

当科で検出されたCoagulase-negative staphyrococci (CNS)の薬剤感受性について

東京慈恵会医科大学 内科学講座第二
柏病院総合内科*

○中澤 靖、相澤久美子、坂本光男、進藤奈邦子
前澤浩美、吉川晃司、吉田正樹、柴 孝也
酒井 紀、斎藤 篤*

【目的】 *Staphyrococcus Epidermidis*をはじめとする

Coagulase-negative staphyrococci(CNS)はカテーテル感染など院内感染の原因菌として重要である。当科でのCNSの抗菌薬感受性の傾向を調べるため、今回は*S.epidermidis*の薬剤感受性についてまとめた。

【方法】1995年7月から1997年3月までに東京慈恵会医科大学内科2にて鼻腔または咽頭から検出された*S.epidermidis*全211株の各種抗菌剤に対する薬剤感受性を調べた。

【結果】 *S.epidermidis*全211株のうちMPIPCに耐性の株、いわゆるMRSEは62株(29.4%)であった。IPM耐性は27株(12.8%)、ST合剤耐性は19株(9.0%)であったが、GM耐性84株(39.8%)、MINO耐性71株(33.6%)、OFLX耐性は141株(66.8%)であり特にキノロン薬に対する感受性の低下が認められた。MRSE株は検出されたすべての株が多剤耐性であったが、その中でIPM感受性菌は45%、MINO感受性は45.2%存在した。VCM耐性菌は認められなかった。またこれらとは別に、この期間に当科で経験したCAPD腹膜炎で*S.epidermidis*が検出された5症例のうち2例がMRSEで、血液培養から検出された11症例のうち7例がMRSEであった。

【考察】当科で検出された*S.epidermidis*は約30%が多剤耐性であった。同時期に鼻腔、咽頭から検出された*S.aureus*166株のうちMRSAは60株(36.1%)であり、*S.epidermidis*の多剤耐性化の割合は*S.aureus*とほぼ同率と考えられた。当科で経験したMRSE感染症の臨床例も含め、耐性化の現状について更に検討して報告する。

東北地区で分離された黄色ブドウ球菌の感受性調査成績—1995年および1996年の検討
東北大学加齢医学研究所呼吸器腫瘍研究分野
○菊地暢、庄司聡、渡辺彰、貫和敏博

東北大学医学部第一内科

大野勲、西岡きよ 「東北感染症研究会」

【目的】メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)は院内感染の原因菌として重要である。我々は東北地区における同菌の疫学調査を行ったのでここに報告する。

【対象および方法】1995年7月～11月、1996年8月～11月の2回、東北地区10施設から収集された菌株(95年331株、96年271株)を用い、微量液体希釈法で各種薬剤(95年は15薬剤、96年は16薬剤)に対するMICを測定した。また、β-ラクタマーゼ産生能、コアグラーゼ型別の検討も合わせて行った。

【結果】MRSAの分離頻度は95年55.3%、96年66.1%で、我々が行った過去の調査に比べ増加傾向を示した。特に、外来の分離頻度が95年21.1%、96年35.0%と増加が目立っている。検体別では喀痰からのMRSAの検出数が最も多く認められた。β-ラクタマーゼ産生能はMSSA、MRSAともに70%台で両者に差を認めなかった。コアグラーゼ型別は、MSSAでは各型に分かれて分布しているのに対して、MRSAではほぼII型に集中していた。薬剤感受性の検討では、VCMの全てがMIC 2μg/ml以下で、耐性株は認めなかった。ABKでは95年は全てがMIC 4μg/ml以下であったが、96年は8μg/ml以上の株を2株認めた。各β-ラクタム薬に対しては、ほとんどが耐性であった。カルバペネム薬やOFLXは、少数感受性株を認めたが、ほとんどが耐性株であった。MINOでも感受性株は減少し、いずれの薬剤に対しても耐性化は進んでいた。

【まとめ】東北地区でのMRSAの分離頻度は、外来を中心に増加が目立ってきており、MRSAが院内感染としての性格を持つという従来の傾向に加えて、細菌叢でMRSAが増加してきているものと推測される。また、各薬剤に対する耐性獲得が進んでおり、従来良好な感受性を示したMINO、カルバペネム薬、OFLXでの耐性化が目立ってきた。VCMの抗菌力は安定しているがABKでは耐性菌の出現も認めている。適切な治療のためには、今後も継続した監視が必要と思われる。

当院におけるMRSAの検出状況

神奈川県衛生看護専門学校附属病院
 検査科 辻原佳人、高橋孝行
 内科 桜井 馨、石田裕一郎、松本文夫
 外科 岡部紀生
 小児科 豊田 茂

目的：近年、メチリシリン耐性を示す黄色ブドウ球菌(MRSA)感染症が問題となっている。われわれはMRSAの分離状況および薬剤感受性について検討したので報告する。

材料および方法：1996年1月から1996年12月までの1年間に、当院の臨床材料から分離した菌株のうち原因菌と判断された黄色ブドウ球菌を808株を対象とした。DMPPC、CEZのMIC12.5 μ g/ml以上をMRSAとした。対象薬剤はPMOX、IPM、GM、ABK、TC、MINO、VCM、TEICおよびLVFXなど9薬剤とした。なおMICの測定は日本化学療法学会標準法に準じた。

成績：当院のMRSAの検出株数は102株であった。MIC₉₀値は、VCMは0.78、ABKは0.78、TEICは1.56、MINOは12.5、IPMは50、TCは100、PMOXは100、LVFXは100、GMは ≥ 100 μ g/mlであった。

結果及び考察：今回の検討では、MRSA検出頻度は12.6%であったが、とくに高率に検出された要因として、紹介患者が多く、基礎疾患を有し、抗菌剤無効症例の喀痰、咽頭材料などからの分離菌が多かったことが考えられる。また、MRSAの各薬剤の感受性パターンはVCM(0.2~1.56 μ g/ml)、ABK、TEIC(0.1~3.13 μ g/ml)には耐性がみられなかった。今後も耐性率の動向に注意を払う必要が示された。

当院における血中検出MRSAの各種抗菌薬に対する感受性の変遷

川崎市立川崎病院内科、同薬剤科*、明治薬科大学衛生薬学科**

○小花光夫、坂本幸子**、小林史子*、川嶋一成、松岡康夫、入交昭一郎

【目的】多剤耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)による感染症の頻度は種々の院内感染対策の普及によって一時期よりは減少したものの、いまだに無視できない状況にある。したがってその薬剤感受性の変遷を把握しておくことは治療薬の選択にあたっては非常に重要である。そこで当院におけるMRSAのうち、血液由来株を取り上げてその各種抗菌薬に対する感受性の経年的変化について検討した。

【方法】1988年1月から1996年9月までの間に当院細菌検査室で患者血液から分離された黄色ブドウ球菌中の全てのMRSAについて集計した。薬剤感受性測定法としてはディスク法(Kirby-Bauer法)を用いた。測定に供した抗菌薬はPC、MIPIC、CCL、AMK、EM、IPM/CS、MINO、ST、ABK、CMZ、GM、CLDM、FOM、OFLX、VCMの15種であるが、92年4月以前はPC、ABPC、MIPIC、CEX、AMK、EM、LCM、PIPC、CMZのみである。なお、MRSAの判定はセンチ・ディスクにてMIPIC耐性のものとした。

【成績】上記期間中の血液由来MRSA分離株は総数177株であったが、このうち重複を除いた141株を対象とした。ABK、VCM、STの3剤については全ての分離株が感受性であった。AMKについては88年から93年にかけて感受性株が減少したが、94年からは感受性株が増加していた。IPM/CSについては緩やかに耐性化が進んでいた。MINOは89年までは急激に、93年までは緩やかに感受性株が減少していたが、その後は大きく変動していなかった。GMはばらつきがあるものの、他の抗菌薬に比較して感受性株が多かった。CLDMについては92年以後に実施したが、95年から感受性株が検出され、96年には更に感受性株が増加していた。OFLXは94年までは感受性株が認められたが、95年以後には感受性株は認めなかった。

【結論】MRSAの抗菌薬感受性に関しては一般的にはMINO耐性株およびOFLX耐性株の急激な増加が指摘されている。当院においてはIPM/CS、OFLXに対しては耐性化が進んでいたが、MINOの耐性化には歯止めがかかっていた。95年以後にはAMK、CLDMに対しては感受性株が増加していた。MRSA感染症の治療にあたっては、薬剤感受性の現状を常に把握しておくことが重要である。

黄色ブドウ球菌の変異トポイソメラーゼIVの精製とキノロン剤の阻害活性

第一製薬(株)創薬第一研究所

○田中眞由美、小野寺宜郷、内田洋子、佐藤謙一、
早川勇夫

目的：我々は第43回本学会東日本支部総会において黄色ブドウ球菌 FDA 209-P 由来トポイソメラーゼIVに対するキノロン剤の阻害活性を報告した。今回はさらに変異を有するトポイソメラーゼIVを精製し、これらに対するキノロン剤の阻害活性を測定したので報告する。

方法：部位特異的変異導入によりSer-80(TCC)→Phe(TTC)またはGlu-84(GAA)→Lys(AAA)変異、およびこれらの二重変異を導入したトポイソメラーゼIV サブユニットA 遺伝子 *grlA* を作製した。これらの *grlA*、同部位に変異を有する臨床分離株由来 *grlA* および *grlB* を各々 pMAL-c2(NEB) に接続して構築した発現ベクターを大腸菌 MC1061 に形質転換した。これを対数増殖期まで培養後、IPTG 処理によりマルトース結合蛋白質(MBP)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、超遠心上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 MBP を切断し、デカテネーション活性を測定した。

結果：精製した各種変異 GrlA および GrlB を再構成し、キネトプラスチドDNAを基質として、デカテネーション活性を確認した。この酵素活性に対するキノロン剤の阻害活性を測定した結果、レボフロキサシン、オフロキサシン、DU-6859a、シプロフロキサシン、スパルフロキサシン、トスフロキサシンの単一変異酵素に対する 50% 阻害濃度 (IC₅₀) は、変異を有さない酵素に対する IC₅₀ 値の 8~95倍であり、二重変異酵素に対しては160倍以上であった。即ち、これらの変異がキノロン耐性に関与していることが示唆された。また、臨床分離株の結果より、II型トポイソメラーゼ阻害と抗菌活性との関連を考察する。

段階的に選択されたキノロン耐性黄色ブドウ球菌におけるキノロン耐性機構の解析

杏林製薬(株)中央研究所¹⁾

順天堂大学(医)細菌学²⁾

○福田秀行^{1,2)}、平松啓^{1,2)}

【目的】段階的に選択されたキノロン耐性黄色ブドウ球菌におけるDNA topoisomerase IV (TopoIV) のParC subunitをコードする *grlA* 遺伝子、及びDNA gyrase (Gyrase) のGyrA subunitをコードする *gyrA* 遺伝子の塩基配列を解析することにより、それら変異株のキノロン耐性機構を明らかとした。

【方法】使用キノロン剤：CPFX、NFLX、OFLX、SPFX、TFLX、及びAM-1155。使用菌株：キノロン感受性臨床分離株4株、及びそれらよりキノロン剤によって段階的(第一段から第四段階まで)に選択された耐性変異株。抗菌力の測定：日本化学療法学会標準法。*grlA* 及び *gyrA* 遺伝子のキノロン耐性決定領域の塩基配列の決定：PCR 及びDirect cycle sequencing 法。

【結果及び結論】キノロン剤によって段階的に選択された耐性変異株に対する各種キノロン剤のMICは、その変異の段階が進むに従って上昇した。その上昇の度合いはキノロン剤間で異なり、それぞれ特徴的であった。これらの株における第一段階の変異では *grlA*、第二段階の変異では *gyrA*、第三段階の変異では再び *grlA*、第四段階の変異では再び *gyrA* 遺伝子のキノロン耐性決定領域に点変異が認められ、これら遺伝子の2サイクルに及ぶ交互変異に基づく標的酵素の変異がキノロン耐性の上昇に関与しているものと考えられた。また、これらの遺伝子変異から、キノロン感受性臨床分離株(親株)、その第一段階、第二段階、及び第三段階の耐性変異株におけるキノロン剤の主たる標的酵素は、それぞれ野性型TopoIV、野性型Gyrase、1アミノ酸が置換された変異TopoIV、及び1アミノ酸が置換された変異Gyraseであることが示唆された。

recG 遺伝子のキノロン感受性に与える影響

○仁賀俊幸、伊藤秀明、小寺玲子、吉田博明、
服部宏昭、中村信一
大日本製薬（株）創薬第2研究所

【目的】黄色ブドウ球菌において *recG* 遺伝子を不活化すると、キノロンに感受性化することをわれわれはすでに報告した(第70回細菌学会)。そこで、大腸菌においても、*recG* 遺伝子を破壊するとキノロンに感受性化するかどうかを調べた。また、*recA* 変異の大腸菌は、キノロンに感受性化することが報告されていたので、*recG* 遺伝子破壊株との間で差があるかについても調べた。

【方法】すべて常法に従った。*recA* 変異株は、P1 transductionにより作製した。*recG* 遺伝子破壊株は、truncated *recG* 遺伝子を持つ自殺ベクターを JC1552 株に導入し、single cross overにて *recG* 遺伝子を破壊することによって作製した。

【結果及び考察】*recG* 遺伝子破壊株は、キノロンに親株よりも4倍感受性化していた。この *recG* 遺伝子破壊株に、野生型 *recG* 遺伝子を持つ pBR322 誘導體 (pIN203) を導入すると、キノロン感受性が親株と同じレベルにまで復帰したことから、大腸菌においても、*recG* 遺伝子はキノロン感受性に影響を与える因子の一つであることがわかった。しかし、pIN203を野生株に導入した場合には、キノロンに耐性化しなかったことから、キノロンの耐性化には関与しないと考えられた。一方、*recA* 変異株のキノロン感受性化の程度は2-4倍であり、*recG* 遺伝子破壊株の方がキノロン感受性化の程度が大きい傾向にあった。以上のことより、*recA* 同様 *recG* も、キノロンの細菌致死作用をレスキューする因子の一つであると考えられた。レスキュー効率は *recG* 遺伝子産物の方がより高いことが示唆された。

臨床分離株より見出された *lytM* 遺伝子不活化メチシリン高度耐性 *Staphylococcus aureus* 株

塩野義製薬(株)創薬第一研究所
○藤村享滋、村上和久

【目的】メチシリン中等度耐性 *S. aureus* が、溶菌酵素をコードすると考えられる遺伝子の欠損によって高度耐性化したことを前回の化療総会にて報告し、同遺伝子を *lytM* と命名した。今回は、臨床分離された高度耐性の MRSA 株の中に、実際に *lytM* 遺伝子に変異が生じて高度耐性化した株が存在するか検討した。

【方法】臨床分離された MRSA 株、127 株を用いた。MIC は寒天平板希釈法にて測定した。遺伝子変異の検出は PCR 法で行った。遺伝子塩基配列は、PCR で増幅した DNA 断片をテンプレートとして、dideoxy chain termination 法により決定した。

【結果】臨床分離 MRSA、127 株のメチシリン MIC を測定した結果、70%以上の株は 400 μ g/ml 以上を示す高度耐性株であった。これら 127 株について *lytM* 遺伝子を含む 4.0kb の領域を PCR 法で増幅し検討したところ、メチシリン MIC1600 μ g/ml を示す 1 株において、この領域に 1.8kb の DNA 断片が挿入していた。この挿入断片および挿入部位の塩基配列を解析したところ、挿入配列 IS1182 が *lytM* 遺伝子内に挿入していることが判明した。さらに挿入を受けた部位には重複配列は見られなかったものの、逆繰り返し配列 (inverted repeat sequence) を形成する 22bp が欠失し、それに代わって IS が挿入していた。

【考察】前回報告した *lytM* 遺伝子欠損により高度耐性化した株は、実験室内で取れた変異株であったが、実際に臨床分離株の中にも同遺伝子不活化による高度耐性株が存在することが示唆された。ただし今回得られた臨床分離高度耐性株では、*lytM* 欠損変異株とは異なり、IS1182 の挿入により *lytM* が不活化した。

大腸菌由来のマクロライド 2⁺-リン酸化酵素
産生遺伝子のグラム陽性菌での発現

東京薬科大学第2微生物学教室
○野口雅久、片山 稔、田村康伸

【目的】マクロライド系抗生剤(ML)は、主にブドウ球菌のようなグラム陽性菌に対して抗菌活性を示す。ところが、MLを不活化するML 2⁺-リン酸化酵素MPH(2⁺)はMLに対する感受性が低い大腸菌から発見されている。我々は、MPH(2⁺)I産生遺伝子 $mphA$ ¹⁾とMPH(2⁺)II産生遺伝子 $mphB$ ²⁾をクローニングし、それらのDNA塩基配列から、 $mphA$ と $mphB$ は大腸菌以外の遺伝子であることを推定した。そこで、グラム陽性菌における $mphA$ と $mphB$ の遺伝子発現について検討した。

【方法】使用菌株：*E. coli* JM109 (pTZ351)、*E. coli* MV1184 (pTZ3716)、*B. subtilis* BR151、*S. aureus* RN2677および*B. subtilis*のベクターとしてpUB110の誘導体を用いた。DNA操作：常法に従って行った。*B. subtilis*と*S. aureus*の形質転換は、各々、competent cell法とelectroporation法により行った。MPH(2⁺)活性：超音波破碎上清を粗酵素として用い、bioassayにより測定した。MIC：寒天希釈法により測定した。

【結果および考察】 $mphA$ を持つpTZ351と $mphB$ を持つpTZ3716の mph 遺伝子領域をグラム陽性菌のベクターpUB110誘導体に挿入し、各々、pTZ3520とpTZ3732を*B. subtilis*において構築した。これらのプラスミドを*S. aureus*に導入して、MICとMPH活性を測定した。その結果、 $mphA$ をコードするpTZ3520を持つ*S. aureus*は、ML感受性を示し、MPH活性も検出されなかった。しかし、 $mphB$ をコードするpTZ3732を持つ*S. aureus*は、MLに対するMICの上昇とMPH活性が検出された。したがって、大腸菌由来のMPH(2⁺)II産生遺伝子 $mphB$ は、ブドウ球菌のようなグラム陽性菌でも発現することが明らかとなった。この結果は、グラム陽性菌におけるMPH(2⁺)産生ML耐性菌の出現を示唆している。

¹⁾ A. A. C., 39, 2359-2363 (1995)

²⁾ FEMS Microbiol. Lett., 144, 197-202 (1996)

PZFX作用時に得られた*S. aureus*
微小コロニーの性状(第2報)

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
○満山順¹⁾ 山田 尚¹⁾ 前花淳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⁾

【目的】我々は*S. aureus*にpazufloxacin(PZFX)作用時に親株と形態が同じ株(large colony variant : LCV)と、発育が遅い微小コロニー形成株(small colony variant : SCV)が出現することを報告している。

今回、このSCVの性状を同様の現象が知られているarbekacin(ABK)のSCVと比較したので報告する。

【方法】*S. aureus* SA113に1/4~4MICのPZFX、ABKを作用させSCVの出現について調べた。PZFX、ABKをそれぞれ作用させて得たSCVのTR・24、ABR・8の細胞表層疎水性をRosenbergの方法に従い、菌懸濁液のn-オクタン・水相分配法により調べた。またSCVからLCVへの復帰はAcarらの方法に従い、SCVを塗布したMueller-Hinton寒天平板上に、SCVをLCVに復帰させることが知られているヘミン、メナジオン、チアミンを含むペーパーディスクを置き、培養後に出現したsatellite growthの有無により調べた。

【結果及び考察】SCVはABKの1、4MICおよびPZFXの1MICで出現し、PZFXではABKに比べSCVの出現濃度域が狭かった。ABR・8の細胞表層疎水性はSA113と同程度であったが、TR・24では親株に比べ上昇していた。

また、TR・24はヘミン、メナジオン、チアミン存在下でLCVに復帰しなかったが、ABR・8はヘミン存在下でLCVに復帰した。

以上、PZFX作用時より得られたSCVはABK作用時より得られたものと性状が異なっていた。上記以外の性状についても検討中であるので併せて報告する予定である。

腸管出血性大腸菌 (*E. coli* O157) の薬剤感受性

山口大学医学部附属病院薬剤部

○尾家重治、神谷 晃

〔目的〕

腸管出血性大腸菌 (*E. coli* O157) の薬剤感受性について検討した。

〔方法〕

供試菌株として山口県下で1996年6~7月に患者から分離した計6株を、また供試薬剤として大腸部への高濃度到達が期待できる計7薬剤を用いた。最小発育阻止濃度 (MIC) および最小殺菌濃度 (MBC) の測定を、液体培地希釈法により行った。一方、 10^4 colony forming units/ml の *E. coli* O157 1株に対する殺滅時間の測定を、メンブランフィルター法を用いて行った。

〔結果〕

シプロフロキサシン、ポリミキシンB、セフォペラゾン、およびカナマイシンのMICおよびMBCは、いずれの株に対しても $6.25 \mu\text{g/ml}$ 以下であった。しかし、ホスホマイシンのMICは $3.13 \sim 100 \mu\text{g/ml}$ 、またMBCは $100 \mu\text{g/ml}$ 以上であった。また、アンピシリンおよびテトラサイクリンでは、MICが $100 \mu\text{g/ml}$ 以上の株が存在した。

一方、殺滅時間の検討では、シプロフロキサシンで10分間以内、ポリミキシンBで30分間以内、セフォペラゾンで4時間以内、またカナマイシンで16時間以内に殺滅が得られた。

〔結論〕

本結果ならびに大腸菌に対する各薬剤の耐性化率などから勘案すると、*E. coli* O157 に有効な薬剤として、ニューキノロン系で消化管吸収率が低く、大腸部への高濃度到達が期待できる薬剤 (シプロフロキサシン、ノルフロキサシンなど) があげられる。また、経口投与が行えない場合の注射剤として、胆汁排泄型セフェム系抗生物質 (セフォペラゾン、セフトリアキソン、セフォタンなど) があげられる。

O-157を含む感染性腸炎起炎菌の薬剤感受性パターン

東京総合臨床検査センター 研究部¹⁾、同検査第二部 (細菌部門)²⁾

○出口浩一¹⁾、鈴木由美子¹⁾、石井由紀子¹⁾、石原理加¹⁾、中澤ありさ¹⁾、松本好弘²⁾、西成千里²⁾、中根 豊²⁾

【目的】O-157・H7等のVTEC感染症が問題にされているが、実際診療の場においては多種類の病原菌による感染性腸炎の治療方法も関心事の一つである。そこで我々はO-157を含む主な感染性腸炎の起炎菌を対象にして、薬剤感受性パターンを検討した。【方法】1996年に当所が全国の医療機関から収集又は患者臨床材料から検出したVTEC10株 (O-157・H7 8株、O-26・H11及びO-111・H(-)各々1株、いずれの株もVT産生株)、*Salmonella* spp., *V. parahaemolyticus*, *C. jejuni* subsp. *jejuni* 各々10株 (計40株) の薬剤感受性を本学会標準法の寒天平板希釈法 (10^6 CFU/ml接種) により、VTECと *Salmonella* spp. は好気条件と嫌気条件、*V. parahaemolyticus* は好気条件、*C. jejuni* subsp. *jejuni* は H_2 85%, CO_2 10%, O_2 5%条件下にてMICを測定した。MIC測定薬剤はCP, TC, MINO, KM, NFLX, FOM, ABPC, CCLである。【結果】好気条件下と微好気条件下で測定した結果を以下に示した。

| Antibacterial agent | MIC-Range ($\mu\text{g/ml}$) | | | |
|---------------------|--------------------------------|------------------------|----------------------------|---------------------|
| | VTEC | <i>Salmonella</i> spp. | <i>V. parahaemolyticus</i> | <i>C. jejuni</i> |
| CP | 1.56 ~ 3.13 | 0.78 ~ 3.13 | 0.39 ~ 1.56 | ≤ 0.025 ~ 1.56 |
| TC | 3.13 ~ >100 | 3.13 ~ >100 | 0.78 ~ 3.13 | 0.1 ~ >100 |
| MINO | 3.13 ~ 12.5 | 3.13 ~ 12.5 | 0.39 ~ 1.56 | 0.05 ~ 12.5 |
| KM | 3.13 ~ 6.25 | 1.56 ~ 6.25 | 6.25 ~ 100 | 3.13 ~ 12.5 |
| NFLX | ≤ 0.025 ~ 0.2 | ≤ 0.025 ~ 0.1 | 1.56 ~ 6.25 | ≤ 0.025 ~ 25 |
| FOM | 3.13 ~ 25 | 3.13 ~ 12.5 | 6.25 ~ 25 | 0.78 ~ 25 |
| ABPC | 3.13 ~ >100 | 1.56 ~ 3.13 | 12.5 ~ 50 | 12.5 ~ >100 |
| CCL | 3.13 ~ 25 | 1.56 ~ 3.13 | 6.25 ~ 50 | 25 ~ 100 |

【考察】VTEC及び *Salmonella* spp. に対する嫌気条件下のMICはCPとTCは1~2管、FOMは2~3管低下したが、KMは3~4管上昇していた。4種類の起炎菌に対するMIC-Rangeは薬剤間に差があり、感染性腸炎における除菌を目的としたEmpiric therapyにおいては、上記を考慮することも大切である。尚、発表においては更に株数を増やして解析する予定である。

各地で分離された腸管出血性大腸菌(1996年株)の
薬剤感受性動向と耐性菌対策

国立国際医療センター研究所

○山本達男、脇阪紀子、竹田美文

【目的】腸管出血性大腸菌(enterohemorrhagic *Escherichia coli*)は食中毒(指定伝染病)の原因菌で、経口的に摂取されると回腸下部から結腸に定着、水様下痢や腸管出血性大腸炎などの腹部症状を惹起し、この後さらにペロ毒素による全身の微小血管障害(HUS)などを引き起こす。EHECによる初期感染の治療には抗菌剤を用いた化学療法が有効であると考えられている。本研究では昨年日本各地で分離されたEHEC(各血清型)の薬剤感受性を調べ、耐性菌出現の動向を解析、その対策を検討した。

【材料と方法】EHEC株:1996年に18都道府県で分離された合計192株を用いた。抗菌剤: fosfomycin、aminoglycoside系抗菌剤、macrolide系抗菌剤、lincomycin/clindamycin、quinolone系抗菌剤、 β -lactam系抗菌剤、tetracycline系抗菌剤、その他の合計42薬剤を使用した。最小発育阻止濃度(MIC)の測定:日本化学療法学会標準法に準じて、寒天希釈法により測定した。

【結果】Fosfomycin:血清または血液を加えた培地で最も高い感受性(MIC₉₀ 2 μ g/ml)が得られた。血清(血液)がある場合とない場合で異なった耐性型が存在した。Aminoglycoside系薬剤:kanamycinに対するMIC₉₀値は2 μ g/mlであった。耐性が1.6%存在した。Dibekacin、amikacin、arbakacinには感受性であった。Quinolone系薬剤:norfloxacinのMIC₉₀値は0.13 μ g/mlであった。Tetracycline系薬剤:tetracycline耐性が、血清型O157で7.7%、その他の血清型で45.5%見いだされた。Tetracycline、minocyclineのMIC₉₀値は共に2 μ g/mlであった。Macrolide系薬剤:azithromycinで最も高い感受性値が得られた(MIC₉₀ 8 μ g/ml)。 β -lactam系薬剤:ampicillin耐性が6.8%存在した。第三世代cephemに対しては感受性であった。

【結論】Fosfomycin耐性、kanamycin耐性、その他の薬剤耐性の出現を確認した。また、分離地域あるいはEHECの血清型によって耐性パターンが異なる場合があった。腸管から吸収されにくいcephemの経口投与など薬剤の新しい使用方法についても基礎の立場から提案したい。

腸管出血性大腸菌O157感染症の治療と抗生物質

○伊藤輝代、森那美子、村上博子、平松啓一
順天堂大学・医学部・細菌学教室

【目的】腸管出血性大腸菌(EHEC)感染症への抗生物質投与に関しては、有効とする報告と疑問視する報告があり結論が出されていない。我々はEHEC感染症患者に投与する妥当な抗菌剤を明らかにする目的でEHECに対する抗生物質の作用と毒素の放出との関係を検討した。

【方法】腸管出血性大腸菌O157,TT10株(VT1,VT2産生)に各種薬剤を添加し、37Cにて一定時間培養後の残存生菌数及び培地中に存在するVT1及びVT2の測定を行った。ペロ毒素の定量には逆受身ラテックス凝集反応による大腸菌ペロトキシン検出用キットを使用した。EHEC株は国立小児医療センター、東京都立衛生研究所より御分与頂いた。

【結果および考察】10⁸/mlの菌に各種薬剤(0.25-256 μ g/ml)を加え2時間後に残存生菌数と遊離VT量を測定した場合、細胞壁阻害剤であるABPC, CCL, CFDN, FOMでは殺菌に伴ってVT1及びVT2が菌体より遊離した。キノロン系薬剤(LFLX, SPFX, FLRX, OFLX, LVFX, ENX, TFLX, NFLX, CPMX, NA, PPA)の場合にはニューキノロン、オールドキノロンともに、0.25-4 μ g/mlの低濃度側でVT2の遊離が見られた。キノロン系薬剤を作用させた場合のVT2の遊離は時間経過とともに増加し、薬剤の存在下で毒素産生が誘導されることが示唆された。今後、これら抗生物質作用時の菌体より放出された毒素の培養Vero細胞に対する作用も検討する予定である。これに対して蛋白合成阻害剤であるKM, MINO, DOXY, TCの場合にはVT1, VT2ともに、殆ど培地中に遊離されなかった。また、10⁷/mlの菌に各種濃度のKM, MINOを加え4時間培養した場合に、菌が殆ど殺菌されない濃度に於いてもVT産生の抑制が見られた。従ってEHEC感染症を疑われる患者に投与する抗生物質としては、KM, MINO等の蛋白合成阻害剤が最も適当と考えられる。

抗菌薬によるVTECのVero毒素産生抑制効果

大分医科大学第二内科、同検査部*

○平井一弘、村上純子、岸 建志、竹岡香織、
平松和史、山形英司、山崎 透*、永井寛之、
橋本敦郎、那須 勝

【目的】Vero Toxin producing *E. coli* (VTEC)による腸管出血性大腸炎の治療に抗菌薬を投与するか否かということが臨床では問題である。OFLXやFOMを作用させるとVTECは、大量にVT(Vero Toxin)を放出する。今回我々は、臨床分離されたVTEC O-157株を用い、*in vitro*にてマクロライド薬およびCLDMがsubMIC下で、VTECのVT産生・放出を抑制することを観察し、さらにこの薬剤剤での抑制効果について比較検討したので報告する。

【方法】臨床分離株SS812(O-157:H7 VT1、VT2産生)を用い、sub-MICの各種抗菌薬を加えた液体培地内にて一定時間培養し、培養上清を菌体外放出毒素のサンプルとして採取した。また、菌を破壊し、菌体内産生毒素のサンプルとした。これらのサンプルを、Vero細胞変性試験及びラテックス凝集反応用いて、VTの濃度を測定した。

【結果】薬剤を加えないで培養したコントロール群では、上清中にかなりの濃度のVT活性が認められた。さらに菌体を破壊すると、VTが放出されることが確認された。抗菌薬を一定時間作用させると、VTECの生菌曲線はコントロール群と比較して有意な変化は認められなかったが、上清中に放出されるVTの量は抑制された。さらに、破壊することによって放出されるVTは減少していた。

【考察・結語】各種抗菌薬がVTECのVT産生を抑制することが観察された。殺菌効果が期待できない低濃度で抗菌薬によってVT産生が抑制されるため、殺菌的な抗菌薬との併用を行うことが、VTECの効果的除菌の一方法として考えられる。

VTECに対する殺菌的抗菌薬のVT放出量の比較検討

大分医科大学第二内科 同検査部*

○村上純子、岸 建志、竹岡香織、辛島礼子、
平井一弘、山崎 透*、永井寛之、橋本敦郎、
那須 勝

【目的】Vero Toxin producing *E. Coli*(VTEC)の産生するVero Toxin(VT)は出血性大腸炎や溶血性尿毒症候群(HUS)の原因物質として知られている。VTECに対して、ニューキノロン薬やFOMは極めて高い抗菌作用を有するが、反面VTの高い放出を助長するといわれている。ところが、セフェム系抗菌薬については十分な抗菌活性を有するにも関わらず、HUSの発生頻度が低いとされている。今回、15員環のマクロライド薬であるAZM、アミノグリコシド系のKM、テトラサイクリン系のMINO、ニューキノロン薬、セフェム系抗菌薬とのVT放出の差を比較検討したので報告する。

【方法】臨床分離株*E. coli*SS812(O157:H7、VT1、VT2 positive)を用いた。Mueller-Hinton broth内にて培養後、抗菌薬を加えて経時的に、その菌液上清中のVero毒素濃度を測定し、比較検討した。濃度測定は、Vero細胞変性試験およびラテックス凝集反応を用いた。

【結果】生菌曲線を描いてみると、各抗菌薬間で多少の殺菌速度の差異が認められた。

VTの培養上清中への放出量は各抗菌薬間でかなりの開きが観察され、AZMは低い値であった。

【考察】今回使用した抗菌薬は、臨床分離株*E. coli*SS812に対して、殺菌速度の程度の差は認められるものすべて良好な抗菌活性を有した。しかし、培養上清中に放出されるVTの量には、かなりの差が認められた。このことはVTEC感染性腸炎の治療には、抗菌力だけでなく、HUS予防の観点からもVT産生性の低い抗菌薬を選択する必要があることが示唆された。

腸管出血性大腸菌のベロ毒素およびエンドトキシン遊離能に及ぼすFosfomycinの影響について

長崎大学医学部臨床検査医学¹⁾、同 第二内科²⁾
 ○泉川公一¹⁾、山口敏行¹⁾、松田淳一¹⁾、餅田親子¹⁾
 平潟洋一¹⁾、朝野和典²⁾、古賀宏延²⁾、田代隆良²⁾、
 河野 茂²⁾、上平 憲¹⁾

【目的】腸管出血性大腸菌感染症において抗菌剤投与の是非についてはベロ毒素の遊離を助長する可能性などからはっきりしたコンセンサスが得られていない。そこでわれわれは腸管出血性大腸菌のベロ毒素およびエンドトキシン遊離能に及ぼすfosfomycinの影響を検討した。

【方法】VT1およびVT2産生性を有する臨床分離大腸菌O157を 1×10^8 CFU/mlに調整しMuller Hinton Brothにて振盪培養し培養開始後、0、1、3、6時間後に1、10、100MICのfosfomycinを投与、それぞれ2時間後に培養上清を採取した。逆受身ラテックス凝集反応によりベロ毒素を検出、さらに発色合成基質を用いた比色定量法にてエンドトキシンの定量を行った。

【結果】高濃度のfosfomycinでは培養開始0時間に加えた場合でもVT1が検出され、培養開始3時間後に添加するとVT2も検出されるようになりfosfomycin添加までの培養時間に依存的にその量は増加した。また、control、1MICにおいては培養開始6時間後に添加した群においてはじめてVT1およびVT2が検出された。エンドトキシンについては培養開始0、1時間後に添加した群においては増加傾向にあるものの有意な差を認めなかった。しかしながら、培養開始3時間後に添加した群においては著明な上昇をしめた。

【結論】高濃度のfosfomycinはVT1遊離能を高めた。エンドトキシンについては少なくとも3時間培養した群においてはその遊離能は高かった。今後、cytokine誘導能などもあわせて更なる検討が必要と思われる。

腸管出血性大腸菌のベロ毒素産生性に与える抗菌薬の影響について

1) 千葉大学医学部附属病院検査部
 2) 千葉大学医学部臨床検査医学講座
 ○村田正太¹⁾ 久保勢津子¹⁾ 菅野治重²⁾

【目的】腸管出血性大腸菌O157:H7に対する抗菌薬の影響を生菌数とベロ毒素(VT)産生量から検討した。

【方法と材料】千葉県衛生研究所から分与された*Escherichia coli* O157:H7の2株(CEC9128、CEC9614)を用いた。CEC9128はVT2を産生、CEC9614はVT1とVT2を産生する。実験1：培養時間による培養上清中のVT産生量の測定。実験2：培養菌に抗菌薬を作用させたときの生菌数とVT産生量の経時変化。尚、培養にはTSB(Difco)、VTの測定は大腸菌ベロトキシン検出用キット(デンカ生研)を使用した。

【結果】実験1においてCEC9128は培養6時間後でVT2価陰性、24時間後ではVT2:×8、48時間後ではVT2:×8であった。CEC9614は培養6時間後でVT1:陰性 VT2:×2、24時間後ではVT1:×8 VT2:×8、48時間後ではVT1:×32 VT2:×16であった。実験2では実験1の成績から48時間培養菌に抗菌薬最終濃度 $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ になる様に添加し、1時間、3時間、24時間後に培養上清中の残存生菌数とVT価を3重測定した結果、CEC9128を48時間TSBに培養した菌液に各抗菌薬を作用させた場合の生菌数とVT価は、抗菌薬無添加の対照の 1.5×10^8 CFU/ml.VT2:×10.08に比してMINO添加では 6×10^7 CFU/ml.VT2:×1.59、OFLX; 3×10^8 CFU/ml.VT2:×1.59、CFDN; 6.8×10^8 CFU/ml.VT2:×2、FOM; 6.2×10^7 CFU/ml.VT2:×2.52、ABPC; 1.6×10^8 CFU/ml.VT2:×8であった。CEC9614では同様に、対照の 2.6×10^8 CFU/ml.VT1:×101.59 VT2:×50.8に比してMINO; 1.5×10^8 CFU/ml.VT1:×20.16 VT2:×10.8、OFLX; 1.2×10^8 CFU/ml.VT1:×25.4 VT2:×16、CFDN; 9.2×10^8 CFU/ml.VT1:×50.8 VT2:×16、ABPC; 9.1×10^8 CFU/ml.VT1:×50.8 VT2:×20.16、FOM; 4.9×10^7 CFU/ml.VT1:×50.8 VT2:×20.16であった。

【結論】48時間培養菌に抗菌薬を作用させた場合、対照に比してVT産生量が押さえられ、特にMINO、OFLXの効果が強かった。

謝辞 今回検討の分離株を分与して頂いた千葉県衛生研究所の内村真佐子先生に深謝致します。

緑膿菌 biofilm の glycoalyx 簡易定量と
電顕的観察 — 増殖速度の影響 —

広島大学医学部泌尿器科

○田中 学, 繁田正信, 碓井 亜

広島大学医学部口腔細菌学

小松澤均, 菅井基行, 杉中秀壽

【目的】増殖速度を調節可能な biofilm 形成緑膿菌を用いて, glycoalyx 簡易定量と電顕的観察を行った。

【方法】菌は臨床分離 *P. aeruginosa* 4586 株から得られた leucine 要求性突然変異株 HU 1 を用いた。前培養した HU 1 を 37℃ で 2 時間セルデスクに付着後, 各濃度の leucine (10^{-2} ~ 10^2 mg/l) を添加した minimum medium (MM+L0.01 ~ MM+L100) 中に移し, 8 時間毎に培地を交換し, 5 日間培養した。biofilm 中の生菌数はセルデスクを sonication 後に CFU 法で 24 時間毎に行い, glycoalyx 簡易定量は小野 (日泌尿会誌 86: 1440, 1995) の方法に準じて, セルデスクのトルイジンブルー反応量として 590nm の吸光度を測定し, 既知量の glycoalyx として gellan gum の重量に換算した。また, 3% グルタルアルデヒドを固定液とし, 走査型電子顕微鏡による観察を行った。

【結果】セルデスクに形成された biofilm 中の生菌数は, MM+L0.01 では菌の増殖を認めず, MM+L0.1 ではほぼ直線的に増殖, MM+L100 では day 3 まで急激に, 以後は緩やかに増殖した。セルデスク 1 枚あたりの glycoalyx 量は, MM+L0.01 では測定感度以下, MM+L100 では L0.1 よりも増加が大きく, day 5 は 10^{-4} g となった。電顕像では各培地とも glycoalyx は経時的に増加傾向を認めたが, leucine 濃度が高いほど glycoalyx 産生が顕著で強固な biofilm が観察された。
【結論】緑膿菌 biofilm の増殖速度を調節した場合の生菌数の変化は, glycoalyx 簡易定量と電顕的観察の結果と矛盾しなかった。

会員外共同研究者: 第一製薬(株) 石井良和

経尿道的膀胱内異物留置法による緑膿菌性ラット尿路
感染症モデルに対するキノロン剤の治療効果の解析

第一製薬(株)・創薬第一研究所

○ 黒坂勇一, 石田佳久, 大島千晶, 大谷 剛

岡山大学医学部泌尿器科学教室

公文裕巳

【目的】我々は、螺旋形に加工したポリエチレンチューブ (PT) を経尿道的にラット膀胱内に留置し、PT 表面におけるバイオフィーム形成により感染の遷延化が認められる緑膿菌性複雑性尿路感染症モデルを確立した。昨年の本学会で、キノロン剤の LVFX は本モデルにおいて優れた治療効果を示すが、アミノ配糖体の GM は無効であることを報告した。今回、本モデルにおける両剤の作用を解析するとともに、キノロン剤間の治療効果を比較した。

【材料および方法】菌株: 緑膿菌 910735 株 (尿路感染症由来, MIC: LVFX; 0.39 μ g/ml, GM: 1.56, DU-6859a: 0.05, CFX: 0.10) を用いた。感染モデル: 螺旋形 PT を Crj:CD(SD) IGS 系雌ラットの膀胱内に経尿道的に留置し、尿道常在菌の関与を防ぐ目的で飲水中に ABPC を添加した。留置 4 日後、供試菌を経尿道的に膀胱内に接種 (5×10^6 CFU) し、尿道口を 4 時間閉塞した。薬剤: 感染 2 日後から、キノロン剤は経口投与し、GM は 30 分間点滴静脈内投与した。

【結果】①緑膿菌は、LVFX 投与後数時間以内に腎、膀胱および PT よりほぼ除菌された。GM 投与後にも腎および膀胱内菌数は一過性に減少したが、GM は PT 上のバイオフィーム菌には無効で、膀胱では 6 時間後、腎では翌日より接種菌の再増殖が認められた。②DU-6859a は優れた治療効果を示したが、CFX は無効で、キノロン剤間の治療効果に差を認めた。③LVFX、DU-6859a は、CFX を凌ぐ経口吸収性および尿中排泄率を示した。GM は極めて高い腎移行性および尿中排泄率を示した。

【考察】今回の成績より、本モデルでの緑膿菌感染症の治療には PT 上のバイオフィーム菌の除去が必須であり、キノロン剤であっても十分な尿中濃度の達成が必要であることが示された。尿道カテーテル留置に随伴するバイオフィーム感染症としての尿路感染症の治療薬には、LVFX および DU-6859a で示されたバイオフィーム菌に対する高い抗菌活性と優れた体内動態が重要であることが示唆された。

会員外共同研究者: 第一製薬(株)・創薬第一研究所

高瀬浩之, 似内弘伸, 村上要一, 西田里織

実験的マウス腎盂腎炎時の腎盂粘膜における炎症性サイトカインの検出

札幌医科大学医学部 泌尿器科

○横尾彰文、広瀬崇興、堀田 裕、国島康晴、塚本泰司

【目的】尿路感染症患者における高い尿中サイトカインの存在や尿路粘膜上皮細胞のサイトカイン産生能が明らかにされ、尿路における粘膜免疫の存在が注目されつつある。しかし、炎症性サイトカインの動態を含め、尿路における粘膜免疫には不明な点が多い。我々はこれまで、マウス腎盂粘膜に非感染時からリンパ球(IEL)が存在し、これらの細胞が免疫応答を調節していることに関して報告してきた。今回は腎における粘膜免疫をより明らかにするため、実験的腎盂腎炎において経時的に腎盂、腎杯のみを分離し、炎症性サイトカインの動態を検討した。

【方法】マウスに大腸菌による上行性腎盂腎炎を発症させ、非感染時、感染後0.5, 1, 2, 4, 6, 12, 24時間目に腎内細菌数が注入菌数以上を示す検体から実体顕微鏡下に腎盂、腎杯を分離して各種炎症性サイトカインmRNAをRT-PCRにて検出し、免疫関連細胞の浸潤過程との関係を検討した。

【結果と考察】免疫組織染色にて、感染局所での免疫関連細胞の浸潤が明らかでない感染後0.5時間目に腎盂、腎杯からIFN- γ , TNF- α mRNAが検出された。腎盂、腎杯粘膜には非感染時より粘膜内にIEL、粘膜下にマクロファージが存在し、これらの細胞は消化管粘膜では粘膜関連リンパ組織(MALT)を形成して局所の粘膜免疫を司っている。従って、腎盂粘膜においてもMALT様機能が存在し、細菌に対する粘膜免疫として、IFN- γ , TNF- α を産生している可能性が示唆された。

*Chlamydia trachomatis*のラット前立腺における病原性について

神戸大学医学部泌尿器科

○荒川創一、田中一志、中野雄造、李 勝、樋口彰宏、松井 隆、中田勝久、守殿貞夫

(目的) *Chlamydia trachomatis*がヒトにおいて前立腺炎を起こすか否かには、未だ議論がある。その基礎的研究として、ラット前立腺に対する*C.trachomatis*の病原性を検討し、本微生物の前立腺炎における役割を考察した。

(方法) 実験動物として、ウイスター系雄ラットを用い、ネブタール麻酔下に前立腺を露出し、*C.trachomatis* D/UW-3/Cx(ヒト由来株)または*C.trachomatis* MoPn(マウス由来株)を 1×10^{10} IFU直接接種した。接種後3, 7, 10, 14, 21, 28, 35および42日目に抗体価測定用に心臓採血した後、前立腺を摘出、*C.trachomatis*の回収を行うとともに、病理組織学的検索に供した。血清中の抗クラミジア抗体価はIgM, IgA, IgGそれぞれにつきMFA法にて測定した。

(結果) ヒト由来株：接種後3~10日目のラット前立腺から*C.trachomatis*が回収されたが、14日目以降には、被検全ラットで*C.trachomatis*は陰性化していた。病理組織学的に、3~14日目には好中球浸潤を伴う化膿性前立腺炎の像が、21日目以降はリンパ球と形質細胞の間質への浸潤を認めた。炎症所見は経口的に軽度となっていた。血清中の抗クラミジア抗体価は、IgMは7~10日目にピークとなり以後速やかに低下、IgAは21日目にピークを示し以後緩やかに下降、IgGは21~28日目にピークでその後も高値を維持していた。マウス由来株：接種後35日目までの長期にわたり*C.trachomatis*が回収された。病理組織学的には、28日目まで好中球の浸潤を伴う化膿性前立腺炎像がみられ、35~42日目にはリンパ球と形質細胞の集簇と一部に膿瘍形成を伴う慢性炎症像が認められた。

(結論) 以上の実験成績から、*C.trachomatis*はマウス前立腺に病原性をもつと考えられた。今後さらに治療実験を行い、その成績を含め報告する予定である。

*Haemophilus influenzae*によるマウス肺炎モデルの確立と抗生剤の治療効果

日本グラクソ株式会社 筑波研究所

○田村 忍、福田一郎

東邦大学医学部微生物学教室

宮崎修一、山口恵三

【目的】*Haemophilus influenzae*はヒト肺炎の重要な起炎菌の一つである。また、近年、老人や免疫不全患者における本菌性肺炎が増加傾向にある。そこで、我々は cyclophosphamide(CY)により白血球減少を惹起したマウスを用い、*H. influenzae*肺炎モデルを作製した。さらに本モデルを用い抗生剤の治療効果を検討した。

【方法】動物は3週齢 ICR 系マウスを使用した。菌株は臨床分離 *H.influenzae* 血清型 nontypable および type b を使用した。菌接種4日前にマウスにCYを投与し白血球減少を惹起し、麻酔下経鼻的に菌を感染させた。さらに、5日おきにCYを追加投与した。感染後、適時肺を摘出し生菌数を測定し、併せて病理組織学的検討も行った。また、感染後 ceftazidime (CAZ)を投与し、肺内菌数におよぼす効果を調べた。

【結果および考察】3週齢マウスは4週齢マウスに比べ *H.influenzae* に対し感受性が高かった。また、CYを初回投与 300mg/kg、追加投与 200mg/kg とし、*H.influenzae* (nontypable)を約 10^6 CFU/肺となるようマウスに接種した場合、肺内菌数は感染2日後に 10^5 CFU/肺、4日後に 10^6 CFU/肺、8日後には 10^8 CFU/肺に達した。また、感染20日後においても 10^7 CFU/肺の菌が検出された。本モデルを用いCAZによる治療効果を検討したところ、投与量に依存した治療効果が認められた。

従来法とCBO法によるインフルエンザ菌感染マウスに対する治療効果の比較

東邦大学医学部微生物学教室

○宮崎修一、上門春樹、松本哲哉、古谷信彦、館田一博、山口恵三

【目的】*Haemophilus influenzae*は呼吸器感染症の主要原因菌の一つであるが、本菌種による呼吸器感染モデルは確立していなかった。したがって、抗生剤のin vivo評価はマウス全身感染モデルでのED₅₀値の測定や感染後呼吸器系組織からの菌のクリアランスの程度を相対比較する方法で検討されてきた。教室では細胞に付着・侵入した細菌を感染菌とすることにより、ヒトの感染症に類似したマウス気管支肺炎モデルを作成した。このモデルと従来法での*H. influenzae*に対する抗生剤のin vivo活性を比較した。

【材料と方法】菌株は*H. influenzae* TUM8を用いた。抗生剤はcefclinnir, cefditoren-pivoxil, sparfloxacin, tosufloxacin, imipenem/cilastatin, ampicillinを用いた。従来法では感染3時間目と23時間目に各抗生剤(10mg/kg)を投与し、CBO法では感染後40時間目より1.25mg/kgを1日2回3日間連続投与し、肺内残存生菌数を調べた。

【結果および考察】従来法では抗生剤を投与していないにもかかわらず、マウス肺の残存生菌数は経時的に減少した。しかし、CBO法では無投与群の肺内生菌数はほぼ一定かやや増加していた。imipenem/cilastatin投与群において、従来法では感染44時間後には全マウス肺の生菌数は検出限界以下となっていた。一方、CBO法では経目的に生菌数は減少したが、その程度には個体差がみられた。また、ampicillin投与群においても、同様な成績が得られた。ニューキノロン系のsparfloxacin, tosufloxacin投与群において、sparfloxacin投与群では2つの方法での治療効果が一致したが、tosufloxacin投与群では従来のin vivo評価系では治療効果が認められたが、CBO法では治療効果を認めなかった。このCBO法と従来法での成績の不一致について解析し、その成績も報告する予定である。

気管支内留置モデルを用いた慢性気道感染症の解析

— 緑膿菌の耐性化についての解析 —

長崎大学第二内科

○朝野和典、柳原克紀、沢井豊光、大野秀明、山本善裕、小川和彦、平瀧洋一、前崎繁文、門田淳一、古賀宏延、田代隆良、河野 茂、

【目的】我々は新しい慢性気道感染症モデルである気管支内留置モデルを開発した。本モデルは1年以上の長期に亘り緑膿菌感染を持続でき、また組織学的にも臨床における慢性気道感染症の組織と極めて類似するものであった。本モデルを用いることで抗菌薬の *in vivo* における長期的な効果ならびに耐性化を検討することが可能となった。今回は抗緑膿菌性セフェム系抗菌薬とカルバペネム系抗菌薬の効果ならびに耐性化に及ぼす影響を *in vivo* において検討した。

【材料および方法】 ddY系、SPF、雄、7週齢マウスを用いた菌株として喀痰から分離された緑膿菌ムコイド株NUS10を用いた。プラスチック製の静脈留置用カテーテルを3mmに切断し、緑膿菌を浮遊させた生理食塩水に72時間浸すことで、菌を付着させた。このチューブを十分麻酔したマウス気管支内に挿入しそのまま留置することで慢性気道感染症モデルを作製した。このモデルを用いてCAZ、CPR、CZOP、CFPM、IPM/CS、BIPM(L-627)による治療実験を行い、治療効果ならびに緑膿菌の耐性化を進めるかどうかについて検討を行った。

【結果および考察】 抗緑膿菌セフェム系抗菌薬は100mg/kgの投与量で有意な細菌学的効果が認められたが、4薬剤ともほぼ同じ頻度で耐性を誘導し、薬剤間で差異はなかった。この結果にカルバペネム系抗菌薬における検討も加えて報告する。

A/Jマウスを用いたレジオネラ肺炎の発症病態および治療法に関する検討

東邦大学医学部微生物学教室

○館田一博、松本哲哉、古谷信彦、石井良和、金子康子、大野 章、宮崎修一、山口恵三

【目的】レジオネラは細胞内寄生性を特徴とするグラム陰性桿菌である。本菌は生体内ではマクロファージ系の細胞に食食されるものの、細胞内で増殖しその病原性を発揮する。本菌感染症に対してIFN- γ が重要な感染防御因子として機能していることが知られているが、その他のサイトカインの役割については不明な点も多い。最近になってA/Jマウスを用いたレジオネラ肺炎モデルが報告された。今回、本モデルを用いてレジオネラ肺炎発症における各種サイトカインの動態を解析するとともに、マクロライド剤をはじめとする抗菌薬の治療効果について検討を行った。

【方法】 A/Jマウス（雌、5-6週齢）に臨床分離株 *Legionella pneumophila* (serogroup-1) を 10^6 CFU/ml経鼻的に感染させた後、経時的に肺および血清を採取した。肺内菌数の推移は、肺組織をホモジネートした後、BCYE- α 寒天培地に検体を接種することにより測定した。また血清中サイトカインの測定はELISA法を用いて検討した。

【結果及び考察】 肺内菌数は感染1日後では 10^4 CFU/肺であったが、3日後には 10^3 CFU/肺、感染8日後では 10^2 CFU/肺と次第に減少した。マウスは急性期に立毛、動き不良などの感染症状を示したが、観察期間内において死亡はみられなかった。血清中サイトカインでは感染急性期に一過性のIFN- γ の上昇が見られたが、肺内菌数の減少とともにその血清中レベルは低下した。その他の炎症性サイトカインの動態、およびマクロライド剤による肺内菌数の変化についても報告する予定である。

Cunninghamella bertholletiae による
マウス肺感染モデルの作成

千葉大学医学部呼吸器内科¹⁾、
同 真菌医学研究センター²⁾
○本田 明¹⁾、亀井克彦²⁾、海野広道¹⁾、栗山喬之¹⁾

(目的) *Cunninghamella bertholletiae* はMucor目に属する真菌であるが、いわゆるムーコル症の原因菌として知られている*Absidia*, *Rhizopus* などとは単孢子性胞子嚢を形成するという点が異なり、独立した科を形成している。近年、次第に本菌による感染症の報告が増加しつつあり、その急速な病状の進行や高い死亡率が知られるようになった。しかし、本菌感染に関する基礎研究は少なく、その実態は明らかではない。我々はマウスを用い、本菌の気道感染モデルの作成を試みた。

(方法) 5週齢(雄)のICRマウスに cortisone acetate (150mg/kg)及び、cyclophosphamide(80mg/kg)を、前投与した後、経気道的に 5×10^5 個の*C. bertholletiae* (臨床分離株)の胞子を注入し感染させた。以後、経時的に屠殺し、肺その他の諸臓器を培養するとともに、病理組織学的検討も行った。

(結果及び考察) 生存率は、第4日目ではほぼ半数が死亡し、第8日目までには、ほぼすべてが死亡した。培養は肺では屠殺例、死亡例ともすべて陽性で、他の臓器は陰性であった。病理学的には、第1日目より菌糸の形成が認められ、第3日目には、*C. bertholletiae* の菌糸の著しい増殖や出血が認められたが、炎症反応は乏しかった。一部では、菌糸が血管内に侵入して塊状に増殖している所見が得られた。第8日目前後になると、直径2-4mm程度の灰白色の結節性病変が出現し、壊死性病変や多数の組織球が認められた。本菌の呼吸器感染モデルはこれまで報告がないが、本モデルは、その経過や病態が臨床例に類似しており、診断法や治療法など本菌感染症の研究に有用と考えられる。

(結論) *C. bertholletiae* の気道内注入により、本菌による初めての気道感染モデルを作成しえた。本モデルは、*C. bertholletiae* の感染症研究において有用と思われる。

新規amphotericin B製剤NS-718のマウス肺クリプトコッカ症における治療効果

長崎大学第2内科
○M.A.純伊、佐々木英祐、掛屋 弘、柳原克紀、前崎繁文、朝野和典、古賀宏延、田代隆良、河野 茂

(目的) NS-718は日本新薬にて開発された脂質超微粒子(Lipid nanosphere: LNS)をamphotericin B (AmB)の担体として応用した新規DDS製剤である。LNSは、従来の静注用脂肪乳剤(Lipid microsphere)やリポソーム製剤に比べて粒子径が小さい(直径25~50nm)ため、網内系に捕捉されにくく、また封入された薬剤の毒性軽減にも優れているという特徴を有している。よって、NS-718は従来のAmB製剤(デキストラン酸AmB、D-AmB)よりも低い毒性ならびに、すでに欧州で臨床応用されているリポソーム封入AmB製剤(L-AmB)よりも低用量で優れた臨床効果が期待される。これまで我々は本剤のラット肺クリプトコッカ症にて、優れた治療効果を報告した。今回、我々はマウス肺クリプトコッカ症における本剤の治療効果を検討したので報告する。

(方法) BALB/cマウス(6週令、雄)を用いて、臨床分離*C. neoformans* (YC-11)株の 1×10^6 個/マウスを気管内に接種する。接種2時間後より5日間、薬剤を尾静脈より投与する。薬剤はデキストラン酸AmB(D-AmB)、リポソーム封入AmB(L-AmB)、NS-718およびコントロールとして5%ブドウ糖液を用いた。投与量は0.75および0.8mg/kg投与群(低用量群)と2mg/kg投与群(高用量群)で検討した。治療効果は生存率にて判定し、真菌学的効果は7日目のマウスを屠殺し、肺内の生菌数を比較検討した。

(結果) 1) 治療効果: 低用量群(0.75mg/kg)ではNS-718群はL-AmB群に比べて優れた延命効果を認めた。高用量群(2mg/kg)ではD-AmB群は毒性のため、全例死亡したが、NS-718群は85%の生存率を示し、L-AmB群よりも優れた治療効果を認めた。

2) 真菌学的効果: 低用量群(0.8mg/kg)では接種7日目の肺内生菌数が、コントロール群で 1.94×10^6 CFU/g、D-AmB群で 4.09×10^4 CFU/g、L-AmB群で 2.76×10^6 CFU/gおよびNS-718群で 5.52×10^5 CFU/gとコントロールおよびL-AmB群と比べて有意な菌数の減少(コントロール: $P=0.011$ 、L-AmB: $p=0.002$)を認めた。高用量群(2mg/kg)ではL-AmB群で 2.51×10^6 CFU/gであったが、NS-718群で菌の発育を全く認めず優れた真菌学的効果を認めた。

(考察) 以上の結果よりマウス肺クリプトコッカ症においてNS-718はD-AmBとほぼ同等の治療および真菌学的効果を認め、またL-AmBと比べて明らかに優れた治療および真菌学的効果を認めた。NS-718はD-AmBに比べて毒性が軽減され、より効果的なAmBによる治療が可能であった。今後さらに病理組織学的検討も含めて、本剤のマウス肺クリプトコッカ症における治療効果を検討する予定である。

MRSAマウス血行性肺感染モデルを用いて
のTeicoplaninの効果を検討

長崎大学医学部付属病院第二内科

○澤井豊光、柳原克紀、掛屋 弘、福田美穂、
朝野和典、平瀬洋一、古賀宏延、田代隆良、
河野 茂

【目的】新規グリコペプチド系抗菌薬Teicoplanin (TEIC)はグラム陽性菌に対してのみ抗菌力を有し、主としてMRSA感染症に対して临床上使用される。TEICはVancomycin (VCM)と比べ、血中半減期やpost antibiotic effectがはるかに長く、また腎毒性が少ないとの報告もあり、臨床的な有用性が期待されている。今回、TEICの抗菌活性を*in vitro*、*in vivo*にて測定し、VCMと比較検討を行ったので報告する。

【方法】i) *in vitro*; Mueller Hinton broth (MHB)でMRSA (NUMR4)を対数増殖期中期まで振盪培養した後、新たにMHBに接種し、TEIC、VCMの各濃度を作用させ6時間までの生菌数を測定した。ii) *in vivo*; ddY系、6週齢、雄、SPFマウスの尾静脈よりagar beadsに封入したNUMR4を接種し、血行性肺感染を惹起させ、TEIC、VCMを1日2回、7日間腹腔内投与後に細菌学的検討を行った。

【結果および結論】*in vitro*では、TEIC、VCMともに薬剤濃度が高くなるに従い生菌数の減少が認められたが、1MIC以上では生菌数の減少は少なかった。*in vivo*において、VCMでは125mg/kgで初めて有意な肺内菌数の減少を認められたが、TEICでは5mg/kgで有意な菌数の減少が認められた。以上より、TEICはその薬物動態のため*in vivo*においてはVCMより少量にて効果が認められるものと思われた。このように、TEICはVCMに比し、投与量、投与回数を少なくすることが可能であり、副作用の軽減の観点からも有用であると思われた。

III度熱傷創初期接種細菌数とカテーテル敗血症
(CRS):全身投与抗菌薬の感染抑制機序の検討

済生会神奈川県病院救急部

慶應義塾大学医学部救急部*

○田熊清継、茂木正寿、吉井宏
相川直樹*, 篠澤洋太郎*

【目的】汚染III度熱傷創の初期細菌数とCRS発症の関係および全身投与抗菌薬の感染抑制機序を明らかにする。【方法】ラット背部に10%BSAIII度熱傷創を作製し、各々 10^2 、 10^4 、 10^7 cfu/cm²の*S. aureus*を接種後、中心静脈にカテーテルを留置し創内細菌数の経時的変化とCRS発症の有無を調べた。またCefluprenam (CFLP) 5日間経静脈投与を化療群とし抗菌薬の創内移行性と感染抑制効果を検討した。【結果】1) 非化療群の創内菌数は、 10^4 、 10^7 cfu/cm²接種では熱傷後2日で既に 10^4 cfu/g以上となり10日でCRSを全例発症した(3/3, 4/4例)。 10^2 cfu/cm²接種では4日までは 10^4 cfu/g未満、10日 10^7 cfu/gでCRSは認めなかった(0/4例)。2) 化療群の創内菌数は 10^4 、 10^7 cfu/cm²接種では化療中は抑制傾向を示したが、化療終了後、急速に増加し10日では3/3, 3/4例にCRSを発症した。 10^2 cfu/cm²接種では、投与終了後も7日まで細菌は検出されず、CRSも認めなかった(0/5例)。CFLP投与後7時間の組織内濃度は、 10^4 cfu/cm²接種で、熱傷後2日 $12.1 \pm 3.6 \mu\text{g/g}$ 、4日 $28.9 \pm 7.0 \mu\text{g/g}$ を示した。【結論】1) 少ない接種菌数でも増加し、創内細菌数が 10^4 cfu/gを超えるとCRSが発生する。2) 化療群では細菌を抑制した。特に初期接種細菌数が少ないほど効果的であった。3) III度熱傷創内細菌抑制効果とCRS発症予防効果は、全身投与抗菌薬のIII度熱傷創への良好な移行性によると考えられた。

*Bacteroides fragilis*によるラット骨髄炎に対するDU-6859a含浸ハイドロオキシアパタイトブロックの治療効果

岐阜大・整形外科¹、岐阜大・嫌気性菌実験施設²
○小原明¹、加藤直樹²、渡辺邦友²、江崎正浩¹、
栄枝裕文¹、糸数万正¹、清水克時¹

(目的) *Bacteroides fragilis*などが関与する慢性骨髄炎は一般的に難治性で、治療に苦慮することが多い。治療法としては病巣の郭清と持続洗浄法が一般的であるが、骨欠損部の充填材として使用されているハイドロオキシアパタイト・ブロック (HAB) に抗菌薬を含浸させ、薬剤を徐々に病巣部に徐放させることにより除菌を計る局所療法も有効な手段として用いられている。今回は、ニューキノロン系抗菌薬であるDU-6859aが*B. fragilis*による骨髄炎の局所治療薬として有用であるか否かをラット骨髄炎モデルを用いて検討した。

(材料と方法) Wistar系、雄、12週齢のラットの脛骨をドリルで穿孔後、骨髄内に*B. fragilis* ATCC25285 (DU-6859aのMIC、 $\leq 0.025 \mu\text{g/ml}$) を5mmの絹糸と共に接種した。4週間後、レントゲン所見から骨髄炎の存在を確認した後、50mg/mlのDU-6859aを含浸させたHAB (8 mm³、気孔率50%、住友大阪セメント) を1個感染部位に充填した。さらに4週間後、レントゲン所見と脛骨の生菌数を求めることによりDU-6859aの治療効果を調べた。また、一部のラットでは病理組織学的検索を実施した。

(結果) 未治療群ではレントゲン検査により骨融解にとまなう脛骨骨孔の拡大が見られ、病理組織学的には多形核白血球の集簇が認められた。また、4匹における生菌数計算ではlog₁₀で6.40~7.23 (平均6.93±0.39) の菌数が見られた。HAB単独群ではレントゲン所見上、HAB周囲の骨孔に骨融解像が認められ、組織学的には未治療群と同様に炎症像が見られた。また、6匹における生菌数はlog₁₀で4.0~8.04 (平均6.63±1.51) であった。これに対し、DU-6859a含浸HAB治療群ではレントゲン所見上、骨形成による完全な骨孔の閉塞が認められ、組織学的には炎症像はなく、骨新生が見られた。生菌数計算では5匹中4匹で菌陰性となり、1匹でのみlog₁₀で2.11の菌数が認められた。

(結語) DU-6859a含浸HABは*B. fragilis*によるラット骨髄炎に対し極めて有効であった。このことから、ヒトにおける嫌気性菌による慢性化膿性骨髄炎の治療法としてもDU-6859a含浸HABは有効である可能性が示唆された。

喀痰中β-lactamase活性の測定方法確立に関する検討

東邦大学医学部微生物学教室、
プリストル・マイヤーズ スクイブ株式会社*
○石井良和、馬 リン、平岡聖樹*、大野 章、
山口恵三

(目的) 喀痰中β-lactamase活性の測定は、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で定量して算出する方法が斎藤等によって報告されている。しかし、この方法は、検体の処理方法が煩雑であること、特殊な機器が必要なことなどの理由から一般的な方法であるとは言えない。そこで、検体の処理が簡単で酵素学的パラメーターを求めることが可能な方法を検討したので報告する。

(材料および方法) 検体は呼吸器疾患の患者由来の喀痰を使用した。検体の処理は、喀痰200 μLに1/15Mリン酸緩衝液(pH7.0) 200 μLを加えてホモジネート後、30,000rpm、4℃にて10分間遠心し、その上清を酵素液とした。酵素反応は、Beckman吸光度計DU640恒温槽付きを用いて、3mLの100 μMのニトロセフィン溶液に試料50 μLを添加して波長482nm、37℃で行った。酵素活性の算出は、反応開始後1分間に起こるODの変化をもとに次式から求めた。activity=y/1.59×0.3×v (v=3.05/0.05×2、y=Δ OD/min) さらに酵素学的パラメーターはMichaelis-Menten prot、Lineweaver-Burk prot、Eadie-Hofstee prot、Hanes-Woolf protなどから求めた。

(結果および考察) 検体の処理は、すべて20分以内に終了した。今回は、*Pseudomonas aeruginosa*が10⁴~10⁶ cfu/ml分離された喀痰と*Enterococcus faecalis*が10⁶ cfu/ml分離された喀痰などを検体として使用した。*P. aeruginosa*の検出された検体からは、10⁴ cfu/mlの菌量でも十分β-lactamase活性が認められ、そのパラメーターを求めることが可能であった。しかし、*E. faecalis*は10⁶ cfu/mlの菌量が存在してもβ-lactamaseの活性は認められなかった。今回検討した方法は、非常に簡便な方法であり、良好な感度を有していた。さらに、酵素学的パラメーターを求めることが可能であることなど既存の方法にはない利点があり、様々な分野での応用が可能であると思われる。

臨床分離 *Klebsiella pneumoniae* の
多様化するβ-ラクタム剤耐性化の検討
保健科学研究所 第四検査部
黒川博史、山田光男
国立予防衛生研究所 細菌・血液製剤部
荒川宣親

我々は、ceftazidime(CAZ)耐性 *Klebsiella pneumoniae* (本学会誌VOL44 No.1 1996 など)をはじめとして、sulbactam/cefoperazone(SBT/CPZ)耐性株(第43回本学会総会、AAC:VOL40 No.9 1996 Sept.)や、IMP-1型メタロβ-ラクタマーゼ産生株(第44回本学会総会)などの調査を進めてきた。

今回、このような多様化するβ-ラクタム剤耐性 *K. pneumoniae* について、現在までに集積された調査データをまとめて報告する。

【材料と方法】当施設が扱った臨床分離 *K. pneumoniae* について、薬剤感受性検査時(微量液体希釈法、Mueller Hinton Broth)に、それぞれの薬剤のブレイクポイントの耐性値(NCCLS 準拠)を示した株を対象とした。

MIC値は、本学会標準法に基づき微量液体希釈法で測定した。また、諸法に準じ、プラスミドパターン解析、*Escherichia coli* CSH2株への伝達実験、およびESBLに関する検討を加えるため、DOUBLE DISK TEST(CLIN. MIC ROBIOLOG. REV.:VOL8 1995 Oct.)による調査も実施し、薬剤耐性パターンに関するさまざまなデータを集めた。

【結果と考察】分離状況について、1995年1月～8月の11,885株のなかに、CAZ耐性株は、4都県8施設から37株が確認され、うち24株が尿路系由来であった。SBT/CPZ耐性株は、5都県15施設から16株が確認され、うち11株が尿路系由来であり、CAZ耐性株のように尿路系由来株が大半を占めていた。また、1996年1月ごろから、SBT/CPZをはじめ比較的広範囲の第3世代セフェム剤に耐性を示す株が分離されはじめ(前記SBT/CPZ耐性株とは他のセフェム剤耐性パターンから考え、異種として扱っている)、1996年1月～8月の12,152株のなかに、3都県6施設から9株が確認された。CAZ耐性株は、1995年半年に一時分離率が上昇したが(1995年1月～4月:0.05% → 5月～8月:0.57%)、これは一部の医療施設での、院内感染を呈する多数分離の発生が起因していた。また、薬剤耐性パターンの解析結果などについては、総会において報告する。

今後は、各医療施設・地域レベルでの耐性情報の把握が、さらに重要となるであろう。

帝京大学病院で検出された *E.coli* および *Klebsiella spp.* の Extended-Spectrum β-Lactamase(ESBL)について
帝京大学病院中央検査部、北里大学医学部微生物学 〇川上小夜子、松村充、斧康雄、宮澤幸久、岡本了一¹⁾、井上松久²⁾

【目的】当院において検出された *E.coli* および *Klebsiella spp.* の Extended-Spectrum β-Lactamase(ESBL)について検討した。

【対象】1996年9～12月に日常検査としての Microscan Neg Comb 3J Panel (DADE)によるMIC測定で、CTX ≥ 32 μg/mlと判定された *E.coli* 8株、*K.pneumoniae* 22株、*K.oxytoca* 2株の計32株を対象とした。

【方法】被験菌32株について、改めて寒天平板希釈法によりABPC, CTX, CAZ, AZT, LMOX, IPMに対するMICを測定した。ABPCに対してはClavulanic acid(CVA) 10 μg/mlを添加して併せ測定した。

K.pneumoniae 1株は *E.coli* ML4953-RFP^r を、他の31株は *E.coli* X1037-NA^r を recipient として conjugation を行った後、再びMICを測定した。被験菌より抽出したβ-Lactamaseの活性を、PCG, CET, CTX, CAZ, AZTについて測定し、相対加水分解率を求めた。さらに、PCR法によりTEM, SHV, KIT-1のprimerを用いて解析を行った。

【結果】ABPC, CTX, CAZ, AZT, LMOX, IPMに対するMIC₅₀は *E.coli* がそれぞれ > 800, > 800, 6.25, 400, 0.2, ≤ 0.1 μg/mlで、*K.pneumoniae* と *K.oxytoca* は > 800, > 800, 6.25, 200, 0.2, ≤ 0.1 μg/mlとなりpenicillin および oxyimino-type 薬に高度耐性を示した。CVA10 μg/ml添加により上記被験菌に対するABPCの抗菌力には著しい改善がみられた。また、10⁴程の伝達頻度で耐性の plasmid が伝達された。その trans-conjugant は、CAZ, AZTにおいて臨床分離株より3管程度MICsの上昇が認められた。相対加水分解率は、CET 438～485, CTX 48～59, CAZ 0.1～0.26, AZT 4.4～7.6であった。PCR法による解析ではTEM, SHV, KIT-1のいずれにも属しなかった。

【考察】当院で検出された *E.coli* および *Klebsiella spp.* より産生されるβ-Lactamaseは、CVAによる阻害ならびに基質特異性からBushらの分類によるgroup 2beに属すると考えられた。さらに、PCRによる解析から新しいタイプのESBLである可能性が示唆された。

Class C 型 β -ラクタマーゼ産生プラスミドの高度耐性化について

○久我明男、佐藤優子、岡本了一、井上松久
北里大学医学部微生物

【目的】伝達性 cephem 耐性プラスミド (pKU72) が臨床分離緑膿菌から検出されたが、第三世代 cephem 薬に対する MIC は低く、この酵素は構成型であり、基質特異性は典型的な class C 型 β -ラクタマーゼ (CEPase) であった。一方、第三世代 cephem 薬の臨床応用に伴い class A 型 β -ラクタマーゼ (PCase) の基質特異性の拡大した ESBL 型耐性菌の出現が吹米で問題となっている。そこで class C 型 β -ラクタマーゼと親和性の低い cephem 薬を用いて pKU72 から耐性菌を分離した場合、これらの抗菌薬に対して高度耐性菌が分離されるか否かについて検討した。

【材料方法】①緑膿菌由来の pKU72 を pHSG398 にクローニングし、pKU73 を得た。pKU73 を大腸菌 KU2 へ形質転換させ、これを元株として用いた。②耐性菌の分離は、C 型 β -ラクタマーゼに対する親和性の異なる CAZ、CZOP、CFPM、CPZ、CPZ/SBT を用いて種々の濃度で耐性菌を選択した。③得られた耐性株は純培養後、常法に従い MIC 及びその酵素活性を調べた。

【結果考察】① pKU73 の β -ラクタマーゼは構成型であり、活性は CET、CTM をその基質とした場合共に約 0.5~1.0u/mg 蛋白で CAZ、CZOP、CFPM、CPZ、CPZ/SBT に対する MIC は 8、0.5、0.06、64、16 μ g/ml であった。② 2MIC~4MIC 濃度での耐性菌の選択率は CAZ は 10^{-7} 、CZOP は 10^{-8} 、CFPM は 10^{-9} 、CPZ/SBT は 10^{-9} 程度であった。③これらの濃度で選択された変異株の MIC は、CAZ 選択の場合 32、8、0.25、>128、16 μ g/ml、CZOP 選択では 32、16、0.5、>128、16 CFPM 選択では 128、16、8、>128、16 であった。また CPZ/SBT 選択で得られた変異株の MIC は 32、16、2、>128、16 であった。④ MIC の上昇した変異株の class C 型 β -ラクタマーゼは活性は、CAZ 変異株では元株に比べ 19 倍、CFPM 変異 2 倍、上昇しており CZOP、CPZ/SBT もそれぞれ同様の傾向が見られた。

緑膿菌臨床分離株からの OXA-1 型 β -lactamase の検出

昭和大学藤が丘病院臨床病理科
○丸茂健治、福田一郎、中村良子

【目的】昨年の本学会において、腸内細菌群に広く分布する OXA-1 型 β -lactamase が、緑膿菌でも存在することを報告した。今回、緑膿菌臨床分離株から、このタイプの β -lactamase の検出を試みた。

【材料及び方法】検討した緑膿菌は当院で分離された 151 株 (1996 年 4 月~8 月) の内、piperacillin 耐性株 (25 株、MIC 100 μ g/ml 以上) を用いた。PCR 法による OXA-1 型 β -lactamase 遺伝子の検出は、E. coli からの precursor OXA-1 primer を用い、全遺伝子を増幅した。Southern hybridization 法によるこの β -lactamase 遺伝子の検出は、臨床分離株から調製された clear lysate を PEG 法で濃縮した DNA を先の PCR 産物と digoxigenin/alkaline-phosphatase 法で hybridize させ、化学発光後、高感度フィルムに露光させた。一方、表現型としての OXA-1 型 β -lactamase の検出は、等電点電気泳動後、 β -lactamase を nitrocefin で発色させた。MIC 測定は日本化学療法学会標準法に準じ、薬剤は、piperacillin、ticarcillin、cefclidin、ceftazidime、imipenem を用いた。

【結果及び考察】piperacillin 耐性の 25 株中 4 株は PCR 法で OXA-1 遺伝子が増幅され、等電点電気泳動法で pI 7.4 の β -lactamase が分離された (E. coli 由来 OXA-1 と等価)。これら 4 株から plasmid は分離されず、Southern hybridization 法で chromosomal DNA の band 部分のみが OXA-1 probe と hybridize した。このことは、腸内細菌からの OXA-1 遺伝子が plasmid 上に存在することは知られているが、chromosome 上にもこの遺伝子が存在することを示唆していた。緑膿菌からの OXA-1 型 β -lactamase の遺伝子配列については詳細に検討中である。また、各種薬剤の MIC 測定で、これら 4 株に対する cefclidin の MIC は 25~100 μ g/ml、他の 21 株は 12.5 μ g/ml 以下であった。また、これら 4 株に対する ticarcillin の MIC は 100 μ g/ml 以上であったのに対し、CAZ の MIC は 12.5 μ g/ml 以下、IPM の MIC は 25 μ g/ml 以下であった。なお、これら 4 株の由来は患者尿から分離されたもので、血清型は、4 株中 3 株が B 型、他 1 株は型別不能であった。

【まとめ】抗緑膿菌 penicillin 剤である piperacillin や ticarcillin に耐性を示す緑膿菌からの OXA-1 型 β -lactamase は、PCR/Southern hybridization 法と等電点電気泳動法により検出が可能であった。

非会員共同研究者
同 中検細菌 中埜茂子

緑膿菌以外のグラム陰性桿菌からのED-PCR法による
カルバペム耐性遺伝子 bla_{IMP} の検出

長崎大学医学部附属病院検査部

○平潟洋一、山口敏行、泉川公一、吉田良滋、

松田淳一、餅田親子、上平 憲

同 第二内科

朝野和典、古賀宏延、田代隆良、河野 茂

【目的】カルバペム耐性遺伝子 bla_{IMP} 保有グラム陰性桿菌は当施設を含む国内20以上の施設から分離されている。各施設での詳細な分離状況についての報告は少ない。我々は1991年から1995年の5年間に当施設内で45症例から bla_{IMP} 保有緑膿菌が分離されていることを報告した(第43回日本臨床病理学会総会)。今回、同期間内の緑膿菌以外のグラム陰性桿菌を対象に bla_{IMP} 遺伝子のスクリーニングを行ったので報告する。

【方法】DNAの簡易抽出とED(enzymatic detection)-PCR法を組み合わせる bla_{IMP} 遺伝子のスクリーニングを行った。菌液をDNAテグプレートとし、ビオチンおよびジゴキシン標識プライマーを用いてPCRを行った。ストレプトビジン coatingしたマイクロプレート内でPCRプロダクトとアルカリホスファターゼ標識抗ジゴキシン抗体をincubateし、*P*-nitrophenyl phosphateで発色させた。本法を用いて当施設で1991年1月から1995年12月に分離されたceftazidime耐性(MIC 64 μ g/ml以上)の*Escherichia coli* 11株、*Enterobacter* 242株、*Citrobacter* 107株、*Serratia marcescens* 65株、*Proteus* 4株、*Stenotrophomonas maltophilia* 144株、その他のブドウ糖非発酵菌 35株について検討した。

【結果と考察】 bla_{IMP} 遺伝子陽性株数(%)は*E. coli*、*Enterobacter*、*Proteus*、*S. maltophilia*では全て0株(0%)であった。一方、*Citrobacter freundii* 1株(0.9%)、*Serratia marcescens* 13株(20.0%)、その他のブドウ糖非発酵菌 8株(22.9%)(*Pseudomonas putida* 7株、*Alcaligenes xylosoxidans* 1株)より bla_{IMP} 遺伝子が検出された。経年的増加は認めなかったが、今後の動向に十分な注意が必要と考えられた。

軽度腎不全ラットを用いた

各種抗菌剤の体内動態

東海大学病院泌尿器科

○原島 康壽 徳永 正俊

恩田 一 河村 信夫

(目的) 加齢等によって生じる腎機能低下を想定し、アデニン食によって軽度腎不全状態としたラットを用いセフェム系及びカルバペネム系抗菌剤の体内動態を調べた。

(対象及び方法) 実験に使用したのは白色ラット約150g 雄性で、あらかじめ0.5%アデニンを加えた餌を4週間与えることによりCr値1.9~2.1mg/mlの軽度腎不全状態としたものと正常対照とに分け抗菌剤を腹腔内投与した。経時的にと殺し、血清、尿、肺、肝、腎、精巣、精巣上体、精囊、前立腺等における抗菌剤濃度の変化を調べた。今回、抗菌剤としてはセフェム系抗菌剤のCefozopran及びカルバペネム系抗菌剤のMeropenemを用いて実験を行っている。

(結果) 正常対照に比べてアデニン食により軽度腎不全状態となったラットにおける抗菌剤の各臓器内濃度は著明に上昇していた。正常ラットとの格差は我々の想像以上に大きいものであった。

(考察) 今までのシスプラチンや部分的腎摘出術などと異なり我々はアデニンを用いた方法でCr値1.9~2.1mg/mlの軽度腎不全ラットを作成する事に成功した。今回はセフェム系抗菌剤のCefozopran及びカルバペネム系抗菌剤のMeropenemにおいて比較検討した。セフェム系抗菌剤の様に腎排泄が主である薬剤では軽度の腎機能低下であってもその影響を受けやすかった。又、カルバペネム系抗菌剤ではラットにおける半減期が予想以上に短く今回の実験だけでは十分な結果が得られなかった。

Cephameycin 系薬における Population Pharmacokinetics の応用

日本大学医学部第三外科¹⁾、同細菌研究室²⁾
○川口 広、山地恵美子、平田浩子²⁾、中山一誠¹⁾

〔目的〕：抗菌化学療法は、薬剤と原因菌の関係ばかりでなく、宿主における薬動力学も重要な因子となる。そのため、きめ細かい TDM (Therapeutic Drug Monitoring) が必要となるが、各症例毎に施行することは臨床上困難である。そこで、数点の血清モニターにより薬動力学を推定する Population Pharmacokinetics について検討したので報告する。

〔方法〕：Cephameycin 系薬剤、cefmetazole (CMZ)、cefoxitin (CFX)、cefotetan (CTT)、cefbuperazone (CBPZ)、cefminox (CMNX)、および latamoxef (LMOX) の計 6 剤について検討した。各薬剤 1.0 g を健常成人 3 名一群とし one shot 静注し経時的に血清中、尿中濃度を HPLC、Bioassay により測定した。薬動力学は two compartment method により、Population pharmacokinetics については、点滴時間の parameter を入れることにより、C-max の計算式を作成した。

〔結果〕：1.0g one shot 静注時の成績は、投与後 5 分に C-max となり、CMZ 155 μ g/ml、CFX 144 μ g/ml、CTT 245 μ g/ml、CBPZ 191 μ g/ml、CMNX 127 μ g/ml、LMOX 136 μ g/ml の血清中濃度を示した。各薬剤の T1/2 は、CMZ 約 1 時間、CFX 35 分、CTT 3 時間、CBPZ 1.5 時間、CMNX 2.5 時間、LMOX 2 時間であった。生体内代謝に関しては、CFX および CBPZ を除き、投与量の 70~90% が尿中より代謝されることなく未変化体のまま排泄される。CFX は代謝産物として decarbamyl-cefoxitin、CTT は生体内で一部、互変異性体 (tautomer) に移行する。上述の成績をもとに Population pharmacokinetics を応用すると、CMZ の 30 分点滴では、C-max 約 110 μ g/ml、1 時間点滴では約 90 μ g/ml の血清中濃度となる。

〔考案〕：腎機能が正常であれば、C-max と血清中濃度をもう一点モニターすることにより薬動力学定数が計算可能である。

新生児における ceftriaxone の遊離ビリルビン濃度に与える影響

富士重工業健保組合総合太田病院小児科
○佐藤 吉杜

| | |
|---------------|-------|
| 都立清瀬小児病院新生児科 | 磯畑 栄一 |
| 国立霞ヶ浦病院小児科 | 岩田 敏 |
| 聖マリアンナ医科大学小児科 | 秋田 博伸 |
| 国立東京第二病院小児科 | 砂川 慶介 |

〔目的〕近年新生児領域においては、核黄疸発生を予防するため総ビリルビン濃度 (TB) のみならず遊離ビリルビン (UB) の測定を行うことが一般化している。今回、ceftriaxone (CTRX) がこの UB 濃度に与える影響について検討を行ったので報告する。

〔方法〕対象は平成 8 年 11 月から平成 9 年 2 月の間に太田総合病院 NICU に入院した新生児のうち、感染治療及び感染予防のために CTRX を投与した成熟児 7 例及び低出生体重児 5 例である。交換輸血施行例、外科的手術施行例、高度の心不全、腎不全例は除外した。TB 及び UB はアローズ社の UB アナライザー UA-1 を用いて測定した。

〔成績〕成熟児、低出生体重児ともに CTRX 投与中の UB/TB は投与終了後の UB/TB に比較して 5% 以下の危険率で有意に高値を示した。

対照群との比較では、UB/TB は成熟児、低出生体重児ともに対照群と差を認められなかった、CTRX 群の成績を既に発表した ABPC 群と比較すると、明らかに CTRX 群が UB/TB は低値を示しており、低出生体重児では顕著であった。

同様に CTX 群との比較では、CTRX 群の方が UB/TB は低値を示す傾向が認められた。

〔結論〕新生児領域において、CTRX が遊離ビリルビンに与える影響は CTX、ABPC に比較して少なかった。今後、症例数を増加してさらに検討を加える。

バルプロ酸とカルバペネム剤との薬物相互作用

三共(株)分析代謝研究所

○山村直敏、井村 薫、長沼英夫

【目的】抗てんかん薬であるバルプロ酸の体内消失がカルバペネム剤の使用によって促進する現象について、実験動物を用いて基礎的な検討を行った。

【方法】SDラットおよびビーグル犬にバルプロ酸を単独あるいはパニペネム(PAPM)併用投与した時の血漿中バルプロ酸(VPA)およびグルクロン酸抱合体を測定した。またラットについては放射性VPAを用いて血中消失および胆汁排泄を検討した。さらに肝ミクロームによるグルクロン酸抱合活性を検討した。

【結果および考察】イヌおよびラットのいずれにおいても血漿中総VPAおよび遊離型VPAの消失速度はPAPM併用によって増大したが、血漿蛋白非結合率に変化が見られなかった。腎摘出ラットにおいても正常ラットと同様、PAPM併用により血漿中VPAの消失速度は増大した。一方、胆管結紮ラットおよび高ビリルビン血症ラット(EHBR)においてはPAPMの影響は認められなくなり、血漿中グルクロン酸抱合体濃度が増加した。また放射性VPA投与後の胆汁中への放射能排泄量はPAPM併用により増加した。胆汁中放射能の大部分はグルクロン酸抱合体であった。ラット遊離肝細胞へのVPAの取り込み初速度は、PAPMにより促進されなかった。上記の結果よりPAPMによるVPAの体内消失の促進現象は、VPAの血漿中蛋白結合の変動によるものではなく、主に肝臓におけるVPAのグルクロン酸抱合の促進によると推察された。

新規経口セフェム系薬AS-924のウサギ感染モデルにおける口腔組織移行に関する研究

日本歯科大学歯学部口腔外科学教室第1講座

○星野公子、佐藤田鶴子、山口昌彦、大村真基、北原和樹

【目的】

AS-924は、京都薬品工業株式会社で創製され、旭化成工業株式会社にて開発中の経口用プロドラッグ剤である。本剤は、体内に輸送され抗菌活性体CZXとなり、グラム陽性菌およびグラム陰性菌に対しても既存のセファロスポリン剤に比べ強い抗菌力と殺菌力を有しているといわれている。そこで、今回我々は臨床に先立ち、本剤をウサギ感染モデルに投与し、血清および口腔組織への移行を測定し検討をおこなった。

【実験方法】

New Zealand white種ウサギ雄性(体重2.5~3.0kg)を用い、佐藤-Heimdahl法に準じて感染モデルを作製し、AS-924 20mg/kgを脱イオン水に溶解し空腹時に経口投与した。血液試料は投与後720分までの計9ポイントで耳静脈より採取した。また、組織は投与後720分までの計7ポイントで、舌、歯肉、耳下腺、顎下腺、および下顎骨を採取した。濃度測定は、E.coli ATCC39188を検定菌としたペーパーディスク法によるbioassayにて行い、その実測値より薬動学的解析もおこなった。

【結果】

血清におけるTmaxは0.85時間であり、Cmaxは4.53 μ g/ml、T1/2は1.92hr、AUCは13.97 μ g.hr/mlであった。各組織では、Tmaxは0.26~1.65時間、Cmaxは0.89~3.59 μ g/g、T1/2 0.84~2.79hr、AUC 3.24~7.25 μ g.hr/gであった。また、各組織のCmax対血清比は19.65~79.25、AUC対血清比は23.19~51.90であった。

【まとめ】

健常群に比して感染モデル群では、より速やかな組織移行がみられた。

レボフロキサシン、スパルフロキサシンの
前立腺組織内移行に関する検討

大阪医科大学 泌尿器科

○上田陽彦、鈴木俊明、金原裕則、伊藤 奏、
山本員久、高崎 登、勝岡洋治

〔目的〕前立腺炎に対する抗菌薬の条件として、起炎菌に対する抗菌力が強いことと、薬剤の前立腺への移行性が良好であることが必要である。今回、抗菌剤のレボフロキサシン (LVFX) とスパルフロキサシン (SPFX) の前立腺組織内移行について両者を比較検討した。

〔方法〕前立腺肥大症のために経尿道的前立腺切除術を施行した 27 例を対象とした。LVFX 投与群は 14 例、SPFX 投与群は 13 例であった。患者の平均年齢は LVFX 群 73.6 ± 7.6 歳、SPFX 群 69.1 ± 5.2 歳であった。血中濃度及び前立腺移行を考慮し、LVFX 群は 200mg 投与後 2 時間目に、SPFX 群では 200mg 投与後 6 時間目に前立腺組織を採取し、同時に採血し血清を採取した。

〔結果〕1) 血清中薬剤濃度：LVFX 群は平均 $2.42 \pm 0.66 \mu\text{g/ml}$ 、SPFX 群では $0.61 \pm 0.26 \mu\text{g/ml}$ であり、LVFX 群が SPFX 群に比較して有意に高かった ($p < 0.001$)。

2) 前立腺組織内濃度：LVFX 群は、平均 $3.25 \pm 0.87 \mu\text{g/mg}$ 、SPFX 群では $0.65 \pm 0.35 \mu\text{g/mg}$ であり、LVFX 群では SPFX 群に比較して有意に高かった ($p < 0.001$)。

3) 対血清比：LVFX 群では 1.43 ± 0.48 、SPFX 群では 1.06 ± 0.43 であり、LVFX 群は SPFX 群に比較して有意に高かった ($p < 0.05$)。

〔結論〕LVFX の血清中濃度、前立腺組織内濃度および対血清比はいずれも SPFX のそれらを上回っていた。しかし、総合的な薬剤の効果の優劣を決定するためには、起炎菌に対する MIC を同時に考慮する必要がある。

抗菌薬の膀胱・腹水移行に関する検討

名古屋市立大学第 1 外科

○長谷川正光、真下啓二、竹山廣光、真辺忠夫

〔目的〕今回我々は外科手術患者に抗菌薬を投与し、膀胱・腹水への移行を測定し、薬剤間での比較検討を行ったので報告する。

〔対象〕1995年5月より1996年7月まで当科で定期手術を受けた15例を対象とした。

〔方法〕術後、抗菌薬1gを30分かけて1日3回点滴静注し、終了時より1時間毎に7時間まで膀胱チューブ、閉鎖式腹腔ドレーンよりの検体を採取し、cefotiam (CTM) は bioassay 法にて sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ) は HPLC 法にて濃度測定した。体液中 interleukin-6 (IL-6)、interleukin-8 (IL-8) を ELISA 法にて測定し、白血球数、CRP 等と共に体液移行との関係を検討した。

〔結果〕同時採取した CTM では、両者への移行パターンには関連は認められなかった。各種因子と濃度との検討では、膀胱液中で IL-8 対数値との間に C_{max} ($r = 0.728$, $p < 0.05$)、AUC ($r = 0.813$, $p < 0.05$) と相関が見られた。腹水液中では、腹水量との間に C_{max} ($r = 0.973$, $p < 0.001$)、AUC ($r = 0.931$, $p < 0.001$) とに相関が見られた。

SBT/CPZ 各々を 1g に換算し CTM と比較すると、膀胱移行では $C_{\text{max}} \cdot \text{AUC}$ とも SBT が大きく CTM と CPZ は同等の値であった。腹水移行では $C_{\text{max}} \cdot \text{AUC}$ とも CPZ、SBT、CTM の順であった。膀胱移行で、各物質の血中 C_{max} 、 $T_{1/2}$ 、AUC、蛋白結合率、分子量と比較すると分子量の大きなものは、移行が少ないように思われた。腹水移行では、血中 AUC、蛋白結合率の大きなものは、移行が多いように思われた。

〔考察〕CTM の膀胱移行と腹水移行とを比較すると、移行パターンや、移行に関係する因子が異なり、SBT/CPZ と比較した場合は、それぞれへの移行しやすさや、移行に関係する物性が異なっていた。以上を総合すると、膀胱や腹水への移行は、別の原理で体液中の濃度が決定されているように考えられた。

乳房生検例におけるAS-924の皮膚・皮下脂肪・乳腺組織移行

大阪市立大学医学部第2外科

○森本 健, 木下博明

(目的) ceftizoxime(CZX)は緑膿菌を除くグラム陰性菌, グラム陽性菌に広い抗菌作用を示すが, AS-924はこの静注用 cephem 剤に親油性の pivaloyloxymethyl 基と親水性の alanyl 基を導入し, 脂溶性・水溶性のバランスを保つことにより経口吸収を高めた prodrug である。CZXの抗菌力が期待されるが, 乳房生検時に用いてその体内動態を検討した。(方法) 各種乳房疾患で局所麻酔下生検の対象となる患者でAS-924内服, 各種検体採取に同意した12例について生検部の乳房部皮膚, 皮下脂肪, 乳腺組織を200から500mg採取した。同時に血液を採取し, 血漿を分離した。薬剤は手術開始1時間前後に少量の水とともに本剤200mg投与した。また, 投与口を含め3日間内服させ, 安全性を検討した。薬剤の血漿中ないし組織中濃度は *Escherichia coli* ATCC 39188を検定菌としてふつう寒天培地(Difco)を用いた agar well法で行った。(結果) 内服後1.7から3.3時間で採取された血漿中のCZX濃度は1.35から2.91 $\mu\text{g/ml}$ 。1.3から3.1時間で皮膚0.61から3.44 $\mu\text{g/ml}$, 乳腺0.49から4.73 $\mu\text{g/ml}$, 皮下脂肪0.09から1.58 $\mu\text{g/ml}$ の結果であった。血漿中濃度に対して皮膚で平均0.91(0.29-1.47)倍, 乳腺1.00(0.23-1.63)倍, 脂肪0.29(0.05-0.85)倍の結果であった。内服期間中の自他覚症状は認めず, 内服前後の臨床検査値の異常変動もみられなかった。(結語) AS-924は皮膚乳腺には血漿中濃度と同様に移行するが, 皮下脂肪組織への移行は必ずしも良好でない。自他覚症状, 臨床検査値からみて安全であると考えられる。

院内感染対策下患者における黄色ブドウ球菌の時間的推移の解析

愛野記念病院内科1,

長崎大学熱帯医学研究所内科2

○麻生憲史1, 真崎宏則2, 田尾 操1,

池田秀樹1, 坂本 焯1, 貝田繁雄1,

松本慶蔵1, S. Terai2, 渡辺貴和雄2,

力富直人2, 永武 毅2

[目的] 内科老人病棟において1980年代にはいりMRSA感染症が急増した。そこで当院においては1991年10月より本格的に院内感染対策を継続しMRSA感染症は著明な減少を認めた。しかし老人病棟においてMRSA保菌者は月に数名院内で発生し常に20名程度存在する。今回我々はMRSA専用室内にて黄色ブドウ球菌の保菌の実態および伝播様式を時間的推移を絡めて明らかにすることにより, より効率的な対策のあり方を確立する。[方法] 1996年9月から11月までにMRSA専用室内でMRSA保菌者において同一日の同一時間帯に鼻腔, 咽頭, 吸引痰, 褥瘡, 尿, 便, 皮膚(頭部, 前腕, 大腿部)及び環境菌(落下細菌, ふき取り菌)の培養を2週毎に実施し, 分離された黄色ブドウ球菌について薬剤感受性, コアグラーゼ型別, エンテロトキシン型別, TSST-1産生能を測定する。[結果・考察] 分離された51株についてコアグラーゼ型別, エンテロトキシン型別, TSST-1産性能をもとに13群に分類した。環境や体表表面に多い群, 便や褥瘡に多い群, さらに呼吸器から分離頻度の多い群に大別された。言い換えると三ヶ月の経過を通して, 感染源として考えられる褥瘡定着株が環境から分離される頻度はきわめて低かった。一方, 環境から分離された株を見ると体表表面分離株と同一群であり, 深部分離株とは相関しなかった。さらに今回分離株のうちコアグラーゼV型が35.3%を占め, それらの殆どが環境から分離されたことも含めると現行の感染対策において患者間及び患者から環境への伝播防止は比較的效果を認めるが, 特に定着菌においては細菌学的特徴を踏まえた対策が必要と考えられた。

MRSA保菌者専用室における院内感染対策上の問題点

長崎大学熱帯医学研究所内科1、
愛野記念病院2

- 真崎宏則1, 麻生憲史2, 田尾 操2,
池田秀樹2, 坂本 翔2, 貝田繁雄2,
松本慶蔵2, S.Tei, 渡辺貴和雄1,
力富直人1, 永武 毅1

【経緯】我々は関連施設の高齢者病棟においてMRSA, 緑膿菌を含む院内感染に対して、化学療法に適正化・院内環境清浄化に主眼をおいた対策を実施してきた。その一つとして、MRSAの褥創あるいは呼吸器定着患者に対する専用部屋の設置と各種消毒操作・ガウンテクニックによりこれら院内感染症は減少するに至った。しかしMRSA保菌者専用室内における対策に関しては細菌学的・臨床的問題点が不明瞭であり、適切な対策が遂行されているかが疑問視された。【目的・方法】MRSA保菌者専用部屋に焦点をおき、特に4ヶ月間の時間的経過(H8.9~12月)を考慮した環境菌・患者定着菌の検索(床・各種体表面皮膚・鼻腔・咽頭・吸引痰・尿・便・褥創からの細菌培養)とその間の化学療法および感染症を含む臨床検討から特殊環境における問題点を明確にすることを目的とした。【結果および考察】各検体から分離された主要な病原細菌はP.aeruginosa(PA), S.aureus(SA), K.pneumonia(KP)であった。KPは便の他に咽頭・吸引痰・尿から、PAは鼻腔・咽頭・吸引痰・尿・便・褥創などの体表面を除く各所から、またSAは床および患者自身の各所から分離されており、さらにSAをコアグラゼ型・ET, TSST1産生能からタイプングした場合の専用室内での患者間での伝播様式に、現行の感染防止対策に基づく特徴が認められた。一方SAに焦点を当てた場合菌株により定着能力に差があることを示唆する結果を得た。これらに加えてMIC検査結果からこれらの現象に化学療法がいかに関わっているかも検討し専用室内での対策の問題点について考察する。

MRSAに対する各種消毒薬の殺菌効果
東京慈恵会医科大学 内科学講座第二
柏病院総合内科*

- 相澤久美子、吉田正樹、中澤 靖、坂本光男、
進藤奈那子、前澤浩美、吉川晃司、柴 孝也、
斎藤 篤*、酒井 紀

【目的】臨床より分離されたMRSA臨床分離株について消毒薬の殺菌効果の検討を行った。さらに、付着菌を殺菌する効果を見るために、マイクロプレートに付着した菌の殺菌効果の検討を行った。

【方法】消毒薬としてポピドンヨード(PVP-I)、グルコン酸クロルヘキシジン(CHG)、塩化ベンザルコニウム(BAC)、塩酸アルキルジアミノエチルグリシン(AEG)を使用し、2倍希釈系列を作製し、200μlずつマイクロプレートに分注した。MRSA 5×10^5 個(5μl)を接種し、一定時間(10秒、20秒、40秒、80秒、160秒、320秒)後に再び5μlを吸い上げ、SCDLP培地(消毒薬不活化剤入り)200μlに接種し、35℃にて培養、48時間後に菌の発育を判定した。また、マイクロプレート内のミュラーヒントン培地中でMRSAを2時間培養後、生食水にて2回洗浄し、種々の濃度の消毒薬を一定時間接触させ、その後SCDLP培地200μl中、35℃にて培養、72時間後に菌の発育を判定した。消毒薬の殺菌効果に及ぼす有機物の影響についても検討中である。

【結果】浮遊菌では、BAC、AEGでは0.3125%液において10秒間でも殺菌された。CHGでは1.25%液、10秒で殺菌されるが、0.625%液、40秒間では残存する菌がみられた。PVP-Iでは0.313%濃度以上では一定時間以上の接触で殺菌される傾向が認められた。付着菌では、1.25%、2.5%のCHG、BACでは、浮遊菌と比較し同程度の殺菌力がみられたが、AEG、PVP-Iでは殺菌力の低下がみられた。0.625%のCHG、BACでは、浮遊菌と比較し殺菌力の低下がみられ、さらに0.313%以下では、その低下が著しかった。

【結論】浮遊菌では、MRSAは塩化ベンザルコニウム(BAC)、塩酸アルキルジアミノエチルグリシン(AEG)により容易に殺菌され、付着菌では、浮遊菌より、高濃度、長時間作用にても殺菌されず、消毒薬の効果は低下する。

日和見感染菌に対する速乾性擦込式消毒剤の手指消毒効果の検討

香川医科大学第一内科，手術部・集中治療部*，検査部**

○田中輝和，田中恭子，相引眞幸*，根ヶ山清**，高原二郎，手術部・看護部 看護婦グループ*

〔目的〕ICU 入室患者は，種々の医療処置を受け，その結果，compromised host として日和見感染菌による感染症発症の危険性が高く，中でもコアグラエ陰性ブドウ球菌（CNS）では，抗生剤に耐性を示す菌（CNS^r）が増加し，MRSA と共に院内感染対策の上で問題となりつつある。今回，我々は医療従事者の手指を介した交差感染を防止することの重要性と，多忙な看護者にとって重要な要素である簡便さとを兼ね備えた消毒剤の検討を目的に，速乾性擦込式消毒剤のMRSA，CNS^r を主とした日和見感染菌に対する消毒効果を検討した。

〔方法〕ICU 看護者4名による，ICU 入室患者14名（日和見感染菌を検出）の看護処置後の手指を，速乾性擦込式消毒剤であるポビドンヨード（PVP-I）製剤，2種の塩化ベンザルコニウム（BAC）製剤で消毒し，乾燥した後，パームスタンプテストにてそれぞれの消毒剤の効果を判定した。

〔成績〕看護処置後の手指からは，患者由来の日和見感染菌が検出された。3種の消毒剤による消毒後の手指残存菌を比較すると，CNS^r はいずれの薬剤による消毒後も検出される場合があったが，PVP-I 製剤ではBAC 製剤に比し少数であった。また，MRSA，CNS はPVP-I 製剤による消毒後には検出されなかった。

〔結論〕速乾性擦込式消毒剤による消毒後，手指に残存する日和見感染菌は，PVP-I 製剤が最も少なかった。ことに，抗生剤耐性が問題になっているMRSA，CNS^r に対しても，PVP-I 製剤の有効性が確認され，院内感染防止のために有用であると考えられた。

消毒剤綿球の細菌汚染

山口大学医学部附属病院薬剤部

○尾家重治，神谷 晃

〔目的〕

微生物汚染を受けた消毒剤が原因で感染が生じたとの報告は多い。しかしわが国では，消毒剤の微生物汚染対策が未だ十分に行われていないのが現状であろう。今回われわれは，病院内で分割使用されている消毒剤の微生物汚染の実態とその防止法について検討した。

〔方法〕

6種の消毒剤を対象として，汚染菌の定量ならびに同定を行った。また，細菌汚染を受けていた0.02%塩化ベンザルコニウム綿球からの汚染菌を，0.02%塩化ベンザルコニウム液や0.02%塩化ベンザルコニウム綿球などに添加して，汚染菌の動態を調べた。

〔結果〕

次の5種の消毒剤ではいずれも微生物汚染はみられなかった；7日～5年間にわたって分割使用した0.02%塩化ベンザルコニウム液の70検体，7日～1ヶ月間にわたって分割使用したポビドンヨード液の70検体，7～14日間にわたって分割使用したポビドンヨード綿球の70検体，1ヶ月～2年間にわたって分割使用した0.1%アクリノール液の15検体，7日間にわたって分割使用した消毒用エタノールガーゼの70検体。しかし，0.02%塩化ベンザルコニウム綿球では，7日間にわたって分割使用した65検体中1検体および2ヶ月間以上にわたって分割使用した5検体すべてが $10^4 \sim 10^6$ 生菌数/mlの細菌汚染を受けていた。おもな汚染菌は，*Pseudomonas putida* や *Alcaligenes xylosoxidans* などのブドウ糖非発酵菌であった。

一方，0.02%塩化ベンザルコニウム綿球からの汚染菌は，0.02%塩化ベンザルコニウム液や精製水中では増殖を示さなかったものの，0.02%塩化ベンザルコニウム綿球や精製水綿球中では速やかな増殖を示した。

〔結論〕

塩化ベンザルコニウム液は，綿球が存在すると細菌汚染を受けやすい。したがって，塩化ベンザルコニウム綿球は用時調製とすべきである。

レジオネラの環境内分布および抗菌薬・消毒薬感受性に関する検討

聖マリアンナ医科大学微生物¹⁾、同・難病治療研究センター²⁾、玉川大学学術研究所³⁾

○賀来満夫¹⁾、吉垣 茂³⁾、寺久保繁美¹⁾、池島秀明¹⁾、
國島広之¹⁾、竹村 弘¹⁾、石田一雄²⁾、金光敬二¹⁾、
山本啓之¹⁾、大友俊允³⁾、嶋田甚五郎¹⁾

【目的】重症肺炎を主病型とする在郷軍人病の起炎病原体であるレジオネラ菌は、元来土壌や河川などに生育する自然環境菌であることが知られているが、近年、一般の建物のクーリングタワーや給水・給湯系、加湿器、空調器などの人工の水・空気環境を広く汚染していることが示唆され、本菌による重症院内肺炎の発生が問題となっている。今回、我々はレジオネラの環境内分布の検討を行うとともに、本菌の抗菌薬および消毒薬に対する感受性について検討を行ったので報告する。

【材料および方法】病院内環境（クーリングタワー、給水・給湯系、加湿器）から検体を採取し、遠心処理、加熱・低pH処理後、WYO寒天培地に接種し、レジオネラの分離培養を試み、環境内分布の検討を行った。

環境より分離されたレジオネラのマクロライド薬やニューキノロン薬などの各種抗菌薬に対する感受性を微量液体希釈法で測定し、レジオネラ標準菌株の感受性成績との比較検討を行った。また、ヨード系、塩素系、第四級アンモニウム塩、両性界面活性剤、アルコールなどの各種消毒薬、強酸性電解生成水に対する環境分離レジオネラの感受性については、一定時間これらの薬剤と接触させた後の菌数減少率を測定し比較検討した。

【結果および考察】レジオネラはクーリングタワーや加湿器用の水などから分離され、病院環境の汚染が確認された。また、環境分離のレジオネラは標準株と同様にマクロライド薬のほか、ニューキノロン薬に対する感受性が高く、消毒薬ではヨード系、塩素系消毒薬、アルコール、強酸性電解生成水に対する感受性が高かった。

今後さらに環境消毒を含めたレジオネラ感染防止対策を徹底していく必要があると思われる。

流水式洗浄殺菌水製造装置（BK水）による手指消毒効果の検討—第2報—

○松井 隆、米本洋次、中野雄造、李 勝、
樋口彰宏、荒川創一、守殿貞夫

【目的】BK水は、水の電気分解によって生じる活性酸素の有機物に対する酸化作用と、同時に生じる次亜塩素酸による手指や医療器具の消毒用の中正水である。

我々はBK水の手洗いの効果については第39回日本感染症学会中日本地方会総会において報告したが、今回ウエルバスおよび石鹼水との比較も含め再度検討を行った。

【方法】泌尿器科外来診療後の医療従事者27名を対象として、BK水による手洗い、ウエルバスによる手指消毒、普通石鹼による手洗いを行った。手洗いの前後で右手掌をパームスタンプ寒天培地にスタンプし、細菌のコロニー数と分離菌種の推移を比較した。

【結果】BK水群で手洗い前の総コロニー数は多数とカウントされた菌がのべ26株とその他のべ93株555コロニーで、コロニーが消失したのは67株であった。手洗後は多数とカウントされた菌が11株と、その他のべ43株147コロニーであった。ウエルバス群では手洗い前の総コロニー数は多数とカウントされた菌がのべ3株と、その他のべ68株279コロニーで、手洗後はのべ8株21コロニーで、コロニーが消失したのは63株であった。

石鹼群については現在、菌の分離中である。

【考察】BK水は細菌学的効果の点では、ウエルバスにやや劣る結果と思われた。

しかし、BK水は刷子込み式のウエルバスと異なり、物理的な洗浄作用をもつ利点があり、またウエルバスや他の機能水と異い、手荒れすることなく、十分消毒作用を得られることから臨床での有用性が高いと思われた。

ジクロロイソシアマル酸ナトリウムを主成分とする弱酸性溶液の *in vitro* での殺菌効果の検討

NTT東海総合病院外科 ○大久保 憲
安城更生病院微生物検査室 犬塚 和久

【目的】少量のジクロロイソシアマル酸ナトリウムを水に溶解して pH 5.5 付近に調整すると、弱酸性電解酸性水と同等の溶存塩素（次亜塩素酸）濃度溶液が簡便かつ安価に生成できる。速効的な殺菌作用と有機物存在下での不活化などについて若干の知見が得られた。【方法】ジクロロイソシアマル酸ナトリウムの pH 調整のために少量のクエン酸を加えた粉末剤 0.175g を水 1,000ml 中に溶解して弱酸性（pH 5.5）溶液を作成した。共試菌株として *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *B. subtilis* ATCC 1633, *C. albicans* 臨床分離株など 14 菌種を菌液濃度 1×10^6 CFU/ml に調整した。また、不活化のための有機物としてヒト血清を用いた。

すべての菌種について試験管内での殺菌効果を経時的に観察した。さらに試験水 200ml に菌液 200 μ l と同時に血清（200 μ l, 500 μ l, 1,000 μ l, 2,000 μ l, 5,000 μ l）を加えて攪拌し、経時的に pH, 溶存塩素濃度, 酸化還元電位, 生菌数を測定した。

【結果】試験水は pH 5.5, 溶存塩素濃度 50~80 ppm, 酸化還元電位 800~1,100mV の溶液であり、弱酸性電解酸性水と同等の溶液となった。共試菌株に対する殺菌効果は、*B. subtilis* 芽胞を除く他の 13 菌株に認められ、うち 12 株は 15 秒以内に速効的に殺菌された。

有機物による不活化実験では、添加有機物の量が増えるに連れて pH は僅かに上昇するが、15 秒以降は変化なく安定していた。溶存塩素濃度は有機物量が 1.0% までは 25ppm 以上認められているが、2.5% になると 5ppm まで減少した。殺菌効果は添加有機物濃度が 2.5% 未満では消失しなかった。

【考察】pH を 5.5 付近に調整したジクロロイソシアマル酸ナトリウム溶液は次亜塩素酸が有効に作用して、弱酸性水と同等の速効的な殺菌効果を示すとともに、と有機物に対して不活化されにくい性質を持つことが明らかとなった。

胃酸分泌抑制剤投与の腸内細菌叢への影響に関する基礎的検討

東邦大学医学部外科学第三講座、同微生物学教室
○吉田祐一 炭山嘉伸 草地信也 川井邦彦
有馬陽一 青柳 健 山口恵三 宮崎修一

（目的）外科的な過大侵襲ストレス患者においては急性胃粘膜病変の予防や治療を目的として、しばしば胃酸分泌抑制剤が投与される。今回、我々は、胃酸分泌抑制が腸内細菌叢に及ぼす影響につき基礎的検討を行った。

（方法）Wistar 系雄性ラット（体重 250g）(n=6) を用い、胃酸分泌抑制剤として H2 ブロッカー（H2RA と略す）famotidine 4mg/kg/day を使用した。実験 1: ラットを経口栄養ないし静脈栄養にて飼育し、それぞれのラットに H2RA を持続投与し、H2RA 非投与群を対照として腸内細菌叢を比較検討した。実験 2: 経口栄養ラットを用いて、H2RA を持続投与した場合と、朝・夕に分けて間歇投与とした場合に、投与方法の違いが腸内細菌叢に及ぼす影響を比較検討した。それぞれの実験では、実験前、実験 2・4・6 日目にラットを犠牲し、胃・空腸・大腸内生菌数を測定した。検討菌株は、好気性総菌数、*E. coli* 生菌数、*S. aureus* 生菌数、*E. faecalis* 生菌数、嫌気性総菌数、*D. lactis* 生菌数とした。

（結果）実験 1:（経口栄養群）H2RA 非投与群では腸内細菌叢への有意な影響はほとんどなかった。H2RA 投与群では 2 日目に小腸内 *E. coli* 生菌数、*S. aureus* 生菌数、*E. faecalis* 生菌数の有意な増加が認められた。（静脈栄養群）H2RA 群では、非投与群に比べ、2・4 日目に小腸内 *E. coli* 生菌数、*S. aureus* 生菌数、*E. faecalis* 生菌数の有意な増加を認めた。また、絶食に伴い胃内生菌数が 10^4 cfu/ml に減少した。さらに、大腸内では、H2RA 投与群において非投与群と比べ *S. aureus* 生菌数に有意な変化がなかったものの、*E. coli* 生菌数は約 10^3 cfu/ml と著明に増加した。実験 2: H2RA 持続投与時には、小腸内生菌数の有意な増加は 6 日目に元のレベルに戻るものの、間歇投与時には元のレベルに戻らず同生菌数の高値が持続した。

結語: ラットでは H2RA の投与により腸内細菌叢に変化が認められ、また、投与方法の違いにより各種生菌数の推移に有意な差が認められた。

成人におけるtoxin A陰性/toxin B陽性*Clostridium difficile*の分布

岐阜大・嫌気性菌実験施設

○加藤はる、加藤直樹、福井克仁、小原明、渡辺邦友

【はじめに】毒素産生性*Clostridium difficile*は抗菌薬起因性下痢症/腸炎の主要な原因である。従来毒素産生株はtoxin Aとtoxin Bの両方を産生し、毒素非産生株はどちらも産生しないとされ、感度の優れた細胞培養法によるtoxin Bの検出によって毒素産生性は検討されてきた。演者らはtoxin B陽性でありながら、toxin AがELISAによって検出されない菌株(A-/B+株)を認め、これらの菌株ではtoxin A geneのrepeating sequenceが変異していることを報告してきた。一方、日本人では小児だけでなく成人にも毒素産生株(toxin B陽性株)の無症候性キャリアーが多いという報告があるが、この原因としてA-/B+株の存在の関与も考えられる。今回いくつかの施設で*C. difficile*を分離したところ、少なからぬ率でA-/B+株を分離したので報告する。

【材料と方法】*C. difficile*は日本の3施設、韓国の1施設、米国の2施設で分離された成人由来466菌株を使用した。A-/B+株の同定はPCR法でスクリーニングし、最終的にそれぞれELISA法と細胞培養法を用いることにより行った。A-/B+株についてはウェスタンブロッティング(WB)およびパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)によるタイピングを行った。また、一部のA-/B+株ではウサギ腸管ルーブ試験を行った。

【結果および考察】検討した466株中49株(10.5%)でA-/B+株が検出された。施設別では日本の3施設で12%、12%、32%の分離率であった。このうち1施設でprospectiveに9カ月間検討したところ、3症例に*C. difficile*起因性下痢症を認め、3例ともA-/B+株が検出されA-/B+株は認めなかった。米国の1施設では6%にA-/B+株を認めたが、米国のもう1施設および韓国株ではA-/B+株は認められなかった。これらの結果から少なくとも日本の成人におけるA-/B+株の保有は稀ではないことが明らかとなった。WBによりA-/B+株49株はすべて血清型Fとなり特定の血清型に属していたが、PFGEによる解析ではA-/B+株は単一クローンではなかった。A-/B+5株における腸管ルーブ試験では腸管内に液体貯留は認められなかったことから、A-/B+株は腸管病原性がないか極めて低い可能性が示唆された。

肝・胆道感染症に対するsulbactam/cefoperzoneの有効性、安全性の検討

名古屋市厚生院外科

○品川長夫

【目的】肝・胆道感染症の起炎菌にはEnterobacter属などβ-ラクタマーゼ産生菌の占める割合が高い。β-ラクタマーゼ阻害剤であるsulbactam (SBT) と胆汁移行の良好なcefoperazone (CPZ) の配合薬は期待される薬剤であるが、胆汁移行の良さは逆に下痢などの副作用の心配もある。有効性と安全性について検討した。

【対象と方法】1993年2月から1995年3月の間に全国26施設にて、入院治療した肝・胆道感染症を対象とし、SBT/CPZの有効性と安全性について検討した。安全性については338例の全例について検討したが、臨床効果は判定不能の36例を除いた302例について検討した。薬剤の投与は原則として1回1-2gを1日2回投与した。

【結果】薬剤が1回1-2gを1日2回投与した例は286例(93.2%)であった。基礎疾患として悪性腫瘍合併例は110例(39.6%)であった。臨床効果は、胆嚢炎(147例)で88.4%、胆管炎(140例)で76.4%、肝膿瘍(15例)で26.7%の有効率であり、全例では著効58例、有効183例で有効率は79.8%であった。悪性腫瘍合併例では有効率はやや低く66.4%(43/110)であった。胆汁からの分離菌は60例から95株が分離され、*E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*がいずれも12株であり、次いで *Enterococcus* spp. (9株), *E. faecalis* (10株)であった。単独感染は37例(61%)、混合感染は23例(39%)であった。細菌学的効果を検討した39株の菌消失率は66.7%であった。副作用は4例(1.18%)に発現し、下痢1例、発疹2例、全身発赤1例で、重篤なものはみられなかった。臨床検査値異常は16例(4.71%)で GOT 8件、GPT 5件、LDH 2件などの肝機能異常が合計18件で、白血球減少 2件、好酸球増加 2件、単球増加 1件、血清K上昇 1件であり、いずれも重症例はなく問題なく回復した。

【結語】SBT/CPZは肝・胆道感染症に対して優れた臨床効果を示し、この有効率は開発当時と大差は認められなかった。また、副作用にも特に問題となるものは認められず安全性が確認された。

急性重症肺炎における重症化の因子と治療法

日本大学医学部第三外科¹⁾、同救命救急科²⁾

○吉畑 久、佐藤 毅、国松正彦、加藤高明、
大塚 一秀、中川良英、加澤玉恵、牛尾真由美、
伊藤裕美子、潮 るな、岩井重富¹⁾、大槻横治²⁾

【目的】急性重症肺炎は容易に多臓器不全を併発し、いまだに死亡率が高い疾患である。急性肺炎における重症化の因子としてサイトカインの関与と細菌感染を考慮し、有効な治療法を検討した。

【方法】1991年から1996年における日本大学板橋病院および駿河台日本大学病院での急性肺炎例のうち、厚生省難治性肺炎疾患研究会による重症度判定基準からみた重症例22例について検討を加えた。

【結果と考察】1；血中および尿中アミラゼ値の平均はそれぞれ4217+4817および23600+30664 IU/lであったが重症度との間には相関関係を認めなかった。

2；9症例において重症肺炎と判定時に血中および腹水中のサイトカインを測定した。有意に高値を示したものはIL-6(n=8)およびIL-8(n=6)で血中値の平均はそれぞれ474+686および54.0+62.2 pg/mlであった。TNF- α 、IL-2、IL-1 β はすべて基準値以下であった。腹水中濃度の検討ではIL-6(n=4)およびIL-8(n=4)の平均値はそれぞれ12402+10159および113.3+103.3 pg/mlと血中に比べ有意に高値を示し、腹膜灌流療法の有効性の根拠となった。

3；腹水中および血液中の検出菌の検討では腹水6例中4例で細菌が検出され、内3例に好気性、嫌気性グラム陰性桿菌が検出された。これに対して血液培養では5例中4例が細菌陽性で、内2例が好気性グラム陰性桿菌であった。検討症例数が少なく統計的検討はできないが、菌血症の発症にbacterial translocationが関与しているものと推定できる。

4；dynamic CTによる脾臓組織への血流分布の推定では炎症局所への血流は著明に低下していることが予想され、持続動脈内注入カテテルによる蛋白分解酵素阻害剤および抗菌薬の脾局所投与が効果的であると推定できた。

尿路由来 *Enterococcus faecalis* の薬剤感受性：日米比較

岡山大学医学部泌尿器科

○狩山玲子、光畑律子、公文裕巳、大森弘之

【目的】近年欧米では多剤耐性腸球菌属による院内感染が重要な問題となっているが、本邦では臨床的に必ずしも問題とはなっていない。今回、腸球菌属のなかで尿路分離菌として頻度の高い *E. faecalis* を対象菌として日米の株での薬剤感受性を比較検討した。

【対象と方法】1995年に分離された尿路由来 *E. faecalis*：岡山大学医学部泌尿器科46株(0株)とWayne State大学医学部感染症科(Detroit, USA)57株(W株)を用いた。検討薬剤は、Ofloxacin(OFLX)、Ampicillin(ABPC)、Vancomycin(VCM)、Gentamicin(GM)の4剤で、感受性測定はMIC2000で行った。さらに高度GM耐性と β -lactamase産生能(ニトロセフィン法)についても検討した。

【結果】0株とW株の各薬剤に対するMIC(μ g/ml)の分布は[OFLX：0株1-4(60.9%), 16-128(28.3%), >128(10.9%); W株0.5-2(78.9%), 16-128(21.1%)], [ABPC：0株0.5-2(100%); W株0.25-1(100%)], [VCM：0株1-4(100%); W株0.25-1(100%)], [GM：0株8-32(65.2%), 128-500(2.2%), >2000(32.6%); W株1-4(3.5%), 8-32(73.7%), \geq 2000(22.8%)]であった。 β -lactamase産生能を有する株はいずれでも検出されなかった。NCCLS基準による感受性率は[OFLX(\leq 2 μ g/ml)：0株39.1%, W株78.9%], [ABPC(\leq 8 μ g/ml)：0, W株100%], [VCM(\leq 4 μ g/ml)：0, W株100%], [GM(\leq 500 μ g/ml)：0株67.4%, W株77.2%]であった。

【考察】今回検討した全薬剤について、0株はW株と比較して耐性化が進んでいた。W株にも β -lactamase産生能、VCM耐性はなかった。キノロン耐性に関しては本邦における薬剤使用量と相関するものの、近年必ずしも使用量の多くないGMへの高度耐性の出現は、そのメカニズムのみならず治療上の問題として検討すべきである。

(会員外共同研究者：Wayne State大学¹⁾、Michigan大学²⁾；Joseph W. Chow¹⁾、²⁾、Don B. Clewell²⁾)

当院で検出された腸球菌のvancomycinに対する薬剤感受性について

東京慈恵会医科大学内科学講座第二¹⁾、
横浜市立市民病院感染症部²⁾

○吉川晃司^{1) 2)}、猿田克年¹⁾、進藤奈邦子¹⁾、
坂本光男¹⁾、中澤 靖¹⁾、前澤浩美¹⁾、吉田
正樹¹⁾、柴 孝也¹⁾、酒井 紀¹⁾、相楽裕子²⁾

(目的) 近年欧米においてvancomycin-resistant

E. faecium (VREF) による院内感染が増加し、その危険因子として、基礎疾患の重症度、VCM投与歴などが報告されている (J.Inf.Dis. 172:993,1995 他)。本邦ではこれまでにVREFの報告はなく、VanB遺伝子を有する

E. gallinarum、およびVREFと同定した株が再同定にて *E. casseliflavus*、*E. gallinarum*と判定されたことが今までに本学会で報告された。今回当院で検出された腸球菌のVCMに対する薬剤感受性について検討し、VCM耐性株について、臨床的・細菌学的検討を行ったので報告する。

(材料と方法) 1996年1月～12月に当院で検出された腸球菌計294株。腸球菌の同定及び薬剤感受性検査 (MIC測定) は横浜市立市民病院細菌検査室にてVITEKにて施行し、薬剤耐性の判定はampicillin (ABPC)、gentamicin (GM)、minocycline (MINO) では $\geq 16 \mu\text{g/ml}$ 、ofloxacin (OFLX)、vancomycin (VCM) では $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ として集計した。

(結果) 1、横浜市立市民病院における腸球菌の分離頻度と耐性株の頻度

| No. of strains (%) | ABPC | GM | MINO | OFLX | VCM |
|---------------------------------------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|
| <i>E. faecalis</i> 224 (76.2) | 2 (0.89) | 59 (26.3) | 1 (0.45) | 51 (22.8) | 10 (4.52) |
| <i>E. faecium</i> 39 (13.3) | 26 (66.7) | 1 (2.56) | 0 (0.00) | 23 (59.0) | 1 (2.56) |
| <i>E. avium</i> 20 (6.8) | 2 (10.0) | 2 (10.0) | 0 (0.00) | 4 (20.0) | 1 (5.00) |
| other <i>Enterococcus</i> 11 (3.7) | 2 (18.2) | 0 (0.00) | 0 (0.00) | 0 (0.00) | 1 (9.09) |

2、VCM耐性13株の検出された症例の年齢は、0～87歳 (51.4 \pm 29.2歳) で、検査材料は尿路感染症、術後感染による尿、膿が多かった。VCM以外の4薬剤にも耐性を示した株は *E. faecalis* 3株、*E. faecium* 1株、*E. avium* 1株、other *Enterococcus* 1株、計6株に認められた。さらにVCM耐性株として判定した腸球菌について、Api Strep 20キットによる菌種の再同定、日本化学療法学会標準法によるMIC測定を行い、あわせて耐性遺伝子の有無について報告する。

キノロン高度耐性腸球菌の *gyrA* および *parC* 変異の解析

大日本製薬 創薬第二研究所¹⁾

北里大学 医学部 微生物学教室²⁾

○小山田義博¹⁾、山岸純一^{1,2)}、藤本孝一¹⁾、
服部宏昭¹⁾、中村信一¹⁾、岡本了一²⁾、井上松久²⁾

近年、腸球菌が臨床材料から高頻度に分離され、その多くがキノロン薬を含む多種類の抗菌薬に耐性を示すことから重要な問題となっている。グラム陽性球菌のキノロン高度耐性化は、Gyrase と Topo IV の両標的酵素の変異により生じることが黄色ブドウ球菌や肺炎球菌で知られている。しかしながら、腸球菌のキノロン高度耐性化機構は、明らかにされていない。今回、臨床由来のキノロン高度耐性 *E. faecalis* および *E. faecium* について、標的酵素遺伝子の変異を調べたので報告する。

【方法】

試供菌株は、1994年～1996年に臨床より分離された *E. faecalis* 4株と *E. faecium* 4株を用いた。それら株のMICは、NFLX $\geq 100 \mu\text{g/ml}$ 、SPFX 12.5～50 $\mu\text{g/ml}$ である。耐性変異の解析は、種々の菌種の *GyrA* および *ParC* のアミノ酸配列の相同性の高い領域よりデザインした混合プライマーを用いて、PCR法により *E. faecalis* および *E. faecium* の *gyrA* および *parC* 遺伝子断片を増幅し、クローン化した。次に、得られた *gyrA* および *parC* 遺伝子配列に基づいてそれぞれに特異的プライマーを作製し、PCR direct sequencing法で配列決定した。

【結果】

E. faecalis では、耐性株すべてに *GyrA* 変異として、Glu-88→LysあるいはSer-84→Arg, Ile変異が認められ、更に *ParC* 変異としてSer-80→Ile変異が加わっていた。*E. faecium* の場合、*GyrA* および *ParC* 両方に変異が生じた株、さらに *ParC* 単独の変異株も見出された。これらの変異部位は、黄色ブドウ球菌等のキノロン耐性変異部位に対応していた。腸球菌のキノロン高度耐性化は、黄色ブドウ球菌と同様、Gyrase と Topo IV の両標的酵素の変異が重複することにより生じるが、他の耐性因子関与の可能性も考えられる。

Oral Streptococci のニューキノロン薬耐性獲得と *gyrA* mutation について

東海大学医学部口腔外科学教室¹⁾
 三菱化学ビーシーエル・化学療法研究室²⁾
 同細胞遺伝解析部³⁾

○金子明寛¹⁾、山崎純子¹⁾、佐々木次郎¹⁾、
 金山明子²⁾、村岡宏江²⁾、小林寅詰²⁾、島津光伸³⁾

【目的】歯科口腔外科感染症患者に対しニューキノロン薬が使用され十数年が経過した。その後多くの同系統の抗菌薬が開発され臨床で用いられている。これに伴い耐性菌の増加も深刻な問題となっている。

今回我々は臨床分離 Oral Streptococci の実験的ニューキノロン薬耐性誘導とその耐性機構の究明を目的として *gyrA* 遺伝子の変異について検討した。

【材料】試験菌株として *S. sanguis* および *S. anginosus* の臨床分離株を用いた。試験薬剤は norfloxacin, ofloxacin, ciprofloxacin および DU-6859a のニューキノロン薬 4 薬剤と ampicillin の計 5 薬剤を用いた。

尚、*gyrA* 変異の対照株として *S. sanguis* ATCC10556 および *S. anginosus* ATCC33397 の各基準株を用いた。

【方法】ニューキノロン薬に対する耐性誘導は OFLX および DU-6859a をそれぞれ 1/2~2MIC 含有した培地に試験菌を塗抹し、2日間培養後同培地で継代培養を行い、各培地からその 2 倍高い濃度を含む培地に塗抹し同様な操作を繰り返した。得られた耐性株の *gyrA* の変異は一般的に用いられている遺伝子領域を PCR で増幅し、シーケンスを行い確認した。

【結果と考察】*S. sanguis* および *S. anginosus* ともに両処理薬剤によってニューキノロン薬に対する耐性株が得られた。OFLX および DU-6859a によって得られた耐性株はそれぞれ処理に用いた薬剤により耐性化する傾向が認められた。また OFLX によって得られた耐性株の *gyrA* は codon 83 に変異が認められ、DU-6859a によって得られた高度耐性株はさらに codon 87 にまで変異していた。

これら Oral Streptococci のニューキノロン薬耐性化は主に *gyrA* の変異によるものと考えられ、また接触した薬剤によって変異の様式も異なるものと思われた。

当院における肺炎球菌の疫学的検討

川崎医科大学呼吸器内科

○渡邊信介、吉田耕一郎、橋口浩二
 中島正光、二木芳人、松島敏春

【目的】当院における臨床分離肺炎球菌の各種薬剤に対する感受性を測定し、合わせてその臨床的背景を検討した。

【対象】1995年12月から1996年12月の間に川崎医科大学附属病院中央検査室で各種臨床材料より分離された102株の肺炎球菌を対象とし、臨床的背景が調査可能な75症例76株については、その背景因子など臨床疫学的検討を加えた。なお、原則として同一症例からの同一エピソードにおける重複分離株については、最初の分離株のみを対象とした。

【方法】薬剤感受性試験は日本化学療法学会標準法に準じ、微量液体希釈法で行った。検討薬剤は、PCG, ABPC, CAZ, CTRX, CZOP, PAMP, VCM, CCL, CDTR, LVFX, SPFX, EMとした。なお、PCGの感受性分類については、NCCLSの基準に基づいた。

【結果】102株のPCGに対する感受性は、PSSP:60株(58.8%)、PISP:27株(26.5%)、PRSP:15株(14.7%)であった。臨床疫学的検討を加えた76株中、65株が喀痰などの呼吸器由来であった。また血液由来株は4株であった。76株のPCGに対する感受性は、PSSP:44株(57.9%)、PISP:20株(26.3%)、PRSP:12株(15.8%)であり、最高4μg/mlであった。血液由来4株中1株が中等度耐性であった。

【結語】当院で分離された肺炎球菌102株について各種薬剤感受性を測定し、その内76株については疫学的検討を行った。1993年から1995年に我々が行った臨床分離肺炎球菌120株での調査では、46.7%が耐性であり、今回耐性率の増加は認めなかった。疾患別、年齢別耐性率、また治療との相関など、より詳細な臨床背景についても報告の予定である。

東北地区で分離された肺炎球菌の感受性調査成績
—1995年及び1996年の検討

東北大学医学部第一内科

○大野勲, 西岡きよ, 荻原央子, 白土邦男
東北大学加齢医学研究所呼吸器腫瘍研究分野
渡辺彰, 貫和敏博
「東北感染症研究会」

肺炎球菌の抗生剤耐性化, 特にPCを主としたβ-ラクタム剤耐性の増加が, 日本においても重要な問題となりつつある。我々は東北地方における本菌感受性疫学調査を行ったのでここに報告する。

対象及び方法: 1995年7月~11月, 1996年8月~11月の2回, 東北地方の10施設から収集された菌株(各年104株及び105株)を用い, 微量液体希釈法でMICを測定した。分離材料は両年とも喀痰, 咽頭粘液が86%であった。

結果: PCGはMIC₅₀ ≤ 0.06^{μg/ml} (PSSP)が95年59.6%, 96年53.3%, 0.125~1.0^{μg/ml} (PISP)は27.9%と27.6%, ≥ 2.0^{μg/ml} (PRSP)は12.5%と19.0%であり, 高度耐性株の増加が著明であった。

PI・PRSPは, PSSPに比してセフェム系, カルバペネム系とも高いMICであったがその中ではPAPM, IPMが抗菌力は強かった。EM耐性(≥ 0.5^{μg/ml})は95年53.1%, 96年67.6%, MINO耐性(≥ 1.0^{μg/ml})は74.0%と79%でいずれも耐性率の上昇がみられた。特にEMでは両年とも≥ 64^{μg/ml}の高度耐性株が多くみられた。またPC-EM-MINOの3剤耐性が95年78.6%, 96年71.4%で, 多剤耐性が高率に存在することが明らかであった。VCM耐性は全くみられず, TFLXも強い抗菌力を示した。

まとめ: 1995年, 1996年の2回のサーベイランスによって東北地方での耐性肺炎球菌の蔓延を明らかにした。対象菌株のすべてが感染起炎菌であったとは断定できず, 単なる保菌状態のものもあると思われるが, それらをも含めて感受性の現状を把握しておくことは, 本菌感染症の治療上不可欠であり, そのためにも継続した耐性菌の監視が必要であると考え。

臨床分離肺炎球菌に対する
Clindamycinの抗菌活性

東京総合臨床検査センター研究部

○鈴木由美子, 石井由紀子, 石原理加,
中澤ありさ, 出口浩一

【目的】近年の我が国で検出される肺炎球菌はペニシリン耐性を含む多剤耐性株が増加しているが, ペニシリン耐性株においてはMLs誘導型耐性株が多い¹⁾。そこで我々は新鮮臨床分離肺炎球菌を対象としてCLDMの抗菌活性を検討した。【方法】1996年に当所で検出した*Streptococcus pneumoniae* 100株を対象とし, 内訳はPC感性(PSSP)50株, PC低感受性又は耐性(PISPorPRSP)50株とし, api-strepの707A100-Fと代謝産物などを利用した生物群(bio group)²⁾により区分けした。そして, 寒天平板希釈法によりMICを測定すると共に得られた結果をMLs感受性パターンとしてまとめた。【結果】CLDMのMIC₇₀及びMIC₉₀はPSSP ≤ 0.025 μg/ml・>100 μg/ml, PISPorPRSP 0.1 μg/ml・>100 μg/mlであり, MIC₇₀におけるCLDMが示した値はPSSPではPCGと同等, EM, JM, PIPC, CTM, FMOX, CAZよりも低く, 同じくPISPorPRSPでは対照薬剤のいずれよりも低かった。一方, CLDMのMIC₉₀はPSSP及びPISPorPRSPが共に高い値であったが, 前者においてはbio group IIIのMLs構成型耐性株が, 後者においてはbio group I及びIIのMLs構成型耐性株の結果が反映していた。尚, PISPorPRSPにはbio group IIIは存在しなかった。【考察】PISPorPRSPはMLs誘導耐性株が高い割合であるが, MLs誘導耐性株にはCLDMが強い抗菌活性を示すことが示唆された。一方, 巨大なカビを有するPSSPのbio group IIIは血清型3ともほぼ相関するが, この株にはCLDM高度耐性のMLs構成型耐性株が高い割合であった。以上のことから, 肺炎球菌感染症においては薬剤感受性テストを正確かつ迅速に実施することが大切である。【文献】1)出口浩一, 他: 第45回日本感染症学会東日本地方総会, 第43回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会(1996年11月, 東京)。2)出口浩一, 他: 第9回Bacterial adherence研究会記録。Vol.9:22~28, 1995

ペニシリン耐性肺炎球菌のPBPIA遺伝子における
トランスペプチダーゼ領域の解析

帝京大学医学部臨床病理

○ 旭 泰子, 生方 公子, 紺野 昌俊

【目的】 PRSPのヘニシリン系およびセフェム系薬耐性には、PBPIAの中PBPIAの親和性の低下が最も重要であることを我々は既に報告した。一方、PBPIAをコードする *pbp1a* 遺伝子については、PSSPとPRSPでその塩基配列の解析が行われている¹⁾が、それらの成績は血清型の6型、14型、23型のPRSPであり、我が国で最も検出率の高い19型についての解析は行われていない。この様なことから、*pbp1a* 遺伝子の中でも耐性の発現に重要なトランスペプチダーゼ領域の塩基配列を解析し、血清型の異なるPRSP間における変異の比較を行った。

【方法】 我が国で分離された血清型6型、14型、19型、23型のPSSP、PRSPを用いた²⁾。トランスペプチダーゼ領域の2375～2744bpをPCRで増幅し、*1mol* DNA Sequencing System kit (Promega)と日立蛍光式DNAシーケンサーSQ-3000を用いて塩基配列を決定した。

【結果】 PSSPにおけるトランスペプチダーゼ領域の塩基配列は、Martin¹⁾によって報告されたR6株と99%以上の高い相同性を示していた。一方、6型のPRSPは既報の6型の塩基配列と96%以上の高い相同性を示していたが、19型、23型のそれは既報の塩基配列とは72～83%の相同性しか示さず、かなり異なった変異のPRSPであることが示された。

【考察】 血清型6型のPRSPにおける *pbp1a* 遺伝子の塩基配列はスペインで分離されたPRSPのそれに極めて近似していたのに対し、19型や23型のPRSPの塩基配列の相同性が低かったということから、それらはβ-ラクタム系薬に曝されより変異を生じながら全国へ広まったと推察された。それぞれの血清型における塩基配列の相違は、その起源を考える上で興味深いことと考える。

【文献】

- 1) Martin, C et al., EMBO J. 11:3831-3836, 1992.
- 2) 紺野昌俊他編：ヘニシリン耐性肺炎球菌。協和企画通信, 1997.

肺炎球菌ジャイレース、トポイソメラーゼ IV
遺伝子のクローニングおよびキノロン耐性変異

○ 小野寺 宜郷, 田中 眞由美, 佐藤 謙一,
早川 勇夫

(第一製薬(株)創薬第一研究所)

肺炎球菌のキノロン耐性メカニズムを解析する目的で標的酵素と考えられる DNA ジャイレース遺伝子およびトポイソメラーゼ IV 遺伝子のクローニングを行い、キノロン耐性菌の当該遺伝子のキノロン耐性決定領域(QRDR)を解析した。

黄色ブドウ球菌トポイソメラーゼ IV 遺伝子 (*grlA*) または、DNA ジャイレース遺伝子 (*gyrA*) をプローブとして肺炎球菌ゲノムライブラリーをスクリーニングした。その結果、肺炎球菌 *gyrA*、*grlA* 遺伝子がクローニングされ、その塩基配列を決定し、これらの遺伝子をそれぞれマルトース結合蛋白融合蛋白発現系を用いて大腸菌内で蛋白の発現、精製を行い、その酵素活性を検討した。

次に耐性度の異なる臨床分離株の両遺伝子の QRDR 領域をそれぞれ PCR によって増幅し、塩基配列を調べた。その結果、キノロン中等度耐性菌 (レボフロキサシン MIC 2, 4 μg/ml) においては *grlA* (Ser⁷⁹→Tyr) に変異が認められ、キノロン高度耐性菌 (レボフロキサシン MIC ≥8 μg/ml) においては *gyrA* (Ser⁸³→Tyr または Phe) と *grlA* (Ser⁷⁹→Tyr, Phe または Asp⁸³→Asn) の双方に変異が認められた。以上の結果より、肺炎球菌のキノロン中等度耐性には *grlA* の変異が、キノロン高度耐性には *gyrA* と *grlA* の変異が関与することが示唆された。

臨床材料より分離されたキノロン耐性 *Streptococcus pneumoniae* の *gyrA*, *parC* 遺伝子の変異に関する検討

¹⁾ 琉球大学医学部 第一内科, ²⁾ 同 附属病院検査部

○田場 秀樹¹⁾, 草野 展周²⁾, 新里 敬¹⁾, 比嘉 太¹⁾
 健山 正男¹⁾, 小出 道夫¹⁾, 斎藤 厚¹⁾, 仲宗根 勇²⁾
 山根 誠久²⁾

【目的】近年、臨床材料より分離されるペニシリン (PCs) 耐性肺炎球菌は、ペニシリン・セフェム系抗菌薬以外の抗菌薬に対しても耐性化傾向にある。ニューキノロン系抗菌薬 (NQs) は PC 耐性肺炎球菌に対する治療薬剤としての有用性が検討されているが、臨床分離株のなかには既に本薬剤に対して耐性化した株が少なからず存在している。今回、我々は NQs に対する肺炎球菌の薬剤感受性、および NQs の標的部位である DNA gyrase および DNA topoisomerase IV を支配する *gyrA* および *parC* 遺伝子の変異について検討したので報告する。

【材料と方法】1994 年から 1996 年の間に当院検査部にて各種臨床材料より分離された *S. pneumoniae* 150 株を対象とした。薬剤感受性試験は日本化学療法学会標準法に基づき、微量液体希釈法にて行った。検討薬剤は CPFX, TFLX, SPFX, LVFX, PUFX, PZFX, DU-6859a, AM-1155, BLFX, CS-940, GPFX, HSR-903 とした。また NQs 耐性株の *gyrA* および *parC* 遺伝子の変異の検索は、polymerase chain reaction (PCR) 法を用いて目的塩基配列を増幅し、得られた PCR 産物の塩基配列を sequncer により解析・比較することにより行った。

【結果】MIC 分布の違いから、NQs を肺炎球菌に対する抗菌活性の強さの順に大別すると、(1) DU-6859a および HSR-903 からなるグループ、(2) CS-940, TFLX, GPFX, AM-1155, BLFX および SPFX からなるグループ、(3) LVFX, PUFX, CPFX および PZFX からなるグループ、の 3 群に分類された。PCG 感受性株には NQs 高度耐性株はみられなかったが、PCG 中等度耐性および高度耐性株のなかには一部薬剤の MIC が 16 μ g/ml 以上を示す NQs 高度耐性株が存在した。また CPFX 耐性・DU-6859a 感性を示す菌株のなかでも、CS-940 に対しては感性の菌株と耐性の菌株に区別されるなど、NQs 間で必ずしも交差耐性を示さない例が認められることから、現在、該当する菌株について *gyrA* および *parC* 遺伝子の解析を行っており、本会にてその結果を報告する予定である。

最近分離のペニシリン耐性肺炎球菌の血清型別と PBP2B, 2X 耐性遺伝子の検索

1) 久留米大学医学部小児科
 2) ゆうかり学園

○長井健祐¹⁾, 赤須裕子¹⁾, 松尾勇作¹⁾, 津村直幹¹⁾,
 織田慶子¹⁾, 阪田保隆¹⁾, 加藤裕久¹⁾, 本廣 孝²⁾

【目的】ペニシリン (PCG) 耐性肺炎球菌は、小児科領域で髄膜炎をはじめとする重症感染症の起炎菌となり、治療に苦慮する例も報告されている。当科および関連施設で分離された肺炎球菌の血清型別と PBP2B, 2X 耐性遺伝子の検索を行ったので報告する。

【方法】1993 年 1 月から 1995 年 12 月までに、当科および関連施設で分離された肺炎球菌 224 株を対象とした。PCG の MIC 測定は、NCCLS の基準に従い、寒天平板希釈法で行った。血清型は、Statens Serum Institut 社の肺炎球菌型別用抗血清を用い判定した。1993 年分離の 98 株について、PCR 法により PBP2B および 2X 耐性遺伝子の検索を行った。

【結果】224 株中 PCG に対する MIC 値が 0.13 μ g/ml 以上の耐性株は 106 株 (47.3%) で、うち MIC 2.0 μ g/ml 以上の株は 22 株 (9.8%) であった。血清型は、PCG 耐性株では、19 型 45 株 (42.5%)、23 型 29 株 (27.4%)、6 型 (23.6%)、14 型 3 株であった。感性株では、6 型が 42 株と最も多くみられた。PBP2B 遺伝子の検索では、class B 変異が PCG 耐性 45 株中 28 株 (62.2%) で、class A 変異株は 1 株であった。16 株で感性型の PBP2B 遺伝子が見られた。PBP2X の耐性遺伝子は 28 株にみられ、PBP2B class B 変異が共にみられた株は 17 株であった。

【考察】ペニシリン耐性株の血清型は、19, 23, 6 型が多く、本邦での全国調査とほぼ同様の分離頻度であった。MIC 2.0 μ g/ml 以上の耐性株の多くで、PBP2B class B 変異と PBP2X 耐性遺伝子が共に検出された。PCR 法による耐性遺伝子の検索は、主に治療上問題となる PCG 耐性株による髄膜炎をはじめとする重症感染症例で、有用であると考えられた。

オキシミノセファロスポリン耐性肺炎球菌の
PBP2XとPIPC感受性について

富山化学工業株式会社総合研究所

○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

【目的】近年, 臨床分離肺炎球菌におけるP1SPやPRSPの分離頻度は増加し, オキシミノセファロスポリン耐性PSSP (ORSP) の分離頻度も増加傾向を示している。またORSP中にはPIPCに高い感受性を示す株 (PIPC MIC; $\leq 0.00625 \mu\text{g/ml}$) が約20%認められている。我々は, PSSPにオキシミノセファロスポリンを作用させて実験的に得られたORSPのPBP2Xアミノ酸解析の結果から, $^{66}\text{Thr} \rightarrow \text{Ala}$ 変異がオキシミノセファロスポリン耐性化に加え, PIPC, MPIPCなどのペニシリン剤感受性化に関与していることを報告した。

今回, 臨床分離ORSPにおけるPIPC高感受性とPBP2Xのアミノ酸変異との関係を調べるために, *pbp2x*の塩基配列の決定および*pbp2x*導入株の感受性の測定を行ったので報告する。

【材料および方法】使用菌株としてPSSPのD-993株, 実験的に得られたPIPC高感受性ORSPのIID553DX5 ($^{66}\text{Thr} \rightarrow \text{Ala}$) および臨床分離ORSPのうちPIPCに高感受性を示した3株 (PIPC MIC; $0.00313 \sim 0.00625 \mu\text{g/ml}$) を用いた。5%綿羊血液含有BHIAを用いた寒天平板希釈法で薬剤感受性を測定した。PCRで増幅したORSPの*pbp2x*約2kbpを塩基配列の決定およびtransformantの作製に用いた。

【結果および考察】臨床分離ORSPのPBP2Xのアミノ酸配列は3株ともに550番目がAlaであり, 実験的に得られたPIPC高感受性ORSPのIID553DX5と同様であった。また臨床分離ORSPおよびIID553DX5の*pbp2x*をD-993株に導入したtransformantに対するMICはいずれも, CTXではD-993株(host)より2~3管上昇し, PIPCでは2管低下した。

以上, 臨床分離肺炎球菌において, 実験株と同様にPBP2Xの550番目のアミノ酸変異がオキシミノセファロスポリン耐性化と同時にPIPC感受性化に関与していた株が認められた。その他の臨床分離ORSPについても現在検討中であり, あわせて報告する予定である。

複雑性尿路感染症患者由来キノロン耐性緑膿菌における*gyrA* 遺伝子と*parC*遺伝子のmutationの検討

岐阜大学泌尿器科

○仲野正博, 出口 隆, 安田 満, 尾関茂彦,
西野好則, 石原 哲, 坂 義人, 河田幸道

【目的】複雑性尿路感染症患者由来緑膿菌に対するOFLXのMICと*gyrA* 遺伝子および*parC*遺伝子のmutationとの関連について検討した。

【対象】複雑性尿路感染症患者より分離された緑膿菌16株を対象にした。

【方法】16株に対するOFLXのMICを寒天平板希釈法で測定した。各菌株のDNAを抽出し, 緑膿菌*gyrA* 遺伝子のキノロン耐性決定領域を含む範囲および*parC*遺伝子の同等部位をPCR法で増幅し, 塩基配列を決定した。

【結果】OFLXのMICが $0.39 \mu\text{g/ml}$ から $12.5 \mu\text{g/ml}$ までの5株には*gyrA* と*parC*遺伝子ともにmutationは認めず, $25 \mu\text{g/ml}$ から $100 \mu\text{g/ml}$ の6株には*gyrA* と*parC*遺伝子ともにsingle mutationを認める4株と, *gyrA* 遺伝子にsingle mutationを認めるが*parC*遺伝子にmutationを認めない2株とが存在した。200 $\mu\text{g/ml}$ の3株では*gyrA* と*parC*遺伝子ともにsingle mutationを認める1株と*gyrA* 遺伝子にdouble mutationを認め, *parC*遺伝子にsingle mutationを認める2株とがあり, 400 $\mu\text{g/ml}$ の2株には*gyrA* 遺伝子にdouble mutationを認め, *parC*遺伝子にsingle mutationを認めた。

【考察】今回検討した尿路感染症由来緑膿菌の*gyrA* 遺伝子は, OFLXのMICが $25 \mu\text{g/ml}$ からsingle mutationを認め, 200 $\mu\text{g/ml}$ からdouble mutationを認めており, OFLXのMICが上昇するに従って*gyrA* 遺伝子のmutationに蓄積がみられた。*parC*遺伝子は $25 \mu\text{g/ml}$ からsingle mutationを認めるが, 50 $\mu\text{g/ml}$ と100 $\mu\text{g/ml}$ の株にはmutationを認めない株があった。緑膿菌においても*gyrA* 遺伝子の変異の蓄積と*parC*遺伝子の変異の存在がキノロン剤に対する耐性化に重要な役割を果たすことが示唆されたが, *gyrA* と*parC*遺伝子のmutationが出現する菌株に対するOFLXのMICは広範囲であり, 他のキノロン耐性機構の関与も示唆された。

共同研究者: 岐阜大学分子病態
岡野幸雄, 木村正志

緑膿菌多剤排出システム MexCD-OprJ を構成する
外膜蛋白質 OprJ の OprM による機能的相補

京都薬大・微生物

○後藤直正, 辻元秀人, 西野武志

【目的】緑膿菌の染色体上には、少なくとも 3 種の薬剤排出システム MexAB-OprM, MexCD-OprJ および MexEF-OprN をコードするオペロンが存在し、これらの高発現により緑膿菌は特徴的な耐性プロファイルを示す。これは、それぞれのシステムの基質特異性が異なることを示唆している。この基質特異性を与える構成蛋白質を同定することを目的として、MexCD-OprJ オペロンの各遺伝子の破壊株を作成し、MexAB-OprM システムの構成蛋白質である OprM による相補を調べた。

【材料および方法】遺伝子破壊株の作成は Ω Sm^r cassette を挿入した *mexCD-oprJ* オペロンおよび pMT5071 由来の Mob cassette (*sacB oriT* Ω Cm^r) を含むプラスミドを用い、PAO1 由来の *nfxB* 変異株から *mexCD-oprJ* オペロン中の各遺伝子に Ω Sm^r cassette を挿入した突然変異株を遺伝子置換法により作成した。Sm^r の挿入位置は、PCR および Southern hybridization により確認した。作成した変異株の MexC, MexD および OprJ の産生は、抗 MexC 抗体、抗 MexD 抗体および抗 OprJ 抗体を用いた immunoblot assay により調べた。

【結果および考察】意図した遺伝子の挿入変異による遺伝子の破壊とその下流にある遺伝子の発現抑制が immunoblot assay により分かった。これらの株の薬剤感受性から *nfxB* 型が多剤耐性の性状が *mexC* や *mexD* の破壊株では消失することが分かった。一方、*oprJ* の破壊株では、*nfxB* 変異株の場合よりも感受性化したものの野生型株の程度まで感受性化していないことが分かった。そこで、*oprJ* 破壊株に、*oprM* 遺伝子を持つプラスミドを導入し、OprM を過剰産生させたところ、*oprJ* 破壊株の耐性度は上昇し、キノロンや第 4 世代セフェムに耐性化する *nfxB* 型に特徴的な耐性プロファイルを示した。これらの結果は、OprM により OprJ の欠損が相補されたこと、さらに外膜蛋白質 OprJ や OprM が基質特異性に関与していないことを示唆した。

(会員外共同研究者：乃村敦子, 津田雅孝)

緑膿菌のカルバペネム耐性を引き起こす
外膜蛋白質 OprE3 の減少

京都薬大・微生物¹, 東海大・医・分子生命²

○岡本清美¹, 後藤直正¹, 中江太治², 西野武志¹

【目的】外膜蛋白質 OprD の減少は緑膿菌にカルバペネム耐性を付与する。また、meropenem の抗菌活性は imipenem の場合とは異なり、薬剤排出システム MexAB-OprM の過剰産生に伴って減少する。私どもは、新規カルバペネムの耐性機構を調べる目的で、biapenem, S4661 および DU6681a の耐性株を分離したところ、OprD 減少や MexAB-OprM の過剰産生だけでなく、OprE3 の減少も緑膿菌のカルバペネムに対する感受性を減少させることを見いだしたので報告する。

【材料および方法】カルバペネム耐性株は緑膿菌 PAO1 株より imipenem, biapenem, BO2727, meropenem, S4661 および DU6681a を含む L agar 上で分離した。これらの株の薬剤感受性は寒天平板希釈法により、また外膜蛋白質プロファイルは SDS PAGE により調べた。さらに外膜透過性は、carbapenemase をコードする pMS363 を形質転換した株でのカルバペネムの分解速度から求めた。

【結果および考察】PAO1 株より分離したカルバペネム耐性株の性状を調べたところ、OprD の欠損や MexAB-OprM の過剰産生により耐性化した株が見られたことは既に報告された結果と同じであった。しかし、biapenem, S4661 および DU6681a 耐性株中には、OprD の減少や MexAB-OprM の過剰産生が見られないにもかかわらずカルバペネムに対する感受性が低下している株が見られた。これらの株の外膜蛋白質プロファイルや外膜透過性をさらに詳細に調べたところ、OprE3 の減少と外膜透過性の減少が認められた。さらに、OprE3 減少株から imipenem に対する感受性がより減少した株を分離したところ、他のカルバペネムに対する感受性の低下と OprD の減少が観察された。以上の結果は、カルバペネムの感受性の低下は、OprD の減少だけでなく OprE3 の減少によっても起こること、さらに OprE3 がカルバペネムのための透過孔を形成していることを示唆している。

(会員外共同研究者：良原栄策)

抗菌薬の緑膿菌線毛(pili)発現抑制効果の検討

大分医科大学第二内科、同附属病院検査部¹⁾○岸 建志、村上純子、竹岡香織、山上由理子、
一宮朋来、平井一弘、山崎 透¹⁾、永井寛之、
橋本敦郎、那須 勝

【目的】緑膿菌慢性下気道感染症において、Erythromycin(EM)をはじめとするマクロライド系抗菌薬の少量長期療法の臨床的有用性が報告されている。我々は緑膿菌の病原因子の一つとされるpiliについて、EMがsub-MICにおいてpili, pili蛋白, prepilin蛋白の発現を抑制することをこれまでに報告してきた。

今回はさらに他の抗菌薬を作用させ、pili発現に対する抑制効果の有無と薬剤間での相違について比較検討したので報告する。

【材料と方法】使用菌株は緑膿菌 PAO 2001-2(nonmucoid, pili+) を用いた。抗菌薬はEM, Clarythromycin(CAM), Roxithromycin(RXM), Azithromycin(AZM), Rokitamycin(RKM), Clindamycin(CLDM)を用いた。sub-MIC(1/4~1/128)の各抗菌薬存在下で24時間培養後、2%酢酸ウラニルでnegative染色を行い、透過型電子顕微鏡にて形態観察を行い比較検討した。

【結果】piliの発現を1菌体あたりのpiliの平均本数で比較した。抗菌薬を作用させないcontrol群と比べ、各薬剤作用群では1/4MICですべてpili発現抑制効果が認められた。この抑制効果は濃度依存的であり、薬剤間の比較では15員環系のAZMが最も強く、続いて14員環系のCAM, EMの順に抑制効果がみられた。また1/4, 1/8MICなどの比較的高濃度において、EM, CAM, RXM, AZMでは、pili発現抑制効果と同時に、菌体の伸長化が認められた。

【結語】緑膿菌のpiliは、感染症成立の第一歩である感染局所への付着・定着において重要な役割を担っているが、マクロライド系抗菌薬によってその発現が抑制されることが確認された。

LPS構成の異なる *Pseudomonas aeruginosa* の gentamicin 結合と菌体内移行について

三菱化学ピーシーエル・化学療法研究室

○雑賀 威、小林寅晴、長谷川美季、西田 実

P.aeruginosa に対する gentamicin(GM)等のアミノ配糖体系抗菌薬の作用として、本菌の表層、主に lipopolysaccharide(LPS)の負に荷電した部位との静電的結合を経て、エネルギー依存性の菌体内移行が知られている。

今までに我々は³H-GMを用い、LPS構成の異なる臨床分離 *P.aeruginosa* への結合と短時間殺菌性について検討した結果、LPS長鎖、短鎖および欠損の順にGM結合性が高く、GMの殺菌作用は逆にLPS欠損株に強いことを報告した。しかしLPS欠損株のなかには³H-GM結合性およびGMの殺菌作用に対してLPS長鎖株と同様の挙動を示す株が存在した。その後の検討により、これらのLPS欠損株は deep rough 株と呼ばれるLPSの outer core 部位の中性糖残基が完全に欠損し、lipid Aが菌表層に露出したPAC605株に類似することが明らかになった。すなわち表層部のLPS以外の強い陰性荷電部位に、GM等の多価カチオン性抗菌薬が結合すると考えられた。

一方、次の段階であるGMの *P.aeruginosa* 菌体内への移行について同様に³H-GMを用い菌体内濃度を測定した結果、LPS長鎖株であるNo.4株では経時的に菌体内に移行し、比較的短時間でプラトーに達した。

他のLPS構成の異なる菌株についても検討し報告する。

In vitro non-growing *P. aeruginosa*に対する
TFLXの殺菌作用

富山化学工業株式会社 総合研究所¹⁾
長谷川病院²⁾

○山田 博司¹⁾, 高畑 正裕¹⁾, 米沢 実¹⁾,
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⁾

【目的】我々は先の本学会西日本支部総会においてラット実験的膀胱結石に定着した*P. aeruginosa*に対する殺菌効果がnon-growing状態の菌に対する殺菌作用を反映し、キノロン剤間で差が認められることを報告した。今回、この差が他の菌株でも認められるか否かを調べるため、キノロン感受性の異なる*P. aeruginosa*を用い、non-growing状態の菌に対するTFLXとCPFAXの殺菌作用を比較したので報告する。

【方法】キノロン感受性の*P. aeruginosa* S-1305及びキノロン耐性のS-1178, S-1142, S-1148の4株を用いた。使用菌株に対するTFLXのMIC値はそれぞれ順に0.39, 12.5, >25, >25 µg/ml, CPFAXは0.20, 25, >100, >100 µg/mlであった。Stationary phaseの試験菌を1% glucose添加生理食塩水(G-S)に懸濁し24時間静置後、再度G-Sに約10⁶~10⁷ CFU/mlとなるよう浮遊させ、non-growing状態の菌液を調整した。本菌液に各種濃度のTFLX及びCPFAXを添加後、37°Cで培養し、経時的に生菌数を測定した。

【結果】TFLXは今回用いたnon-growing状態のいずれの菌株に対しても、CPFAXより強い殺菌作用を示した。またTFLXの12.5~25 µg/ml作用時、本剤のMIC値が0.39 µg/mlのキノロン感受性菌と12.5~>25 µg/mlの耐性菌との間で殺菌効果に差が見られなかった。現在 他の菌株についても検討中であり併せて報告する。

緑膿菌バイオフィームに対するFOMと
OFLXとの併用効果—形態学的見地
からみた作用メカニズムの解析—

明治製菓(株)薬品総合研究所

○飯田真依子 平野文也

岡山大学医学部泌尿器科

門田晃一 橋本英昭 公文裕巳

【目的】我々は、緑膿菌バイオフィームに対するFOMとOFLXの併用効果について、その殺菌作用およびバイオフィーム内への薬剤透過性の変化について報告してきた。今回、この併用効果の作用メカニズムについて形態学的な見地より解析した。

【材料と方法】緑膿菌は尿路由来の臨床分離株 *P. aeruginosa* OP14-210、培地は0.4%のNutrient brothを添加した人工尿、Biofilm samplerとして Modified Robbins deviceを従来と同様に用いた。人工尿を40時間灌流して形成させたシリコンディスク表面のバイオフィームに、FOM150 µg/ml, OFLX62.5 µg/mlを各々単独作用あるいは同時併用し、24時間後にディスクを取り出し、走査型、透過型電子顕微鏡および共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。

【結果と考察】OFLX単独作用時には、菌体は伸長し、細胞質内に空胞様構造が認められた。FOM単独作用時では、菌の球形化とともに外膜の断裂、外膜と内膜が分離した原形質分離の像が観察された。OFLXとFOMを併用した場合には、菌体の膨化および多数の溶菌像が認められた。また、共焦点レーザー顕微鏡による観察において、OFLX単独作用時の変化はバイオフィームの表層に限局するのに対して、FOMとOFLXの併用時には、表層から深層までの全層にわたって形態的变化が認められた。

以上、OFLXとFOMの併用殺菌効果が形態的にも確認された。

ペニシリンおよびセフェム系薬に軽度耐性を示す
*H. influenzae*について

帝京大学医学部臨床病理

- 村本智子, 五十嵐厚美, 旭泰子, 生方公子, 紺野昌俊
博慈会記念総合病院小児科 山島 剛
東京大学医学部付属病院中央検査部
奥住捷子, 米山彰子

【目的】*H. influenzae*が検出される呼吸器系感染症例において遷延化する例が散見される。そのようなことから、本菌を収集し、各種β-ラクタム系薬剤に対する感受性を測定すると同時に、その耐性のメカニズムについて解析することを目的とした。

【方法】小児および成人の気道感染症ならびに中耳炎の後鼻咽腔から分離された*H. influenzae* 108株を対象とした。被験薬剤は、ampicillin, amoxicillin, cefaclor, cefdinir, cefpodoxime, cefditren, cefotaxime, imipenem, levofloxacinの計9薬剤である。感受性の測定はミュラーヒントン培地に馬の溶血血液を5%, NADを最終濃度が15 μg/mlとなるように添加して使用した。接種菌量は10⁵/spotとし、37°C, 24時間の炭酸ガス培養を行った後に判定した。セフェム系薬に軽度耐性を示した菌のPBPの解析は定法に従った。

【結果】被験菌株中のβ-ラクタマーゼ産生菌の割合は13%で、1980年代と比較すると増加はしているがさほど著明でない。しかしながら、ampicillinに1.0~4.0 μg/mlのβ-ラクタマーゼ非産生のampicillin耐性菌(β-lactamase negative ampicillin resistance: BLNAR)の割合が21%と増加していた。特に、昨年の秋から急速に増加傾向にある。

これらのBLNARは、ceftazidimeに32 μg/ml以上のMICを示すことが特徴である。他のセフェム系薬に対しては cefdinir: 1.0~8.0 μg/ml, cefpodoxime: 0.25~1.0 μg/ml, cefditren: 0.063~0.125 μg/ml, cefotaxime: 0.125~0.25 μg/ml, imipenem: 4.0~16.0 μg/mlというMICを示す。これらのMICはそれぞれの薬剤が*H. influenzae*の感性菌に対して示すMICの約10倍高い値であった。

BLNARの耐性メカニズムについては、目下多数の菌株についてPBPを検討中であるが、PBP4あるいはPBP1Bのバンドの位置が感性菌のそれとは異なっており、それらへの薬剤の親和性の低下が生じている可能性が示唆される。

【考察】呼吸器系に生息する菌においては、腸管系に生息する菌に比して高い耐性を付加するβ-ラクタマーゼ産生菌の増加は緩やかで、むしろ肺炎球菌におけるPRSPのような見掛け上のMICが軽度耐性の菌が多く、*H. influenzae*においても同様の菌の存在があって、臨床的に問題となる可能性が示唆された。

Haemophilus influenzae のL型菌誘導能におけるカルバペネム剤間の差異

国立療養所 東京病院 呼吸器科

○ 穴戸春美

住友製薬 創薬第三研究所

金澤勝則、納田浩司

【目的】*H. influenzae* 慢性気道感染症における治療上の問題点は、同一患者に繰り返し感染を引き起こすことであり、その原因の一つとしてβ-lactam 剤投与時における本菌のL型菌形成の関与が考えられている。カルバペネム剤の抗*H. influenzae* 活性には薬剤間で顕著な差が認められているが、カルバペネムの*H. influenzae* L型菌誘導能に関する報告は未だなされていない。繰り返し感染の防止を考える上で薬剤の*H. influenzae* L型菌誘導能に関する検討は臨床上重要な課題と考えられる。そこで今回、カルバペネムを用いて*H. influenzae* L型菌誘導能に関する薬剤間の比較検討を行ったので報告する。

【方法】菌株: ATCC9334株。培地: Fildes enrichment 添加MHA, チョコレート寒天。L型菌誘導能の薬剤間比較は、①抗菌力におよぼす培地浸透圧の影響の比較、②薬剤作用時の経時的顕微鏡観察、③各薬剤の阻止円内に形成されるコロニー数の比較によって行った。

【結果・考察】IPMはMEPMに比べて、その抗*H. influenzae*活性が培地浸透圧の影響を受けやすく、sucroseを添加した高浸透圧培地では著しく抗菌力が低下した。この結果から、IPM作用時の菌体は培地浸透圧の上昇によって細胞死を免れ易い状態にあるものと考えられ、L型菌の関与が示唆された。また顕微鏡観察の結果、MEPM作用時には細胞が球状膨大化から溶菌に至ったのに対し、IPMでは球状膨大化していた細胞がその形態を維持したまま分裂増殖することが分かった。

また、阻止円内コロニーをL型菌形成に基づくコロニーとみなし、L型菌誘導能を薬剤間で比較した結果、L型菌誘導能は阻止円径として見た増殖阻止効果とは相関せず、IPM>PAPM>BIPM>MEPMの順に高かった。

さらにIPMおよびPAPMの阻止円内にドーナツ状のコロニー形成が認められたことから、L型菌誘導能における薬剤の至適濃度域の存在が示唆された。

【結論】L型菌誘導能においてもカルバペネム剤間に顕著な差が存在することが明らかとなった。

帝京大学病院における髄液分離菌に関する検討
 : 第一報 緑膿菌性髄膜炎を中心に
 帝京大学医学部附属病院中央検査部, 同第二内科*
 ○高野 美和子, 川上 小夜子, 斧 康雄*, 宮沢 幸久

【目的】細菌性髄膜炎は現在においても致死的疾患のひとつであり、早期に適切な化学療法が施行されるかどうか、患者の予後や合併症に大きく関与する。今回、当院における髄液分離菌の中で、緑膿菌が分離された症例の患者背景や治療効果などを中心に検討した。

【対象】1985年～1996年の過去12年に、当検査部で検出された髄液分離菌335株（同一患者からの重複を含む）を対象とした。

【成績】335株のうち、多く分離された菌種はCNS123株、黄ブ菌78株、真菌25株、緑膿菌24株、肺炎球菌15株、大腸菌15株などであった。緑膿菌が分離された9名（男7名、女2名）の患者背景は、年齢6歳～51歳（平均28.7歳）で、基礎疾患は、脳腫瘍の術後（3名）、くも膜下出血クリッピング術後（2名）、外傷性脳内出血術後（2名）、好中球減少を伴う白血病（2名）であった。頭部術後患者では全例に脳室ドレナージ、VPシャントなど異物が留置されており、菌の侵入門戸は留置チューブや創部感染よりの波及と考えられた。一方、白血病患者は、緑膿菌血症に伴う転移感染巣として髄膜炎を合併していた。臨床症状としては、他の細菌性髄膜炎と同様に、発熱や末梢白血球数増加、CRP陽性などの炎症所見がみられたが、中枢神経系疾患術後の患者では自・他覚所見が十分にとれず、診断は髄液検査所見や菌の培養結果に依存していた。予後については、9名中3名（1名は白血病）が髄液より菌が分離されてから、4日～6日以内に死亡した。その他の患者は、抗緑膿菌薬の投与や感染チューブの交換などの処置で軽快した。

【考察】緑膿菌性髄膜炎は、頭部の腫瘍、外傷、手術、留置チューブの挿入などを契機に発症することが多く、診断が遅れる傾向がみられた。髄液中へ良好な移行性を示す抗緑膿菌薬も数少ないため、挿入チューブや術後管理などの感染予防対策が必要であると思われた。

び慢性肺陰影を呈し、血中β-グルカン濃度の上昇のみられた症例における、抗カリニ治療の成績
 新潟大学医学部第二内科
 ○石塚康夫, 藤島直人, 五十嵐謙一, 鈴木栄一, 荒川正昭

【目的】*pneumocystis carinii*（以下カリニ）肺炎は、immunocompromised host に発症し、しばしば重症化するため早期診断が重要であるが、そのような患者では診断確定のための侵襲的な検査が困難であり、痰を喀出できないことも少なくなく、診断に苦慮することが多い。血中(1→3)-β-D-グルカン(以下β-グルカン)濃度は、深在性真菌症だけでなく、カリニ肺炎においても上昇することが知られていることから、私達は、胸部X線写真上び慢性肺陰影を呈し、血中β-グルカン濃度の上昇のみられた症例に対して、抗カリニ治療を行い、その成績を検討した。

【症例】対象は、42歳から74歳までの男性4例、女性2例で、基礎疾患は血液疾患、悪性腫瘍、膠原病、間質性肺炎、神経疾患であり、何れも原病に対して副腎皮質ステロイド薬が使用されていた。何れの症例も、抗カリニ治療開始時に、他の深在性真菌感染は認められておらず、また抗真菌薬の併用は行われなかった。

【測定方法】血中β-グルカン濃度の測定には、マルハ(株)のビージースター®を用いた。また、ST合剤のβ-グルカン測定に対する影響を除くため、試薬を加えない患者血漿も同時測定し、これを差し引いたものを測定値として使用した。

【結果】何れの症例も、抗カリニ治療に伴い、臨床症状およびび慢性陰影の改善が認められ、また、これに伴い血中β-グルカン濃度も低下が見られた。

【考察】カリニ肺炎の診断は、患者の状態から困難なことが多く、早期に治療が開始できない場合も少なくない。今回の結果より、肺の陰影と血中β-グルカン濃度を併せて検討することが、カリニ肺炎の早期診断および治療に有用であると考えられた。

顆粒球減少患者における ciprofloxacin
(CPFX) の選択的菌叢抑制効果

埼玉医科大学 第一内科

○川井信孝、遠藤一博、富永一則、福田正高、
別所正美、平嶋邦猛

目的：白血病患者等の担癌患者は、抗癌化学療法施行時に末梢血顆粒球数が減少するため、顆粒球数の減少した期間に感染症病原菌の供給源である腸管や口腔咽頭の菌叢を抑制して感染予防を図ることが広く行われている。CPFX は、*P.aeruginosa* を含むグラム陰性桿菌に対して優れた抗菌力を有することから、腸管内細菌叢の選択的菌叢抑制に適した薬剤である。今回我々は、抗癌化学療法を施行する造血器腫瘍患者に CPFX を経口投与し糞便内細菌叢への影響を検討したので報告する。

方法：造血器腫瘍患者 2 名に抗癌化学療法後より CPFX200mg 錠を 1 日 3 回投与し、顆粒球数が $1,000/\mu$ 1 以上に回復した時点を投与終了とした。糞便の採取は、CPFX 投与前 3 日以内、投与開始後 4 日目、投与終了後 1、5、10 日目に行い、排便後直ちに糞便 2 g を採取した。採取した糞便は分離同定、糞便内細菌数の測定および *C.difficile* D-1 毒素の検査に供した。

結果：嫌気性菌叢に対する影響は、*Peptostreptococcus* spp. , *Veillonella* spp. を除いて観察期間中 2 log 以上の増減はみられなかった。好気性菌叢では、*Enterobacteriaceae* は投与中に消失し、投与中止後 10 日目には殆どの菌が再出現した。投与前に *P.aeruginosa* が分離されていた症例では、投与中および投与中止後 10 日目まで消失していた。観察期間中において、*C.difficile* D-1 毒素の検出、発熱、下痢および嘔吐を呈した患者はいなかった。

結論：現在、症例数を増やして検討しているが、CPFX は、顆粒球数減少患者における腸管内細菌叢の選択的菌叢抑制に適した薬剤であると思われる。

進行性全身性硬化症 (PSS) に合併した *Mycobacterium avium* complex 骨髄炎の一例

○西山正章、根本義章、内田勇二郎、武田大輔
進 浩和、岡田 薫、澤江義郎、仁保喜之

九州大学医学部第一内科

症例は 60 歳女性、主訴は左大腿部痛、皮疹。家族歴に妹が皮膚筋炎、甥が膠原病。現病歴は、1973 年 (37 歳時) PSS と診断され、プレドニゾロンが投与された。1982 年、肺非定型抗酸菌症 (AM 症) を発症し、他医にて入院治療を受けた。1991 年、関節症状に対するプレドニゾロンの増量にともない AM 症が再燃し当科にて入院治療を受け、軽快退院した。1995 年、左頸部リンパ節腫大、左大腿部の有痛性腫脹を来し、穿刺液から *Mycobacterium avium* complex (MAC) が検出された。INH、SPFX、CAM などの投与により軽快した。1996 年、左臀部、腸腰筋腫痛、大腿骨骨髄炎をともなって再燃し、他医整形外科に手術目的で入院したが、RFP、EB、INH の使用によると思われる Stevens-Johnson 症候群を来し、当科へ転入院した。

腫瘍部から分離された MAC の耐性検査では抗結核薬の SM、PAS、INH、KM、RFP、EB すべてに高度耐性を示し、また SPFX、CAM、ST 合剤には薬疹を呈することから治療には困難をきわめた。外科的掻爬とドレナージが検討されたが、有効薬剤が見いだせないことから見送られた。穿刺排膿を主とした治療を継続したが、入院 3 ヶ月目に呼吸不全で死亡した。

本例における興味ある知見は、発症 15 年目の長期罹病後に報告のまれな MAC 骨髄炎に至ったことが挙げられる。つぎに、抗結核薬を含む多数の薬剤に過敏反応を示した点である。経過中、血中 IL-10 が 1640 pg/ml と著明高値を示した。このサイトカインがマクロファージ機能を抑制し、非定型抗酸菌症の遷延・重症化をもたらし、またアレルギー素因の背景因子となった可能性があり、考察を含めて報告する。

オリゴヌクレオチドの抗ヘルペス効果
—PCR法による判定—

○東海林洋子、乗松美貴、嶋田甚五郎、水島裕
聖マリアンナ医科大学・難病治療研究センター

【目的】我々はこれまで、種々のアンチセンスオリゴヌクレオチドを検討して、高い抗ヘルペス活性を発現するオリゴヌクレオチドを見い出してきた。これまで、抗ヘルペス活性の検定には細胞変成（CPE）抑制効果、並びにプラーク法によるウイルス量の定量を行ってきた。塩基配列特異性がある程度認められるものの、その作用機序として、ウイルスの侵入・吸着を阻害している可能性も考えられた。しかし、プラーク法は検出限界が低いことから、ばらつきが大きく、短時間に細胞へ吸着したウイルス量の定量化には、問題があった。そこで、直接、ウイルスDNAを検出する方法として、PCR法による半定量化を試みた。

【方法】ヘルペスウイルスI型（HSV-I）の希釈液を作成し、一部はプラーク法に、一部はウイルスDNAを抽出後、PCR法に供した。PCR産物は2%アガロースゲルにて電気泳動にかけ、画像処理した後、定量化を試みた。HSV-IをVero細胞に4℃にて感染させ、感染0,5,10,30,60,90分後に細胞に吸着しているウイルスDNA量を半定量した。この時にオリゴヌクレオチドを加えて、ウイルスの吸着阻害が起きているかどうかについて検討した。

【結果】PCR産物のアガロースゲルの電気泳動像を画像処理した後、半定量化を試みた。検量線の作成が可能であり、再現性もあった。ウイルス吸着後、細胞膜に吸着したウイルスDNAの検出を試みたところ、プラーク法では、検出感度以下だったが、PCR法では、検出が可能であった。オリゴヌクレオチドは完全には、ウイルスの吸着を阻害はしなかったが、一部ウイルス吸着阻害が観察された。

【考察】PCR法によるHSV-IのDNA量の半定量化の条件を検討したところ、十分な定量ができるものと思われた。アンチセンスオリゴヌクレオチドの抗ヘルペス活性のメカニズムの一つにウイルスの吸着阻害が示唆されているが、今回の結果から、一部吸着阻害も起きているものと思われた。

特別養護老人ホームにおけるインフルエンザワクチンの効果について

東京都老人医療センター感染症科

○稲松孝思、吉田敦、増田義重、安田日出夫、
深山牧子

【目的】インフルエンザワクチンの有用性に関する論議に、「罹患しても実害はたかが知れており、かかってから治療しても間に合うし、費用も大差がない」という考えがある。この点を検証する目的で、ワクチン接種の発症予防効果と罹患者の治療費用について検討した。

【方法】1996年秋に、12寮、計600床の特別養護老人ホームにおいて、ワクチン接種が行われた。接種率は寮により異なり、6.3%～57.1%（平均29.7%）であった。今冬のインフルエンザ流行に際して、利用者の罹患状況、治療費、抗菌薬使用状況を検討した。

【結果】12寮のうちワクチン接種率の低かった2寮（接種率16%）で利用者の54%が罹患する大流行が見られたが、他の10寮では流行しなかった。ウイルス分離、抗体価検査によりワクチン株であったA香港型インフルエンザの流行が確認された。また、流行した2寮では、ワクチン接種を受けた16名中症状の見られた例は4例（25%）のみで、37℃台の微熱2例、無熱2例で、抗菌薬は不要であった。一方、ワクチン非接種者84名中49例（58.3%）に症状が見られ、38℃以上の高熱が38例（45.1%）に見られた。31例（63%）では二次感染に対する抗菌薬投与が必要であり、4例がインフルエンザ罹患をきっかけに死亡した。罹患者の治療費用は約200万円、全体のワクチン接種費用は約70万円であった。

【結論】今回のインフルエンザ流行に際して、ワクチン接種率の低い寮で集団発生が見られ、流行寮においては接種者の罹患率の低下、軽症化が確認された。ワクチン接種率が高ければ流行そのものを抑止出来た可能性があり、ワクチン接種が行われなければ、更に大規模な流行となった可能性がある。また、ワクチン接種により抗菌薬の使用量は減少する。病弱高齢者が集団生活する特別養護老人ホームでは、積極的なインフルエンザワクチンの接種が望まれる。

CAM長期投与のHIV感染症に及ぼす影響
——臨床経過と抗HIV活性の検討——

奈良県立医科大学第2内科

○古西 満, 森 啓, 澤木政好, 植田勝廣, 寺本正治, 山中貴世, 坂本正洋, 辻本正之, 前田光一, 濱田 薫, 三笠桂一, 成田亘啓

奈良県立医科大学細菌学

喜多英二

大阪府立公衆衛生研究所

大竹 徹

【目的】マクロライド系抗生物質は種々の非抗菌活性を有することが明らかになり、我々は昨年の本学会でHIV感染者に対するクラリスロマイシン(CAM)長期投与が患者の予後に影響を及ぼす可能性を報告した。今回はCAM長期投与中のHIV感染者の臨床経過をさらに追うとともに、CAMの抗HIV活性について解析した。

【対象と方法】①抗HIV療法(AZT及びddI)を施行しても末梢血CD4陽性リンパ球数が $100/\mu\text{l}$ 未満かつAIDS未発症のHIV感染者4症例(全例血液製剤で感染)に対し、抗HIV療法を継続した上でCAM200mg/日を1日1回内服投与した。

②MT-4細胞にHIV-1を0.001TCID₅₀/細胞の割合で1時間感染後、段階希釈したCAM及びAZTを含むRPMI-1640培養液で培養した。培養5~6日目に鏡検でHIV-1増殖による細胞変性効果と細胞の生育状態(細胞毒性)を観察した。

【結果】①1997年2月現在でCAM投与期間は 29.8 ± 5.9 カ月、CD4陽性リンパ球数 $100/\mu\text{l}$ 未満の生存期間は 46.3 ± 7.9 カ月であった。CAM投与後に2症例がAIDSを発症し、うち1症例が死亡した。

②CAMは $40\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度でもHIV-1増殖による細胞変性効果を認め、AZTは $0.0039\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で細胞変性効果の完全な抑制がみられた。

【結論】CAM長期投与がCD4陽性リンパ球数 $100/\mu\text{l}$ 未満に減少したHIV感染者の予後延長に関与している可能性があるが、CAMには抗HIV活性は存在しなかった。

メフロキンが著効した熱帯熱マラリアの1例

杏林大学医学部第一内科

○太田見さつき、小林 治、高安 聡、小林 宏行

近年、マラリアは輸入感染症のひとつとして注目を集めている。特に熱帯熱マラリアは悪性マラリアとして知られ、わが国においてもその診断、治療の遅れに起因すると思われる死亡例が報告されている。さらに抗マラリア薬に対する耐性株の蔓延は、その治療薬を選択する上で重要な因子の一つと考えられる。今回我々はメフロキンが著効した熱帯熱マラリアの1例を経験したの報告する。

(症例)28歳ギニア人男性。本年6月にマラリアと診断され、抗マラリア薬(薬剤名不明)で治療を受け軽快。9月28日来日しその後40℃発熱、当院受診し血中にマラリア原虫(0.012%)が認められたためマラリアと診断され入院となった。

これら標本上(末梢血ギムザ染色)、1)感染赤血球内のマラリア原虫のリングフォームがやや小さめなこと 2)同一赤血球に多数寄生していること 3)他のステージの原虫が観察されなかったことより、熱帯熱マラリアの単独感染の可能性が高いと考え、さらにギニアがWHOのZone Cに属することから、本例をクロロキン・ファンシダール耐性熱帯熱マラリアと判断し、大友教授(慈恵医大)より分与されたメフロキンにて治療を開始した。投与後30時間を経過し解熱傾向となり、42時間後には赤血球感染率は0.007%となり、52時間後には解熱、ギムザ標本上感染赤血球は消失した。メフロキンの有害作用のひとつであるふらつき感が認められたが、疾患そのものによる消耗か薬剤によるものかは確認できなかった。

さらに検討を行い若干の考察を加え報告する。

なお、本例の診断ならびに治療に関し御教示くださいました青木宏介先生、辻 守康教授(本学熱帯熱・寄生虫学教室)に深く感謝致します。

血液培養から検出されたoral streptococciのPBP sレベルにおける菌種の識別

帝京大学医学部臨床病理

○五十嵐厚美, 村木智子, 旭泰子, 生方公子, 紺野昌俊
三井記念病院中央検査部 森 伴雄
東京大学医学部付属病院中央検査部
奥住捷子, 米山彰子

【目的】血液培養から検出されるoral streptococciの割合は7~10%程度であるが、これらの菌は免疫不全状態にある症例の血液培養から検出されることが多い。検出菌の菌種同定に際しては、通常、市販のレンサ球菌同定用キットが使用されているが、増菌培地やキットの種類によって菌名がしばしば異なるということを経験する。本来、菌の性状試験としては菌種特有の酵素反応が重視されるべきであるが、糖の分解能が比較的重視されていることに問題を有していると思われる。そのようなことから、酵素であるが故に菌種の特徴を反映するPBP sを解析することによって、菌種を正しく同定出来るか否か検討した。

【方法】平成元年以降に施行された血液培養から検出されたoral streptococciの52株を対象とした。oral streptococciの9菌種の標準菌株は岐阜大学医学部微生物学教室より分与を受けた。簡易同定キットとしては、①アビ 20STREP, ②rapidID 32STREPを使用した。

PBP sを採取するための被験菌の培養にはTodd Hewitt brothを使用した。一夜培養した被験菌は200mlのTII brothに植え継いで8時間培養し、集菌後に超音波破砕して超遠心して膜画分を得た。PBP sの解析には [³H] benzyl penicillinを使用した。

【結果】*S. milleri* groupではPBP sの解析から分子量の同じPBP sが共通して認められた菌株が最も多かったのは*S. constellatus* (12株)であった。これらはrapidIDでは同一菌名となる株が多かったが、コロンビア血液寒天培地(BBL)を用いるアビSTREPではほとんどが*S. intermedius*であった。次いで*S. intermedius*と推定された菌名が7株、*S. anginosus*と推定された菌株は1株に過ぎなかった。

その他では、*S. oralis*が9株、*S. sanguis*が5株、*S. mitis*が4株、および*S. salivarius*が4株が推定された。*S. mutans*と推定された菌株もあったが、PBP sの検索によっても菌種を確定するまでに至らなかった菌株が約2割存在した。

【考察】腸球菌の菌種同定に際し、PBP sを解析するのが最も確かな同定方法であることを既に報告しているが、臨床材料から分離されるoral streptococciの菌種は多く、簡易キットのみでは同定が正しくされていないことが判明した。各菌種によってどのような性状に重きをおいたらよいか、PBP sの成績に基づいて今後検討していきたいと考えている。

当院における成人の敗血症の臨床的検討

☆岐公立病院内科 同院細菌検査室¹⁾

長崎大学熱帯医学研究所内科²⁾

○土橋佳子 昆野和彦 星野品子 宇都宮嘉明

山内壮一郎¹⁾ 渡辺貴和雄²⁾ 永武 毅²⁾

長崎大学名誉教授 松本慶蔵

【目的】当院における成人の敗血症症例の患者背景と転帰との関係を明らかにする。

【方法】1992年1月から1996年12月までの5年間に当院において血液培養陽性であった64症例72エピソード(男性34症例、女性30症例、平均年齢68.7歳)について分離菌種、菌の侵入門戸、基礎疾患およびリスクファクター、検査所見と転帰について検討した。

【結果と考察】64例の基礎疾患は脳血管障害23例(35.9%)、糖尿病13例(20.3%)、悪性腫瘍12例(18.8%)の順に多く、敗血症による死亡例は10例(15.6%)であった。72エピソードの侵入門戸の内訳は尿路感染17(23.6%)、肝胆道系感染12(16.6%)、呼吸器感染9(12.5%)、腸管由来7(9.7%)、IVHカテーテル6(8.3%)、皮膚外傷や皮下膿瘍、褥瘡8(11.1%)、ドレーン由来2(2.7%)、生殖器由来1(1.4%)、不明5(6.9%)であった。尿路、肝胆道系、腸管由来のものでは*E. coli*や*K. pneumoniae*をはじめとしたグラム陰性菌が大多数をしめ、呼吸器、IVH、ドレーン、褥瘡、膿瘍由来のものでは*S. pneumoniae*、*S. aureus*、*S. epidermidis*などグラム陽性菌が多い傾向にあった。死亡例ではより高齢で、基礎疾患を有する率が高くなり、侵入門戸はIVH、胆道系感染が多く尿路感染による死亡例はなかった。起炎菌は、IVH症例では全例*S. aureus*(2例はMRSA)、胆道感染症例では*B. fragilis*、*E. coli*などのグラム陰性桿菌であった。皮膚外傷を契機に急速に死亡した1例は*S. equisimilis*の敗血症であった。高齢者、基礎疾患の多い者、IVH由来の敗血症は死亡につながりやすいため、起炎菌を考慮した適切な抗生剤の選択と原因の除去、合併症の治療が必要である。

糖尿病患者における敗血症の臨床的検討

神奈川県衛生看護専門学校附属病院

内科 桜井 馨、石田裕一郎、松本文夫

外科 岡部紀正

検査科 高橋孝行、辻原佳人

目的：糖尿病患者は感染に対する防御能が弱められており、免疫機構が障害されているために弱毒菌による感染を発症することが特徴で、ひとたび感染を受けると重症化する。今回われわれは糖尿病患者で敗血症を呈した症例の臨床的検討を行ったので報告する。

対象と方法：調査対象は1981年1月から1996年12月迄の16年間に当院を受診した糖尿病患者462例中敗血症症状を呈し、血液培養を施行し、血液培養陽性の16例（男性6例、平均年齢69.3歳、女性10例、平均年齢65.4歳）、検査所見として末梢血、血糖値、HbA_{1c}、尿蛋白、膿尿、分離菌、侵入門戸、合併症、抗菌剤療法、及び予後について臨床的検討を行った。

結果および考察：分離菌種はS. aureus 5株、MRSA 1株、S. epidermidis 4株、E. faecalis 2株、E. coli 5株、E. cloacae 2株、Pseudomonas sp. 2株、その他3株計24株で複数菌6件であった。院内感染が5例、院外感染11例、併存している基礎疾患は悪性腫瘍が2例、肝障害が3例、膠原病が2例、胆石症が2例、脳血管障害が1例であった。侵入門戸は尿路感染が3例、呼吸器感染が2例、皮下膿瘍が1例、CVPが1例、不明が9例であった。合併症は腎症が7例（腎不全3例）、網膜症が10例、壊疽が2例であった。抗菌剤療法はグラム球菌に対してはβ-ラクタム系を第一選択とし、第二選択としてアミノ配糖体を主に使用した。グラム陰性菌は広域ペニシリン系薬、カラムネ系薬を使用した。MRSAについてはアミノペニシリン系薬の併用療法を施行した。尚、尿路感染症を合併した場合にはニューキノロン薬を使用した。予後は死亡が5例で、血糖コントロール不良例、腎不全例及び重篤な基礎疾患を合併していたものであった。以上、尿路感染により腎症が増悪したり、高齢者では腎機能が低下していることなどを考慮し、適正な抗菌薬を選択し、アミノ配糖体薬では副作用として腎毒性の報告がみられ注意を要する。また、その他の抗菌薬でも腎排泄型の薬剤では用法、用量の調節が必要である。平素から血糖値を良好に保つことが肝要であることは当然である。

造血管悪性腫瘍の顆粒球減少時期における発熱（Fever with granulocytopenia: FGP）に対するcefpirome(CPR)とamikacin(AMK)の併用療法

東京慈恵会医科大学内科学講座第2

○坂本光男、相澤久美子、猿田克年、中澤 靖、進藤奈邦子、前澤浩美、吉川晃司、吉田正樹、柴 孝也、酒井 紀

東京慈恵会医科大学附属柏病院総合内科
船間敬子、斎藤 篤

【目的】造血管悪性腫瘍では顆粒球減少時期を中心として感染症を合併しやすい。多くの場合血液培養は陰性で感染巣の同定は困難であり、empiric therapyの適応となる。そこでこのようなFever with granulocytopenia(FGP)に対しcefpirome(CPR)とamikacin(AMK)の併用療法を行いその有用性について検討した。

【対象・方法】1995年1月から1996年12月までの2年間に当科に入院した造血管悪性腫瘍39例のべ74回の入院を対象とした。経過中に認められた38℃以上の発熱のうち、末梢白血球1000/ μ l未満で、悪寒を伴い、血液培養が陰性で、身体所見・画像所見で炎症巣が確認できず、感染症以外の要因が否定できるものをFGPとしてCPRとAMKの併用療法を行った。

【結果】発熱はのべ154エピソード775日認めた。このうち70%は感染症に起因すると考えられた。このうちFGPに該当すると考えられたものはのべ55エピソード241日であり、感染症の53%を占めていた。原因が明かなものとして敗血症、肺炎が各15%、膿瘍11%であった。FGPに対しCPRとAMKの併用療法が行われたのは22エピソードであり、このうち16エピソードで有効であり、72.7%と高い有効率を示した。無効であった6エピソードのうち4エピソードは抗菌薬の変更で、2エピソードは抗真菌薬の併用で解熱した。

【考察】造血管悪性腫瘍では顆粒球減少時期を中心に感染症の合併が高頻度に認められたが、その多くはFGPに該当すると考えられた。CPRとAMKの併用療法はFGPに対し高い有効率を示し、第一選択のempiric therapyとして優れていると考えられた。

細菌性肺炎におけるサイトカインの動向
-とくに治療効果との関連性について-

杏林大学第一内科

○井上 玄、中川朋幸、酒寄 享、河合 伸、
渡辺秀裕、小林宏行

目的：細菌性肺炎の進展過程における肺炎の重症化機序を推察すべくTNF,IL-10,IFN- γ の動向を観察し抗菌剤の治療効果とサイトカインの関係についてもあわせて検討した。

方法：1.臨床的に細菌性肺炎を呈した20例について、その臨床経過とTNF,IL-10,IFN- γ の変動を観察した。その結果TNF,IL-10は急性期に増加し改善症例においては、治療効果に一致して低下した。しかしながら、治療遷延例あるいは死亡例においてはTNFの低下に反してIL-10の上昇が認められた。一方、IFN- γ は罹病期間を通じて一定の相関はみられなかった。

2.実験的肺炎マウスにおいては、肺炎から血液培養及び血中エンドトキシン陽性に至る3日目においてまずTNFが増加し、ついでIL-10の増加がみられた。また敗血症末期においてはTNFの減少とIL-10の上昇が認められた。IFN- γ は実験的検討においてもその変動に一定の関係を見いだすことはできなかった。

考察：肺炎の重症化の原因として敗血症が重要な因子であることはよく知られている事実である。このような重症肺炎において、免疫活性因子であるTNF及び抑制因子と考えられるIL-10がそれぞれの作用により免疫をコントロールしていると考えられる。またIFN- γ については一定の変動を示さなかったものの、これらTNF,IL-10に対して何らかの干渉的作用を発現している可能性が示唆された。

当院における肺炎球菌性肺炎の臨床的検討
(ペニシリン感受性菌・耐性菌の比較)

杏林病院内科

○伊井 強、池田 秀樹、渡辺 浩

長崎大学熱帯医学研究所内科

渡辺 貴和雄、力富 直人、永武 毅

【目的】近年ペニシリン耐性肺炎球菌が増加傾向であるが、今回我々は肺炎において感受性菌と耐性菌との間で比較検討を行ったので報告する。

【方法】1992年12月より1996年1月までに当院において治療を行った肺炎球菌性肺炎37症例39エピソードを対象とした。耐性菌の判定はKirby-bauer法でのオキサシリン感受性結果にて阻止半径が20mm未満とした。対象を感受性菌群(21症例21エピソード)と耐性菌群(16症例18エピソード)の2群に分け、基礎疾患、同時分離菌、発熱・炎症所見、肺炎球菌分離1カ月以内の抗菌剤投与の有無、化学療法の内容、臨床効果、細菌学的効果および合併症について両群間で比較検討した。

【結果】分離1カ月以内の抗菌剤の使用状況は、感受性菌では2/21(9.5%)、耐性菌では10/18(55.6%)でありともにセフェム系が最も使用されていた。同時分離菌を得られたのは感受性菌で7/21(33.3%)、耐性菌では7/18(38.9%)であった。臨床効果は感受性菌の有効率18/21(90.0%)、耐性菌では18/18(100%)であった。また、細菌学的効果は感受性菌では菌消失率17/21(89.5%)、耐性菌では16/18(88.9%)であった。ショック、DIC等の合併症は感受性菌が4/21(19.0%)、耐性菌が2/18(11.1%)であった。

【考察】耐性菌は感受性菌に比べ、分離1カ月以内の抗菌剤の使用が多かった。しかし、臨床効果、細菌学的効果や合併症では両者に大差は認められなかった。

重症市中肺炎の化学療法に関する臨床的検討

神奈川県立循環器呼吸器病センター呼吸器科
 ○小倉高志、小田切繁樹、鈴木周雄、高橋宏
 高橋健一、吉池保博、綿貫裕二、平居義裕、
 石丸百合子、戸田万里子

【目的】重症市中肺炎に対する適切な抗菌薬選択とステロイド補助療法の有用性を明らかにするために、当科で経験した重症市中肺炎症例をretrospectiveに検討した。

【対象 方法】最近5年半（1992年6月～1997年1月）に当科に入院した重症市中肺炎（ PaO_2 65 Torr未満）について臨床的に検討した。

【成績】症例数は7例で、患者背景では年齢は29歳～53歳で、基礎疾患は全例に無く、初診時の PaO_2 は6例が60 Torr以下の急性呼吸不全で、1例は61 Torrと準呼吸不全であった。起炎微生物学的にはマイコプラズマ肺炎3例、原因菌不明4例であった。胸部画像的には、病変の拡がりは全例で両肺多肺葉に亘り、マイコプラズマ肺炎では3例全て、原因菌不明例では2例で混合性陰影を呈した。治療開始時には、起炎微生物不明のため、ニューキノロン（NQ）、マクロライド（ML）、TC、カルバペネム、RFPなどの2～3者併用化療を施行し、全例有効であった。ステロイドは3例に投与し、人工呼吸器は2例に装着した。

【考案】本肺炎の発症起炎微生物はレジオネラ、マイコプラズマ、クラミジアも視界の中心に入れるのは当然であり、一方、病態からして抗菌薬の2次選択が許されないケースが多く、従って、未だ起炎微生物が不明の初回化療は、broad spectrum且、強力である事が必須となる。かかる観点から、治療開始時には、NQを中心として、これにML、TC、更にRFP、カルバペネム等を併用した抗菌療法が妥当となろう。

【結論】NQとMLの併用療法は重症市中肺炎に有用である。特に、急速に呼吸不全に進展してレジオネラ肺炎が疑われるケースにあつてはRFPの使用も考慮すべきであり、急性呼吸不全合併下では早期のステロイドの短期併用が有効と考える。

当院における80歳以上の市中肺炎の臨床的検討

国家公務員共済組合連合会三宿病院 呼吸器科
 ○清田 康、庄田慎一、中森祥隆

【目的】当院における80歳以上の市中肺炎の臨床所見、検出菌、基礎疾患および予後等を明らかにすることを目的とした。

【対象と方法】1994年5月から96年10月までに当院に入院した80歳以上の肺炎33例を対象とした。肺炎の診断は胸部レントゲン、WBC、CRPの上昇等によって行い、高齢者肺炎における臨床所見、基礎疾患、誤嚥の有無、喀痰検出菌および予後等を検討した。

【結果】患者背景は男性/女性=19/14、平均年齢87.9歳、基礎疾患は多岐にわたるが脳血管障害が30.3%と最も多く明らかな誤嚥の既往は42.4%に認めた。来院時主訴では咳、痰51.5%、熱感48.5%、食欲低下45.5%、呼吸困難24.2%であった。体温は37℃以上81.8%、38℃以上60.6%であった。血液ガス所見では PO_2 が60 Torr以下が36.4%、その内、呼吸困難を自覚したものは12.1%と少数であった。肺炎部位は右上葉15.2%、右中葉3%、右下葉33.3%、左上葉9.1%、左舌部6.1%、左下葉12.1%、2葉以上21.2%であり右下葉が最も多くみられ次いで多発性であった。喀痰培養での検出菌は肺炎球菌6.1%、インフルエンザ桿菌9.1%、肺炎桿菌15.2%、黄色ブドウ球菌（MRSA含む）21.2%であり明らかな誤嚥例では約30%に肺炎桿菌を検出した。死亡は9例でその内、肺炎または呼吸不全に伴う多臓器不全が5例であった。

【結論】80歳以上の肺炎においても約8割が37℃以上の発熱を認め、約半数に誤嚥の既往がみられた。高齢者の場合、呼吸器症状以外に食欲低下を主症状とする事が多く、低酸素血症を呈していても呼吸困難の自覚が少ないため外来での対応は注意が必要と思われた。

レジオネラ肺炎65症例の治療成績の検討

琉球大学医学部第1内科

◎健山正男, 小出道夫, 曾天間光彦, 我謝道弘,
比嘉 太, 草野展周, 斎藤 厚.

目的 欧米において, 市中肺炎の起炎微生物として重要視されるレジオネラ肺炎も本邦では報告が少なく, 治療成績の集積も充分でない. 今回我々は当教室で診断したレジオネラ肺炎の治療成績について報告する.

対象と方法 1987年より1997年において当科で診断した自験例および全国の他施設から検査依頼された65症例についてretrospectiveに調査用紙によるDATAの収集と解析をおこなった.

結果

1) 患者背景 a)発症形式・市中肺炎49例, 院内肺炎16例. b)性別・男性 44例 女性21例. c)年齢・男性(0~90歳, 平均 58.5歳, 市中肺炎59.8歳, 院内肺炎54.2歳)女性(34~88歳, 平均62.7歳, 市中肺炎58.9歳 院内肺炎72.0歳).

2) 治療成績 EM, RFP, NQ, MINO各々の単剤治療群30例では有効率76.7%, 多剤併用では86.7%で多剤併用群の治療成績が良かった. EM単独では有効率84%と高く, 併用群と同等の治療成績であった. EM, RFP, NQ3剤の併用は4症例と少ないものの100%の有効率であった.

3) 発症より有効な抗菌薬投与までの日数
有効群が平均9.8日, 無効群が平均13.8日であり有効群では早期に有効な治療が行われていた.

考察 レジオネラ肺炎では, EM単独でも十分な治療成績が得られ, 疑診の段階から投与し, 確信がつけば患者の病態に合わせて併用療法を選択することが治療成績の向上に結びつくと思われた.

菌血症を伴った *Moraxella catarrhalis* 肺炎の一例

帝京大学第二内科

○杉山 肇, 川俣圭子, 加藤淳子, 宮下 琢,
大谷津功, 青木ますみ, 伊藤 匡, 斧 康雄,
西谷 肇, 国井乙彦, 宮下英夫

Moraxella catarrhalis 肺炎は菌血症を伴うことは稀とされており, 本邦での報告例はほとんどない. 今回, 我々は, 免疫不全 (Common variable immunodeficiency) を基盤に発症した *M. catarrhalis* 肺炎・菌血症を経験したので若干の文献的考察を加えて報告する.

症例: 75歳女性

既往歴: 1991年8月黄色ブドウ球菌肺炎(メチシリン感受性)で当院に入院. 家族歴に特記所見なし.

現病歴: 黄色ブドウ球菌肺炎の加療後は自宅近くのT病院に通院し去痰薬を処方されていた. 1995年5月より通院をやめていたが特に著変なく過ごしていた. 1996年11月27日より食欲低下, 膿性痰, 咳嗽が出現. 12月1日に38°Cの発熱も出現し, 同日当院の救急外来受診. 両側肺野に湿性ラ音を聴取し, 白血球増多, CRP強陽性, 低酸素血症, 胸部X線で右上中肺野に浸潤影を認め緊急入院となる. 入院後IPM/CS 1.5g/日を投与. その後喀痰と血液培養から *M. catarrhalis* が分離された. 入院時の血清検査で全ての免疫グロブリンが欠損していることが判明. 末梢血・骨髄ではBリンパ球が認められたが, 骨髄中の形質細胞はほとんど認められず, 免疫グロブリン産生不全による免疫不全 (Common variable immunodeficiency) と診断した. 免疫グロブリン製剤の補充, 抗菌薬の併用・増量などを行ったが入院第23病日に死亡した.

M. catarrhalis は他の主な呼吸器病原菌と異なり細菌の粘膜侵入に重要なIgAプロテアーゼを産生しないとされる. また *M. catarrhalis* 感染症患者回復期の血清は *M. catarrhalis* を溶菌すると報告されている. 本例の重篤化の要因においても *M. catarrhalis* に対する免疫グロブリンの産生障害が重要な役割を担っていることが示唆された.

小児細菌性上気道感染における Indirect pathogenicity の臨床的検討

○豊永義清¹⁾、石原俊秀¹⁾、出口浩一²⁾

- 1) 山梨赤十字病院小児科
- 2) 東京総合臨床検査センター研究部

【目的】小児細菌性上気道感染時の選択薬剤の決定には、混合感染におけるβ-ラクタマーゼ産生菌の関与を避けずには考えられない。そこで、外来診療の場でβ-ラクタマーゼ産生菌を含む混合感染が確認される場合、薬剤の臨床効果が Direct Pathogen 単独感染時と異なるか否かを検討した。

【方法】外来受診時、白血球増多（好中球優位）CRP陽性確認し細菌感染と診断した1ヶ月から9歳の269例を対象とした（但し、明らかな溶連菌性咽扁桃炎は除外した）。そのうち、上咽頭ぬぐい液の培養にて、有意な細菌が検出された239例（88.1%）を抗菌薬投与の対象とした。無作為にアモキシシリン（AMPC）、クラバン酸/アモキシシリン（CVA/AMPC）を投与し、投与開始日を0日とし、投与開始後3、7日において、症例ごと、及び各検出菌ごとに、臨床的有用性の判定を行い、更に検出菌の消長についても検討を加えた。

【結果】239例中、*S.pneumoniae*は122例に確認され、PISP/PRSPの検出例は、36例（15.0%）であった。*H.influenzae*は113例より検出されている。β-ラクタマーゼ検出株は*H.influenzae*では14.6%、*M.catarrhalis*では、100%であった。*M.cat.*が混合感染の1株として検出されたものは74例に及んでいた。臨床効果判定を7日目に行えた症例は153例（64%）で、AMPC、CVA/AMPCの投与例は、それぞれ71、82例であり、それぞれの有効率は84.5%、95.1%（ χ^2 : P = 0.032）であった。Indirect pathogen 関与例での有効率は、順に86.0、93.3%と有意差は認めなかった。

【考察】Indirect pathogen 関与例で薬剤の有用性の比較において臨床的には有意差は確認できなかったが、細菌学的検討では、共同演者の出口が除菌について有意差を詳しく述べる。Indirect pathogenicity は除菌において影響が大きく、臨床的には問題にならないのであろうか。

小児細菌性上気道感染における indirect pathogenicity の細菌学的検討

東京総合臨床検査センター研究部¹⁾

山梨赤十字病院小児科²⁾

○出口浩一¹⁾、鈴木由美子¹⁾、石井由紀子¹⁾、石原理加¹⁾、中澤ありさ¹⁾、豊永義清²⁾

【目的】小児細菌性上気道感染症を対象にβ-lactamase 産生株を詳細に検索し、indirect pathogenicity^{1, 2)}を細菌学的に検討した。【方法】共同研究者の豊永が本学会で発表する「臨床的検討」の239症例から検出した有意細菌を菌数と病原性、更にβ-lactamase 産生の有無から推定起炎菌（direct pathogen）、間接病原性菌（indirect pathogen）に分けて菌の消長と臨床効果を含む種々の解析を行った。direct pathogen は*S.pneumoniae* 85株（PISP or PRSP 34株を含む）*S.pyogenes* 21株、*H.influenzae* 76株等であり、indirect pathogen は*M.(B.)catarrhalis*、*S.aureus*、*H.parainfluenzae*、*Klebsiella* spp. 等であった。上記検出株のβ-lactamase 産生のチェックを行うと共に、AMPC、CVA/AMPC、CCL、CFDN、CDTR、EM、PCG等のMICを測定した。【結果】direct pathogen 消長の検討が可能であったのは157症例であり、111症例（70.7%）においてはindirect pathogen が検出されたが、direct pathogen の消失率はAMPC投与例50.0%、CVA/AMPC投与例88.5%（ χ^2 、P < 0.001）であり、*S.pneumoniae* 検出症例においても単独菌検出症例の消失率はAMPC及びCVA/AMPC投与例はほぼ同等であったが、indirect pathogen の検出症例の消失率はAMPC65.5%、CVA/AMPC 87.1%であり、PISP or PRSPでもほぼ同様であった。【考察】小児細菌性上気道感染症におけるindirect pathogenicity の高い割合が示唆された。しかし、日常検査における常在菌叢を含めたβ-lactamase 産生株の検出には検出限界があり得るので細菌性上気道感染症に対するEmpiric therapy においては“direct and indirect pathogenicity”の概念確率が重要である²⁾。

【文献】

- 1) Brook.I.Z. : Drugs31 (Suppl.3) : 97~102, 1986
- 2) 出口浩一, 他 : Chemotheraps 39 : 961~967

慢性気道感染症急性増悪に対する抗菌化療効果早期判定に関する臨床的検討

神奈川県立循環器呼吸器病センター 呼吸器科
○綿貫祐司、鈴木周雄、高橋宏、高橋健一、吉池保博、小倉高志、平居義裕、石丸百合子、戸田万里子、小田切繁樹

【目的】一般に抗菌化療効果判定には抗菌剤投与開始後3日を要し、その結果で薬剤投与の継続の要否を検討する。もとより慢性気道感染症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線維化が進展する為、十分な抗菌化療効果が得られ難く、3日後では抗菌化療効果判定は困難なことがある。そこで早期(化療開始3日後)と最終の化療効果の比較を行い、早期効果判定に及ばず因子を臨床的に検討した。

【方法】最近3年間に慢性気道感染症の急性増悪にて当科を受診した患者群を対象とした。感染症の重症度は、体温、喀痰(量・性状)、白血球数、CRPの各項を点数化し、その合計点数を感染症重症度スコアとした。化療効果は、化療開始時と3日後・終了時の各々における感染重症度スコアの改善率で評価し、最終改善率に対する3日後の改善率を早期の化療効果達成率として算出・検討した。尚本感染症の慢性の感染増悪症例は化療効果が不明確なため、化療開始時の感染症重症度スコアが3未満の症例は除外した。

【結果・結論】症例数は92例(気管支拡張症:28例、慢性気管支炎:24例、DPB:11例、肺気腫+感染:9例、肺結核症(V型)+感染:16例、気管支喘息+感染:3例、肺線維症+感染:1例)で、3日後の感染重症度スコア改善率は平均43%、最終改善率は74%で、早期化療効果達成率の平均値は57%であった。起炎菌は69例(*Ps. aer.* 27, *H. inf.* 14, *Str. pn.* 13, *M. cat.* 6, *MSSA* 3等)で特定され、3日後の感染重症度改善率と化療効果達成率は、起炎菌が緑膿菌の症例群(27例)では20%, 45%で、同様に、起炎菌が緑膿菌以外の症例群(43例)の56%, 62%や起炎菌不明の症例群(22例)47%, 64%に比べて有意に低かった。3日後と最終の化療効果との比較・検討では、当然のことながら最終の化療効果に応じて3日後の化療効果が認められた。また肺機能、胸部X線所見、感染重症度との関係では、3日後の感染重症度改善率・化療効果達成率とこれらとの関係は認められなかった。

Cefluprenam (E1077) の呼吸器感染症に対する7日間投与の有用性

E1077研究会
(代表研究者:東京専売病院 島田 馨)
信楽園病院 内科
○青木信樹

【目的】新しい注射用セフェム系抗生物質cefluprenam (E1077)を細菌性肺炎及び慢性気道感染症患者に7日間使用し、本剤の有効性と安全性を検討した。

【方法】本試験は全国24施設による共同研究である。1996年2月より7月までに入院した、原則として中等症の細菌性肺炎及び慢性気道感染症患者を対象とした。投与方法は1回1g(力価)を1日2回、7日間点滴静注した。観察及び検査は投与前、投与開始3日後、7日後(投与終了時)に加えて、再発及び遅延性の副作用の有無を確認するために可能な限り投与終了7日後にも実施した。

【成績】総投与症例は130例で、有効性評価採用例116例での臨床効果(有効率)は、細菌性肺炎で93.8%(60/64)、慢性気道感染症で96.2%(50/52)、全体で94.8%(110/116)であった。投与終了7日後まで再発の有無が検討された82例での再発率は、1.2%(1/82)であった。細菌学的効果(菌消失率)は98.0%(48/49)であった。副作用発現率は3.9%(5/129)であり、臨床検査値異常変動発現率は23.6%(30/127)であった。

【結論】以上より、有効性の面からcefluprenamは中等症の細菌性肺炎及び慢性気道感染症に対して7日間投与により治療目的が達成され、安全性の面から7日間投与での副作用発現は安全性の高いceftazidimeと同程度であることが確認された。これらのことから、本剤は、重篤又は進行性の基礎疾患・合併症がなく、肺胞・気道系の器質的障害が重症でない中等症以上の呼吸器感染症の治療に7日間以内の投与で有用な薬剤であり、治療期間の短縮化が可能な薬剤であると判断された。

なお、試験終了後にアンケート調査を実施し、本試験参加担当医師から、本試験参加前後での7日間投与治療で得られた成績に関する意見及び治療期間への考え方の変化等を集計したので合わせて報告する。

高齢者呼吸器感染症に対する panipenem/
betamipronの有効性, 安全性に関する多施設共同
研究成績

カルベニン高齢者呼吸器感染症研究会
○後藤元, 稲松孝思, 佐野靖之, 島田馨

目的: 高齢者の呼吸器感染症は, 基礎疾患の存在などにより難治化することも多い。本研究では, 高齢者を対象として, 呼吸器感染症に対するカルバペネム系抗生物質 panipenem/betamipron (PAPM) の使用実態下での有効性, 安全性を検討した。あわせてこれらに対する患者背景の影響についても検討した。

対象および方法: 都内および近郊の16施設において1994年12月から95年11月までの期間中に呼吸器感染症を発症した65歳以上の高齢者症例のうちPAPMの適応となるものを連続調査方式で検討した。患者背景としては, 年齢, 基礎疾患, performance status, 体温, 血清アルブミン値, 白血球数, およびCRPを取り上げた。総症例数は95例で男性72例, 女性23例であった。内86例で有効性評価を, また95例で安全性評価を行った。

成績および結論: 有効率は74.4% (64/86) であった。これに関与する因子としては, performance status, CRP \geq 2+以上, 白血球数 \geq 8,000/ μ l, 体温 \geq 38 $^{\circ}$ C, および抗菌薬の前使用があげられた。副作用, 臨床検査値異常は14.7% (14/95) に認められたが, 軽度の肝機能障害が主なものであり9%であった。以上から, PAPMは高齢者の呼吸器感染症に対して有用性のある薬剤と考えられた。

共同研究施設および代表者: 大宮赤十字病院 (大和邦雄), 関東中央病院 (堀内正), 関東通信病院 (石原照夫), 千葉海浜病院 (菊池典雄), 同愛記念病院 (佐野靖之), 東京通信病院 (森成元), 虎ノ門病院 (中田紘一郎), 都立大久保病院 (木村仁), 都立駒込病院 (後藤元), 都立多摩老人医療センター (村井容子), 都立広尾病院 (川上雅彦), 都立府中病院 (鈴木光), 都立墨東病院 (田中健彦), 都立老人医療センター (稲松孝思), 日本赤十字社医療センター (折津愈), 日本医科大学 (工藤翔二)

担癌患者の重症感染症に対する FOM+PAPM/BP
時間差攻撃療法, 最強療法

癌研究会附属病院内科¹⁾, 中央検査部²⁾
○林 泉¹⁾, 桜井雅紀¹⁾, 塩谷譲司²⁾, 稲村延子²⁾

【目的】MRSA, *P. aeruginosa*に対する FOMとPAPMの相乗効果, MRSAのPBP-2' に対する induction作用を検討し, 臨床的には FOM と PAPM/BPの時間差攻撃療法とMRSAが関与する場合 ABKを加えるという最強療法を行った。

【方法】[基礎] MRSA, *P. aeruginosa*に50 μ g/mlの FOMを, 60分後にsubMICのPAPMを時間差で与え相乗効果を見た。また, FOM, PAPM各50, 4 μ g/mlでの単独・併用下の MIC変化と FIC index を検討した。さらに FOM 12.5, 50 μ g/ml含有MH培地にMRSAを植え, 培養60分後にPAPMのdiscを置き, 阻止円の中の新たなcolonyの出現状況を見た。[臨床] 担癌患者34例に対し26例に時間差攻撃療法を, 8例に最強療法を行った。

【結果】[基礎] PAPM1/2MICにおいてMRSA, *P. aeruginosa*でそれぞれ1, 2の生菌 log reductionが得られ, 20株の*P. aeruginosa*の MICが 4.0以上75%あったものが併用で10%に減少した。MRSA, *P. aeruginosa*各20株に対するFICindexは相乗効果80, 30%, 相加効果20, 70%であった。FOM培地でのPBP-2' induction はPAPMは起しにくいと思われる現象であった。[臨床] 臨床効果は有効率で時間差攻撃療法96.2%, 最強法 100%, 全体で97.1%であった。著効率は57.7%, 37.5%であった。MRSAは13例から分離され, うち8例に最強療法が行われた。MRSAの除菌率46.2%であった。

マクロライド無効の緑膿菌持続感染D P Bに対するステロイド低量追加・長期連投の試み

神奈川県立循環器呼吸器病センター 呼吸器科
○鈴木周雄 小田切繁樹

【目的】既存構造の高度破壊を伴い、緑膿菌持続感染病態となった高度進展D P Bに対し、嘗てステロイド投与は確立された治療法であり、それなりの予後改善効果が評価されてきた。今日、マクロライド（以下M L）長期連投療法が確立され、D P Bの患者管理は飛躍的に向上し、本症の高度進展を阻止し得るようになった。しかし、既に緑膿菌持続感染病態の高度進展例に於いてはM L長期連投療法も依然として無効～効果不十分な症例も少なくない。緑膿菌持続感染D P Bの終末期の病像には、免疫複合体の形成及びその組織沈着に因る障害などの免疫学的機序が大きく関わっている。かかる症例に対し、M L長期連投療法に加え、ステロイドの少量投与が病態改善に寄与しうると期待して、これを試用した。

【方法】1991年以降、緑膿菌持続感染病態のD P BもしくはD P B類縁疾患のうち、ニューキノロン併用を含むM L長期連投にても喀痰の性状・量に十分な改善が見られぬか、又はM L長期連投下で喀痰悪化を見た症例に対し、P S L 5 m gまたはm e t h y l - P S L 4 m gの連続投与を行い、喀痰の性状・量及び緑膿菌動態等をステロイド投与前と比較した。

【結果】症例数は男子4例、女子1例の計5例で、全例、明確な喀痰量の減少を認め、喀痰性状も改善した。更に、2例に於いては喀痰中の緑膿菌排菌が消失し、残る3例も緑膿菌の減少傾向を認めた。これに伴って、呼吸困難感も改善し、血液ガスや肺機能にも改善を認めた。

【結論】緑膿菌持続感染病態で、M L長期連投療法が奏功しない高度進展D P Bに対するステロイドの低量追加連投は有用であり、試みるべき一法である。

H. pyloriがヒト好中球貪食能に及ぼす影響
—各種薬剤のsub-MIC濃度効果—
(第一報)

神奈川県衛生看護専門学校附属病院
検査科 高橋孝行、辻原佳人
小児科 豊田 茂
内科 桜井 馨、石田裕一郎、松本文夫
外科 岡部紀正

目的：Helicobacter pylori(H. pylori)が胃・十二指腸潰瘍はじめ胃炎の発症の最も重要因子として関与している。またPPI剤、抗菌剤、防御因子増強剤などでの除菌治療により潰瘍、炎症がすみやかに消失し、自覚症状も軽減することが周知の事実として知られている。今回、われわれは抗菌剤及びPPI剤がヒト好中白血球(PMN)の貪食、殺菌能におよぼす影響について検討した。

対象および方法：健常成人及び胃・十二指腸患者の白血球機能をLumiphotometerTD-4000を用いて測定した。刺激剤としてFMLPを用い、使用菌株としては当院の胃・十二指腸患者から分離したH. pyloriを使用し、基礎的な検討を行った。被験薬剤はAMPC, C AM, IPM, OFLX, FOM, PPI計6薬剤を用いた。MICの測定は日本化学療法学会標準法に準じて行った。PMNの調整はFicoll-Conray 重層法に準じて行った。測定はPMN浮遊液、Luminol液を用い、FMLPないしsub-MIC薬剤濃度で処理したH. pylori菌浮遊液を加え3ミキサーにて混和した後90分静置にせし、37℃にて測定してD₅₀値を求めた。

結果および考察：H. pyloriをsub-MIC濃度薬剤で処理した白血球貪食、殺菌能(CL Index値)は、未処理に対して処理群のAMPC、OFLXは、1.9～1.6と亢進傾向が見られ、次いでCAM, FOM, PPIの順であった。また、ヒト好中球をsub-MIC薬剤濃度で処理したCL Index値は処理菌同様に亢進もしくはほぼ同等の成績を示した。

以上、臨床上是H. pyloriの除菌治療は有効であると考えられているが、その作用機序については詳しくは解明されていない。薬剤と抗菌剤、PPI剤との総合相互作用によるものと考えられた。

Helicobacter pylori とヒト好中球の相互作用

帝京大学医学部第二内科、同中央検査室*

○ 斧 康雄、伊藤 匡、加藤淳子、川俣圭子、
青木ますみ、大谷津 功、杉山 肇、宮下 琢、
西谷 肇、宮下 英夫、大胡英美*、川上小夜子*、
宮澤幸久*、国井 乙彦

[目的] *H. pylori* に感染した胃粘膜には、好中球浸潤が特徴的で、潰瘍や胃炎などの胃粘膜障害の発症機序に活性化された好中球から放出される活性酸素の関与が推測されている。今回、*H. pylori* の好中球の活性酸素放出能に及ぼす影響を化学発光法 (CL) を用いて検討した。

[方法] 急性期胃・十二指腸潰瘍患者 (15名) および健康成人 (20名) より採血した末梢血をFicoll-Hypaque 法で分離した好中球 (5×10^5 cells/ml) や10倍希釈した全血を試料とし、ルミノール存在下に *H. pylori* を刺激物として20分間のCLを測定した。尚、分離好中球を用いたCL測定に際しては、オプソニンとして血清20 μ lを測定系に添加した。さらに、*H. pylori* 標準株5株、胃・十二指腸潰瘍患者および胃炎患者より分離した10株について、菌株によるCL誘導能の差異を比較検討した。

[結果] 急性期胃・十二指腸潰瘍患者の*H. pylori* 刺激による全血CL及び好中球CL活性は健康人に比較して有意に高値を示した。*H. pylori* は標準株、臨床分離株の間でも菌種によりCL誘導能に差が認められた。しかし、潰瘍患者と胃炎患者より分離した*H. pylori* の菌株によるCL誘導能の差はみられなかった。血清因子についての検討では、補体を不活した血清を用いて菌をオプソナイズした場合には、好中球のCL活性が約1/2に低下し、潰瘍既往患者で*H. pylori* に対する抗体価が高い血清で菌をオプソナイズした場合には、好中球のCL活性は高くなった。

[結論] 潰瘍患者では、好中球の活性酸素産生能は亢進していたが、*H. pylori* の菌株の違いによるCL誘導能の差が潰瘍形成に関与するものではなかった。今回、*H. pylori* 菌体を用いて検討したが、今後は菌体成分や他の病原因子、宿主側要因の解析も含めてさらに検討する予定である。

Helicobacter pylori 除菌薬のヒト好中球の活性酸素放出能に及ぼす影響

帝京大学医学部第二内科

○ 斧 康雄、伊藤 匡、加藤淳子、川俣圭子、
青木ますみ、大谷津 功、杉山 肇、宮下 琢、
西谷 肇、宮下 英夫、国井 乙彦

[目的] *H. pylori* の胃粘膜感染に伴う好中球の活性化に潰瘍治療薬 (除菌抗菌薬を含む) が影響を及ぼすかどうかを、化学発光法 (CL) を用いて好中球の活性酸素放出能を指標に検討した。

[方法] *H. pylori* 陽性の胃・十二指腸潰瘍患者 (5名) および健康成人 (20名) より採血した末梢血より分離した好中球 (5×10^6 cells/ml) または10倍希釈した全血を試料とし、*H. pylori* 除菌治療薬を種々の濃度 (0.1~25 μ g/ml) で添加し、ルミノール存在下にPMA, fMLP, zymosan, *H. pylori* で刺激して20分間のCLを測定し、薬剤無添加の場合のCL活性と比較した。抗菌薬はmetronidazole, clarithromycin, amoxicillin, PPI はlansoprazoleとその活性体であるAG2000を実験に使用した。

[結果] 3種類の抗菌薬のヒト好中球のCL反応に及ぼす影響を *in vitro* で検討したところ、今回検討した濃度において特に有意な影響がみられなかった。

一方、lansoprazoleやAG2000は、各種刺激物により誘導される好中球CL及び全血CL活性を有意に抑制した。この抑制効果は、濃度依存的で、急性期の潰瘍患者から分離した活性化した好中球を用いても同様に認められた。

[結論] *H. pylori* による胃粘膜障害に関与するとされている好中球からの活性酸素の放出をlansoprazoleが抑制した。本薬には、胃酸分泌抑制作用や*H. pylori* に対する抗菌作用以外にも、活性化好中球からの活性酸素放出を抑制することにより胃粘膜障害を防御する可能性があることが示唆された。

トラニラストのクラミジアと *H. pylori* に対する抗菌作用について

川崎医科大学呼吸器内科¹⁾, 微生物学²⁾, 川崎医療福祉大学³⁾, キッセイ薬品(株)中央研究所⁴⁾, 大日本製薬(株)創薬部第二研究所⁵⁾

○岸本寿男¹⁾, 松島敏春¹⁾, 松本 明²⁾, 美祢弘子³⁾, 海藤功一⁴⁾, 中田勝久⁵⁾

【目的】我々は、抗アレルギー剤、ケロイド治療剤であるトラニラストが抗クラミジア作用 (*C. pneumoniae* と *C. trachomatis* に対する MIC: 30~50 $\mu\text{g/ml}$) をもつことを初めて見出し報告した(第44回日本化学療法学会西日本支部総会, 1996. 12. 5.)。今回、さらに選択性と作用機序について検討した。

【方法】選択性について、一般細菌では *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. marcescens*, *S. epidermidis*, *C. freundii*, *E. cloacae*, *M. morgani*, *P. mirabilis*, *P. cepacia*, *S. typhi* の13菌種についてMICを測定した。その他、*Mycoplasma*, *Legionella*, 真菌, 抗酸菌, さらに *H. pylori* についてもMICを測定した。クラミジアに対するトラニラストの効果の作用機序については、薬剤作用時間と効果についての検討と電子顕微鏡による形態観察を行った。

【結果および考察】トラニラストは、クラミジア以外では *H. pylori* に対してのみ増殖抑制効果を認め、*H. pylori* 5株に対して全て50 $\mu\text{g/ml}$ で増殖を抑制した。今回検討した他の病原体に対しては100あるいは256 $\mu\text{g/ml}$ でも全く効果を認めなかった。

クラミジアについては、接種前の感染液とトラニラストを直接作用させた後感染し、その後トラニラストを除去して培養したところ、感染ならびに封入体内での増殖の阻止は認められなかった。しかし、感染後20時間までにトラニラストを50 $\mu\text{g/ml}$ 添加した場合、次代への継代は不能となり、電顕による観察で封入体内での網様体の分裂・増殖が完全に阻止されていた。*H. pylori* に対する作用機序についてはさらに検討を加えて報告する予定である。以上のことより、トラニラストはクラミジア感染症、*H. pylori* 感染症に対して選択的に有用な薬剤になる可能性が示唆された。

Helicobacter pylori に対する KRM-1657 の抗菌活性

山口大学医学部微生物学教室

○赤田純子, 白井陸訓, 中澤晶子

【目的】胃粘膜に生育する *H. pylori* は、胃炎や消化性潰瘍の原因菌であり、除菌治療が有効であるとされているが、耐性菌の出現も含め問題が多い。我々は *H. pylori* に対する新しい抗菌剤として、抗結核薬として開発されたリファンピシン系抗生剤、KRM-1657 (3'-hydroxy-5'-(4-propyl-1-piperazinyl) benzoxazinorifamycin) の抗菌活性を検討した。

【方法】*H. pylori* 標準株 NCTC11637 と山口大学における臨床分離株 23 株 (由来は胃炎 4 株, 胃潰瘍 13 株, 胃癌 1 株, 十二指腸炎 1 株, 十二指腸潰瘍 4 株), 合計 24 株を用いて、KRM-1657 (鐘淵化学工業), および対照としてリファンピシン (RFP) とアモキシシリン (AMPC) の MIC を測定した。MIC は日本化学療法学会標準法に準じて、寒天平板希釈法を用い、5%馬血清を添加した Mueller-Hinton 培地で微好氣的に 37°C で 4 日間培養した。

【結果と結論】24 株における KRM-1657 の MIC のレンジは、0.0005~0.002 ($\mu\text{g/ml}$) であり、MIC₅₀ と MIC₉₀ はともに 0.001 であった。一方、RFP と AMPC のレンジはそれぞれ、0.125~1 $\mu\text{g/ml}$, 0.008~0.063 であった。これより、KRM-1657 は *H. pylori* に対してきわめて低濃度で抗菌活性があることが明らかとなった。今後、さらに耐性菌の出現頻度や作用機序について検討を進めてゆく予定である。

ビタミンCの抗 *Helicobacter pylori* 作用

国立国際医療センター研究所 感染・熱帯病研究部
○脇阪紀子、張慧敏、前田修、山本達男

【目的】 *Helicobacter pylori* は胃炎の原因菌で、その持続感染は消化性潰瘍や胃癌などのより深刻な疾患の発現に関連する。わが国の成人感染者は3人に1~2人の割合で、開発途上国での乳幼児感染は地域によっては90%以上にも及ぶ。Sobala GMら(1993)は、ビタミンC(VC)の胃液中濃度が *H. pylori* の感染によって低下し、*H. pylori* の除菌によって回復することを報告している。われわれはこのような現象が「①VCに抗 *H. pylori* 作用がある。②VCの抗 *H. pylori* 作用に対抗して *H. pylori* が胃内で持続感染する為には *H. pylori* がVCの胃内分泌を抑制するか、VCを分解しなければならぬ」結果起きたものではないかと考え、VCの抗 *H. pylori* 作用を検討した。

【材料と方法】 *H. pylori* 株：胃炎、胃潰瘍患者由来株と標準株(ATCC43504)を用いた。遊走性の測定：微好気条件下で10% fetal bovine serum 加0.3% BHI寒天培地上で行った。最小発育阻止濃度(MIC)の測定：日本化学療法学会標準法に準じて、微好気下で10% fetal bovine serum 加BHI寒天を用いて測定した。定着抑制作用の検討：平山ら(1996)の方法に準じてスナネズミを *H. pylori* で感染させ、VC液を経口投与、一定期間後胃を摘出して *H. pylori* 菌量を測定した。

【結果】遊走性の抑制：VCはpH7で1mg/mlの濃度で遊走性を阻止した。またpH6では250 μ g/mlの濃度で阻止効果が認められた。増殖の抑制：VCのMIC₅₀はpH7で2048、pH6で512、そしてpH5.5で128 μ g/mlであった。VCによる抑制効果の特異性：VCの抑制効果は *H. pylori* と *Campylobacter* に対して認められ、他の腸管病原細菌では観察されなかった。ビタミンEの場合には抑制効果が認められなかった。定着の抑制：約10⁵CFU/stomachの量で存在していた *H. pylori* がVCの経口投与によって約10³CFU/stomachに減少した。

【結論】VCが酸性側のpHで *H. pylori* の遊走性と増殖の両者を抑制した。また感染動物系において、VCは *H. pylori* の定着菌数を顕著に減少させた。さらにVCの粘着抑制効果についても検討を加えている。

ddYマウスにおける *Helicobacter pylori* 感染モデルの作製とその応用

京都薬大・微生物
○村松英彰、西野武志

【目的】 *Helicobacter pylori* (HP) は、胃炎、胃・十二指腸潰瘍の発生に関与し、そして、胃ガンの発生にも関与している可能性があることが知られている。サル、ブタ、ヌードマウス、スナネズミ等の実験動物の胃粘膜へのHPの感染についてはすでに報告されている。今回、我々はddYマウスを用いたHP感染モデルの作製とこのHP感染モデルを用いた除菌実験を行った。

【方法】 ddYマウス(6週齢、25~30g)を、24時間絶食後、HP ATCC43504をマウスに1日1回10⁶CFU/mouseの経口投与を、連続3日間行った。HP投与後1日、1、2、4、6、10、14、20、26週目に胃内生菌数を測定し、その時の抗HP抗体価も測定した。組織学的検討としては組織切片を作製し、HP免疫染色、HE染色およびDAB染色をした。除菌実験は、HP投与4週目よりランソプラゾール(LPZ)、アモキシシリン(AMPC)、クラリスロマイシン(CAM)を投与し、検討した。

【結果】 ddYマウスの胃へのHP定着菌数は徐々に増加し、HP投与10週以降は10⁴CFU/stomach程度に維持され、抗HP抗体価は感染後経時的に上昇した。また、感染4週以降で体重増加の抑制が見られた。胃粘膜の病理変化は感染10週目までは著しい変化は認められなかったが、感染14週以降より粘膜肥厚、胃炎、リンパ濾胞を伴うリンパ浸潤などの症状などが観察され、感染20週以降ではそれに加えて好中球浸潤も観察された。除菌実験では、AMPC、CAM単剤は投与量依存的な除菌効果を示したものの、LPZ単剤は除菌効果は全く示さず、逆に過量投与することで定着菌数を有意に増加させた。また、AMPCおよびCAMの除菌効果は、一定量のLPZの併用により上がった。

【結論】 このHP感染動物モデルはHPによる粘膜傷害機序の解明および抗HP薬の幅広いスクリーニングに有用であることが示唆された。

我国のNSAIDs使用慢性リウマチ(RA)患者胃潰瘍に対するHelicobacter pylori(H. pylori)除菌効果の検討

西澤芳男^{1,2,3)}

西沢クリニック¹⁾、京都府立医大老化解病態病理²⁾、
滋賀医大麻酔学教室³⁾

【緒言】RA患者(Pt)消化性潰瘍(PU)は胃前庭部に多発し、難治性で、成因上H. pylori(H. p)感染関与に確定見解はない。今回、RA胃潰瘍(GU)に関しH. p除菌が有効か否かを検討した。【対象】'97. 1. 10迄15年間に当Clinic、関連医療機関を受診し'87ARA診断基準を合致RAPt500例を対象とし、H. p除菌200例、非除菌300例に分け、各々半数をNSAIDs(Ns)使用、非使用症例とした。半数はNsを使用し、即除菌群はNs(1)、()群共半数にH₂ blocker維持療法:(H₂)群、半数に粘膜保護剤(P)を投与した。非除菌群同様Ns(1)、()群に半数づつ分け、50例に抗生剤PPI除菌(CT群)後Pを、残りにPを投与した。各群に有意差はなかった。H. p感染は生検部培養でH. p数count、血清抗体価等を測定し検討した。胃粘膜PGE₂量、血流量等も測定した。【結果】GUは即除菌群Ns()でH₂群:20%、P群:12%(Ns(1)でH₂群:44%、P群:16%)、非除菌例ではNs()でH₂群:44%、P群:36%、CTNS(1)群:18%、NS()群:26%、CT群:16%Ns(1)でH₂群:68%、P群:40%であった。血清抗体価、¹³C Urea breath test等H. p感染関連検査も同様傾向であった。即ち、H. p除菌例<H. p非除菌例でGUが有意に多発した。Ns()<Ns(1)で胃粘膜PGE₂値、血流量は低下した。Ns()<Ns(1)でGU発症率がNs使用で高GU発症率であった。即ち、Ns単独でもGUは発症するがH. p除菌がGU予防に重要であった。【考察】RAPtのPUに関しACGはNs投与下でもH. pを除菌を奨めている。我国ではNsのCoxI抑制がPU起因子と考察され、H. p除菌のみでRAのPUは抑制されないとしている。しかし、我々はNsはAGMLを惹起するがPU迄到る胃病理所見は示さないことを以前報告した。本結果はH. p感染がNsよりRAPtGU起因に重要である可能性を示唆した。この点に於いて、我国のRAPtPUにH. pが重要な因子であることを示した初めての報告である。また、RAではamyloidosisに基づくPU減少はその成因上不可と考えられた。

Helicobacter pylori 除菌後の十二指腸潰瘍再感染・再発例について

神奈川県衛生看護専門学校付属病院 外科

佐伯知行, 岡部紀正, 鈴木且麿,

内科 桜井 肇, 松本文夫, 検査科 高橋孝行,
東京慈恵会医科大学外科学講座 第1 山崎洋次

(目的)H. pyloriの確定診断は、当院では内視鏡の生検材料によって鏡検法、ウレアーゼ法、培養法を1988年から行っている。さらに1994年からはプロトンポンプインヒター薬と抗生剤、防御因子増強剤の三者による除菌治療を施行している。ここでは除菌を行ったにもかかわらず再感染・再発と考えられた2症例を経験したので報告する。

(症例)①30歳、男性、1995. 5. 22 胃内視鏡で潰瘍はA₂ステージ、生検ではH. pyloriが(+)であったため、ランソプラゾール30mg、クラリスロマイシン400mg以上1日量を6週間投与。その後、当初から投薬していた防御因子増強剤2薬とロキサチジン150mg 1日量として維持療法で使用。4週間後には潰瘍はS₁でH. pyloriは(-)であった。しかし半年後自覚症状が出現1995. 11. 27にはA₂となりH. pyloriも(+)となり再発であった。②48歳、女性、1992. 2. 17、H. pylori (+)でA₂であった。除菌はせずニザチジン300mgと防御因子増強剤2種を維持投与。1994. 11. 21にA₂でH. pylori (+)となり、PPI 30mgとクラリスロマイシン400mgを4週使用。S₁、H. pyloriは(-)と改善。しかし1997. 1. 13には再びA₂、H. pylori (+)となり、明らかに再発であった。(考察)除菌後の再発例はHustの報告では1%以下である。当院では約1200例中再発は2例で、他に不確実な要因ある2例で計4例である。2例の共通事項は新鮮例ではなく、年余に亘って投薬を受けていたこと、服薬の中止中断があったことである。PPI薬の投与で症状が激減することから自己判断で中断する。また欧米にくらべて投与量が半量、抗原虫剤の投与がないことなども再発の原因ではないかと考えられた。

最近3年間の尿中分離菌の頻度と薬剤感受性

東京慈恵会医科大学泌尿器科学教室

○清田浩、大石幸彦、小野寺昭一、
岸本幸一、後藤博一、斑目旬

【目的】最近の複雑性尿路感染症の起炎菌の分離状況と薬剤感受性を明らかにする目的で、過去3年間の当科入院症例の尿中からの分離菌の頻度と薬剤感受性を調査した。

【対象と方法】1994年4月から1996年12月までに当科入院症例の尿中分離菌541株(1994年198株、1995年174株、1996年169株)を対象とした。これらの菌株はWalkAway-96[®](Baxter社製)で分離・同定され、Gram陽性菌、Gram陰性菌、そしてブドウ糖非発酵菌に対し各々Pos-Combo Type2J、NegCombo Type3J、そしてNegCombo Type4JのMicroScan Worksheet[®](Baxter社製)により薬剤感受性を決定した。そして、各菌種の分離頻度と薬剤感受性の傾向を検討した。

【結果と結論】過去3年間に *E. faecalis* と MRSA が漸増したのに対し、*P. aeruginosa* の漸減と *S. marcescens* の激減を認めた。薬剤感受性については以下の傾向を認めた。(1)MRSA および *E. faecalis* に VCM 耐性株は認められなかった。(2)*P. aeruginosa* を除く弱毒 Gram 陰性桿菌に対する IPM の抗菌力は依然として優れていたが、第三代セフェム剤と OFLX に対する高い耐性率を認めた。(3)*P. aeruginosa* の薬剤感受性株は、AMK および CAZ (63%)、CPZ および TOB (57%)、IPM (55%)、ISP (54%)、CFS (51%)、AZT (50%) の順に多かった。(4)ST 感受性株は MRSA、MSSA、*S. epidermidis*、*K. oxytoca* で 100%、*S. hemolyticus*、*E. coli*、*S. marcescens*、*C. freundii*、*K. pneumoniae* でも 70% 以上であった。以上の結果より、複雑性尿路感染症にしては、現時点でニューキノロン剤ではなく ST を第一選択剤とすべきであると考えられた。

尿路感染症から分離された大腸菌に対する
経口抗菌薬の殺菌力の比較

筑波大学臨床医学系内科

○青木泰子

目的：本年の感染症学会総会で、内科外来における尿路感染症の起炎菌は大腸菌が最も多く、治療効果は経口セフェム（第一、第三世代）、ニューキノロンのいずれでも良好なことを報告した。尿路感染症治療薬としての有用性を判断する一助として、各薬剤の殺菌力を種々の条件下で比較した。

方法：被検菌は先の共同研究で収集された大腸菌 13 株を用いた。経口抗菌薬の MIC を MHB、および、漉過滅菌した尿を培地として測定し、殺菌曲線についても両者を培地として検討した。

結果：MHB での微量液体希釈法による MIC₈₀($\mu\text{g/ml}$) は、ABPC、AMPC、ABPC/SBT、AMPC/CVA: 4、CEX: 16、CCL: 4、CTM、CETB: 0.125、CPDX: 0.5、CDTR-PI: 0.25、LVFX: 0.03、CPFX、TFLX: 0.02 であった。尿を培地とした MIC はキノロン、および CTM では MHB 中より 16-64 倍高い値を示し、他の薬剤は菌株によって多少異なるが、両者の差はおよそ 4 倍以下であった。殺菌曲線の検討からも、キノロン、および、CTM では尿中での MIC が MHB 中より高いことが確認された。他のセフェム薬の多くも尿中での殺菌率は MHB 中より不良であったが、CFDN、ABPC ではその差は明かではなかった。

考察：尿路由来大腸菌に対する経口抗菌薬の殺菌力を比較すると、ペニシリンや第一世代セフェムの MIC は比較的高い。第二、第三世代経口セフェム、および、ニューキノロンの MIC は小さいが、CTM とキノロンでは、尿中での MIC は MHB で測定した時より高い。

一般に尿中薬剤濃度はかなり高いことから、単純性膀胱炎における薬剤は、MIC のみにとらわれることなく、副作用なども考慮して選択すべきと考えられる。

尿路感染症から分離されたD群Streptococcusに対する7種の抗菌剤の感受性

平塚市民病院泌尿器科¹⁾、藤田保健衛生大泌尿器科²⁾

○鈴木恵三¹⁾、比嘉功¹⁾、田中利幸¹⁾、名出頼男²⁾、
星長清隆²⁾、堀場優樹²⁾、加藤忍²⁾、安藤慎一²⁾

(目的) 最近の数年間に、複雑性尿路感染症 (C-UTI) から分離されたD群Streptococcus SPP4種 (*E. faecalis* N = 75, *E. faecium* N = 10, *E. avium* n = 25, *E. durans* N = 7) に対する7種類の試験管内抗菌活性を測定した。(被験薬剤と方法) 抗菌剤はABPC, SBTPC, MINO, NFLX, SPFX, IMP, VCMの7剤である。測定方法は平板法で日本化学療法学会標準法によった。<成績> *E. faecalis* に対するMIC₉₀/MIC₅₀ ($\mu\text{g/ml}$) は、ABPC, SBTPC, IMP, VCMが優れた感受性を示し、1.56~6.25であった。しかしMINOと2種のニューキノロン剤 (NQ) は12.5~>100と感受性が劣った。他の菌種では、*E. faecium* がVCMに対して感受性を示した他は耐性を示した。*E. durans* に対しては、MINOとNQはMICが高かったが、他の4剤は感受性を示した。*E. avium* のMIC₅₀ は0.78~6.25 ($\mu\text{g/ml}$) であったが、MIC₉₀ はVCMの3.13 $\mu\text{g/ml}$ を除くと、他剤のMICは高値を示した。<考察> UTIにおけるD群Streptococcusによる重症な報告はこれまでのところ稀である。しかし*E. faecium* による感染が重症化した時には、選択すべき抗菌剤がほとんど無いだけに、今後重要な課題として考慮しておくべきと思われる。

尿路感染症における臨床経過と尿中インターロイキン-8の変動

岐阜大学泌尿器科

○石原 哲、安田 満、仲野正博、福岡明久、
山口 隆、栗山 学、坂 義人、河田幸道

[目的] サイトカインの中で、インターロイキン (IL) -1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α などは炎症性サイトカインとして知られており、尿路感染症においても研究が進められている。このうち、IL-8は好中球走化活性を有していることから、膿尿の形成機序に強く関わっているものと思われる。今回、経過を追ってIL-8を測定できた症例で膿尿とIL-8の関係を検討した。

[方法] 尿路感染症患者120例について尿中IL-8を測定したが、そのうち化学療法前後など3ポイント以上で経過を追えた58例を検討の対象とした。IL-8はELISA法にて測定した。

[結果・考察] 治療前の尿中IL-8は測定限界レベル(30pg/ml)から10ng/mlまで幅広く分布しており、この値のみで病態を推定することは困難と思われたが、膿尿の程度と弱い正の相関が認められた。治療経過を追った場合、膿尿の推移と一致して変化する例が多かった。特に急性膀胱炎、急性腎盂腎炎ではこの傾向がはっきりしていた。強い膿尿にもかかわらずIL-8が低値である例は希であったが、逆に尿中白血球が少ないにもかかわらずIL-8が高値である例が複雑性尿路感染症で認められ、尿中白血球とIL-8の関係を一元的に理解できない要素があるものと思われた。

急性単純性膀胱炎に対するlevofloxacinの単回投与法と7日間投与法の比較検討

岡山赤十字病院泌尿器科¹⁾、津山中央病院泌尿器科²⁾

○近藤捷嘉¹⁾、赤枝輝明²⁾、志田原浩二²⁾、中山恭樹²⁾

【目的】急性単純性膀胱炎では抗菌剤の単回投与でも高い有効率が得られているが、その再発率が問題とされている。今回、levofloxacin (LVFX) の単回投与と7日間投与の2群において、両者の臨床効果とともに1ヵ月後の再発率を比較検討した。

【方法】急性単純性膀胱炎を対象にLVFX 200mg 単回投与群 (A群) と1日1回 100mg 7日間投与群 (B群) の臨床効果をUTI基準に従って検討し、さらに1ヵ月後の再発率について比較した。

【結果】検討した症例数は78例で、A群は42例、B群は36例である。投与終了後所定の検査が行い得なかったなどの脱落症例を除外し、臨床効果を検討し得たのは60例で、A群は31例中著効24例、有効7例、著効率77.4%、B群では29例中著効26例、有効3例、著効率89.7%であり、有効率はいずれも100%であった。再発については投与終了1ヵ月後に再来し、検査し得た36例について検討した。A群の再発は2例、再発なし14例、判定保留3例、B群では再発例はなく、再発なし13例、判定保留4例であった。なお、LVFXによると考えられる副作用は認めなかった。

【結論】以上の結果からLVFXの単回投与法は急性単純性膀胱炎に対して高い有効率が得られ、再発率も低いことから有用と考えられる。単回投与法は医療費削減、副作用、耐性菌の発現率低下などの面からも選択すべき治療法と考えられる。

高齢者尿路感染症に対するofloxacinの臨床効果50mg連日投与群と100mg隔日投与群での検討

名古屋市厚生院内科¹⁾、外科²⁾

○山本俊信¹⁾、山腰雅宏¹⁾、鈴木幹三¹⁾、山本俊幸¹⁾、品川長夫²⁾

【目的】Ofloxacin(OFLX)は優れた抗菌力と幅広い抗菌スペクトラムを有し各種感染症に対して使用されている新キノロン系合成抗菌薬である。以前より我々は潜在的に腎機能が低下している高齢者に対する抗菌薬の至適投与法に関して検討し、経口薬ではOFLXの1日1回投与の有用性について報告してきた。今回は、高齢者の尿路感染症に対するOFLX50mg連日投与群と100mg隔日投与群での臨床効果を検討したので報告する。

【対象・方法】1994年2月から1995年5月まで16ヶ月間に、当院で経験した感染徴候の明確な65歳以上の尿路感染症患者を対象とした。OFLXの投与方法を封筒法で、1日1回50mg(力価)を4日から7日間内服する連日投与群(以下50mg群)と、2日に1回100mg(力価)を3または4回内服する隔日投与群(以下100mg群)の2群に分けて投与方法による臨床効果を検討した。

【結果】1)総投与症例は36例(50mg群18例、100mg群18例)で、解析採用症例は臨床効果30例(50mg群15例、100mg群15例)、副作用36例(50mg群18例、100mg群18例)、臨床検査値35例(50mg18例、100mg17例)であった。2)臨床効果における有効率(著効+有効の割合)は、50mg群86.7%(13例/15例)、100mg群73.3%(11例/15例)であった。3)尿の分離菌は単数菌25例(*E. coli* 12例、*K. pneumoniae* 4例、*P. aeruginosa* 4例、*P. mirabilis* 3例、その他2例)、分離菌の消失率は、50mg群66.7%(10例/15例)、100mg群60%(9例/15例)であった。4)副作用は、50mg群で頭痛を1例に認めた。5)臨床検査値異常変動出現率は、50mg群5.6%(1例/18例)、100mg群17.6%(3例/17例)であった。主な異常は、GOT、GPTの上昇2例、WBCの低下2例、ALPの上昇1例であったが、重篤なものはなく本剤の中止のみで全例回復した。

【結論】以上の成績から、OFLX50mgの連日投与と100mgの隔日投与は、65歳以上の高齢者の尿路感染症に対して臨床的に有用な治療方法であると思われた。

尿路バイオフィーム感染症に対する fosfomycin(FOM)と levofloxacin(LVFX)併用療法に関する臨床的検討

岡山大学泌尿器科

○橋本英昭、門田晃一、那須良次、津川昌也、公文裕巳、大森弘之

【目的】近年、難治性細菌感染症の原因として、感染病巣各所に形成される細菌バイオフィームが注目されている。この細菌バイオフィームに対する FOM と LVFX の併用療法の臨床的応用性について検討した。

【対象および方法】1. FOM 1000~1500mg/day, LVFX 200~400mg/day, 2~3分服 3日間併用内服時における体内動態を健康人ボランティアならびに以下の臨床例における患者を対象として検討した(n=9)。2. 臨床的検討は治療投与、および予防投与を行った。治療投与の対象は、臨床経過と基礎疾患よりバイオフィーム感染症と診断した慢性緑膿菌性尿路感染症患者4例で、疾患の内訳は慢性腎盂腎炎2例、慢性前立腺炎2例であった。投与方法は FOM 1000~2000mg/day, LVFX 300~400mg/day で投与期間は8週間を原則とした。予防的投与の対象は術後、尿路に2週間のカテーテル留置を必要とした2症例であり、投与方法は FOM 1000mg/day, LVFX 200mg/day とし、カテーテル抜去まで内服することとした。【結果と考察】1. 投与量の最も少ない FOM 1000mg/day, LVFX 200mg/day, 2分服併用内服時においても、2日目内服前の尿中濃度の平均値は FOM 79.0 μ g/ml, LVFX 58.9 μ g/ml で、以後それ以上の濃度を維持していた。したがって、今回検討したいずれの投与方法においても、FOM, LVFX 濃度は、*in vitro*で緑膿菌バイオフィームに効果を示す併用時の各薬剤濃度を越える値であった。2. 治療投与群では全例において FOM, LVFX 併用療法施行後、緑膿菌は陰性化し経過観察中に再発を認めなかった。予防投与群では1例はカテーテル留置期間中、細菌尿の出現を認めなかった。一方、もう1例はカテーテル抜去時 *Flabobacterium* 属による細菌尿(10^5 CFU/ml)を認めた。しかし、抜去したカテーテルの走査電顕所見はカテーテル内面に細菌の付着を認めず、外面では散在的に細菌が付着していたが、バイオフィームの形成は認めなかった。以上より、LVFX と FOM の併用療法は尿路バイオフィーム感染症に対して、有効な治療法のひとつになり得ると考えられた。

慢性前立腺炎から分離された分離菌と抗菌剤に対する感受性

平塚市民病院¹⁾ 藤田保健衛生大学²⁾

○田中利幸¹⁾、比嘉功¹⁾、鈴木恵三¹⁾、名出頼男²⁾、星長清隆²⁾、堀場優樹²⁾、石川清仁²⁾、加藤忍²⁾、安藤慎一²⁾

【目的】最近5年間に我々の施設で、慢性前立腺炎と診断した患者の前立腺圧出液 (EPS) から分離した細菌についてニューキノロン剤 (NQ) を中心に抗菌剤の感受性を測定し、その結果を尿路感染症 (UTI) と比較した。【方法】EPSの培養は seed swab 法により定量培養を行なった。分離菌は全て同定をしたが、分離菌の全てが起因菌として認定できるわけではなく菌数が $\geq 10^2$ /ml 検出したものを選んだ。被検株数は260株である。グラム陽性球菌 (GPC) とグラム陰性桿菌 (GNR) の比率は、約9:1で、圧倒的にGPCが多かった。被検薬剤はNQのうち ofloxacin (OFLX) または levofloxacin (LVFX) の他に ciprofloxacin (CPFX) tosufloxacin (TFLX) prulifloxacin (PUFX) などである。なお、UTIからの分離菌との比較は、最近の報告を参考とした。【成績】LVFXについて検討した92株のMIC (μ g/ml) は、*S. epidermidis* (n=21) で0.1~0.39、*E. faecalis* (n=13) で0.78~1.56、*S. agalactiae* (n=6) で1.56~3.13、*E. coli* (n=6) では ≤ 0.025 ~0.05であった。CPFXでは、LVFXと比べおよそ同等の抗菌活性であった。PUFXについてもLVFXとほぼ同等の成績であった。慢性細菌性前立腺炎の主たる起因菌とされるGPCの*E. faecalis*、GNRの*E. coli*については、UTIにみられる様な耐性株を認めなかった。【考察】慢性前立腺炎から分離される菌株は、GPC、GNRともに、単純性UTIから分離される菌株の感受性とほぼ同程度と思われる。複雑性UTIにみられるNQに高度耐性を示す株は殆どみられない。しかし、GPCのうちCNS、*S. epidermidis*などの一部に感受性の劣る株がみられた。耐性化傾向のトレンドもUTIの様に明確なものでなく5年間殆ど抗菌活性に変化を認めなかった。

前立腺炎様症状を有する患者のsymptom scoreの検討

札幌医科大学医学部 泌尿器科

○佐藤隆志 広瀬崇興 高橋 聡 塚本泰司
札幌医大前立腺炎研究会

【目的】前立腺炎様症状を有する患者は排尿時の不快感や頻尿、会陰部痛などの多彩な症状を有し、しかもこの疾患では自覚症状が診断や治療効果を見る上で重要な要素となる。一方、近年前立腺肥大症については自覚症状を客観的に評価するためにI-PSSという国際的なsymptom scoreが使用されるようになった。そこで上述の疾患に対しても客観的なsymptom scoreを考案し、評価を行った。

【方法】対象は1996年11月～1997年2月までに札幌医大前立腺炎研究会の各施設を受診した前立腺炎様症状を有する38名である。初診時と治療終了時に、残尿感など排尿に関する症状は7項目(I-PSSと同様)、会陰部痛など痛みに関する症状は5項目をそれぞれ6段階に評価するsymptom score cardを記載させ、自覚症状の程度を点数化した(最も症状が強い場合を60点満点とする)。同時に前立腺マッサージを行い、前立腺圧出液(EPS)またはマッサージ後尿(VB3)沈渣中の白血球数が10個未満をprostatodynia, 10個以上を慢性前立腺炎とした。

【結果】全症例の治療前のsymptom scoreの平均点は13.3点であったが、治療後は4.3点と治療によりsymptom scoreは有意($p=0.016$)に下降していた。疾患別にみるとprostatodyniaのsymptom scoreの平均点は14.4点、慢性前立腺炎患者では11.8点と両疾患に有意な差はなかった。また、EPS中の白血球数とsymptom scoreには有意な相関はみられなかった。

【結論】前立腺炎様症状のような多彩な症状を有する疾患では、その症状を客観的に評価する方法が必要である。われわれが考案したsymptom scoreは前立腺炎様症状を客観的に評価できると考えられた。また、前立腺の炎症の程度と自覚症状の強さとは相関しないと考えられた。

急性および慢性細菌性前立腺炎の臨床的検討

岡山大学泌尿器科学教室

○門田見一, 藤田竜二, 橋本英昭, 那須良次,
津川昌也, 公文裕巳, 大森弘之

【目的】前立腺炎はしばしば難治性あるいは再発性であり、その治療に難渋する症例が少なくない。今回、当院で診断、治療した細菌性前立腺炎の臨床経過を解析することにより、抗菌剤の投与期間、治療方法について検討を加えた。

【対象と方法】対象は、治療開始時にSegmented testにより細菌学的診断が確定された急性および慢性細菌性前立腺炎患者で、内訳は急性細菌性前立腺炎(ABP)23例、慢性細菌性前立腺炎(CBP)34例である。治療効果の判定はUTI薬効評価基準に従った。

【結果と考察】ABP群の分離菌種は*E.coli*が23株中17株と最多であった。すべての症例にNew quinolone剤が投与されており、投与期間は平均6.4週であった。投与1週目の総合臨床効果は判定可能症例14例のうち著効3例、有効8例で有効率78.6%であった。無効の3例のうち2例も2から3週目に有効以上となり高い治療効果を示した。CBP群の分離菌種は*S.epidermidis*が19株と最も多く、グラム陽性球菌が全体の約2/3を占めた。投与薬剤は90%以上の症例でNew quinolone剤であり、投与期間は平均6.4週であった。投与2週目の総合臨床効果は評価可能症例20例中18例(90%)が有効以上であった。しかし2週間で投与を終了した7症例(治療薬使用症例)を検討すると、2週目の評価で細菌が陰性化した6例のうち5例が投与終了後2～6週目に再燃あるいは菌交代を認め、治療期間の不足が示唆された。一方、再発症例においてEPS中の細菌特異抗体価の推移を検討すると、同一菌種による再発(再燃)を認めた症例ではEPS中抗体価が持続的に高値を示しており、細菌バイオフィルムの形成による慢性持続感染の存在を示唆していた。これらの難治性CBPで前立腺結石を有する症例を4例経験したが、抗菌剤単独では完治に至らず、抗菌剤投与に経尿道的前立腺切除術を併用し良好な経過を得た。症例によっては抗菌剤単独治療に限界があると考えられる。

慢性前立腺炎に対するニューキノロン剤と
牛車腎気丸の併用治療効果

藤田保健衛生大学医学部泌尿器科

○堀場優樹、安藤慎一、片山知美、
星長清隆、名出頼男

【目的】慢性前立腺炎はその病態が多彩であり、かつ治療に対する効果判定の指標に乏しく、治療に難渋する疾患の一つである。我々は、牛車腎気丸の慢性前立腺炎に対する有用性を述べてきた。今回はその有用性に加え、EPS中（前立腺圧出液）の免疫グロブリンの変化を経時的に測定し、牛車腎気丸の及ぼす影響について検討を行った。

【対象及び方法】慢性前立腺炎と診断された15症例を対象とした。内訳は、牛車腎気丸投与群8例、非投与群7例であった。年齢は、36-78歳平均56.2歳であった。治療として基本的に、ニューキノロン剤を中心とした抗菌剤の投与を2-4週間行い、3-4週間目より牛車腎気丸を併用ないし単独療法で投与し、臨床症状の軽快及びEPS中の免疫グロブリンIgG, IgA, IgMの測定とEPS中の白血球数計測を経時毎に行い、その変動につき検討した。

【結果】一例をのぞいて臨床上の再発再燃は認められ無かった。免疫グロブリンの変化は、牛車腎気丸投与群の多くでIgA, IgMが早期に低下する変化が認められた。一方、非投与群では、免疫グロブリンの著明な変化は認められなかった。

【考察】今回の検討で、慢性前立腺炎症状に関して云えば、ニューキノロン剤単独投与群より、牛車腎気丸を併用投与した群に早期改善傾向が認められ、本疾患での本剤使用が有用と思われた。また、免疫グロブリンのIgA, IgMが早期に低下する変化が牛車腎気丸投与群で認められた。これらのメカニズムは不明であるが、牛車腎気丸を投与することにより、免疫機序に変化が生じることが示唆された。

*Prevotella bivia*のホスホリパーゼA₂による子宮内膜細胞のアラキドン酸遊離について

岐阜大学医学部産科婦人科

○三嶋廣繁、川添香子、佐藤泰昌、玉舎輝彦
揖斐総合病院産婦人科
和泉孝治

【目的】*Prevotella bivia*は、羊水感染症からの分離頻度が高い嫌気性菌である。一方、正期前陣痛と羊水感染の関連が論じられているが、*P. bivia*の関与についての基礎的検討はない。我々は、*P. bivia*の菌体抽出物が、子宮内膜細胞のアラキドン酸遊離におよぼす影響について検討した。

【方法】子宮内膜細胞は、摘出されたヒト子宮の内膜から調製した。羊水感染症より分離された*P. bivia*を培養し、遠心・浮遊を繰り返して洗浄後、超音波破碎によってホモジネートを作成した。これを超遠心し得られた上清を抽出物として使用した。アラキドン酸の遊離は、³Hアラキドン酸で標識した子宮内膜細胞を用いて*P. bivia*の菌体抽出物とインキュベートし、放射活性の測定により観察した。

【結果】子宮内膜細胞を³Hアラキドン酸とインキュベートすると、時間依存的にリン脂質の放射活性が増大し、ほぼ6時間でプラトーに達した。

³Hアラキドン酸で標識した子宮内膜細胞を*P. bivia*の菌体抽出物とインキュベートすると、アラキドン酸の遊離が亢進した。この菌体抽出物によるアラキドン酸の遊離亢進作用は濃度依存性であった。*P. bivia*の菌体抽出物は、アラキドン酸の遊離と平行して、子宮内膜細胞のホスホリパーゼA₂作用の代謝産物であるリゾホスファチジルコリンのレベルを高めた。

【結論】*Prevotella bivia*は、ホスホリパーゼA₂を産生することにより子宮内膜細胞のアラキドン酸遊離を亢進させることが明らかになった。

卵巣チョコレート嚢胞アルコール固定術後に *P. magnus* による膿瘍をきたした2例

岐阜大学医学部産科婦人科

○川添香子、三嶋廣繁、佐藤泰昌、玉舎輝彦

卵巣チョコレート嚢胞に対する保存的治療として、アルコール固定術は一般的な方法となってきた。今回我々は、経腔的アルコール固定術後に、膿瘍を形成した2例を経験したので報告する。(症例1)27才。1年間の不妊を主訴に来院。骨盤内子宮内膜症および卵巣チョコレート嚢胞の診断で、偽閉経療法開始。6ヵ月施行後、嚢胞径(7cm)縮小なく、ダグラス窩穿刺による嚢胞内容吸引エタノール注入法を静脈麻酔下に施行。嚢胞内容はチョコレート様で、エタノールを10ml注入、2分間固定の後回収。穿刺日より3日間術後感染予防抗菌薬としてCFTM-PIを内服投与。術後4日目に発熱出現、6日目には圧痛を伴う径7.7cmの嚢胞状エコー像を認めた。CMNXの静注投与に変更したが発熱持続、16日目にはCRP上昇、腹膜刺激症状も出現したため、ダグラス窩より嚢胞試験穿刺施行。内容は膿で培養で *Peptostreptococcus magnus* が単独で検出された。発熱持続したため、右卵巣嚢腫核出術施行し、回復した。(症例2)27才、未婚。不正性器出血を主訴に来院。骨盤子宮内膜症、右チョコレート嚢胞(径5cm)を認め、偽閉経療法開始。4ヵ月施行したが嚢胞径の縮小認めず、ダグラス窩より嚢胞穿刺施行。局所麻酔下に吸引、チョコレート様の内容物を約40ml得、エタノール8mlを嚢胞内に注入したところ、腹痛出現したため中止。穿刺日より3日間CFDNを内服投与。穿刺後14日目より発熱、頭痛出現し、16日目には、嚢胞径の増大(径4.5cm)、CRP上昇、発熱持続を認めたため、右卵巣嚢腫核出術施行した。卵巣嚢胞内容は膿で、培養で *Peptostreptococcus magnus* が単独で検出された。(考察)今回の2例では、感染予防のためのセフェム系抗菌薬投与により、感受性のある好気性菌は除菌され、感受性が低い嫌気性菌は除菌されず、嫌気的な環境下で *P. magnus* の増殖が助長されたものと考えられた。

HSR-903のキノロン耐性淋菌臨床分離株に対する抗菌力の検討

岐阜大学 泌尿器科

○出口 隆、安田 満、石原 哲、河田幸道

東京共済病院 泌尿器科

齋藤 功

北陸製薬 研究開発本部 研究部

桶崎英一

【目的】淋菌はニューキノロン剤に良好な感受性を示していたが、淋菌性尿道炎におけるニューキノロン剤無効例が報告され、ニューキノロン剤耐性淋菌の出現が新たな問題となっている。今回、われわれは *gyrA* 遺伝子および *parC* 遺伝子に変異を有するニューキノロン剤耐性淋菌を含む淋菌臨床分離株に対する新規キノロン系抗菌剤である HSR-903 の *in vitro* における抗菌活性を検討した。【方法】男子淋菌性尿道炎患者より分離された臨床分離株 51 株を用いた。これら菌株中、21 株は *gyrA* 遺伝子および *parC* 遺伝子に変異を有さず、19 株は *gyrA* 遺伝子のみに変異を有し、11 株は *gyrA* 遺伝子および *parC* 遺伝子に変異を有した。MIC の測定は NCCLS 法に準じ、1% IsoVitalEx を含んだ GC II 寒天培地による平板希釈法にて行った。【結果】 *gyrA* 遺伝子および *parC* 遺伝子に変異を有さない 21 株に対する HSR-903 の MIC の範囲は ≤ 0.001 - $0.008 \mu\text{g/ml}$ であり、MIC₅₀ および MIC₉₀ は、それぞれ $0.002 \mu\text{g/ml}$ および $0.004 \mu\text{g/ml}$ であった。 *gyrA* 遺伝子のみに変異を有する 19 株に対する本剤の MIC の範囲、MIC₅₀ および MIC₉₀ は、それぞれ 0.03 - $0.5 \mu\text{g/ml}$ 、 $0.06 \mu\text{g/ml}$ および $0.125 \mu\text{g/ml}$ であった。 *gyrA* 遺伝子および *parC* 遺伝子に変異を有する 11 株に対しては、MIC の範囲、MIC₅₀ および MIC₉₀ は、それぞれ 0.03 - $1.0 \mu\text{g/ml}$ 、 $0.06 \mu\text{g/ml}$ および $0.25 \mu\text{g/ml}$ であった。MIC₉₀ を比較すると、 *gyrA* 遺伝子のみに変異を有する菌株および *gyrA* 遺伝子と *parC* 遺伝子の両者に変異を有する菌株に対して HSR-903 は ciprofloxacin の 4 倍から 8 倍強い抗菌活性を示した。【考察】新規キノロン系抗菌剤である HSR-903 は、 *gyrA* 遺伝子と *parC* 遺伝子に変異を有するニューキノロン剤耐性淋菌臨床分離株に対しても *in vitro* において優れた抗菌力を示し、淋菌による各種感染症に対して有効な治療薬となるものと期待された。

淋菌のニューキノロン系薬耐性化に関する
臨床的検討

九州大学医学部泌尿器科¹⁾、東京共済病院
泌尿器科²⁾、福岡大学医学部微生物学教室³⁾
三菱化学ビーシーエル臨床微生物⁴⁾

○田中正利¹⁾、佐久本操¹⁾、高橋康一¹⁾、
作間俊治¹⁾、松本哲朗¹⁾、熊澤浄一¹⁾、
斎藤 功²⁾、永山在明³⁾、小林寅吉吉⁴⁾

近年、我が国における淋菌のニューキノロン系薬耐性化は著しい。最近では淋菌のニューキノロン系薬に対するin vitro感受性の低下のみならず、臨床的にも同系薬が無効の感染例が増加している。今回我々は、最近新たに開発されたニューキノロン系薬を淋菌性尿道炎に使用し、淋菌の同系薬に対する著しい耐性化を経験したので報告する。

Pazufloxacin(PZFX)を男子淋菌性尿道炎47例に投与し、その臨床効果を検討した。PZFXの投与方法は、原則として1日600mg分3、3日間経口投与とした。47例中41例が評価可能であった。UTI薬効評価基準に基づく有効率は、3日目判定で86.8%(33/38)、7日目判定で60.9%(14/23)であった。最終判定による総合臨床効果は、41例中28例が有効以上、13例が無効で、総合有効率は68.3%(28/41)であった。淋菌に対する本薬のMICと細菌学的効果では、MICが0.1μg/ml以下の株の消失率は100%(22/22)であったものの、MICが0.2μg/ml以上の株の消失率は27.8%(5/18)と低かった。PZFXのこの研究で分離された淋菌37株に対するMIC₅₀、MIC₉₀値はそれぞれ0.1μg/ml、1.56μg/mlであった。PZFXに耐性株は、他のニューキノロン系薬にも交差耐性を示した。次に、患者背景を検討した。感染地は、国内が90.2%、海外が2.4%、不明が7.3%例であった。感染源は、性風俗女性が51.2%、一般女性が34.1%、不明が14.6%であった。今回検討したPZFXの淋菌性尿道炎に対する臨床効果は各種ニューキノロン系薬の開発時の成績に比べ劣っていた。これは我が国におけるニューキノロン系薬耐性淋菌の蔓延によるものと思われた。

急性細菌性膀胱炎の若年女子の
クラミジア抗体保有率

日赤医療センター 泌尿器科

○小島弘敬

【目的】クラミジア(CT)生殖器感染症は現在厚生省サーベイランスで最多症例数のSTDである。その蔓延の理由はとくに女子で症状を欠き受診機会がないことと考えられ、妊婦スクリーニングのCT頸管保菌率は検査の開始された1986年以後、各地で一定して5%程度とされる。日赤医療センターではCT尿道炎症例数は1994年以後1984年の約1/3に減少したが、妊婦のCT頸管保菌率は1995年4.8%、若年健康診断受診者のCT抗体陽性率は男子22.8%、女子29.0%であった。無症状の女子のCT抗体陽性率の年次変動について検討を行った。

【対象、方法】1988年から1996年までに急性細菌性膀胱炎により泌尿器科を受診した19才から39才の女子を対象とした。CT抗体の検出は培養L2株の封入体を含む擦過物を用いるFA法による。

【結果、考察】CT抗体価陰性及び疑陽性の20倍以下の群は1988年から1996年まで58.4%(1989年)から80.8%(1994年)、確実な陽性群と考えられる80倍以上の群は12.4%(1994年)から22.6%(1989年)を占めていた。両群の増減の傾向と年次との一致はなく、抗体陽性率に年次による著名な変動はみられず、1988年から1996年までの全体の症例のCT抗体価分布は1280倍0.3%、640倍2.7%、320倍2.2%、160倍7.7%、80倍2.7%、40倍11.5%、20倍4.9%、10倍13.7%、10倍以下54.2%であった。抗体陽性群のうちの希望者に頸管からのCT検出を行った。頸管CT陽性率は1988年、1989年の両年では5/29 17.2%、1995年、1996年の両年では5/24 20.8%であった。この陽性率を40倍以上の抗体陽性者すべてに妥当すると仮定すると頸管CT陽性率は1988、1989年については全体の5.9%、1995、1996年については全体5.1%となり、妊婦のCT陽性率と一致していた。

急性細菌性膀胱炎の女子についてCT抗体陽性率は27.1%、頸管CT陽性率は5%程度で、妊婦のそれと一致し、1988年から1996年まで変動は小さかったと考えられる。

異なるクラミジア検出法を用いた場合のクラミジア治療効果判定時期についての検討
京都府立医科大学産婦人科学教室
大阪府済生会吹田病院*

○保田仁介、藤原葉一郎、東弥生、多田佳宏、山元貴雄、岩破一博、本庄英雄、岡田弘二*

【目的】Chlamydia trachomatis感染症はもっとも頻度の高い性感染症のひとつとして産婦人科でもその診断及び治療の機会が多い疾患である。子宮頸管炎や卵管炎を中心とした骨盤内感染症(PID)が多いが、それらの診断にあたって必要なクラミジアの検出には従来からの酵素抗体法、核酸検出法の他に非常に感度の高い核酸増幅法であるPCR法やLCR法なども使用されるようになってきている。これら感度の高い検出法も使用することが治療後のクラミジア消失の判定にどのように影響するかについて検討した。

【方法】検討対象はいずれの検出法でもクラミジア陽性であったクラミジア性子宮頸管炎38例、および子宮頸管からクラミジアの検出されたPID9例の計47例である。クラミジア検出法は核酸増幅法としてアンプリコアクラミジア(以下A法)、核酸検出法としてDNAプローブクラミジア(B法)、酵素抗体法としてイディアクラミジア(C法)を用い、検体の採取はいずれも子宮頸管スワブで行った。クラミジアの検出は治療開始前、治療終了時、治療終了後1週間目および2週間目に行い、クラミジア消失の有無の判定結果について検討した。

【結果】頸管炎、およびPID治療終了時の頸管クラミジア消失率はA法ではそれぞれ89.5%(34/38)、77.8%(7/9)、B法では100%(38/38)、88.9%(8/9)、C法では97.4%(37/38)、88.9%(8/9)であった。治療終了後1週間目の消失率はそれぞれA法では97.4%、88.9%であり、B法およびC法ではともにすべて消失、治療終了後2週間目では頸管炎ではすべての方法で消失したが、PIDの1例でA法がなお陽性であった。

【考察】クラミジア感染症の診断に必要なクラミジアの検出にはより感度と特異性の高い検査が用いられるようになってきたが、治療後のクラミジア消失の判定は薬剤投与終了時ではなく終了後2週間目か少なくとも1週間目を以降を目安として行うようにすべきであると考えられた。

アトピー性皮膚炎における povidone-iodine 外用療法：黄色ブドウ球菌に対する povidone-iodine の殺菌力

岡山大学医学部皮膚科

○秋山尚範、神崎寛子、荒田次郎

【目的】アトピー性皮膚炎(AD)に povidone-iodine(PVP-I)外用療法の case-control study を行い、黄色ブドウ球菌(黄ブ菌)の菌量と皮疹の重症度の変化及びADより分離した黄ブ菌に対するPVP-Iの殺菌力を検討した。
【方法】AD150例をPVP-I外用群と非外用群に交互に割り付けを行い、PVP-I外用群は10% PVP-Iを14日間観察部位に1日1回外用し2分後に石鹸で洗浄した。妊婦、授乳婦、生後6カ月までの乳児、明確な二次感染を認める症例、甲状腺機能異常症例、ヨード過敏症例、抗生剤の内服・外用症例は除外した。両群とも治療前及び14日間治療後に観察部位を黄ブ菌用スタンプ培地(10cm²)で菌量の測定を行ない、紅斑の程度、湿潤の有無、そう痒の程度を観察し比較検討した。ADより分離した黄ブ菌に対するPVP-Iの殺菌力をヒト血漿中に混合直後と混合24時間後に測定し、電顕的観察を行った。

【結果】PVP-I外用後5例が刺激症状のため本人が外用を中止した。黄ブ菌の菌量が>1000CFU/10cm²の場合、PVP-I外用後に菌量は1/10から1/100に減少し、紅斑と湿潤は減少した。黄ブ菌の菌量が<1000CFU/10cm²の場合、PVP-I外用後に菌量の減少は認められず、症状の軽快は見られなかった。10% PVP-Iはヒト血漿中に混合直後の黄ブ菌は殺菌したが、ヒト血漿中に混合24時間後の黄ブ菌は菌量を1/10から1/100に減少させたのみであった。この場合電顕で黄ブ菌をフィブリンが取り囲む像が得られた。

【結論】ADでは黄ブ菌の菌量が>1000CFU/10cm²の場合、PVP-I外用療法は試みる価値のある治療法と考えられる。一方、黄ブ菌の菌量が<1000CFU/10cm²の場合には用いるべきではない。そのためADに抗菌剤療法を行う場合には簡便なスタンプ法で菌量の測定を行う必要がある。血漿の存在下で黄ブ菌によるbio-filmが形成されればbiofilmは10% PVP-Iに抵抗性となる。

皮膚感染症から分離された黄色ブドウ球菌
の表皮剥脱毒素産生能とコアグラーゼ型
横浜労災病院小児科

○城 裕之

清水市立病院細菌検査室

大森明美、土屋 憲

【目的】皮膚感染症から分離された黄色ブドウ球菌の表皮剥脱毒素 (ET) 産生能とコアグラーゼ型との関連を検討した。さらに従来法でコアグラーゼ型別不能と判定された株に対して、最近提唱されている新しいコアグラーゼ型 (Ⅸ型、Ⅹ型) の型別を試みた。

【方法】平成7年10月から平成8年9月の1年間に清水市立病院で皮膚感染症 (皮膚科、小児科) から分離された黄色ブドウ球菌243株を対象とした。コアグラーゼ型別と表皮剥脱毒素産生能は検出キット (EXT-RPLA、デンカ生研) を用いた。コアグラーゼ型判定不能株は東京都立衛生研究所でさらにⅨ型、Ⅹ型の型別を行った。薬剤感受性はディスク法で行った。

【成績】1) ET-A産生株は49株 (20.2%)、ET-B産生株は32株 (13.2%) で、両毒素を産生する株はなかった。2) コアグラーゼ型は従来法で19株が型別不能とされた。これらの株はⅩ型18株、Ⅸ型1株に型別された。3) ET-A産生株のうちⅤ型は39株 (79.6%)、Ⅹ型は7株 (14.3%) であり、ET-B産生株は全てⅠ型であった。Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ型にET産生株はなかった。4) ET-A産生株はⅢ型2株を除いてMSSAで、ET-B産生株の65.6%がMRSAであった。5) SSSS4株は全てⅠ型、ET-B産生、MRSAであった。膿痂疹80株でのET産生株は70.2%で、Ⅰ型が25株 (ET-B産生23株、92%)、Ⅴ型が28株 (ET-A産生28株、100%)、Ⅱ型が14株 (ET産生株なし)、Ⅹ型は6株 (ET-A産生6株、100%)、Ⅲ型3株 (ET-A産生2株) であった。その他の皮膚感染症でのET産生株は10.7%であった。

【結論】コアグラーゼⅠ型とET-B産生、Ⅴ・Ⅹ型とET-A産生には強い関連が認められ、臨床的にSSSSや膿痂疹の主な原因菌になると考えられた。新しいコアグラーゼ型 (Ⅸ型、Ⅹ型) の導入により、型別不能株が減少し、皮膚感染症におけるコアグラーゼ型別の疫学的有用性がさらに向上することが期待される。

共同研究者：

清水市立病院皮膚科 杉浦 丹

東京都立衛生研究所 遠藤美代子、五十嵐英夫

精囊より分泌される精子運動抑制因子 (SPMI) の各種細菌に対する増殖抑制効果について

型マリアンナ医科大学泌尿器科¹⁾、同微生物²⁾

○西田茂史¹⁾、柳澤直子¹⁾、牧角和彦¹⁾

岩本晃明¹⁾、賀来満夫²⁾、嶋田甚五郎²⁾

【目的】精囊より分泌される主要蛋白である精子運動抑制因子 (seminal plasma sperm motility inhibitor; 以下SPMIと略す) は、Iwamotoらが1988年ヒト及びブタ精漿中からその分離に成功したものである。ヒト精囊においては、従来より各種微生物による感染症が少ないことが知られており、この点に注目し、今回ブタSPMIを用いて各種細菌に対する増殖抑制効果について検討したので報告する。

【材料および方法】ブタ精囊液よりイオン交換クロマトグラフィーを用いて分離精製したブタSPMIを使用した。使用菌種は、尿路感染症由来の尿より分離された黄色ブドウ球菌 (MSSA及びMRSA)、腸球菌、大腸菌を用いた。細菌に対する増殖抑制効果については、各濃度 (0, 100, 1000, 10000 μ g/ml) のSPMI添加トリプチケースソイ培地に各種細菌を接種し、経時的 (0, 2, 4, 6時間) に光電比色計にて吸光度 (OD) を観察した。また同時に寒天平板法により培地中の生菌数も併せて測定した。【結果】ODによる各種細菌の増殖抑制効果は、腸球菌では菌接種6時間後に無添加群では0.54OD値を示したのに対し、10,000 μ g/ml添加群では0.06OD値であり、顕著な増殖抑制効果が認められた。この時の生菌数は、菌接種6時間後に無添加では 9.70×10^9 CFU/mlを示したのに対し、10,000 μ g/ml添加群では 5.92×10^5 CFU/mlであった。他の菌種に対してもほぼ同様な結果が認められた。【結論】各種細菌に対してブタSPMIは濃度依存性に増殖抑制効果を示した。この事より、精囊において、各種微生物による感染症が少ないことにSPMIの細菌増殖抑制効果が、少なからず寄与していることが示唆された。

radial diffusion assay を用いた Human defensin の抗菌活性の検討

国立療養所長崎病院¹、長崎大学臨症検査医学²、同第二内科³、聖マリアンナ医大微生物⁴

○竹村 弘¹、田中宏典¹、中富昌夫¹、泉川公一²、山口敏行²、吉田良滋²、平潟洋一²、朝野和典³、古賀宏延³、賀来満夫⁴、河野 茂³

【目的】 defensin はヒトや動物の好中球の一次顆粒の主要構成成分で、抗菌活性をはじめとする様々な生理活性が報告されている。しかし、多数の菌株に対してその抗菌活性を比較した報告はあまりみられない。今回我々は、agar plate を用いた radial diffusion assay を使って、臨床分離株を含む44 株に対する Human defensin の抗菌活性について検討した。

【方法】 Human defensin (HNP-1、-2、-3) はヒトの末梢静脈血より2段階の RP-HPLC 及びゲル濾過を用いて精製した。臨床分離株を含む大腸菌 10株、MSSA 10株、MRSA 12株、緑膿菌 12株に対する defensin の抗菌活性を、radial diffusion assay を用いて検討した。さらに、各菌株について agar plate 上に阻止円を形成する最少の defensin の量を minimal inhibitory dose (MID) として defensin 感受性の評価を試みた。対照薬として penicillin G、gentamicin にも同様の検討を行った。

【結果及び考案】 HNP-1、-2、-3 の混合物である crude defensin の抗菌活性は大腸菌、MSSA、MRSA に対しては同程度であったが、緑膿菌に対しては明らかに弱かった。また、それぞれの菌に対して HNP-1 と HNP-2 は同程度の抗菌活性を示したが、HNP-3 は明らかに弱い活性を示した。radial diffusion assay によって求めた penicillin G、gentamicin の MID と、微量液体希釈法による MIC を比較したところ、MID による感受性評価は妥当であると考えられた。

S. pneumoniae に対する IgG サブクラス的作用について
ミドリ十字中央研究所

○中江 孝、上野明美、北村 妙、平尾 豊、中村憲史

【目的】 *S. pneumoniae* や *H. influenzae* の莢膜株を主たる起炎菌とする反復性急性中耳炎と下気道炎は乳幼児期の感染症であり、IgG2 の欠乏が原因と考えられ、ヒト免疫グロブリン製剤 (IVIG) による治療が試みられている。我々はこの疾患に対する IgG2 補充の意義を明らかにするために、*S. pneumoniae* に対する IgG サブクラスの特異性及び生体からの処理過程における IgG2 の作用につき検討した。

【材料と方法】 IVIG は Venoglobulin®-IH (ポリエチレングリコール処理製剤) を用いた。*S. pneumoniae* の臨床分離株 (18 株) に対する IVIG の IgG サブクラス抗体価は4種類の抗ヒト IgG サブクラス抗体を用いて ELISA で測定した。低 IgG2 画分 (IgG2d-Fr.) は Immuno Assist MG-PP を用いて IgG2 のサブクラス比率が IVIG の 20% から 2.8% に低下したものを調製した。オプソニン作用は IgG2 との反応性が dominant である *S. pneumoniae* No.23 株と正常ヒト末梢血から分離した好中球を種々の濃度の IVIG または IgG2d-Fr. とともに 37℃ で1時間培養した後に、好中球内の菌数を顕微鏡下で測定して検討した。

【結果】 サブクラス抗体価は IgG2 との反応性が最も高く、IgG1 抗体価が低い菌株ほど IgG2 への依存性が高かった。*S. pneumoniae* S-23 に対するオプソニン作用は、IgG 濃度が 0.5 mg/ml 以上で細胞内への貪食像が観察されたが、IVIG の代わりに同蛋白濃度の IgG2d-Fr. を加えた系ではこれより有意に貪食能が低下した。また対照として、*E. coli* No.5137 株に対する IVIG と IgG2d-Fr. の作用はほぼ同等であり、IgG2 に対する依存性が低いことが示唆された。さらに同菌株を IVIG または IgG2d-Fr. と1時間 37℃ で培養後にマウスに静脈内接種して、血中からの菌体の消失速度から、IgG2 の特異作用が認められた。

【考察】 サブクラス抗体価から莢膜の抗原性と菌の virulence との関係が示唆され、IgG2 が感染免疫において主たる担い手であると考えられる。また、*S. pneumoniae* に対して IgG2 がオプソニン作用や菌体の生体内からのクリアランスに重要な作用を持つことが明らかになった。

瀬田真直・殺菌時の活性酸素種産生能と MPO 活性
 六甲アイランド病院泌尿器科¹⁾、神戸大学泌尿器科²⁾、
 神戸大学保健学科³⁾、神戸大学中央検査部⁴⁾、
 塩野義製薬(株)創薬第一研究所⁵⁾
 ○大岡均至¹⁾、岡田 弘²⁾、中野雄造²⁾、樋口彰宏²⁾
 松井 隆²⁾、荒川創一²⁾、片岡陳正³⁾、木下承晴⁴⁾、
 宗原 正⁵⁾、吉田 勇⁵⁾、守殿貞人⁵⁾

【目的】顆粒球による細菌貪食・殺菌時の活性酸素種産生能とミエロペルオキシダーゼ(MPO)活性の変化を調べる。【対象と方法】多核白血球(PMN)は、同一健康ドナーの末梢血より分離し、 $5 \times 10^6/\text{ml}$ に調整後、ただちに殺菌能測定に供した。供試菌として *P. aeruginosa* ATCC27853、尿路感染症患者尿から分離された *P. aeruginosa* 1株、MRSA 1株を用いた。これらを非熱化ドナー血清添加 HBSS で $6.6 \times 10^6/\text{ml}$ に調整し、顆粒球と細菌数の比が50:1になるように混和した。活性酸素種産生能は、OCT 産生はルミノール依存化学発光法(LDCL)により、 O_2^- 産生はMCLA依存化学発光法(MDCL)により、60分間の最大発光強度をBioOrbit 1251 Luminometerで測定することにより求めた。MPO活性は、抽出MPOによるMPO- H_2O_2 -Br系からの化学発光を測定し、既知のMPO濃度を用いた検算線より求めた。【結果】MPO活性は、顆粒球が細菌を貪食・殺菌時に活性酸素種を産生するにつれて低下し、その程度は菌種間および同一菌種においても菌株間に差を認めた。 O_2^- 、OCTの産生量が多い程、MPO活性が大きく低下する傾向が認められた。

【考察】MPO活性低下の程度の差が、顆粒球の細菌貪食・殺菌効果に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

抗菌薬の白血球機能に及ぼす影響-in vivoでの検討-
 九州大学医学部泌尿器科

○高橋康一、松本哲朗、佐久本 操、作間俊治、
 持田 蔵、田中正利、熊澤浄一

目的)我々はある種のニューキノロン薬が白血球機能に影響することを、主にin vitroの実験系で示してきた。今回はニューキノロン薬を人に投与した後、白血球機能が実際に影響されるか検討した。

対象と方法)健康成人8人にofloxacin(3人)またはlomefloxacin(5人)を一日400mg分2で3日間内服させ、投与前、投与一日後、投与終了後(4日目)に白血球機能を検討した。白血球機能は、ヘパリン採血後、全血をPMAで刺激し、MCLAによる化学発光

(chemiluminescence反応)をluminometerで測定し、全白血球数で除してもとめた。なおin vitroの実験では白血球のCL反応は $25 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で、ofloxacinでは98.9%のenhance効果があり、一方lomefloxacinは39.3%の抑制効果を示している。

結果)ofloxacinでは、投与一日後には低下傾向を示したが、内服終了後には全例でCL反応が上昇した。そのenhance効果は約5%であった。lomefloxacinでは投与一日目は26.9%上昇したが、終了後はほぼ投与前値に復した。

結論)三日間の投与で、in vivoでもofloxacinは白血球機能の増強効果が示唆された。lomefloxacinでは明らかな抑制効果は確認されなかった。

マクロライド系抗菌薬が好中球細胞内カルシウム濃度および細胞機能に与える影響

東京慈恵会医科大学内科学講座2

○進藤奈邦子、猿田克年、中澤 靖、坂本光男、前澤浩美、吉川晃司、吉田正樹、柴 孝也、酒井 紀

【目的】マクロライド系抗菌薬のうちエリスロマイシン (EM) とクラリスロマイシン (CAM) が *in vitro* において臨床的に到達可能な濃度でヒト好中球細胞内カルシウム濃度と細胞機能に与える影響を検討する。

【対象ならびに方法】健康人より分離した好中球に EM および CAM を作用させ、非刺激状態における細胞内カルシウム濃度基礎値 ($[Ca^{2+}]_i$) を Fura-2 AM を用いて測定した。また、これらの薬剤で前処置した好中球の細胞機能のうち、*E. coli* 標準株に対する貪食能と、f-MLP に対する遊走能を測定した。

【結果】EM と CAM は細胞外液濃度 0.04 mg/ml ~ 0.2 mg/ml で $[Ca^{2+}]_i$ を低下させ、貪食能と遊走能を亢進させた。比較的高濃度 (1 mg/ml) では、EM と CAM で $[Ca^{2+}]_i$ の低下は軽度抑えられ、CAM では貪食能、遊走能は不変あるいは減少する傾向があるが、EM では貪食能、遊走能は増加し続けており、両者の間に細胞機能に対する薬理作用の相異がみられた。

【考案】CAM では $[Ca^{2+}]_i$ の低下に伴い貪食能と遊走能の亢進が見られることから、CAM が好中球のカルシウムポンプを調節して $[Ca^{2+}]_i$ を低下させるだけでなく、細胞内貯蔵カルシウムにも何らかの影響を与えている可能性が示唆された。また、比較的高濃度の EM では $[Ca^{2+}]_i$ を介さない他の薬理作用によって貪食能や遊走能が亢進している可能性が考えられた。本研究によりマクロライド系抗菌薬が、宿主の好中球に直接作用して細胞内カルシウム濃度の基礎値を下げ、細胞機能を亢進させることによって宿主の生体防御機構を賦活化している可能性が示された。

Azithromycin の内因性 glucocorticoid level に及ぼす影響

東京慈恵会医科大学薬理学講座第1

○堀 誠治、佐藤淳子、川村将弘

【目的】近年、慢性下気道炎症性疾患の症状改善に macrolide (ML) 薬が有効であることはよく知られている。しかし、その機序はいまだ不明の点が多い。我々は、14 員環 ML 薬が中枢性に内因性 glucocorticoid (GC) を上昇させることを示し、この GC 上昇が本系薬の有効性の一つの機序となる可能性を示した。また、16 員環 ML 薬である josamycin はその作用の弱い事を報告してきた。今回、我々は、GC 上昇作用における ML 薬の構造活性相関を知るべく、15 員環 ML 薬である azithromycin (AZM) の血清 GC に及ぼす影響をマウスを用いて検討した。

【材料及び方法】AZM は Pfizer 株式会社より供与された。薬物は dimethyl sulfoxide に溶解し、マウス (ddY, 6w, male) 腹腔内に投与し、一定時間後に断頭により採血、血清を分離した。血清 GC は、硫酸蛍光法により測定した。

【結果及び考察】AZM 投与 (25-100 mg/kg) により、投与量依存的に血清 GC の上昇が認められた。投与量 100 mg/kg における GC 上昇作用は、AZM では先に報告した erythromycin, clarithromycin, roxithromycin より弱かった。また、この上昇は dexamethasone (10 mg/kg) の前処理により完全に抑制された。

以上の成績より、AZM は中枢性に内因性 GC を上昇させることが示唆された。また、15 員環 ML 薬の GC 上昇作用は 14 員環 ML 薬と 16 員環 ML 薬との中間に位置する可能性が示された。

β-ラクタム薬および他系薬の内因性グルコ
コルチコイドレベルに及ぼす影響

東京慈恵会医科大学薬理学講座第1
○堀 誠治, 佐藤淳子, 川村将弘

【目的】近年、マクロライド (ML) 薬が、慢性下
気道炎症性疾患の症状改善に有効であることはよく
知られている。我々は、ML 薬、特に14員環を有す
るものが内因性グルココルチコイド (GC) 上昇させ
ることを示し、この GC 上昇が ML 薬の有効性の一
つの機序となる可能性を示してきた。そこで、他系
の抗菌薬が同様の作用を有するか否かに興味を持た
れる。そこで、我々は、β-ラクタム薬を中心に内
因性 GC に及ぼす影響を検討した。

【材料及び方法】 抗菌薬は全て Sigma Chemical
Co.より購入した。薬物は生理食塩水に溶解、マウス
(ddY, 6w, 雄) 腹腔内に投与した (100mg/kg)。
1時間後に断頭により採血、血清を分離した。血清
GC は、硫酸蛍光法により測定した。

【結果及び考察】 ペニシリンG、アンピシリン、
セファゾリン、セフメタゾール、セファロリジン、
セファレキシン、ゲンタマイシンおよびバンコマイ
シンは、いずれも血清 GC レベルを上昇させなかつ
た。以上の成績より、内因性 GC 上昇作用は、抗菌
薬の中でも、主として ML 薬の有する作用である可
能性が示唆された。

外科術後感染症発症阻止効果に関する Sulbactam/
Ampicillinと Cefotiamの比較試験

和歌山県立医科大学第2外科、
関西医科大学数学教室*

○坂口 聡, 谷村 弘, 馬庭芳朗, 瀧藤克也,
有田清三郎*

Sulbactam/Ampicillin (SBT/ABPC) の感染発症阻止効果
及び安全性について Cefotiam (CTM) と比較検討するこ
とで、術後感染症における抗菌薬の予防投与に関する
われわれの臨床評価法を検証した。

1995年8月から1996年12月までに和歌山県立医科大学
第2外科と関連13施設の胃癌症例で、胃全摘81例と胃
部分切除97例について、電話法による無作為群別割付
けを行った。観察項目は、術中出血量、手術時間、合
併切除臓器の術中情報と、術後の臨床所見、血液検査
とした。参考として、術中の洗浄液と術後咽頭、ドレ
ーン排液の細菌培養を施行した。術後感染症の発症の
有無と、ファジィ理論を用いた術後感染症早期診断支
援システムにて、使用した抗菌薬の評価を行った。

(結果) 胃部分切除では、CTMで感染発症が11.6%、
感染疑いが13.9%であり、SBT/ABPCで感染発症が
6.3%、感染疑いが8.3%であった。胃全摘では、CTM
で感染発症が36.6%、感染疑いが26.9%であり、SBT/
ABPCで感染発症が15%、感染疑いが22.5%であった。
感染症の種類としては、CTMで腹腔内感染の発生が有
意に高かった ($p < 0.05$)。腹腔内感染の起炎菌は、CTM
でカンジダが半数を占め、2剤ともにMRSA腸炎を認
めた。術後4日目における術後感染発症のファジィ診
断も同時に施行した。

SIRSの発症からみた膵頭十二指腸切除後の予防的抗菌薬投与法の検討

東京慈恵会医科大学外科

○畝村泰樹, 田辺義明, 藤田哲二, 山崎洋次,
青木照明

【目的】膵頭十二指腸切除(以下PD)の手術侵襲は外科手術の中でも特に大きく, また多数の消化管再建を要するため種々の合併症を来すことが多い。術後感染予防のためセフェム系第1または第2世代が投与されるが, 投与終了や変更の時期について一定の見解はない。そこで術後感染の発症状況と術後第3-5病日のSIRSの有無との関連を検討し, 予防的投与法を再考した。【方法】1992年から1996年までの5年間に当科で施行したPD38例を対象とした。脈拍数と呼吸数とは相関性が強いと考えられるため, SIRSの判定においては体温 38.0°C 以上, 白血球数 $12,000/\text{mm}^3$ 以上, 脈拍 $90/\text{分}$ 以上のうち2項目を満たすものとした。【結果】16症例(42%)のべ29(カテーテル敗血症8, 創感染7, 胆道感染6, 腹腔内膿瘍3, 肺炎2, ドレーン感染2, 尿路感染1)の感染性合併症を来した。このうちカテーテル敗血症は術後19-24病日, ドレーン感染は14-16病日, 胆道感染は7-20病日に発症しており, 予防的抗菌薬投与の目的からは逸脱した感染症と考えられた。即ち予防的抗菌薬投与が無効であった症例は腹腔内膿瘍, 術後1週以内の創感染, 肺炎の計6症例(16%)であった。同定された起炎菌のほとんどが投与されていた薬剤に耐性を有していた。一方SIRSの発症は, 第3病日: 32%, 第4: 18%, 第5: 23%であり, 感染性合併症に対する各病日のnegative predictive valueは0.88, 0.91, 0.96, accuracyは0.68, 0.86, 0.89であった。【結論】第5病日にSIRSを呈していなければ早期感染性合併症は予防できたと考えられた。予防的投与はこの時点で終了し, SIRSを呈していれば起炎菌の検出に努め, 薬剤を変更することが妥当と考えられる。

大腸手術後感染の検討—特に術前抗菌薬投与について

日本大学第三外科

○園松正彦, 佐藤毅, 古畑久, 加藤高明, 中川良英
加沢玉恵, 岩井重富

消化器外科の中でも, 下部消化管の手術はその細菌数を反映して術後感染が高率である。教室では経口抗菌薬による術前処置について検討し, 特にmetronidazole(MTN)とquinolonesとの併用で著明な菌数の減少がみられた。この結果に従い, MTNとofloxacin(OF LX)による術前処置を施行し, 術後感染を5.3%にまで減少させることができた。しかしその後methicillin resistant Staphylococcus aureus(MRSA)の流行による術後腸炎が多発した1990年に再び術後感染は増加した。術前抗菌薬による腸内細菌の抑制が, MRSA腸炎の発症を助長している可能性も否定できないため, 術前抗菌薬を中止して現在に至っている。今回, MRSA流行以後の教室における大腸術後感染について検討した。

対象)駿河台日本大学病院で行われた, 結腸, 直腸手術について検討した。待機手術で腹腔内操作のみで行われた切除症例を対象とした。

結果)1990年から1992年までの107例のうち術前抗菌薬による腸管処置施行は81例で, 26例は洗腸などの物理的処置のみが行われていた。抗菌薬投与症例の23例(28.4%)に術後感染があり, そのうち腸炎が8例(9.9%), 創感染が5例(6.2%)であった。術前抗菌薬が投与されなかった26例では術後感染を1例も認めなかった。1997の56例は全例, 抗菌薬は投与されていなかった。これらの術後感染は18例(32.1%)で, 腸炎は4例(7.1%), 創感染は3例(5.4%)であった。

まとめ)1990年から1992年までの症例では抗菌薬投与群の術後感染が非常に高く, MRSAの出現により術前抗菌薬の投与は術後感染に不利と思われたが, 1997年の抗菌薬を投与していない症例の術後感染率は腸炎も含めて投与中の出現率とほぼ等しかった。MRSAの関与する術後感染は院内の感染状況なども結果に影響を与える。術前抗菌薬の是非については今後更にprospectiveな方法を含めた検討が必要と考える。

消化器術後感染症に対する抗菌剤使用の腸管内常在細菌叢への影響

広島大学第一外科、同総合診療部¹、同細菌検査²
○竹末芳生、横山隆¹、板羽秀之²、松浦雄一郎

【目的】抗菌薬の腸内常在細菌叢への影響は、腸炎だけでなく耐性菌の発生に関しても重要である。とくに消化器術後では腸管麻痺、胃切除による低酸などその影響を増幅する因子が加わり、健康人と異なる事が予想される。そこで今回術後感染に対する治療抗菌剤による腸内細菌叢の変化を検討した。【方法】胃痛、幽門側胃切除例において、予防抗菌剤として第一世代セフェムcefazolinを術後3日目まで投与後、感染徴候を認めた症例に対し治療抗菌剤として尿中排泄型のpanipenem/betamipron (PAPM/BP)、と胆汁排泄型のsulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ)を各5例3～4日間使用し、投与前、後3-4日目、7日目に糞便を採取、培養後1g当たりの生菌数を算出した。【結果】嫌気性菌数においてPAPM/BP群は全例ほとんど変化を認めなかったが、SBT/CPZでは著明な減少を5例中3例にきたし、 $10^{10.2 \pm 0.4}/g$ から $10^{7.2 \pm 0.3}/g$ と減少した($p < 0.05$)。好気性菌においては両群とも細菌数では変化を認めなかったが、菌交代現象がSBT/CPZでは全例、PAPM/BPでは2例観察され、腸球菌、カンジダが主要菌種となった。大腸菌などのEnterobacteriaceaeはSBT/CPZにより有意の減少を示したが、PAPM/BPでは差を認めなかった。腸球菌ではSBT/CPZ群で*E. faecium*が $10^{3.32 \pm 0.1}/g$ から $10^{0.0 \pm 0.1}/g$ へと増加したが($p < 0.05$)、*E. faecalis*は減少した。PAPM/BPでは*E. faecium*は1例のみに検出された。カンジダにおいては、*C. albicans*は前と比較し、SBT/CPZ群で3-4日目から、PAPM/BP群で7日目から増加したが、主な変化は*C. glabrata*で観察され、SBT/CPZ投与後に*C. albicans*と比較し高値となった($p < 0.05$)。MRSA、*Clostridium difficile*は検出されなかった。【結語】胆汁排泄型抗菌剤は腸内細菌叢へ影響を与えたが、尿中排泄型であるカルバペネムは軽微であった。菌交代現象は、術後感染で主に分離される*E. faecalis*、*C. albicans*ではなく、*E. faecium*、*C. glabrata*で観察され、カテーテル敗血症やバンコマイシン耐性腸球菌との関連に注意を要すると考えた。

宿主状態・手術侵襲と術後感染予防薬の検討

東邦大学外科学第三講座

○草畑信也、炭山嘉伸、川井邦彦、有馬陽一、
青柳 健、吉田祐一

【目的】術後感染予防薬は宿主の状態、手術侵襲を考慮して選択するとされ、高齢者やcompromised host、大侵襲手術の周術期には広い抗菌力を持つ薬剤が選ばれていた。しかし、この際、MRSAや*P. aeruginosa*などの耐性菌が問題となるため、術後感染予防の抗菌薬を再検討した。【対象・方法】1987年9月から1996年2月までの教室消化器手術3036例を対象として、75才以上の289例を高齢者、肝硬変・糖尿病合併の148例をCH、また、一期的に右開胸開腹による胸部食道全摘を行った胸部食道癌57例について、術中汚染菌または切除断端の菌、術後感染予防の抗菌薬、術後感染発症率を比較検討した。【結果】抗菌薬を変更した1990年3月で前期、後期に分けて比較すると、術後感染発症率は13.6%(108/833)：11.6%(256/2203)(前期：後期、以下同)、MRSA感染発症率は4.1%(34/833)：0.4%(8/2203)で術後感染発症率に差はなかったが、MRSA感染発症率は後期で有意に減少していた。このうち、高齢症例では術後感染発症率は22.9%(22/96)：16.7%(31/193)とやや減少し、MRSA感染発症率は9.3%(9/96)：1.6%(3/193)と有意に減少した。CH症例の術後感染発症率は17.5%(7/40)：13.9%(15/108)、MRSA感染発症率は12.5%(5/40)：0.9%(1/108)と有意に低下した。胃癌・大腸癌症例で術中汚染菌を、若年患者と高齢者、CHと比較すると、胃癌では菌陽性率はそれぞれ11.3%、14.5%、8.9%で差はなく、検出菌種はα-Hemolytic streptococcus、Candidaがほとんどであった。大腸癌では、菌陽性率はそれぞれ87.2%、97.4%、88.7%と差はなく、検出菌種では、*E. coli*、*Enterobacter*、*Acinetobacter*、*Bacteroides*などで症例群で差はなかった。次に食道癌症例を前期・後期で術後感染発症率、MRSA感染発症率を比較すると95.7%(22/23)：23.5%(8/34)、26.1%(6/23)：2.9%(1/34)でMRSA感染は後期で有意に減少していた。【結論】高齢者、CHでも術野の汚染菌には大差はなく、また侵襲が大きな食道癌手術であっても術前に感染を伴わない限り、CEZやCTMで十分な感染予防効果が得られた。

食道癌術後感染例の検討

日本大学医学部第三外科¹⁾ 同研究所教授²⁾

○佐藤 毅、国松正彦、吉畑 久、加澤玉恵、朱傑、牛尾真由美、伊藤裕美子、潮 るな、佐藤博信、村山 公、岩井重富¹⁾、田中 隆²⁾

〔目的〕 食道癌術後合併症の一つである術後感染を検討した。〔方法〕 1994年から95年までの駿河台日本大学病院における食道癌50例につき検討した。〔結果〕 内視鏡的粘膜切除術症例、切除不能で化学療法や放射線治療例を除外した手術症例（開胸開腹食道切除、食道拔き術）は23例で術後感染は9例に認められた。内訳は頸部吻合部縫合不全に起因する創感染(WI)が6件、起因しない創感染1件、肺炎(RTI)6件、菌血症1件であった。感染巣よりWIはCNSやMRSA, Neisseria sp, やグラム陰性桿菌(GNR), RTIではMRSA, Neisseria sp, P aeruginosa, α -Streptococcus, 血液からはCandida sp.が検出された。感染予防抗薬は手術が3区域にまたがっていること、肺のダメージが大きいことより術後1週間を目安に使用し, PIPC, ついでIPMを選択している。術後感染率は9/23(39%)にみられた。〔考察〕 食道癌は診断時切除不能例が多く、早期例では内視鏡的粘膜切除が増加している。切除例では3領域にわたり侵襲がおよび、さらに術後管理の向上に伴い廓清の範囲も拡大されているため術後合併症の発症は多い。今回の検討では術後感染のうち、最も多いものはRTIでついで頸部吻合部の縫合不全に起因する創感染であった。検出菌ではWIやRTIではグラム陽性球(GPC)が多かったが、同時に培養された胃ゾンデからはGPCとほぼ同数のGNRが検出され、上胃管のPHの低下によるものと思われた。〔結語〕 1. 感染巣よりの検出菌ではGPCが多かった。2. 術後感染はRTIが最も多く、ついで縫合不全に起因する創感染の順であった。

歯性感染症の起炎菌の最近の動向

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

○佐々木次郎¹⁾、金子明寛¹⁾、山崎純子¹⁾、小林寅吉²⁾

歯性感染症の起炎菌の動向をみるために、1993年3月から1995年12月の間に施行された新薬臨床試験において、全国のも施設から三菱化学ビーシーエルに検体が送られて同定された菌の内訳を集計した。臨床検査がなされたのは、経口剤が6剤と注射剤が3剤であり、経口剤が軽症から中等症の主として外来症例453例であるのに対して、注射剤は入院を要する重症症例191症例であった。

【結果】 経口剤6剤の臨床試験453症例から集中同定された菌株は878株であり、注射剤3剤の191症例からは267株で、それぞれの内訳は次の通りであった。

| | 経口剤 | 注射剤 | 合計 |
|---------|------------|------------|------------|
| 好気性G(+) | 482株 54.9% | 133株 49.8% | 615株 53.7% |
| 好気性G(-) | 73株 8.3% | 21株 7.9% | 94株 8.2% |
| 嫌気性G(+) | 146株 16.6% | 48株 18.0% | 194株 17.0% |
| 嫌気性G(-) | 177株 20.2% | 65株 24.3% | 242株 21.1% |

【考察】 経口剤を用いる程度の細菌感染症と、注射剤を用い入院を要するような症例とで、基本的には起炎菌に差はない。これが何を意味するのかを推測するには困難を伴うが、軽症例が重症になる理由としては、次の3項が考えられる。

1. 初期治療での抗薬の選択の誤り
2. 歯性感染症の原因療法の不徹底
3. Hostの条件

さらに、今回はMBCの測定を行っていないが、トレラント株の増加も考えられる。前回報告した歯性感染症の起炎菌の集中同定の結果は、1989年9月から1991年6月のもの1024株であった。この時には、経口剤と注射剤を区別していないが、総検出菌の内訳をみた限りにおいては、今回の集計と起炎菌の検出率に差はなかった。

口腔癌表層の細菌叢と頸部リンパ節への
Bacterial translocation

東海大学医学部口腔外科

鶴見大歯学部細菌¹⁾ 解剖²⁾

○坂本春生、太田嘉英、唐木田一成、青木隆幸、
渡辺大介、前田伸子¹⁾、田中倫²⁾、佐々木次郎
藤田浩¹⁾

【目的】口腔粘膜癌による粘膜の破綻は新たな細菌叢を形成し、口腔常在菌以外の細菌の定着を可能にし、頸部リンパ節へのbacterial translocationを可能にしている(第43回治療東日本支部総会)。今回は、口腔粘膜癌の表層における細菌叢と頸部リンパ節へのbacterial translocationについて細菌学のおよび特に電顕的に観察したので報告する。

【方法】東海大学口腔外科にて治療した27例を対象とした。口腔癌手術時に腫瘍本体および対側の健常部から組織を採取し、細菌学的に検討した。このうちの5例について走査電顕にて検討した。頸部リンパ節は前回の本学会にて報告したように、頸部郭清時に採取したリンパ節を用いた。

【結果】腫瘍表面には球菌、桿菌がcolonizeしているのが観察され、その数、付着、定着様式とも明らかに健常側と異なっていた。頸部リンパ節へのbacterial translocationは27例中21例(77.8%)に見られ、腫瘍本体とリンパ節の細菌は一致していた。

【考察】腫瘍表面の細菌の付着様式は明らかにコントロールの健常粘膜部と異なっている。これらは口腔に新たなシステムを形成している可能性があり、術前からの監視培養(Surveillance oral culture)の上での、抗菌薬の選択が必要である。

口腔レンサ球菌の各種抗菌薬感受性とマクロライド耐性機構

徳島大学歯学部口腔細菌学講座

○小野恒子、弘田克彦、根本謙、三宅洋一郎

【目的】近年、PRSPをはじめとして各種レンサ球菌の薬剤耐性菌の増加が顕著である。口腔レンサ球菌については肺炎球菌と *S. mitis* *S. oralis* との間で *pbp* 遺伝子の相同的組換えによる耐性の伝達が知られており、他の薬剤耐性遺伝子についてもこれらの菌種間で耐性の伝達が容易に行われる可能性がある。一方高齢者における嚥下性肺炎や抜歯等歯科治療後の敗血症には口腔レンサ球菌が関与していることが知られており、これらの菌種における耐性菌の増加が憂慮される。これまでに我々はこれらの菌種においてマクロライド耐性菌が高頻度に分離されることを明らかにしてきたが、今回さらに口腔および鼻咽腔由来株について各種抗菌剤感受性について検討するとともにマクロライド耐性遺伝子の検出を試みた。

【材料と方法】菌株として *S. oralis* 54株、*S. mitis* 29株、*S. sanguis* 1株を使用した。抗菌剤としてはマクロライド系を中心とした経口抗菌剤を使用した。マクロライド耐性菌についてはPCR法によって *erm*、*msr* 遺伝子の検出を行った。

【結果と考察】今回使用したβ-ラクタム系のCCL, CDTR, CFDNおよびPCGはすべて1μg/ml以下のMICを示し耐性菌は検出されなかった。マクロライド系薬に対してはEMのMICは512μg/ml以上の高度耐性株が5株さらにMICが8~32μg/mlの中等度耐性株が7株検出された。高度耐性菌の5株はCAM, AZM, RXMにも高度耐性を示したが16員環RKMには比較的感受性を示した。これらの菌株はPCRにより *erm* 遺伝子と推察される増幅産物が得られた。また中等度耐性菌7株中の2株は *msr* 遺伝子と推測されるPCR産物が検出され薬剤排出ポンプによる耐性である可能性がある。現在この菌株について *msr* による耐性の発現に必要なと考えられている *smp*、*stp* 遺伝子について検討中である。(会員外共同研究者：李悦子)

ヒト口腔由来のOFLX耐性*Prevotella* sp.の薬剤感受性

大阪歯科大学口腔外科学第1講座¹⁾

大阪歯科大学細菌学講座²⁾

○栗林信仁¹⁾、尾上孝利²⁾、松本和浩¹⁾、木下 智¹⁾、
村田雄一¹⁾、佐川寛典²⁾、白数力也¹⁾

【目的】ヒト口腔常在菌叢からニューキノロン薬耐性株が分離される。これら耐性菌のうちOFLX耐性*Prevotella* sp.の薬剤感受性と増殖量について検討した。

【方法】供試菌株は閉鎖性膿瘍内容液から2 μ g/ml OFLX添加CDC処方嫌気性菌用血液寒天培地で分離した*Prevotella* sp. 6株(親株)と10~50 μ g/ml OFLX添加培地でこれら6株から選択したOFLX高度耐性株75株のうち19株を使用した。MICはヘミンとビタミンK₁添加TSBを用いて微量液体希釈法で、増殖量は分光光度法(波長550nmの吸光度)で測定した。

【結果と考察】親株に対するOFLXのMICは2~8 μ g/mlであった。これら菌株をOFLXで処理すると8~64 μ g/ml(4~8倍)の高度耐性株が得られた。同耐性株に対するLVFX、SPFX、LFLX、TFLXおよびNFLXのMICもOFLXと同様に親株の値の4~8倍に増加していた。 β -ラクタム薬(ABPC、CEZ、CMZ、LMOX、IPM)に対するOFLX耐性株の感受性はほとんどの場合高かったが、IPMに対する感受性が低い菌株もみられた。 β -ラクタマーゼ活性は親株と高度耐性株いずれの菌株でも検出されなかった。

高度耐性株の増殖量は菌株によって異なるが、薬剤無添加の場合7~14時間後に対数増殖期に入り、22~28時間後に定常期に達した。1/2~1/8MICのOFLXを添加すると1/2MIC添加では多くの菌株で強い発育抑制がみられ、1/4~1/8MIC添加では発育の遅れがみられた。

以上のことから口腔常在菌叢においても高度耐性株が容易に選択され、他のニューキノロン薬に交差耐性を示すと考えられる。OFLX高度耐性*Prevotella* sp.の増殖スピードは通性嫌気性の*Streptococcus mutans*などより遅く、OFLXを添加するとさらに遅くなるものと推定される。今後本菌の耐性機構と増殖におよぼす因子などについて検討したい。

ELISA法による血中アスペルギルスガラクトマンナン抗原検出法の有用性について

川崎医科大学呼吸器内科¹⁾、中央検査部²⁾

○吉田耕一郎¹⁾、渡邊信介¹⁾、見手倉久治²⁾、
橋口浩二¹⁾、中島正光¹⁾、二木芳人¹⁾、
松島敏春¹⁾

(目的)従来のラテックス凝集反応法を用いたアスペルギルス属の血中ガラクトマンナン抗原(以下GM抗原)検出キットPastorex[®] *Aspergillus* (PALA)に比し、ELISA法の応用によって15倍以上検出感度が高められたと考えられるPLATELIA[®] *Aspergillus* (PAEL, Diagnostic Pasteur社, 仏)について、臨床材料を用いてその有用性を検討した。

(方法)教室保存の各種アスペルギルス症患者血清を用い、PALAとPAELおよび(1→3) β -D glucan値を同時に測定し、GM抗原検出感度とその臨床的有用性をretrospectiveに検討した。

(成績)PAELは、侵襲型アスペルギルス感染症の同一症例から連続的に得られた血清検体で、より早期のPALAが陰性の場合でも陽性結果が得られ、また、半定量的な測定結果により、病勢の評価も可能ではないかと考えられた。(1→3) β -D glucan値との相関性も比較的良好であった。

(考察)PALAの血中GM抗原検出限界の15 ng/mlを約15倍上まわる1 ng/mlを検出下限とするPAELは、早期診断上有用と考えられ、また、ELISA法の導入により大量検体を同時に処理できる点から、疾病のスクリーニングにも適していると考えられた。さらに従来はGM抗原の血中からの検出が出来なかったアスペルギローマなどの慢性感染例でも現在検討中である。

深在性真菌症のPCR診断の臨床的応用

和歌山県立医科大学第2外科

○紺谷忠司、谷村 弘、角田卓也、山上裕機、
岩橋 誠、木下博之、坂口 聡、石本喜和男

深在性真菌症の診断は、検体の直接培養のほか、カンジテック、 β -D-グルカンなどの間接的な診断法があるが、精度や所要時間の点でまだ臨床的意義が小さい。そこで、臨床で最も頻度の多い*Candida sp.*に対するPCR法を用いた分子生物学的診断法を開発し、臨床応用を試みた。

〔結果〕1) 臨床分離真菌とヒト血液の混合物より抽出したDNAをtemplateとし、PCR法の至適条件を決定した。primerは*Candida sp.*のssu rRNAのV4regionにある特異性が高い部位を用いた。Deventerらの方法(1995年)に比べても、われわれの開発した簡易法は90分と短時間でDNAが抽出でき、感度も向上し、真菌以外の臨床的に重要な細菌からはPCR産物は得られないことより、真菌特異的であることを確認した。2) 得られたPCR産物を用いてRFLPsを応用し、*Candida sp.*5種類を同定した結果、*C.albicans*はTaq I またはSty I、*C.tropicalis*はSty I とNhe I、*C.parapsilosis*はSty I とNhc I とBgl I、*C.glabrata*はBgl I とSma I、*C.krusei*はNhe I とXma IIIの制限酵素で特異的にcuttingされることが判明した。3) 28例の臨床検体に対しこのPCRを行った結果、14例が陽性でありカンジテック4倍以下のもの、 β -D-グルカン20pg/ml以下のものからも*C.albicans*感染を指摘できた。しかも現在のところfalse negativeはない。したがって従来の診断法より所要時間と精度の面で診断能力が優れており臨床的有用性が高いと思われる。

肺クリプトコックス症に対する抗真菌剤の併用療法の検討

長崎大学医学部第二内科

○山本善裕、掛屋 弘、平瀧洋一、
前崎繁文、朝野和典、古賀宏延、
田代隆良、河野 茂

(目的) クリプトコックス症に対する治療法としてamphotericin B(AMPH)とflucytosine (5-FC)の併用療法はよく知られている。今回我々は、肺クリプトコックス症に対するfluconazole (FLCZ)と5-FC、miconazole (MCZ)と5-FCの併用療法の有効性について、基礎的ならびに臨床的に検討を行ったので報告する。

(方法) 基礎的検討では、長崎大学第二内科および関連施設において分離された*C.neoformans* 臨床分離株25株を用いて微量液体希釈法による各種抗真菌剤の薬剤感受性ならびにFIC indexによる併用効果を測定した。臨床的検討では、肺クリプトコックス症の患者8例にFLCZと5-FCの併用療法を、6例にMCZと5-FCの併用療法を行った。

(結果) 基礎的検討では、AMPH+5-FC群が最も優れた相乗効果を示し、FLCZ+5-FC群、ITCZ+5-FC群も次いで優れた相乗効果を示した。臨床的検討では、FLCZ+5-FC群は、8例中7例において有効な臨床効果を示した。MCZ+5-FC群は、6例中3例は副作用のため中止となり、残り3例中2例は有効な臨床効果を示した。

(結論) 肺クリプトコックス症の治療法としてFLCZと5-FCの併用療法は有効であると思われる。

ステロイド剤投与中の強皮症に縦隔炎・膿胸をきたした1例

順天堂大学医学部総合診療科

○津田恭彦、関谷 栄、磯沼 弘、江部 司、松本孝夫、渡辺一功

ステロイド剤を経口投与中の強皮症に縦隔炎・膿胸をきたし、軽快した症例を経験したので報告する。

〔症例〕41歳の女性、主婦。

〔主訴〕発熱、前胸部から心窩部にかけての圧痛。

〔現病歴〕強皮症にて昭和61年より当院に受診中で、デキサメタゾン1.5mgを服用中。逆流性食道炎による食道狭窄に対して、食道ブジーを平成8年12月19日施行した。その後より発熱、前胸部痛が出現したため、12月22日に当院を受診。38.9℃の発熱を認め、胸部X線上縦隔炎の疑いで緊急入院となる。

〔入院時現症〕貧血、黄疸なく、胸部にラ音聴取せず、心音は異常なし。心窩部に圧痛を認める。下腿に浮腫なし。

〔検査所見〕白血球数11,800/ μ l、(核左方移動あり。)CRP36.6mg/dl、肝機能検査異常なし。

〔胸部X線〕左下肺野の透過性の低下。

〔胸部CT〕縦隔にair densityあり、右下肺野にlow densityを認める。

〔入院後経過〕入院後胸部CTで縦隔炎・膿胸が疑われ、12月25日に胸腔ドレーン挿入し、胸水の分離培養より、*C. albicans*、

α -streptococci, *Peptostreptococcus spp.*を検出し、フルコナゾール、メロペネム等の点滴投与で、平成9年2月上旬には、縦隔炎・膿胸ともに軽快した。

自験例を含めカンジタ属が関与した縦隔炎・膿胸で、軽快した例は稀な病態と考えられ、若干の考察を加えて報告する。

千葉大学病院における臨床分離菌の現況

¹⁾ 千葉大学医学部臨床検査医学講座

²⁾ 千葉大学医学部附属病院検査部

○菅野治重¹⁾、渡辺正治²⁾、村田正太²⁾、

〔目的〕当院における臨床分離菌の動向を把握するため、各種臨床材料から分離された菌種の内訳と、主要菌種の抗菌剤耐性菌の検出状況について検討した。

〔方法と材料〕1996年1月～12月に当検査部に提出された各種臨床材料からの分離菌について、菌種の内訳と主要菌種の抗菌剤耐性株の分離率を調べた。薬剤感受性検査は、*S. pneumoniae*, *Haemophilus spp.*, 嫌気性菌はMIC-2000 system (Dynatec, 栄研化学) を、その他の菌種にはWark-Away (デイド) を用いてMICを測定した。耐性の判定は主にNCCLSのガイドラインに従った。

〔成績〕上記期間に、外来患者検体4693件(3192名)、入院患者検体13211件(2697名)が提出され、同定と感受性検査を行った菌株は、外来患者株1731株、入院患者株4200株であった。なお集計では同一患者から連続して検出された菌株は月毎に集計した。外来および入院患者検体からの検出菌の内訳は、各々、腸内細菌456株(26%)、821株(20%)、非発酵菌211株(12%)、897株(21%)、その他のグラム陰性菌179株(10%)、182株(4%)、ブドウ球菌364株(21%)、1060株(25%)、レンサ球菌278株(16%)、262株(6%)、腸球菌114株(7%)、440株(11%)、グラム陽性桿菌63株(4%)、98株(2%)、嫌気性菌59株(3%)、433株(10%)であった。外来患者検体では*E. coli*(212株:12%)、*P. aeruginosa*(157株:9%)が、入院検体では*P. aeruginosa*(571株:14%)、MRSA(412株:10%)、*S. epidermidis* 317株:8%)等が多く分離された。

薬剤感受性は入院患者株の成績を示す。CAZとIPMICに対する耐性株(MIC:CAZ: \geq 32 μ g/ml, IPM: \geq 16 μ g/ml)は、グラム陰性菌では、各々、*E. coli*(0%, 0.5%)、*K. pneumoniae*(0.8%, 1.5%)、*E. cloacae*(51%, 1.5%)、*S. marcescens*(16%, 4%)、*P. aeruginosa*(14%, 23%)であった。グラム陽性菌では、MRSAは*S. aureus*の70%を占め、MINO耐性株(MIC: \geq 8 μ g/ml)は36%、GM耐性株(MIC:8 μ g/ml)は32%であった。腸球菌のABPC耐性株(MIC: \geq 16 μ g/ml)は、*E. faecalis*(0%)、*E. faecium*(83%)、*E. aiium*(62%)であった。*S. pneumoniae*(外来株)のPCG耐性株(MIC: \geq 0.1 μ g/ml)は58%であった。なおこれらの菌種にはVCMに \geq 16 μ g/mlのMICを示す株は検出されなかった。

〔考察〕入院患者株では*P. aeruginosa*のIPM耐性株が徐々に増加しており、外来株では*S. pneumoniae*のPCG耐性株が増加していたが、これ以外の菌種には目立った耐性化は認められなかった。

臨床材料より分離されたグラム陰性桿菌の薬剤感受性について

順天堂大学付属病院 臨床検査部
○小栗豊子, 中村文子, 三澤成毅
同 医学部臨床病理
猪狩 淳

(目的) 最近, グラム陰性桿菌の多剤耐性化が問題になっている。そこで最近, 各種臨床材料より分離された腸内細菌科およびブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌を用いて薬剤耐性化の傾向を検討した。

(材料および方法) 使用菌株は 1996 年に当検査室において各種臨床材料から分離した腸内細菌科およびブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌約 420 株を用いた。薬剤感受性測定は本学会標準法の微量液体希釈法により行った。マイクロプレートの作製および菌の接種は MIC2000 システムを用いた。使用薬剤は ABPC, PIPC, CEZ, CMZ, CTM, CPR, CZOP, FMOX, IPM, GM, AMK, MINO, OFLX などを用いた。

(成績) 腸内細菌科の菌種では *C.freundii*, *E.cloacae*, *M.morganii* が最も多剤耐性の傾向が強く, 逆に *E.coli*, *Klebsiella* は ABPC 耐性株は多かったものの, 他の薬剤耐性株は少なかった。*S.marcescens* は CEZ, CTM 耐性株は多かったが他の薬剤耐性株は少なかった。腸内細菌科では IPM 耐性株は少なかった(約 1%)。

ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌では *B.cepacia*, *S.maltophilia* が最も多剤耐性の傾向が強かった。なお, これらの菌種は MINO には耐性株が少なかった。

(考察および結論) 腸内細菌科の菌種は現在のところ IPM 耐性株は少ないものと考えられる。しかし, ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌ではこれらの薬剤に菌種により耐性株が多く認められた。また, 最近, 開発された注射用セフェムである CFPM, CPR, CZOP では, IPM よりは耐性株は多いが, 腸内細菌科の菌種では耐性株が比較的少ないものと思われた。

尿路感染症分離菌に対する抗菌薬の抗菌力比較

札幌医大 ○熊本悦明, 塚本泰司, 広瀬崇興
福島医大 茂田士郎, 高橋年光, 吉田 浩
今福裕司, 荻原雅彦, 石橋 啓
慶應大 村井 勝, 渡辺清明, 内田 博, 小林芳夫
順天堂大 藤目 真, 藤田和彦, 猪狩 淳, 小栗豊子
江東病院 松田静治
東邦大 山口恵三, 松本哲哉, 櫻谷継子
京都第二赤十字病院 大江 宏, 前川幹雄, 西川美年子
関西医大 米津精文, 山中吉隆
国立大阪病院 岡 聖次, 高野右嗣, 田中美智男
長崎大 平冨洋一, 吉田良滋, 餅田親子

我々は1979年以来全国の施設と共同で尿路感染症分離菌を収集し, それらの各種抗菌薬に対する感受性, 患者背景を経年的に調査してきた。

今回も1996年7月から10月までの間に尿路感染症と診断された患者から640株が収集されG(-)菌421株(65.8%), G(+)菌219株(34.2%)であった。内訳は, G(-)菌では *Escherichia coli* は237株(37.0%)で最も多く, 次いで *Pseudomonas aeruginosa* が74株(11.6%)であった, 又G(+)菌では, *Enterococcus* spp. は98株(15.3%)と最も多く, 次いで *S.aureus* が41株(6.4%)であった。これは95年度とほぼ同様な傾向を示した。

本年度も, それらの患者背景および, 各種抗菌薬に対する感受性について調査した。

患者背景については尿路感染症を単純性尿路感染症, カテーテル非留置複雑性尿路感染症, カテーテル留置複雑性尿路感染症の三群に区分して, 分離菌種と性別, 年齢との関係などについて検討した。感受性測定薬剤はPCs4種, CEPs18種, AGs4種, NQ3種他で, 菌種に応じ薬剤を選択した。MICは日本化学療法学会標準法(微量液体希釈法)により順天堂大学臨床検査部において一括して測定した。また感受性の経年的な推移についても検討を加えた。

C. freundii のパルスフィールド DNA 型別と
薬剤耐性型

北里大・医・微生物

○井上松久、島内千恵子、佐藤優子、岡本了一

【目的】当教室保存の1989、1992年泌尿器科由来の臨床分離株 *C. freundii* が CAZ, SM, TC, KM, NA に対する耐性率が高い頻度であったことから、各菌株の性状を薬剤耐性型、plasmid 型、パルスフィールド電気泳動による DNA 型別についてそれぞれ解析した。

【材料と方法】①1989年 (n=31)、1992年 (n=30) に分離された *C. freundii* 61株について、CAZ, KM, TC, SM, SA, CP, NA, PIPC についての耐性菌選択可能な濃度を用いてその耐性率を寒天平板法にて調べた。②次いで、常法に従い *E. coli* KU2 を受容菌として各耐性菌株から耐性 plasmid の検出とその耐性型を調べた。更に、パルスフィールド電気泳動による染色体 DNA を *Xba*I にて切断し、*Xba*I 切断後の DNA を用いて検討した。

【結果】①'89年分離菌での CAZ, PIPC, NA, KM, SM, TC, CP の耐性率は 71%, 61.3%, 71%, 54.8%, 77.4%, 51.6%, 0%, '92年分離菌では順に 63.3%, 70%, 60%, 63.3%, 80%, 46.7%, 0% であった。

② TC, SM, KM, PIPC 各抗菌薬に対する耐性を耐性型でまとめると、(PIPC, TC, SM, KM) '89 (16株), '92 (13株)、(PIPC, SM, KM) '89 (1株), '92 (6株)、(PIPC, SM, TC) '89 (0株), '92 (1株)、(SM) '89 (7株), '92 (4株) であった。

③これらの耐性菌を *E. coli* KU2 株に伝達したところ、(PIPC, SM, KM)、(TC, SM, KM, PIPC) と (SM) 型に分類され、(PIPC, SM, KM) は 10^3 、(TC, SM, KM, PIPC) は 10^3 – 10^4 の頻度で再伝達された。しかし、SM 耐性は非伝達性プラスミドとして検出された。

④パルスフィールド泳動型から '89, '92 年分離株は互いにその DNA 切断型が似ており、この年度間での同一菌株の存在が明らかであった。以上、NA, SM, KM, ABPC, TC などの耐性型と DNA のパルスフィールド型別から、'89, '92 年分離の *C. freundii* は同一菌株が施設内に定着している可能性が示唆された。

産婦人科領域感染症から分離された各種細菌に対する経口抗菌薬の抗菌力

岐阜大学医学部産科婦人科

○佐藤泰昌、三嶋廣繁、川添香子、玉舎輝彦
岐阜市民病院

伊藤邦彦

【目的】経口抗菌薬の選択は、細菌感染症の治療にあたって重要である。そのひとつの指標を得るべく、最近当科で分離した臨床分離株に対する経口抗菌薬の抗菌力を検討した。

【方法】1996年度に当科で分離した *E. coli* 20株、*S. agalactiae* 20株、*G. vaginalis* 20株、*P. anaerobius* 20株、*P. magnus* 20株、*B. fragilis* 20株、*P. bivia* 20株を対象とした。薬剤感受性試験は、セフェム薬として cefditoren (CDTR)、cefdinir (CFDN)、cefteram (CFTM)、cefotiam (CTM)、cefpodoxime (CPDX) を、キノロン薬として levofloxacin (LVFX)、ciprofloxacin (CPFV)、tosufloxacin (TFLX)、sparfloxacin (SPFX) を選択し、臨床分離菌株に対する MIC を日本化学療法学会標準法に基づき、寒天平板希釈法にて測定した。

【成績】検討したセフェム薬、キノロン薬ともに好気性菌に対しては MIC からみる限り、十分な抗菌力を有すると考えられた。セフェム薬の嫌気性菌に対する抗菌力は、グラム陽性球菌の *Peptostreptococcus* species に対してはほぼ満足できるものであったが、グラム陰性桿菌の *B. fragilis*、*P. bivia* に関しては、十分な臨床効果は期待できないものであった。キノロン薬の嫌気性菌に対する抗菌力は、必ずしも満足できるものではないが、CPFV を除けば、セフェム薬と比較してかなり良好な成績であった。

【結論】今回の薬剤感受性成績に、薬剤の組織移行性を考慮することにより、適正抗菌薬使用のひとつの指針が得られるものと考えられる。

眼感染症分離菌に対するofloxacinの抗菌活性

新潟大学医学部 眼科¹⁾○宮尾 益也¹⁾, 阿部 達也¹⁾信楽園病院 眼科²⁾大石 正夫²⁾

目的: 眼科領域ではいくつかのニューキノロン薬点眼剤が開発されている。ofloxacin点眼剤(タリヒット点眼剤)は1987年に最初に開発されたニューキノロン点眼剤で、現在繁用されて10年を経過している。

今回、本剤の現在における有用性を調べる目的で、最近の眼感染症患者分離菌を用いて、薬剤感受性検査を施行した。

方法: 検体は1992年~1995年の4年間に、新潟大学眼科感染症クリニックにおける臨床分離菌で、Coagulase negative staphylococci(CNS) 200株、Staphylococcus aureus 75株、Streptococcus pneumoniae 27株、Hemophilus influenzae 20株、Pseudomonas aeruginosa 5株、Anaerobic bacteria 10株である。薬剤感受性検査は、新潟大学附属病院中央検査部細菌検査室で、MIC-2000(ダイナック)を用いる微量液体希釈法(日本化学療法学会標準法)により施行された。

結果: S. aureusのうち、methicillin sensitive S. aureus(MSSA)は、OFLX \leq 0.5~ \geq 16 μ g/mlに分布して、MIC₉₀は \leq 0.5 μ g/mlであった。methicillin resistant S. aureus(MRSA)ではMIC₅₀、MIC₉₀とも16 μ g/mlであった。CNSではmethicillin sensitive CNS(MSCNS)は0.5~ \geq 16 μ g/mlにあり、MIC₅₀は \leq 0.5 μ g/ml、MIC₉₀は \geq 16 μ g/mlであった。methicillin resistant CNS(MRCNS)ではMIC₅₀、MIC₉₀とも \geq 16 μ g/mlであった。S. pneumoniaeでは1~ \geq 4 μ g/mlに分布して、MIC₅₀1 μ g/ml、MIC₉₀2 μ g/mlであった。H. influenzaeのMIC₉₀は0.06 μ g/mlであった。P. aeruginosaは4 μ g/ml以下に分布した。Anaerobic bacteriaは0.5~8 μ g/mlに分布した。

結論: OFLXの抗菌活性で、MSCNSに \geq 16 μ g/mlの低感受性株が、24%(34/137)に見られたこと、MRSA、MRCNSに低感受性であったこと以外には、他の菌種では大凡良好な感受性が示された。このことよりOFLX点眼剤は現在でも有用性の高いことが推測された。

小児より分離された*S.agalactiae*, *L.monocytogenes*, *H.influenzae*に対するCarbapenemsの感受性検討久留米大学医学部小児科
ゆうかり学園*

○松尾勇作, 赤須裕子, 池澤 滋, 長井健祐, 津村直幹, 山田 孝, 織田慶子, 阪田保隆, 加藤裕久, 本廣 孝*

【目的】最近ペニシリン耐性*S.pneumoniae*の増加に伴い、細菌性髄膜炎の治療に際しては、中枢神経系への副反応を考慮しながらCarbapenemsが選択されることがある。しかしながら、髄膜炎の主要な起炎菌である*H.influenzae*に対して一部のCarbapenemsが耐性であることが本学会においても報告されている。そこで、最近(93年以降)当科での分離株(*S.agalactiae*, *L.monocytogenes*, *H.influenzae*)に対するCarbapenems 3剤の感受性検討を行った。

【方法】MIC測定は日本化学療法学会標準法に準じて寒天平板希釈法で行った。薬剤はPCG, ABPC, CTM, CTX, FMOX, IPM, PAMP, MEPMで検討した。

【結果】*S.agalactiae* (N=15)に対するMIC(μ g/ml)ではPCGは全株感性(0.025~0.05)で、IPM(\leq 0.0125), PAMP(0.0125~0.025), MEPM(0.025)も良好であった。*L.monocytogenes* (N=16)に対しABPCは全株感性(0.1~0.39)で、IPM(0.05~0.1), PAMP(0.0125~0.05), MEPM(0.025~0.05)はABPCより良好であった。*H.influenzae* (N=50)ではCTX(0.025~0.1), MEPM(0.05~0.39)は全株感性で、ABPC(0.2~50), IPM(0.2~25), PAMP(0.39~12.5)のMIC₉₀はともに3.13 μ g/mlであった。数株でIPMはMIC12.5 μ g/ml \leq を示したが、その株に対してABPCのMICは0.78~1.56であった。

【考察】*S.agalactiae*, *L.monocytogenes*に対するCarbapenems 3剤は良好な感受性を示し、PRSPに対する抗菌力から、細菌性髄膜炎のempiric therapyとして選択されうる。ただし、*H.influenzae*耐性株を考慮しなければならない。

多剤耐性 *Corynebacterium* の臨床材料からの検出状況
と薬剤感受性

順天堂大学附属病院 臨床検査部

○三澤 成毅 小栗 豊子

同大 医学部 臨床病理

猪狩 淳

【目的】 *Corynebacterium* はヒトでは皮膚および粘膜上の常在菌叢を構成している主要な菌群である。近年、本菌群の臨床材料からの分離が増加傾向といわれている。また、一部の菌種 (*C. jeikeium*, *C. urealyticum*) は各種抗菌薬に対して多剤耐性であることも知られている。私共は以前から本菌群の動向に注目しており、*C. jeikeium* については既に本学会総会 (1989年) で報告した。今回は特に多剤耐性化の著しい *C. jeikeium* と *C. urealyticum* について、臨床材料からの検出状況と薬剤感受性を検討した。

【材料および方法】 使用菌株は 1993～1996年の間に当院検査部に提出された各種臨床材料より分離の *C. jeikeium* と *C. urealyticum* 合計約 130 株である。属の確認にはグラム染色による形態とカタラーゼ試験などを、種の同定には糖分解試験、ウレアーゼ試験、硝酸塩還元試験などを用いた。また、一部の株には APICORYNE (ピオメリュー・バイテック) も用いた。薬剤感受性の測定は MIC-2000 system (Dynatech) を用いる微量液体希釈法により行った。培地は 2 価イオン調整 Mueller-Hinton broth (Difco) に酵母エキス (5g/l), NAD (15mg/l), ウマ溶血血液 (2ないし 3%) を添加したものを用いた。判定は 24～48 時間培養後に行った。使用薬剤は ABPC, IPM, CEZ, CTM, CTX, FMOX, GM, AMK, MINO, EM, CLDM, VCM, OFLX などである。

【結果】 *C. jeikeium* は皮膚・創部膿および尿などから多く分離されていた。一方、*C. urealyticum* の多くは尿由来であった。また、*C. jeikeium* は血液からも少数分離されていた。薬剤感受性は両菌種ともに VCM の抗菌力が最も優れており、MINO がこれに次いでいた。なお、VCM に対して明らかな耐性を示す株は認められなかった。他の薬剤では、*C. jeikeium* と *C. urealyticum* は β-ラクタム系薬、アミノ配糖体系薬、マクロライド系薬、新キノロン系薬に対して高度かつ多剤耐性を示す株が多かった。

主要感染起因菌の経口セフェム薬に対する薬剤感受性について

株式会社 ビー・エム・エル 細菌学検査部

○星野和夫 岩井有紀 中村貞博 瀬戸勇

(目的) 第 4 回日本化療総会において 1995 年分離株の薬剤感受性を報告した。今回は前回とほぼ同様の条件下において収集した 1996 年株について感受性変動を検討したので報告する。

(材料及び方法) 1996 年 1-12 月 (主に 7-12 月) に関東を中心に臨床材料から分離された菌種、菌株を対象とした。CFDN, CFIX, CPDX, CFTM, CCL および AMPC を MIC の測定対象とし、化療標準法に従いマイクロイオン法で測定した。

(結果) 1) 当部門における 7-12 月の 6 ヶ月間の分離状況では喀痰及び尿よりの主要菌種は *S. aureus* (MRSA を含む) 14.4%, *P. aeruginosa* 14.0%, *E. coli* 10.1%, *K. pneumoniae* 6.5% および *E. faecalis* 4.8% で、分離頻度は昨年と同様であった。なお、*S. pneumoniae* は喀痰からは 3.0% の頻度であった。2) 分離菌に対する薬剤感受性は無作為に各菌種 100-50 株について検討した。

S. pneumoniae 125 株中 PC-Gi に 2 μg/ml の耐性株は 16.4%, 中等度耐性株 (1-0.13 μg/ml) は 36.8%, 感受性株は 56.8% となり中等度耐性株を入れると耐性頻度は 43.2% であった。

また、*S. pneumoniae* に対する薬剤感受性は昨年と同程度の推移を示した。主要菌の *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* の薬剤感受性も特に問題になる変動は認められなかった。他の菌種、菌株についても薬剤感受性調査を行ったのであわせて報告する。

(考察) 一昨年に引き続き 1996 年に分離された菌種菌株の調査を行った結果、測定した薬剤に関しては特に注目すべき変動は認められなかった。今後も同じ状況下で薬剤感受性調査を実施する予定である。

バンコマイシン低感受性MRSAの検討
-その1- 臨床分離株の解析

順天堂大学細菌学¹⁾ 順天堂医院臨床検査部²⁾

順天堂大学臨床病理³⁾

○平松啓一¹⁾、高橋順子¹⁾、稲葉陽子¹⁾、佐々木和美¹⁾、
杉本奈扶美¹⁾、桑原京子¹⁾、花木秀明¹⁾、小栗豊子²⁾、猪狩淳³⁾

バンコマイシン治療の奏功しなかったMRSA感染症の患者よりバンコマイシン低感受性MRSA株Mu3, Mu50を分離した。これらの株のバンコマイシンおよび他の抗菌剤に対する感受性をpopulation analysisを用いて解析し、さらに、そのメカニズムを検討した。

方法: Population analysis: 菌の希釈系列を作製し、種々の濃度の抗菌薬を含有する寒天培地に塗布し、37℃、2日間培養したのちコロニー数をカウントし、OD₅₄₀=0.3の菌液の50μlに含まれる耐性菌の数を計算し、対数グラフにプロットした。

PBP assay: [¹⁴C]ペニシリンGを、菌の粗細胞質膜画分と反応させ、SDS-PAGEの後、autoradiographyでPBPを検出した。PBP2,2,1に関しては特異抗体を用いてWestern blottingでも定量した。

結果と考察: HI寒天を用いた平板希釈法でのMIC値はMu3は2、Mu50は8 μg/mlであった。Population analysisでは、Mu3はヘテロタイプの感受性を示し、10⁶に一つの頻度でバンコマイシン8 μg/mlに増殖する細胞亜集団を検出した。Mu50は、10⁷に一つの頻度でバンコマイシン8 μg/mlに増殖する細胞亜集団を検出したが、ほとんどホモタイプの感受性パターンを示した。いずれも同一のPFGEパターンをもつため、Mu50はMu3からhetero-to-homo conversionで派生した菌株であると考えられた。Mu3は、methicillinに高度耐性で、PBP2, PBP2の産生量が、mecMの破壊、PCaseの脱落によるPBP2のconstitutive producerと比較しても5倍以上に亢進していた。このことから、バンコマイシンの低感受性化に細胞壁合成の亢進が関与していることが示唆された。Mu50にも同様のPBPの産生量増大が見られたが、Mu3とMu50の生物学的性状の違いについては現在検討中である。症例、電子顕微鏡による解析も含めて報告する。

バンコマイシン(VCM)低感受性MRSAに対する検討
-その2- VCM低感受性MRSAの検出方法

順天堂大学医学部細菌学教室

○稲葉陽子 杉本奈扶美 佐々木和美 桑原京子
高橋順子 花木秀明 平松啓一

目的 VCM低感受性MRSAを検出する目的で、培地の検討を行い、その結果をPopulation解析と比較した。

使用菌株 *S.aureus* FDA 209P株、MRSA N315P1株、N315LR5-P1IPM8-1株(N315株から得られた高度耐性株) N315LR5-P1IPM8-1-2R株(N315LR5-P1IPM8-1株をVCM2μg/mlで選択して得られた株)、臨床分離されたVCM低感受性株、Mu3株、Mu50株、Mu3-8R株(Mu3株をVCM8μg/mlで選択して得られた株)を使用した。

結果及び考察 MHA, HIA, BHIA, STA, TSA, NAを用いNCCLS法に従ってMICを測定し、同様にPopulation解析を行った。VCM感受性株と低感受性株の差がはっきり見られた培地はBHIAであり、MRSA N315P1株のMIC値は1μg/ml、*S.aureus* FDA 209P株、N315LR5-P1IPM8-1株は2μg/ml、臨床上VCM治療の奏功しなかったMU3株は4μg/ml、Mu3-8R株、N315LR5-P1IPM8-1-2R株は8μg/mlであった。MU3株、N315LR5-P1IPM8-1株はPopulation解析においてヘテロタイプの感受性パターンを示しており、MICと比較して感受性株との差がはっきりした。さらにこれらの株をVCMで選択したMu3-8R株、N315LR5-P1IPM8-1-2R株はホモタイプの感受性パターンを示した。このことはヘテロタイプの株とホモタイプの株のMIC値の差と一致している。Mu3-8R株と同様のMIC値(MIC8μg/ml)を示す臨床分離Mu50株は、Population解析によりホモタイプの感受性パターンを示した。以上Population解析の結果からVCM低感受性MRSAの検出にはBHIAを用いるのが最適であると考えられた。今後培地以外の条件検討を行うつもりである。

また、ヘテロタイプの株を検出するためのPopulation解析に代わる簡便法を開発したのであわせ報告する。

バンコマイシン(VCM)低感受性MRSAに関する検討 その3 ー殺菌作用の検討ー

順天堂大学医学部細菌学教室

○杉本奈扶美, 花木秀明, 桑原京子, 佐々木和美, 稲葉陽子, 高橋順子, 平松啓一

目的: VCMに対する耐性度の異なるMRSAについて, VCMの殺菌作用を検討したので報告する。

方法: *S.aureus* FDA209P, VCM感受性MRSA

87/20(population解析でホモタイプを示す), VCM低感受性MRSA Mu3(ヘテロタイプ)及びMu3-8R(ホモタイプ)の4株を用いて, 各種濃度VCM作用時のMueller-Hinton broth中における生菌数を, 24時間ごとに測定した。

結果及び考察: *S.aureus* FDA209P及びMRSA 87/20に対して, VCMは1.25 μ g/mlでも静菌作用を示した。これに対し, VCMのMIC(寒天平板希釈法, 10⁶CFU/ml接種)がMRSA 87/20と同じ値(1 μ g/ml)を示す, ヘテロタイプのVCM低感受性株であるMu3については, VCM 2.5 μ g/mlで24時間後まで, 5 μ g/mlで72時間後まで静菌作用がみられたが, その後はいずれも増殖した。また, ホモタイプでVCM低感受性のMu3-8Rに関しては, 5 μ g/ml作用時でも増殖が抑制されることはほとんどなく, 10及び20 μ g/mlで増殖が阻止された。

以上のことから, ヘテロタイプの株は, さらに高濃度のVCMを作用させると大部分の細胞集団の増殖が抑制されるが, 一部の細胞集団は抑制されないために後になって増殖が認められ, VCM低感受性株では, MIC値が同じ株でもVCMの効果に差があることが示唆された。このため, MRSA感染の治療における薬剤投与についてはMIC値のみから判断するのは不十分であり, 注意が必要であると考えられた。

バンコマイシン低感受性MRSAに対する検討 -その4- PBP産生量について

順天堂大学医学部細菌学教室

○佐々木和美, 花木秀明, 杉本奈扶美, 稲葉陽子, 高橋順子, 桑原京子, 平松啓一

目的: 最近, 臨床から分離されるバンコマイシン(VCM)低感受性MRSAは増加しており, それら菌株のVCM低感受性化の機序を調べるため様々な検討を行っているが, ここでは, MRSAのVCMに対する感受性の低下が細胞壁合成酵素(PBP)の産生量と関係があると考え, その測定を行った。

方法: 被検菌株をトリプトソイブロス(TSB)で培養し, sonicationにより菌体を破碎し, 膜蛋白を抽出した。これらを検体とし, PBP2およびPBP2'の抗体を用いて, PBP産生量をWestern blotにより調べた。1.VCM感受性MRSAとVCM低感受性MRSAでヘテロタイプを示す臨床分離株, ホモタイプを示す臨床分離株のPBP2およびPBP2'の産生量を比較した。2.ヘテロタイプ, ホモタイプそれぞれのVCM低感受性MRSAに薬剤を加えて培養し, 薬剤の影響によるPBP産生量の変化を調べた。

結果および考察: VCM感受性株に比べVCM低感受性株はPBP2, PBP2'共に産生量の増加が見られた。VCM低感受性ヘテロタイプ株はPCGを加えて培養すると誘導がかかり, PBP2, PBP2'共に産生量の増加が見られたが, VCM低感受性ホモタイプ株は薬剤を加えてもPBP2, PBP2'ともに薬剤なしで培養したときと差が見られなかった。VCM低感受性ヘテロタイプ株のPBPが薬剤存在下で増加したことは, この株に対するVCMと β -ラクタム剤の併用が拮抗を示した結果と合致しており, これら薬剤の併用は効力が薄い可能性が示唆された。

メチシリン耐性ブドウ球菌における
mec の存在様式

順天堂大学 医学部 細菌学教室
○片山 由紀、浅田 和美、伊藤 輝代、
平松 啓一

目的: すべてのMRSA において *mecA* の下流側にIS431 が連関して存在する。この IS431 の存在は *mec* DNA の種をこえた転移と関連する可能性もある。しかし、メチシリン耐性コアグラールゼ陰性ブドウ球菌 (MRC-NS) におけるIS431と *mecA* との関連については、知られていない。我々は臨床分離株 MRSA および MRC-NS のDNAを用いて、IS431 の *mecA* との相対的位置を検索し、構造解析した結果を報告する。

材料と方法: 世界20ヶ国の臨床分離株 MRSA 38 株と1981年から1995年に日本で分離された臨床分離株 MRC-NS 93 株 (そのうちメチシリン耐性 *S. haemolyticus* (MRSH) 38 株) のDNAを使用し、Long-PCR 法により *mecA* 上流側 および下流側のIS431 *mec* の位置を検査し、塩基配列の決定を行った。

結果及び考察: IS431 は、MRSH にのみ *mecA* 上流側に位置しており、MRSA および MRSH 以外のMRC-NS には *mecA* の上流側に少なくとも12kb 以内には存在していなかった。また、すべての MRC-NS が MRSA と同様に *mecA* の下流側にIS431 が連関して存在していた。これらより、*mecA* がIS431 に囲まれた構造はブドウ球菌属の中でも *S. haemolyticus* にのみ見られ、MRSA および *S. haemolyticus* 以外のMRC-NS には全く見られないことが明らかになった。この *S. haemolyticus* の *mecA* を囲むIS431の方向性に関しては、36 株中 30 株ではIS431が逆位に位置していたが、6 株ではIS431 の方向が同一であった(Type2; IS431- *mecA*- IS431)。また、MRSH 38 株中 2 株では、*mecA* の上流側にIS1272 が存在した(Type1; IS1272- *mecA*- IS431)。興味深いことに、PCR 解析によりこのIS1272- *mecA*- IS431の構造は、多くのMRSA 株にも共通に存在することが示された。さらに、IS1272- Δ *mecRI*間の塩基配列は、MRSA COL 株と一致していた。これらより、MRSH のIS1272- *mecA*- IS431 の構造は菌種をこえて存在することが明らかになった。また、type 2 の *mecA* 上流側 IS431は、MRSH 32 株中 27 株では *mecRI* deletion point (Type2b; IS431- Δ *mecRI*- *mecA*- IS431)に、5 株では *mecI* の194bp 上流側 (Type2a; IS431- *mecI*- *mecRI*- *mecA*- IS431)に位置していた。このMRSH の *mecA* 上流側のIS431の役割については現在検討中である。

参考文献 Hiramatsu, K. (1995) Molecular evolution of MRSA, *Microbiol. Immunol.* 39: 531- 543

バンコマシリン(VCM)低感受性MRSAに対
する検討 その5 -細胞壁合成系の検討-

順天堂大学医学部細菌学教室¹⁾ Bayer AG²⁾

○花木秀明¹⁾、Harald Labischinski²⁾、
稲葉陽子¹⁾、佐々木和美¹⁾、桑原京子¹⁾、
高橋順子¹⁾、杉本奈扶美¹⁾、平松啓一¹⁾

目的 我々はバンコマイシン低感受性MRSAを臨床から検出した。この菌に対しての様々な検討を行っているが、その低感受性化の機構を解明すべく、細胞壁合成系を検討した。

方法 ムレインモノマーは細胞を沸騰水浴中で破碎後その上清を除蛋白し、HPLCによって定量した。また細胞壁構成成分はガラスビーズを用いて細胞壁を破碎し、その細胞壁をHPLCで分離分取後、未知ピークの同定を行った。

結果及び考察 ムレインモノマー産生量をVCM感受性MRSA株 (*S. aureus* NCTC-8325) とVCM低感受性MRSA株 (Mu3とMu3-8R) で比較した。Mu3株 (VCM低感受性-ヘテロタイプ株) とMu3-8R株 (Mu3をVCM8 μ g/mlで選択-ホモタイプ株) のムレインモノマー産生量は *S. aureus* NCTC-8325に比べ3倍以上増えていた。これはVCM低感受性MRSA株で確認されたPBP2と2'産生量増加と一致することから、VCM低感受性MRSA株では細胞壁合成系が亢進している可能性を示唆している。また、細胞壁構成成分の検討を *S. aureus* NCTC-8325、Mu3 Mu3-8R、N315LR5-P1IPM8-1 (N315株から得られたメチシリン高度耐性株、VCMに対してヘテロタイプ)、N315LR5-P1IPM8-1-2R (N315LR5-P1IPM8-1株をVCM2 μ g/mlで選択、VCMに対してホモタイプ) を用いて検討したが、*S. aureus* NCTC-8325等の *S. aureus* で確認されないL-Ala-(Gly)₄ (通常はpentaglycine) が確認された。このL-Ala-(Gly)₄はVCMの感受性に関係なくある一定の割合で確認されたが、この構造の変化がVCM低感受性化を引き起こす原因に関連している可能性があり、今後さらに検討を行うつもりである。

バンコマイシン(VCM)低感受性MRSAの検討について-その6-PBP2&2'の影響と Autolysin活性

順天堂大学医学部細菌学教室

○桑原京子、稲葉陽子、佐々木和美、高橋順子、花木秀明、杉本奈扶美、平松啓一

目的 Daumらは、VCM低感受性*S.aureus*のPBP2が増加していることを報告している。われわれは、preMRSAのPBP2および2'の産生量を増やし、VCMに対する感受性の変化を検討するとともに、VCMヘテロおよびホモタイプ低感受性株の自己溶解酵素(Autolysin)について検討したので報告する。

方法および結果 報告されている塩基配列からプライマーを合成し、PBP2 および2'をクローニングした。それらを、preMRSAのN315P1株にエレクトロポレーションで導入し、得られたクローンの最小発育阻止濃度(MIC)およびポピュレーション解析を行ったところ、PBP2が増えたクローンのVCMに対するMICは、1管だけ上昇した。そのポピュレーションは、ヘテロ低感受性のパターンを示した。PBP2'を増やした株では、メチシリンをはじめとするβ-ラクタム剤に対しては、MICの上昇が見られたが、VCMに対しては、変化がなかった。ポピュレーションも行ったが感受性のパターンを示した。

Autolysin活性は、対数増殖期の菌を集菌し、0.01M phosphate-Na buffer(pH7.0)中の溶菌を調べた。臨床から分離されたヘテロタイプの低感受性株Mu3は、速やかに溶菌され、対照においたpreMRSAのN315株より活性の亢進が見られた。これは、細胞壁が厚くなり、自己溶菌活性が上がったためと考えられた。現在、ベクター数を変えて、PBP2の産生量をさらに増やした株のVCMに対する感受性の影響や、Autolysin活性について検討を重ねている。

バンコマイシン低感受性MRSAの検討
-その7- β-ラクタム系薬剤に対する感受性

順天堂大学細菌学¹⁾ 順天堂医院臨床検査部²⁾

順天堂大学臨床病理³⁾

○高橋順子¹⁾、稲葉陽子¹⁾、佐々木和美¹⁾、杉本奈扶美¹⁾、桑原京子¹⁾、花木秀明¹⁾、小栗豊子²⁾、猪狩淳³⁾、平松啓一¹⁾

目的 臨床から分離されたバンコマイシン(VCM)低感受性MRSAには、VCMに対してヘテロタイプの感受性を示す株とホモタイプの感受性を示す株が存在した。これらの株に対するβ-ラクタム系薬剤に対する感受性を検討したので報告する。

使用菌株 臨床から分離されたVCM低感受性株であるMu3株(ヘテロタイプ)、Mu50株(ホモタイプ)、Mu40株(ヘテロタイプ)、Mu3-8R株(Mu3株をVCM 8μg/mlで選択)を使用した。

結果及び考察 Mu3株、Mu50株、Mu40株、Mu3-8R株のイミペネム(IPM)のMIC値(μg/ml)はMu3株は128であるのに対して、Mu50株では32、Mu3-8R株では64といずれも低下しており、Mu40株は0.25以下であった。そこで、Mu40株のDNAを用いてPCRを行ったところ、*mecA*、*mecI*が脱落していることが明らかになった。同時に、パルスフィールド電気泳動法を用いてgenotypeを比較したところ、Mu3株、Mu50株、Mu3-8R株は同一のパターンを示したが、Mu40株は*mecA*を含むバンドのサイズが約50kb縮小していることが明らかになった。そこで、Mu40株をセフトゾキシム(CZX) 25μg/mlで選択して、Mu40R株を得た。Mu40R株のDNAを用いてPCRを行ったところ、*mecA*が存在し、IPMのMIC値は128であった。また、パルスフィールド電気泳動法によるパターンは、Mu3株と同一であった。すなわち、1.VCMの耐性度が上昇と、IPMの耐性が低下する傾向、2.VCM低感受性株には、高い頻度で*mec*領域DNAが自然に脱落してしまう株が存在する、という現象が観察された。一方、ウエスタンブロッティング法により、ペニシリンG(PCG)誘導時のPBP2'の産生量を比較するとMu3株では、非誘導時と比較して産生量の増加がみられたが、Mu50株では、産生量の増加がみられなかった。このことが、β-ラクタム系薬剤の耐性の低下と関連する可能性があり、現在検討中である。いずれの場合もVCM感受性とβ-ラクタム系薬剤の感受性が関連するということが示唆される。

Cefoselis (CFSL) の抗MRSA作用に関する基礎的検討

藤沢薬品・新薬研究所

○若林亜紀子、若井芳美、松本佳巳、俵修一

【目的】：抗生剤の使い方がMRSAの分離率の上昇のみならず、耐性の高度化にも影響を及ぼすことが問題視されているが、MRSAに抗菌力を示すCefoselis

(CFSL) は、PBP2' 親和性が高いことからcell populationが比較的均一であり、耐性化を引き起こしにくい可能性が予想された。これを実証する為、*in vitro* ヒト血清中濃度シミュレーション系を用い、Cefozopran (CZOP) 及びFlomoxef (FMOX) と比較検討した。

【方法】：メチシリンにヘテロ耐性を示す、L-MRSA No. 5036株及びNo. 15022株を用いた。CFSL、CZOP及びFMOXの0.5及び1g単回投与時のヒト血清中濃度変化をMueller-Hinton broth (Difco) 中にシミュレートする*in vitro*の評価系を用いた。寒天中に包埋(寒天ブロック)した菌に薬剤を作用(0~6H)させ、薬剤free培地に移し、37℃、18H、静置培養した。その後、寒天ブロックを生理的食塩水中で経ジネットし、段階希釈した菌液を薬剤含有及び非含有プレートに接種した。37℃、48H培養後に発育したコロニーをカウントしpopulationを薬剤接触前と比較検討した。

【結果および結論】：CFSL作用後のL-MRSA No. 5036株及びNo. 15022株のpopulationは、controlとほぼ同等であり大きな変化が認められなかった。一方、CZOP及びFMOX作用後のpopulationは、耐性側にシフトする傾向がみられ、高濃度の薬剤含有プレートで発育するコロニーの増加が認められた。CFSLが耐性化を引き起こしにくい要因として、PBP2' に親和性が強く、MIC以上の濃度で優れた殺菌力を示し、cell population が他剤に比較して均一であるという性質が考えられた。

*in vivo*においてもこのような現象が見られるか否かを確かめるため、ラット骨髄内感染を用い、同様の検討を行ったので、併せて報告する予定である。

MRSAの耐性化におよぼすカルバペネムの影響：ヒト血中濃度シミュレーションモデルを用いた検討

住友製薬 創薬第三研究所

○金澤勝則、納田浩司

【目的】 β -lactam 剤との接触によってMRSAの耐性度が高まることはよく知られており、高度耐性株の増加という点で臨床上大きな問題である。この様なMRSAの耐性度におよぼす影響力は薬剤によって差が認められ、イミペネム(IPM)はその影響が強い薬剤の一つとされている。一方、メロペネム(MEPM)は、IPMと同じカルバペネムでありながらもその構造に基づく物性の違いから、種々の抗菌特性がIPMとは異なり、MRSAに対してもその主要耐性因子であるPBP-2'に対する親和性がIPMよりも高いことを既に報告した。今回は、薬剤作用によるMRSAの耐性度におよぼす影響について、薬剤間に相違が認められるものかどうかを検討する目的で、ヒト血中濃度シミュレーションモデルを用いた薬剤作用により、MRSAの耐性度がどの様に変化するか比較検討したので報告する。

【方法】 菌株：臨床分離の中等度耐性MRSA(MIC_{DMPPC}: 25 μ g/ml)。培地：MHB, MHA。薬剤処理：点滴静注後の血中濃度推移を再現した*in vitro* ヒト血中濃度シミュレーションモデル。耐性度の評価：MIC 測定(寒天平板希釈法)および薬剤耐性ポピュレーション解析。

【結果・考察】 シミュレーション開始24時間後の菌のメチシリン(DMPPC)感受性を調べた結果、いずれの薬剤で処理した菌も未処理菌に比べて感受性の低下が認められたが、処理薬剤間でその程度に差が認められ、MEPM処理菌(MIC_{DMPPC}:50 μ g/ml)の感受性変化はIPM処理菌(MIC_{DMPPC}:400 μ g/ml)に比べて明らかに小さく、CZOP処理菌(MIC_{DMPPC}:100 μ g/ml)とほぼ同等であった。他の各種 β -lactam剤に対する感受性の変化についても同様の結果が得られた。また、薬剤耐性ポピュレーション解析の結果も同傾向を示し、MEPM処理によるカルバペネム耐性化の度合いはCZOP処理とほぼ同等であり、IPM処理に比べると明らかに小さかった。

以上の結果から、ヒトでの血中濃度推移に基づいた作用において、MEPMはIPMに比べてMRSAの耐性誘導能が低く、CZOPとほぼ同等であることが示された。

(会員外共同研究者：住田能弘、宮口幹子、兼西ゆか)

薬剤濃度シミュレーションシステムによるMRSAおよび緑膿菌に対するpanipenemとfosfomicinの併用効果

東邦大学医療短期大学

○辻 明良、谷 昌樹、福家 淳、五島瑛智子

(目的) Compromised hostにおけるMRSAや緑膿菌による感染症は、単剤療法では無効なことが多く、難治性で、併用療法が行なわれることが多い。

今回は、MRSAおよび緑膿菌に対するpanipenem(PAPM)とfosfomicin(FOM)の併用効果を、ヒト常用投与における血中濃度推移をin vitroでシミュレートさせ薬剤の殺菌効果について検討した。

(方法) Mueller-Hinton brothを用い、ボトル内にS. aureus No. 235 (MRSA)あるいはP. aeruginosa E7を接種し、薬剤を添加した。薬剤の濃度推移はヒト血中濃度を使用し、PC9801 (NEC)で制御させた。経時的に生菌数を測定し、薬剤の殺菌効果を検討した。併用については、PAPMとFOMの同時投与、PAPMを先行投与後、FOMを4時間後または8時間後投与する場合、あるいは、FOMを先行投与後、PAPMを4時間後に投与または8時間後に投与する時差投与についても検討した。

(成績) S. aureusに対するPAPMとFOMの併用は、PAPMを先行投与し、次いでFOMを投与する方法の方が、同時投与あるいはFOM先行投与後、PAPMを投与する方法より、殺菌維持時間の延長が認められた。また、P. aeruginosaでの検討でも、同様の傾向が認められた。すなわち、PAPM先行投与後、FOMを投与する方が、同時投与およびFOM先行投与後PAPMの投与に比べ、優れた併用効果が認められた。

抗菌薬のpostantibiotic subMIC effectについての検討

東京女子医科大学感染対策科

○戸塚 恭一、松井由香、志関雅幸、内山竹彦

(目的) 抗菌薬療法ではMIC以上の抗菌作用とともにsub MICにおける抗菌作用が生体内における抗菌薬効果を知る上で重要である。今回肺炎球菌、黄色ブドウ球菌に対するpostantibiotic subMIC effect(PASME)について検討したので報告する。

(方法) 黄色ブドウ球菌Smith株、肺炎球菌T929株を使用した。MICの測定は微量液体希釈法によった。黄色ブドウ球菌についてはclarithromycin(CAM)、minocycline(MINO)、panipenem(PAPM)、cefotiam(CTM)、gentamicin(GM)、levofloxacin(LVFX)、肺炎球菌についてはCAM、MINO、PAPM、CTM、ceftazidime(CAZ)について検討した。各薬剤の4MIC(GMとLVFXは2MICにて1時間)にて2時間接触させ、メンブランフィルターにて洗浄後、同一薬剤の0MIC、1/8MIC、1/4MICを新たに液体培地加えて経時的に生菌数を測定した。PAEは常法により、PASMEは薬剤除去直後の生菌数から $1 \log_{10}$ 増殖する時間より薬剤を接触させないコントロールが $1 \log_{10}$ 増殖する時間を差し引いた値とした。

(結果) 黄色ブドウ球菌Smith株に対してCAM、MINO、PAPM、CTM、GM、LVFXのPAEは各々3.2h、2.9h、0.5h、0.5h、0.7h、2.0hであった。PASMEは1/8MICでは各々4.2h、3.6h、1.3h、4.6h、2.5h、2.2hであった。1/4MICでは各々7.4h、13.9h、7.5h、22.0h、3.5h、8.3hであった。肺炎球菌T929株に対してCAM、MINO、PAPM、CTM、CAZのPAEは各々2.2h、1.0h、1.7h、0.3h、0.2hであった。PASMEは1/8MICで各々3.5h、1.3h、1.5h、0.3h、0.8hであった。1/4MICでは各々4.9h、2.1h、1.6h、-0.2h、1.0hであった。

(考察) 黄色ブドウ球菌および肺炎球菌に対して検討した抗菌薬にPAEおよびPASMEを認めた。黄色ブドウ球菌に対しては1/4MICでは1/8MICと比較して数倍のPASMEを示すものが見られたが、肺炎球菌では顕著ではなかった。

teicoplanin および vancomycin の histamine 遊離誘起作用の有無についての研究 (第1報)

— マウスおよびモルモットにおける検討 —

京都薬科大学薬理

○山村秀樹, 奈辺 健, 畑中正和, 篠田直樹, 河野茂勝

(目的) teicoplanin は methicillin-resistant

Staphylococcus aureus に対する有効な薬剤であり, 同様の作用を有する vancomycin に比して red man syndrome (RMS) が発症しにくいことが知られている。一方, vancomycin は RMS のみならずその吸入療法時に時として喘息様症状を引き起こすことも報告されている。今回, RMS の発症要因が vancomycin による非免疫学的な histamine 遊離によると推察されていることから, teicoplanin および vancomycin によるマウス骨髄由来培養肥満細胞およびモルモット肺切片からの histamine 遊離ならびにモルモット気道系組織の収縮作用の有無について検討した。

(方法) histamine 遊離の検討では, マウス骨髄由来培養肥満細胞もしくはモルモット肺切片を teicoplanin もしくは vancomycin とともに 37°C, 30 min incubation し, medium 中に遊離した histamine を cation exchange column を装着した高速液体クロマトグラフィーにより分離した後, 蛍光法により定量した。モルモットの気管および肺実質標本に対する収縮誘起作用の検討は isotonic transducer を用いた Magnus 法により行なった。

(結果) (1) teicoplanin および vancomycin ($10^{-5} \sim 10^{-3}$ g/ml) はマウス骨髄由来培養肥満細胞 およびモルモット肺切片からの histamine 遊離を誘起しなかった。(2) モルモット気管筋および肺実質標本に teicoplanin および vancomycin ($10^{-6} \sim 10^{-3}$ g/ml) を作用させても明らかな影響を及ぼさず, また Magnus 槽内への histamine 遊離もみられなかった。

(結論) teicoplanin および vancomycin のいずれの薬剤もマウスの肥満細胞およびモルモットの気道系組織から histamine もしくは気道系平滑筋に対する収縮性物質を遊離させる作用はないことが明らかとなった。

teicoplanin および vancomycin の histamine 遊離誘起作用の有無についての研究 (第2報)

— カニクイザルおよびヒトにおける検討 —

京都薬科大学薬理, *大垣市民病院呼吸器内科

○奈辺 健, 山村秀樹, 篠田直樹, 清水 要, 畑中正和, 水谷暢明, 山下和紀, 堀場通明*, 河野茂勝

(目的) 第1報にひき続き, 第2報では teicoplanin ならびに vancomycin によるカニクイザルおよびヒトの肺切片および末梢血好塩基球からの histamine 遊離, ならびに気道系組織の収縮誘起作用の有無について検討した。

(方法) histamine 遊離の実験では, 1 mm 大の肺切片もしくは dextran 沈降法により採取した末梢血好塩基球を teicoplanin もしくは vancomycin とともに 37°C, 30 min incubation し, medium 中に遊離した histamine を cation exchange column を装着した高速液体クロマトグラフィーにより分離した後, 蛍光法により定量した。気管, 気管支および肺実質標本に対する収縮誘起作用の検討は isotonic transducer を用いた Magnus 法により行った。

(結果) (1) teicoplanin および vancomycin ($10^{-6} \sim 10^{-3}$ g/ml) はいずれもカニクイザル肺切片および末梢血好塩基球から histamine 遊離を誘起しなかった。(2) teicoplanin はカニクイザル気管, 気管支および肺実質に対し収縮を全く誘起しなかったが, vancomycin は気管標本に対して 10^{-3} g/ml で Magnus 槽内の histamine 遊離量の増加を伴う明らかな収縮を引き起こした。(3) ヒト肺実質からの histamine 遊離は両薬物によって引き起こされなかった。(4) teicoplanin はヒト気管支および肺実質標本に対しほとんど影響を及ぼさなかった。一方, vancomycin 10^{-3} g/ml は気管支に対して著明な収縮を引き起こしたが, これに伴う明らかな histamine 遊離は認められなかった。

(結論) teicoplanin はカニクイザルおよびヒトの主として気道系組織に対し histamine 遊離および収縮を誘起しないが, vancomycin は比較的中枢に近い気道組織を histamine 遊離を介するかもしくはそれ以外のメカニズムで収縮させることが明らかとなった。

抗菌剤のアレルギー原性の検討

国保水原郷病院 薬剤科¹⁾・内科²⁾

○八木元広¹⁾, 宇野勝次¹⁾, 鈴木康稔²⁾, 関根理²⁾

第一製薬 安全性研究所

服部浩之, 山口文恵

【目的】抗菌剤の過敏性副作用は発現頻度が高く、化学療法に大きな障害となっている。そこで、抗菌剤服用患者、過敏症疑診患者および白血球遊走阻止試験(LMIT)陽性患者を調査し、各抗菌剤のアレルギー原性を検討し、さらにその機序の基礎的検討を行う予定である。

【方法】当院の過去5年間(H3.1~H7.12)の抗菌剤内服薬の服用患者10,364例を対象に、各抗菌剤過敏症疑診患者およびLMIT陽性患者を調査した。LMITはアガロース平板法の間接法を用いた。

【結果】抗菌剤過敏症疑診患者は63例(0.608%)で、LMIT陽性患者は42例(0.405%)であった。薬剤別の過敏症疑診患者の発現率は、 β -ラクタム系薬剤が0.534%(50/9369)、そのうちペニシリン系薬剤0.442%(7/1582)、セフェム系薬剤0.552%(43/7787)で、その他キノロン系薬剤が0.097%(3/3098)、マクロライド系薬剤が0.236%(7/2969)、テトラサイクリン系薬剤が0.442%(3/678)であった。薬剤別のLMIT陽性患者の発現率は、 β -ラクタム系薬剤が0.363%、そのうちペニシリン系薬剤0.442%、セフェム系薬剤0.347%で、キノロン系薬剤が0.032%、マクロライド系薬剤が0.135%、テトラサイクリン系薬剤が0.442%であった。したがって、ペニシリン系薬剤とセフェム系薬剤の間に有意差を認めなかったが、キノロン系薬剤は β -ラクタム系薬剤に比べ過敏症疑診患者で約1/5($p < 0.0025, \chi^2$ -test)、LMIT陽性患者で約1/10($p < 0.005, \chi^2$ -test)の発現率であった。また、マクロライド系薬剤も β -ラクタム系薬剤に比べ過敏症疑診患者で約1/2($p < 0.05, \chi^2$ -test)の発現率を示した。

【考察】以上の結果から、キノロン系薬剤は β -ラクタム系薬剤に比べアレルギー原性(過敏症疑診患者および細胞性免疫関与のアレルギー反応の発現率)が有意に低いと考えられる。今後、基礎的実験を行い、両薬剤のアレルギー原性の相違のメカニズムをさらに検討するつもりである。

乳児におけるCefdinir細粒の臨床評価

—特に便性状変化を中心にして—

名鉄病院小児科

○中村はるひ、岩井直

【目的】Cefdinir(CFDN)は、*S. aureus*にも強い抗菌力を示すニューキノロン系セフェム剤で、又その細粒剤は服用性が極めて高いことより、小児期の感染症に多用されている抗菌薬の1つである。しかし、乳児においては、下痢・軟便の発現頻度が高く、又赤色便を呈すること等の問題を有するといわれる。そこで今回は、便性状変化を中心にして本製剤の臨床評価を乳児において行ってみたので、その結果を報告する。

【方法】1994年6月~1995年6月までの間に関連施設10病院の小児科において本製剤を投与された1~15カ月の乳児129例を対象に臨床評価を行った。疾患の内訳は、急性咽喉頭炎71例、急性扁桃炎7例、急性気管支炎43例、急性肺炎2例、浅在性皮膚感染症3例、急性尿路感染症1例、急性中耳炎1例、溶連菌感染症1例であった。又、投与量は9.9~25.0mg/kg/日、投与日数は1/2~8日であった。

尚、便性状変化については、保護者に対するアンケート調査により検討を行った。

【結果】臨床効果の判定対象となった症例は102例で、その結果は著効49例、有効46例、やや有効1例、無効6例で、有効率は93.1%であった。尚、菌判明例53例をみると著効24例、無効5例で、有効率は85.7%であった。又、投与前後の菌検索が行われた症例における細菌学的効果は、グラム陽性菌7株は消失5株、存続2株、グラム陰性菌14株は消失6株、減少1株、存続7株で、両者を含めた菌消失率は52.4%であった。副作用の解析は125例に可能で、発疹3例、水様便22例、泥状便3例、軟便3例が認められた。又検討しえた18例の中で臨床検査値異常を呈した症例はなかった。赤色便については、解析対象例113例中60例に認められた。尚、本剤の赤色便が特殊調整粉乳等に含まれる鉄とのキレート結合によると推測されていることから、水、牛乳、ミルクに懸濁し、服用した際の血中濃度推移を乳児3例、成人3例において検討した結果、3者に大きい差は認められなかった。

菌体内ATP測定による抗菌薬感受性検査（第二報）
東京慈恵会医科大学内科学講座第2

柏病院総合内科*

○吉田正樹、相澤久美子、猿田克年、中澤 靖、
坂本光男、進藤奈邦子、前澤浩美、柴 孝也、
酒井 紀、齋藤 篤*

【目的】微量液体希釈法と菌体内ATP測定による抗菌薬感受性検査を比較検討した結果を第44回本学会にて報告した。今回は *Staphylococcus aureus* の株数を増やし、また *Pseudomonas aeruginosa* についても検討した。

【方法】微量液体希釈法は、日本化学療法学会標準法に従って行った。菌体内ATP測定による薬剤感受性検査は、微量液体希釈法と同様にmicroplateを用いて菌を接種し、6時間培養後に、培養液50μlを採取し検体とした。検体にATP抽出液50μl、HEPES緩衝液50μlを加え、ルシフェリン・ルシフェラーゼ50μlを加えルミカウンター1000にて化学発光を測定しATPを測定した。ATP値により菌の発育の有無を判定した。微量液体希釈法の結果と菌体内ATP測定による薬剤感受性検査の結果を比較検討した。菌は、*S. aureus* 12株及び *P. aeruginosa* を用いて、薬剤はampicillin(ABPC)、piperacillin(PIPC)、cefazolin(CEZ)、cefotiam(CTM)、ceftazidime(CAZ)、minocycline(MINO)、amikacin(AMK)、arbakacin(ABK)、imipenem(IPM)、ofloxacin(OFLX)、clarithromycin(CAM)、vancomycin(VCM)を使用した。

【結果】菌の増殖がみられたものでは、化学発光値が高く、ATPが高値であった。*S. aureus* については、微量液体希釈法の結果と菌体内ATP測定による薬剤感受性検査の結果は、CTM、MINO、ABK、CAM、VCMでは100%、AMKでは90.9%、PIPC、CEZ、CAZ、IPMでは81.8%、ABPCでは72.7%、の一致を見たが、OFLXでは27.3%と低かった。*P. aeruginosa* については株数を増やし検討中である。

【結論】菌体内ATP測定による薬剤感受性検査は短時間内に結果が得られ、OFLXを除けば微量液体希釈法によるMIC測定とよく相関するものと思われる。

ATP法の迅速薬剤感受性試験への応用
(その1) ATP法による問題点の解析

キッコーマン(株)研究本部¹⁾

千葉大・薬・微生物薬品化学²⁾

○服部憲晃¹⁾、中島基雄¹⁾、小原康治²⁾、
澤井哲夫²⁾

【目的】ホタル由来ルシフェラーゼを用いたATP法による薬剤感受性試験は2～5時間で判定できるという迅速性から非常に注目されてきたが、未だ実用化されていない。その要因であったルシフェラーゼの安定供給、安定性の問題が遺伝子組み換え技術によって克服された。そこでATP法の信頼性を検討するため、現行法である微量液体希釈法との相関を検討した。

【方法】使用菌株：*E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212, *P. aeruginosa* ATCC 27853。薬剤(化療略号)：PIPC, IPM/CS, ABPC, GM, OFLX。微量液体希釈法：日本化学療法学会標準法。ATP法：微量液体希釈法に準じ3時間培養した培養液100μlにATP抽出試薬100μlを添加し、20秒後に発光試薬100μlを添加して直ちに発光量(A)をDynatech社製ML-3000で測定した。薬剤不含の対照の発光量(B)からATPインデックス(A/B×100%)を求め、40%より大きい場合を耐性、40%以下を感受性と判定した。

【結果及び考察】*E. coli*, *S. aureus* 及び *E. faecalis* の全薬剤に対する感受性試験結果は、ATP法と微量液体希釈法で完全に一致した。一方 *P. aeruginosa* は、βラクタム薬剤であるPIPC及びIPM/CSで微量液体希釈法では感受性であるのに対しATP法では耐性、すなわちATP法の偽耐性による不一致が認められた。この原因を検討するため、5μg/mlのPIPC(1.5×MIC)含有培地でATP量の経時変化をモニタリングした。その結果、*E. coli* は培養3時間でATP量が急激に減少したのに対し、*P. aeruginosa* は培養4時間まで対照と同等であった。ATP法で判定を行う培養3時間の *P. aeruginosa* の形態を顕微鏡で観察したところ、正常な細胞の約30倍にまでフィラメント化した菌が観察された。よって、ATP法の偽耐性は、ATP法で判定を行う培養3時間では菌体がフィラメント化し生存していることが原因とわかった。

ATP法の迅速薬剤感受性試験への応用
(その2) 現行法との相関性の改善

千葉大・薬・微生物薬品化学¹⁾
キッコーマン(株)研究本部²⁾
○小原康治¹⁾、澤井哲夫¹⁾、服部憲晃²⁾、
中島基雄²⁾

【目的】前演題において ATP法と微量液体希釈法の不一致が *P. aeruginosa* のβラクタム薬剤における試験において認められ、菌体のフィラメント化がその原因であることを示した。そこで、フィラメント化菌内のATPを特異的に消去する前処理法を検討し、この前処理法を組み合わせた新規ATP法の可能性を検討した。

【方法】使用菌株：*E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212, *P. aeruginosa* ATCC 27853。薬剤(化療略号)：PIPC, CPZ, AZT, IPM/CS, CAZ, CFS, CEZ, FOM, ABPC, GM, TOB, OFLX。微量液体希釈法：日本化学療法学会標準法。フィラメント化菌に特異的なATP溶出物質のスクリーニングのため、5μg/mlのPIPC(1.5×MIC)含有培地で培養した *P. aeruginosa* の培養液 100 μl に、25 mM Tricine (pH 7.75) に溶解した界面活性剤および乳化剤(0.005~0.2%) 50 μl を添加し 30分室温放置、発光試薬 50 μl を添加し直ちに発光量をキッコーマン(株)社製ルミテスター K-100 で測定。

【結果及び考察】フィラメント化 *P. aeruginosa* に特異的なATP溶出物質として 2-amino-2-methyl-1,3-propanediol (AMPD) を見出した。溶出したATPをすぐさま消去するため Adenosine nucleotide deaminase (ANDase) を含む Filamentous cell treatment の組成を 0.5% AMPD, 0.3 U/ml ANDase, 5 mM EDTA, 25 mM Tricine (pH 7.75) と決定した。従来ATP法で偽耐性が認められた *P. aeruginosa* の試験において、Filamentous cell treatment による前処理を特徴とする新規ATP法による判定結果は、微量液体希釈法と完全に一致した。また、従来ATP法でも微量液体希釈法と一致する結果が得られた *E. coli*, *S. aureus* 及び *E. faecalis* の試験においても一致した。従って、新規ATP法は従来ATP法の偽耐性を解決でき、広く一般的な薬剤感受性試験に適用できる可能性が示唆された。

ATP法の迅速薬剤感受性試験への応用
(その3) 臨床分離株を用いた実用性の評価

(株)ビー・エム・エル¹⁾
キッコーマン(株)研究本部²⁾
千葉大・薬・微生物薬品化学³⁾
○井田博久¹⁾、坪井五三美¹⁾、由川英二¹⁾、
水岡慶二¹⁾、服部憲晃²⁾、中島基雄²⁾、
小原康治³⁾、澤井哲夫³⁾

【目的】細菌の感受性試験は一般的にディスク法が微量液体希釈法で行われているが、両方法とも 18~24 時間の培養時間を必要とする。しかし、ルシフェラーゼを用いたATP法は細菌のATPを測定することにより 2~5 時間で判定できる可能性が考えられた。今回我々はその迅速性に着目し、実用化について検討したので報告する。

【方法】使用菌株：臨床分離 *E. coli* 20 株, *S. aureus* 30 株。薬剤(化療略号)：ABPC, CCL, CEZ, IPM/CS, FOM, AMK, MINO, OFLX。微量液体希釈法：日本化学療法学会標準法。ATP法：微量液体希釈法に準じて白色の96穴マイクロプレート中の100μlの培地で菌を3時間培養後、Filamentous cell treatment 50 μl を添加し 30分室温放置、ATP抽出試薬 50 μl を添加、更に発光試薬 50 μl を添加し発光量を ML-3000 で測定。感受性成績は昭和ディスクの濃度設定に準じて 4段階(−~3+) で判定、2方法による判定結果を比較した。完全な判定結果の一致を Perfect Agreement(PA)、1ランク差を Essential Agreement(EA) とし集計した。

【結果及び考察】*E. coli* の場合、ほとんどの薬剤で PA判定で 70% 以上、EA判定で 90% 以上の優れた相関が得られた。一方 *S. aureus* の場合、PA判定で 60% 以上、EA判定で 80% 以上となり、*E. coli* に比べやや低い相関となった。ABPCのPA判定は *E. coli* で 50%、*S. aureus* で 30% と低かったが、EA判定では 80% 程度の良好な相関となった。全薬剤の平均一致率は、*E. coli* のPA判定で 80.6%、EA判定で 94.4% であり、*S. aureus* のPA判定で 65.8%、EA判定で 90.0% であった。以上よりATP法は微量液体希釈法と高い相関を示し、3.5時間で判定できるという迅速性から実用化が期待される。今後は更に幅広い菌種、薬剤において評価を進めていく予定である。

酸素電極による抗生剤感受性測定（第4報）
 ー薬剤併用によるMIC値測定ー

東京慈恵会医科大学臨床検査医学教室
 ○奥村千晶 河野緑 保科定頼 町田勝彦

【目的】

当教室では培養液中の酸素濃度を測定する電極（酸素電極）を用いて、細菌の呼吸の有無より薬剤感受性を測定する検査法を開発中である。今回はMRSA株を用いてABKとABPCおよびCTMを併用した場合のMIC値測定について検討した。

【方法】

β -ラクタマーゼ産生性の異なるMRSA株（EK株、OH株）を用い日本化学療法学会標準法（微量液体希釈法）による測定法を対照として行った。電極法では、抗生物質の有無による細菌の酸素消費速度を比較して呼吸阻害濃度(IC)を求め、MICに対応する係数を考案して薬剤感受性を測定した。

【結果】

EK株、OH株の標準法によるABK、ABPC、CTMの単独薬剤MIC(mcg/ml)は0.5,0.25(ABK)、32,64(ABPC)、>128,>128(CTM)であった。ABK100mg投与時の3時間血中濃度2.4mcg/mlを1とした時の各薬剤の常用投与量における3時間血中濃度比をABK/ABPC=1:1.8、ABK/CTM=1:0.92とすると、併用時MIC(mcg/ml)はEK株ではABK=0.5、ABPC=0.9、CTM=0.46であり、OH株ではABK=0.25、ABPC=0.45、CTM=0.28となった。これを電極法で測定すると、EK株、OH株のABK、ABPC、TMの単独薬剤IC(mcg/ml)は0.5,0.5(ABK)、64,256(ABPC)、>1000,64(CTM)となり、併用時IC(mcg/ml)はABK=0.5、ABPC=4、CTM=4となった。

【結論】

酸素電極を用いて細菌の呼吸の有無を調べ、薬剤の併用による感受性の変化を短時間で測定できることが確認された。

MRSAに対するカルバペネム系抗生物質とバンコマイシンあるいはテイコプラニンとの併用効果に関する*in vitro*に於ける検討

慶應義塾大学・中央臨床検査部
 ○小林芳夫、内田博

目的：カルバペネム系抗生物質に耐性のMRSAに対するポリペプチド系抗生物質とカルバペネム系抗生物質の併用効果を*in vitro*に於いて2つの異なる方法を用いて検討した。

材料と方法：ポリペプチド系抗生物質としてVCMとTEICをカルバペネム系抗生物質としてはIPM、PAPMおよびMEPMを使用した。併用効果の検討はチェッカーボード法とE-testを用いたディスク法の2法によりおこなった。MRSAはPCR法にて*mecA*遺伝子を保有しIPM耐性株であることが明らかになった。MRSAはPCR法にて*mecA*遺伝子を保有しIPM耐性株であることが明らかになった。

成績：チェッカーボード法においては使用菌27株に対してVCMとIPM、PAPMあるいはMEPMの併用では、おのおの2/4、2/3および2/3株に対して相乗効果を認めた。またTEICとIPM、PAPMあるいはMEPMとの併用に於いては2/7株中2/3、2/6および2/5株に対して相乗効果を認めた。一方E-testを用いたディスク法においてはVCMとIPMあるいはMEPMではいずれの組み合わせに於いても2/7株中8株に対して相乗作用を認めたに過ぎなかった。残る大多数の株に対しては相乗作用を示唆する成績に止まった。一方TEICとIPMあるいはMEPMの組み合わせでは各々2/0株に対して相乗作用を認めた。なおいずれの方法いずれの組み合わせにおいても拮抗作用は認められなかった。

考察：2つの異なる方法においてIPM耐性MRSAに対して相乗作用が認められたことは、重症のMRSA感染症においてはたとえカルバペネム耐性菌であってもグリコペプチド系抗生剤と併用すれば臨床的に有効性が期待できるものと考えられた。なおVCMとカルバペネム系抗生剤との組み合わせで相乗効果が認められた株がTEICとカルバペネム系抗生剤との組み合わせと比較して著しく少数で相乗作用を示唆する成績に止まったのは、IPMおよびMEPMのディスクの最高濃度が32 μ g/mlのため、正確なFICindexが計算できなかった事によると考えられた。

NfxB型多剤耐性蛋白をもつ緑膿菌 R 2 に対するFOMとβ-lactam薬の併用効果

明治製菓薬品総合研究所

○高山吉弘, 大橋直子, 新井田昌志,

平野文也

京都薬科大学 微生物

後藤直正, 西野武志

【目的】キノロン系薬の耐性機構の一つは, NaIB変異により増加する外膜蛋白OprMの研究から多剤耐性システム(MexA-MexB-OprM)の存在が明らかになっている。この耐性機構は, 細胞内に透過した抗菌薬の細胞外への排出により起こると考えられている。我々はすでにNaIB型変異株に対し, FOMとβ-lactam薬との併用が効果を示すことを報告した。緑膿菌のキノロン耐性変異の一つであるNfxB変異は外膜蛋白OprJを産生し, キノロンや一部のβ-lactam薬に対しても耐性をもたらす。今回, 我々はこのような排出蛋白を持つ株に対して, FOMとβ-lactam薬の併用効果を検討した。

【材料および方法】緑膿菌PA01株から, Masudaraの方法(AAC 40:909-913, 1996)に従って, NFLXを含む寒天平板培地からNFLX耐性株(R 2)を選択し, 実験に使用した。薬剤感受性測定(MIC測定)は化学療法学会感受性測定法に準じて行った。外膜蛋白OprJは, 抗OprJ単クローン抗体を用いたウイスタンブロット法により確認した。また, FOMとβ-lactam薬の併用作用は, 殺菌効果を調べることにより検討した。(結果および考察)分離したR 2株に対するβ-lactam薬, TC, OFLXおよびNFLXのMICは, PA01株と比較し2~32倍上昇していた。

また, 外膜蛋白OprJの新生が観察された。これらの結果から分離した株がNfxB型耐性株であることを確認した。この多剤耐性株を用いてFOMとβ-lactam薬との併用殺菌作用を調べたところ明らかな併用効果が観察された。

FOM 25 μg/ml(1/4 MIC)を4時間作用させたR 2(pMS363)株におけるCFPMの菌体内濃度を測定した結果, FOM未処理菌と比較して菌体内のCFPM取り込み量が約8倍増加していた。

これらの結果から, FOMはNfxB型多剤耐性株に対してもβ-lactam薬との併用効果を発揮することが認められた。

E test による尿路分離緑膿菌に対する抗菌薬の併用効果 — Checkerboard 法との比較 —

鹿児島大学泌尿器科

○速見浩士, 松下真治, 内田洋介, 原田尚毅,

北川敏博, 川原元司, 後藤俊弘, 大井好忠

【目的】今回 Epsilometer test (E test; AB BIODISK 社)を用いて緑膿菌に対する各種抗菌薬の抗菌力と併用効果を検討し, 寒天平板希釈法による抗菌力および Checkerboard 法による併用効果と比較した。

【対象と方法】1991年から95年の当科における尿路感染症由来の緑膿菌100株からMIC値に偏りがなく, 血清型別可能な前回の本学会での報告で用いた27株を対象とした。E test に用いた抗菌薬は IPM, PIPC, CPFY, AMKとした。MIC測定は, Mueller Hinton AgarにMcFarland 0.5に調整した菌液を滅菌綿棒で均一に塗抹した試験培地を作成し, E test stripを平板上に置き, 35℃で18時間培養し増殖阻止円を目盛りよりMICを求めた。抗菌薬の併用効果は上記試験培地上にそれぞれのMICで直交するようにE test stripを置き, sub-MICでの増殖阻止円よりFIC indexを求めた。

【結果】緑膿菌27株に対する抗菌薬の E test によるMIC80は IPM 6, PIPC 8, CPFY >32, AMK 6 μg/mlであり, 寒天平板希釈法によるMIC80はそれぞれ 6.25, 25, 50, 6.25 μg/mlであった。併用効果はIPM+CPFY, IPM+AMK, PIPC+CPFY, PIPC+AMKの組み合わせで検討し, E test での各組み合わせにおいて拮抗した菌株は認めなかった。mean FIC index は E test ではそれぞれ1.556, 1.530, 1.266, 0.972であり, Checkerboard法ではそれぞれ0.765, 0.725, 0.652, 0.553であった。

悪性リンパ腫細胞株に対するCPT-11と
mitoxantroneとの併用効果の検討

東邦大学第一内科
○新津 望, 梅田正法

〔目的〕 Camptothecinの半合成誘導体である
irinotecan hydrochloride (CPT-11) は, topoisomerase
I 阻害剤で臨床的に肺癌, 結腸癌, 悪性リンパ腫
などに有用性が認められている。CPT-11は, 白血
病/リンパ腫細胞株に対しapoptosisを起こすことが
知られているが, その機序は明らかになっていない。
今回CPT-11のapoptosisの機序とmitoxantrone
(MIT)との併用効果を検討した。〔方法〕 B細胞性
リンパ腫細胞株BALM3細胞に種々の濃度のCPT-11
を処理し, MTT assayにてviable cellを検討した。
また, apoptosisは形態とflow cytometryで確認し,
bcl-2, bcl-XL, bax, Fas mRNAの発現はRT-PCRで検
討した。Fas抗原の発現はCH-11を用い flow
cytometryで検討した。また, ICEおよびCPP32の
inhibitorを用い MTT assay にてviable cellを検討した。
MITとCPT-11の併用についても MTT assayに
て検討した。〔結果〕 BALM3細胞のCPT-11のIC₅₀
は 1.5×10^{-5} Mで, CPT-11添加24時間後よりbcl-2,
bcl-XL mRNAの発現が低下したが, baxは変化しな
かった。また, Fas抗原 (CH-11) の発現は軽度増加
したが, Fas mRNAは変化しなかった。ICEおよび
CPP32 inhibitorにてapoptosisは抑制された。CPT-11
とMITの併用効果は, additiveで adriamycin (ADM)
と同様であった。Cell cycleの検討ではMITのG₂/M
期の増加をCPT-11とMITの併用では増強した。

〔結語〕 CPT-11は, BALM3細胞に対しbcl-2, bax
mRNAを低下させ, ICEおよびCPP32の関与により
apoptosisを起こすと考えられた。また, 臨床的には
CPT-11はADM使用歴のある再発性・難治性悪性リン
パ腫に使用されることが多いため, ADMと同等
の効果をもたらす心毒性の少ないMITとの併用は
有用であると考えられた。

本研究は, 埼玉県立がんセンター・研・化療
本間良夫氏との共同研究である。

再発・治療抵抗性AMLに対す
るBAP療法

東京慈恵会医科大学内科3

○土橋史明, 小林 直, 薄井紀子,
山崎博之, 浅井 治, 矢野真吾,
加藤明徳, 斎藤 健, 山口祐子,
倉石安庸

〔目的〕 再発・治療抵抗性となった急性
骨髄性白血病 (AML) に対して,
behenoyl Ara-C (BHAC),
aclacinomycin A (ACK) 及び
prednisolone (PDN) による
BAP療法を施行し, その有用性につ
いて検討した。【対象及び方法】 対象は,
1982年より1995年までに当科に入
院したAML症例で,
daunorubicin (D) あるいは
idarubicin (I) とAra-C (A)
を基本とした寛解 (CR) 導入療法に対
し, CR導入できなかった
induction failure (IF) 例,
あるいは再発例とした。治療方法は,
BHAC $130 \text{ mg} / \text{m}^2 \text{ d}1-14 \text{ iv}$,
ACM $13 \text{ mg} / \text{m}^2 \text{ d}1-14 \text{ iv}$,
PDN $60 \text{ mg} / \text{m}^2 \text{ d}1-5 \text{ po}$ とした。
なおBHAC, ACMの投与期間は, 投
与開始後7日目あるいは10日目に骨髄
穿刺検査を施行し, 十分な骨髄抑制及
びblastの減少を認めた場合はそこで
投与を終了した。【結果】 49例が登録
され47例が評価可能であった。年齢の
中央値は44歳, 男性27例, 女性20例
でありFAB分類では, M1: 13例, M
2: 23例, M3: 2例, M4: 5例,
M5, M6はそれぞれ2例であった。再
発例は27例, IF例は20例であり, 再
発例のうち13例は, 再発時に再度同じ
治療法でCR導入が施行され, 臨床的に
治療抵抗性であることが確認されて
いた。治療効果は, CRが25例
(53.2%) に認められた。前治療に対
する効果別では, 再発例で14例
(51.9%), IF例で11例 (55%)
のCRが認められた。副作用では, 悪心
嘔吐などの消化器症状, 肝障害, 不整
脈などが認められ, そのうち1例が,
CR中に心室頻拍で死亡した。【考案】
BAP療法は, DあるいはIとAを中心と
したAMLに対する標準的な治療法に対
して, 臨床的に交差耐性を認めない可
能性が示唆された。

成人急性骨髄性白血病の寛解導入療法における
daunorubicin の役割

東京慈恵会医科大学血液・腫瘍内科

*愛知県がんセンター

○薄井紀子, 土橋史明, 小林 直, 矢野真吾, 牧 信子, 齋藤 健, 山口祐子, 長峰 守, 香取美津治, 渡辺 浩, 浅井 治, 加藤明德, 萩原朝彦, 山崎博之, 小川一誠*, 倉石安庸

(目的) 成人急性骨髄性白血病(AML)の寛解導入療法の要となる薬剤であるdaunorubicin(DNR)は, 新しいanthracycline系薬剤であるidarubicin(IDR)との比較試験で, その有効性が劣るとの報告が近年なされている。我々は, DNRを充分な白血病細胞の除去がなされるまで連続して投与しており, この治療成績を基に, 臨床におけるDNRの至適投与方法とその役割を検討した。(対象と方法) 1985年6月より1996年12月までに当科に入院の未治療のAML症例を, DC(T)P(III)療法で治療した。寛解導入(CR)まで骨髓検査を繰り返し, 充分な白血病細胞の減少を得るまで, DNRは40mg/M²連日静注投与し, 寛解導入(CR)までに要したDNR量, CR率, 無再発生存率, 及び, 生存率を分析した。(結果) 83症例が登録され, 全例が評価可能であり, 年齢中央値43歳(16-63歳), 男女比は51/32であった。63症例がCRに導入され(75.8%), 5年及び10年無再発生存率は28.4%であった。第1コースでCRに導入された52症例のCR到達までのDNR投与量は中央値280 mg/M²(120-480 mg/M²)で, 中央値7日間(5-12日間)を要した。1例が第18病日に敗血症で死亡したが, 急性の心毒性は認められず, 他の副作用も臨床的に管理可能であった。(考案) AMLの寛解導入療法で一般的とされているDNR40-60 mg/M²3日間投与は, 至適投与量ではなく, 投与量を増加した効果で, その有効性を検討すべきと考えられた。

5-fluorouracilの至適投与様式・方法の*in vitro*における検討

癌研究会・癌化学療法センター・臨床部

○宇野真二, 相羽恵介, 水沼信之, 柴田はるみ, 山田康秀, 大澤浩, 高橋俊二, 伊藤良則, 堀越昇

[目的] 5-fluorouracil(5-FU)の至適投与様式・方法を, ヒト大腸癌細胞株を用いて*in vitro*にて検討した。
[方法] ヒト大腸癌細胞株 SNU-C2A, C4, 薬剤: 5-FU, FUdR, FUR, ZD1694, ZD9331, MTT assayの設定: A:96時間完全持続接触, B:12時間薬剤接触→WASH(W)→12時間薬剤接触を反復し, 計96時間(W操作の対照), C: 12時間薬剤接触→W→12時間薬剤非添加を反復し, 計96時間, D:Cと同様, ただし薬剤は2倍量, AUCの比率はA:B:C:D=1:1:0.5:1である。[結果] 両細胞株の倍加時間は22~34時間, IC50(B/C/D)はC2A:5-FU μ M(4.4/6.8/3.9), FUdR nM(3.1/18.1/6.8), FUR nM(46.5/44.5/32.5), ZD1694 nM(5.2/6.7/5.2), ZD9331(61/-/-) C4: 5-FU μ M(1.7/2.7/1.2), FUdR nM(1.3/8.2/3.7), FUR nM(3.1/3.9/3.7), ZD1694 nM(0.73/1.73/2.2), ZD9331(20.1/-/-)であった。[まとめ] C4株では5-FUの投与方法(B, C, D法)いずれのよっても殺細胞効果に有意差を認めなかった。一方C2A株では5-FUの投与方法はC法よりもB, D法の方が殺細胞効果は有意に優れた。すなわちAUCを合致させた間欠的接触法(D法)は持続接触法(B法)とほぼ同様の抗腫瘍効果を有し, 臨床的にも副作用軽減を期待し得る投与様式と考えられた。

ヒト大腸癌細胞株パネルにおける
5-FUのBiochemical modulationの検討

東京慈恵会医科大学血液腫瘍内科 ○稲本幸雄, 三原大佳, 倉石安庸
癌研病院化学療法科 水沼信之, 宇野真二,
大澤 浩, 相羽恵介

【目的】我々は5-fluorouracil(5FU)獲得耐性株及び自然耐性株を含むヒト大腸癌細胞株パネルにおける各種modulatorのBiochemical modulation(BCM)効果を検討した。さらに大腸癌細胞株SNU-C1(C1)及びその5FU獲得耐性株(C1/FU)を用い5FUに対するinterleukin 2(IL-2)によるBCM効果及びその機序を検討した。

【方法】ヒト大腸癌細胞株は5FU獲得耐性株(C1/FU)を含む4株。modulatorは thymidine (TdR), uridine (Urd), d,l-leucovorin (LV), hydroxyurea (HU), interferon α (INF α), IFN γ , IL-1, IL-2. 抗腫瘍効果はMTT assayを用い96時間同時接触にて判定した。

【結果】modulatorではLV, HU, INF α , IFN γ , IL-1, IL-2等が有用と期待された。IL-2は5FUの抗腫瘍効果を増強した。IL-2併用によりThymidylate Synthase(TS)阻害率は上昇しTS catalytic activityはIL-2併用により更に抑制された。

【結論】IL-2は5FUのBiomodulatorとして有用でその機序としてTSレベルでmodulationすることが示唆された。

ヒト結腸・直腸癌におけるフッ化ピリミジン系
抗癌剤のバイオモニタリング

東京慈恵会医科大学内科3
○三原大佳, 稲本幸雄, 倉石安庸
癌研研究会附属病院外科
畦倉薫, 太田博俊, 高橋孝
癌研研究会附属病院病理
柳澤昭夫, 加藤洋
癌研研究会附属病院化学療法科
相羽恵介, 水沼信之, 柴田はるみ, 堀越昇

【目的】フッ化ピリミジン系抗癌剤(FP)は、各種固形癌の治療において重要な役割を果たしている。我々は、ヒト結腸・直腸癌59例において腫瘍組織および近傍正常大腸粘膜組織でのFPの生化学的パラメーターを測定し、癌部と非癌部の生化学的差異の検討を行うとともに臨床的事項、病理組織学的所見との比較検討によりFP治療効果の予測や予後因子としての有用性を評価した。【対象】直腸癌20例(男9、女11)、結腸癌39例(男17、女22)で、いずれも前治療のない手術症例。【方法】FPの生化学的パラメーターとして、以下の酵素活性を測定した。thymidylate synthase (TS), thymidine kinase (TK), thymidine phosphorylase+ thymidine kinase(TP+TK), uridine phosphorylase+uridine kinase(UP+UK), uridine kinase(UK), orotic acid phosphorybosyl transferase(OPRT)等【結果】1) 腫瘍組織と正常粘膜組織との比較では、結腸癌において全てのパラメーターが腫瘍組織で有意に高値を示した。また、直腸癌でも同様の傾向を認めた。2) 進行再発症例における各種パラメーターと治療効果との比較検討より、TS触媒能はFP治療効果の予測因子となりうることが示唆された。3) 手術時肉眼所見および病理組織学的所見と各種パラメーターの比較検討では、組織学的深達度、リンパ節転移の有無、および脈管侵襲とTSとの間に有意な相関性が認められた。

進行食道癌における術前治療近接効果の比較検討

癌研究会附属病院：1) 化学療法科、2) 外科、

3) 放射線科

○大澤 浩¹⁾、相羽恵介¹⁾、宇野真二²⁾、堀越 昇¹⁾、
松原敏樹³⁾、高橋 孝²⁾、山下 孝³⁾

【目的】進行食道癌A₀ 推測及び進行I_u症例に対して、放射線、化学療法の時併用療法を術前先行施行し、その後外科切除術を施行する複合療法を立案した。A法は1990年1月～1994年12月、B法は1995年1月～1997年1月の症例である。各7p-T₀-R₀A₀B法の近接効果を比較検討した。

【対象および方法】対象症例はA法：19例とB法：25例で、年齢の中央値は各々58歳と63歳、Performance statusの中央値は双方とも1(0-2)、いずれの症例も前治療は認めなかった。術前同時併用療法として、A法：cisplatin(以下:CDDP)75mg/m² di.v. Day1-5-fluorouracil(以下:5FU)300mg/m² c.i.v. Day2-29. XRT1Gy×2/day×20回。B法：CDDP7,5,3mg/m² di.v. Day1-5, 8-12, 15-19, 22-26. 5FU200mg/m² c.i.v. Day1-28. XRT1Gy×2/day×20回を施行後、外科的切除術前にX-P, GFS, CT, Echoにて近接効果を判定した。

【結果】A法の近接効果は、原発巣：63%、転移リンパ節：16%であった。更に照射野内外の転移リンパ節は、照射野内転移リンパ節：31%、照射野外転移リンパ節：17%であった。B法は、それぞれ68%、76%、68%、73%の効果認められた。

【結語】食道癌A₀ 推測症例、進行I_u症例に対してA、B法で比較検討した。臓器別奏効度では、1) 原発巣A群63%、B群68%と差は認められなかったが、2) 転移リンパ節A群16%、B群76%(p=0.02)、3) 照射野内外リンパ節では、照射野内転移リンパ節A法31%、B法68%と統計学的にも有意な差を認めた(p=0.03)。照射野外転移リンパ節A法17%、B法73%縮小率を認めたものの、現症例数では統計学的に有意差は認めなかったが、B法において統計学的に有意な近接効果が得られた。今後はB法での治療法において更に症例を集積し、本療法の有用性を検討したい。

切除不能原発性非小細胞肺癌患者に対する clarithromycin(CAM)の有用性に関する検討

奈良県立医科大学第2内科¹、同 細菌学²○坂本正洋¹、三笠桂一¹、澤木政好¹、濱田 薫¹、
寺本正治¹、植田勝広¹、古西 滴¹、前田光一¹、
辻本正之¹、平井妙代子¹、森 啓¹、喜多英二²、
成田巨啓¹

【目的】我々は切除不能な原発性肺癌患者に clarithromycin(CAM)の投与を試み、非小細胞肺癌患者において生存期間が有意に延長することを報告し、その作用機序の一つとしてCAMが血清中IL-6を低下させ癌悪液質を改善する可能性があることを報告してきた。今回はCAM投与前後での血清中IL-6値及び臨床パラメーターの変動と臨床病期、組織型及び生存期間との関連について検討を行った。

【対象・方法】対象は平成7年10月より平成8年9月の間に当科に入院した切除不能原発性非小細胞肺癌患者28例(腺癌13例、大細胞癌2例、扁平上皮癌13例。ⅢA期7例、ⅢB期10例、Ⅳ期11例)でcisplatin(CDDP)を中心とする抗癌化学療法と放射線療法を施行し、抗癌療法終了4週後からCAM400mg/日の経口投与を行い、投与前及び3ヶ月後に体重、血中総蛋白、アルブミン、コリンエステラーゼ、ヘモグロビン、血清中IL-6測定した。生存期間についてはCAM投与開始日を第1日とし、CAM投与前後のIL-6の変動(ΔIL-6)及び各臨床パラメーターの変動と臨床病期、組織型、生存期間の関連について検討を行った。

【結果】①肺癌患者の予後因子とされる体重、コリンエステラーゼ、ヘモグロビンが投与前と比較して有意に増加していたおり、IL-6も有意に低下していたが、臨床病期・組織型による差異は認められなかった。また各臨床パラメーターとΔIL-6の間には有意な相関は認められなかった。②ΔIL-6と生存期間の間には臨床病期・組織型にかかわらず有意な負の相関関係が認められ、特にΔIL-6<-5pg/mlの反応良好群では強い相関がみられた。

【考察】CAMはcachectinであるIL-6の産生を抑制し宿主要因を改善させ、またΔIL-6はCAM投与肺癌患者の予後因子となり得る可能性が示唆された。

乳癌癌性心タンポナーデに対する抗癌
剤心嚢内投与の研究

癌研究会附属病院化学療法科 兼 癌化学療法
センター 臨床部

○水沼信之、相羽恵介、山田康秀、大澤浩、
宇野真二、高橋俊二、伊藤良則、堀越昇

1980年1月より、1996年12月まで癌研究会附属病院を受診した進行性乳癌症例のうち、癌性心膜炎による心タンポナーデ症状を示したのは17例であった。このうち、極度に進行した症例を除き、心タンポナーデ改善により全身症状の改善、延命効果が得られると判断された10例を治療対象とし、心嚢ドレナージおよび抗癌剤の心嚢内投与を試みた。対象症例は全例が女性であり、年齢の中央値は44歳であった。癌性心タンポナーデ出現時の他の転移部位の状況は2例がCRで心嚢のみの再発であり、他の8例は全身化学療法中で、adriamycin, mitomycin (MMC)などを含む併用化学療法に抵抗性となっていた。心嚢内に注入した抗癌剤は、A法：MMC10mg/body 毎週投与、B法 MMC10mg/body 3週毎および methotrexate 10mg/body と cytosine arabinoside 50mg/body を毎週とし心嚢水ドレナージを施行してそれぞれの薬剤を注入し1時間留置後、排液した。効果判定はSmithらの基準に準じ、1)心嚢水の減少、あるいは消失が30日以上続く。2)心タンポナーデの症状が30日以上消失する事。3)心嚢穿刺排液の必要が30日以上ない事。4)細胞診が30日以上陰性化する事。以上の4項目全てを満たしたものを有効、それ以外を無効とした。奏効率はA法では100% (4/4)、B法では83% (5/6)、全体では90%であった。ドレナージ後の生存期間中央値は5.3月 (2-54)であった。死因は癌性心タンポナーデの進行によるもの2例 (20%)、他病変の進行によるもの8例であった。乳癌の癌性心タンポナーデは緊急を要する病態であるが心嚢ドレナージと抗癌剤注入が有効であった。