微量液体希釈法によって行い、630 nm の吸光度を用いて生育阻害 % を算出した。

結果および考察: FLCZ, KCZ, MCZ 等の azole 系抗真菌剤に対して $\Delta ydr 1$ 株および $\Delta ydr 1 \Delta snq 2$ 株は wild type 株の 10~100 倍の高い感受性を示した。しかし、 $\Delta snq 2$ 株のこれらの薬剤に対する感受性は wild type 株のそれと変わらなかった。この結果からこれらの薬剤は *Ydi 1* による排出を受けることが示唆された。また、ITCZ にお

ては $\Delta snq 2$ 株の感受性も若干高まっていたことから Snq 2 による排出の影響も受けることが考えられた。同様に Terbinafine, Amorolfine も両方の膜蛋白の影響を受けるが、AMPH, 5-FC はいずれの膜蛋白にも影響されないことが示唆された。

157 カプトテシン誘導体 DX-8951f の抗腫瘍効果

小宮山寛機¹⁾・林 正彦¹⁾・熊沢栄治²⁾

¹⁾北里研究所

²⁾第一製薬

目的: DX-8951f は 6 環性構造を有する水溶性カンプトテシン誘導体でトポイソメラーゼ I を阻害して優れた制癌活性を示す。今回は主として各種ヒト由来培養薬剤耐性癌細胞に対する効果について調べ、さらに耐性癌細胞を含む種々の細胞に対する効果を動物試験で調べたので報告する。

方法: ヒトおよびマウス由来の種々の薬剤耐性株を 96 穴マイクロプレートにて培養し、これに DX-8951f を加え 3 日間培養後、増殖度合を MTT 法にて調べた。動物試験は腫瘍細胞をヌードマウス皮下に移植し腫瘍の大きさが 150~300 mm² に達した時点で投与を開始した。治療開始日を 0 日とし以下、4, 8, 12 日に静脈投与しその後の腫瘍の大きさを測定した。

結果および考察: DX-8951f 各種培養癌細胞に対して顕著な増殖抑制作用を示した (IC₅₀ = 0.16~36 ng/ml)。耐性細胞に対しては概ね感受性株と同等、あるいは株によってはむしろ感受性の増加が認められた。一方、動物試験ではビンクリスチンまたは SN-38 耐性ヒト肺癌細胞 PC-6 に対して CPT-11 (80 mg/kg×4) は無効であったが、DX-8951f 感受性株と同様に優れた制癌活性を示し、耐性克服の作用機序に興味を持たれた。この他にヒト由来肝癌、膵臓癌、前立腺癌に対して用いた濃度範囲 (6.8~18.8 mg/kg×4) で顕著な制癌活性が認められた。以上示したように、本剤は種々の耐性株に対し直接的な殺細胞作用を示すばかりでなく、動物試験においても顕著な増殖抑制作用が見られたので、臨床試験に応用するために更に詳細に検討したい。

158 細胞接着阻害物質 Macrosphelide A の転移抑制作用

林 正彦・小宮山寛機・大村 智

北里研究所

目的: 血管内皮細胞と癌細胞間の接着因子が癌転移において重要な役割を担っていることが明らかとなっている。本研究では、これらの接着分子の阻害物質を微生物二次代謝産物より探索し、その特異性ならびに癌転移モデルを用いてその効果を検討した。

方法: 細胞接着実験にはヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) とヒト骨髓性白血病細胞 (HL 60) を用いた。HUVEC を LPS で刺激し、4 時間後、蛍光標識 HL 60 細胞を播種し、接着した HL 60 細胞の蛍光強度を測定し接着活性を評価した。転移抑制効果は B 16/BL 6 細胞の肺転移モデルに於て検討した。5×10⁴ 個の B 16/BL 6 細胞は静脈注射により移植した。移植日を 0 日とし、1, 3, 5, 7, 9 日目に各用量の macrosphelide A を腹腔内注射した。12 日目に肺を摘出し転移結節を測定した。

結果および考察: LPS 刺激 4 時間後の HUVEC への HL 60 細胞の接着は、抗 siaryl lewis^x (SL^x) 抗体処理により

完全に阻害されたが、抗 SLe^x 抗体、抗 ICAM-1 抗体、抗 LFA-1 抗体、抗 VCAM-1 抗体、抗 VLA-4 抗体処理による接着阻害は見られなかった。ELAM-1 の発現はフローサイトメトリーにより確認した。新規 16 員環マクロライド macrosphelide A は、用量依存的にこの細胞接着を阻害し、

その IC₅₀ は 3.5 μM であった。B 16/BL 6 の肺転移は 5~50 mg/kg/day で用量依存的に抑制された。Macrosphelide A は ELAM-1/SLe^x 系に起因する細胞接着を阻害することが示された。Macrosphelide A の特異性ならびに抗転移作用の詳細な作用機序は現在検討中である。