

【一般演題】

001 バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) に対する併用療法の検討

狩山玲子・石井垂矢乃
光畑律子・公文裕巳

岡山大学医学部泌尿器科

目的: 日本においても散発的ではあるが、バンコマイシン (VCM) 耐性腸球菌が分離されるようになった。VRE の中で最も分離頻度の高い *Enterococcus faecium* は多剤耐性であり、新しい治療戦略が望まれる。一方、重症腸球菌感染症の治療法として汎用されるアンピシリン (ABPC) とゲンタマイシン (GM) の併用療法は無効である場合も少なくなく、多剤耐性腸球菌による死亡率は高い。我々は AAC(6')-APH(2'') 修飾酵素に比較的安定なアルベカシン (ABK) について、VRE 治療法における有用性を基礎的に検討した。

対象と方法: 1991~1996年の6年間にアメリカの15施設で分離され、Wayne State 大学医学部感染症科 (Detroit, USA) に保存された血液由来 72 株を用いた。63 株は *vanA* と *aac* (6')-*aph* (2''), 9 株は *vanA* と *aph* (2'')-*Id* の両耐性遺伝子保有株であった。ABPC と ABK の *in vitro* の併用効果を checkerboard 法と殺菌曲線により検討した。

結果: 多剤耐性腸球菌 72 株に対する VCM, ABPC, GM の MIC₅₀ (range) は、それぞれ 512 (128~1,024), 128 (16~256), 4,096 (512~>4,096) μg/ml であった。一方、ABK の MIC₅₀ と MIC₉₀ (range) は 8 と 16 (4~64) (μg/ml) であった。ABPC と ABK 併用の FIC index は、≤0.5 (1 株), >0.5~≤1 (63 株), >1~≤1.5 (8 株) であった。殺菌曲線により検討した 24 株中 8 株で、ABPC 1 X MIC と ABK 8 または 16 μg/ml との併用により、相乗的な殺菌効果が認められた。

結論: ABK は、多剤耐性 *E. faecium* が産生するアミノ配糖体修飾酵素により不活性化されにくい。GM 高度耐性 VRE の治療に ABK が有用である可能性が示唆された。

(会員外共同研究者: Joseph W. Chow, Wayne State University and Marcus J. Zervos, William Beaumont Hospital)

002 当院における過去 10 年間の感染性心内膜炎の起因菌の変遷

菊池 賢・志関雅幸
戸塚恭一・内山竹彦

東京女子医科大学感染対策科

谷本京美・石塚尚子・笠貫 宏

同 日本心臓血圧研究所循環器内科

中村憲司

立正佼成会中野病院心臓科

感染性心内膜炎の起因菌としては従来は *viridans streptococci* の検出頻度が最も高かったが、最近欧米ではブドウ球菌の検出が *viridans streptococci* を上回る報告が多くなってきている。そこで、当院における過去 10 年間の感染性心内膜炎症例の起因菌の変遷を調査した。対象は 1988 年から 1997 年までの 10 年間に当院にて Duke criteria により判断された感染性心内膜炎である。感染性心内膜炎は年間 16~26 例、10 年間に計 207 例が発生していた。最も多い起因菌は *viridans streptococci* が 96 株、46.4% を占め、黄色ブドウ球菌が 44 株、21.7% でこれに次いでいた。1988 年から 1992 年までの 103 例と 1993 年から 1997 年までの 104 例で比べ

ると、*viridans streptococci*, 黄色ブドウ球菌全体, HACEK group, 腸球菌, 培養陰性感染性心内膜炎の発症件数にはほとんど差がみられなかった。一方 *Candida* 性心内膜炎は最初の 5 年間では 1 例のみであったのが、最近 5 年間では 4 例と増えていた。また MRSA の検出比率も黄色ブドウ球菌 22 例中 7 例から、22 例中 9 例へと若干の増加傾向が認められた。この両期間の患者年齢、分布に違いは認められなかったが、最近 5 年間では男性の比率が上昇し、在院日数が低下する傾向が認められた。また、急性期のいわゆる early surgery は最近 5 年間で 3 倍に増加していた。死亡例は最初の 5 年間で 9 例、最近 5 年間で 16 例あった。入院時に感染症を認めず、入院後に発症したいわゆる nosocomial endocarditis はそれぞれ 13, 11 例あり、MRSA, *Candida* による症例が増加し、死亡例も 13 例、54.2% と高率であった。今回の結果では起因菌の分布に大きな変化はなかったものの、MRSA, *Candida* の増加は今後注意すべき点と考えられた。

003 A RANDOMIZED COMPARATIVE CLINICAL STUDY OF LEVOFLOXACIN IV. VS CIPROFLOXACIN IV. IN TREATMENT OF BACTERIAL INFECTIONS

Jiatai Li · Ye Zhang

The Institute of Clinical Pharmacology,

Beijing Medical University

Mingwu Zhao · Wanzhen Yao

The Third Affiliated Clinical School,

Beijing Medical University

Daozheng Xu · Fujie Zhang

Beijing Ditan Hospital

A randomized comparative open trial was conducted to evaluate the efficacy and safety of levofloxacin iv. compared to ciprofloxacin iv.. The total number of final clinical evaluated subjects was 218 including 108 subjects in levofloxacin iv. treatment group (L group) and 110 subjects for ciprofloxacin iv. treatment group (C group). The clinical trial was designed in accordance with the guideline of new antibacterial drug in china. Primary efficacy evaluation was based on the assessment of clinical signs, symptoms and overall clinical response, and secondarily on microbiologic eradication.

Patients with moderate and serious respiration tract infection, urinary tract infection and gastrointestinal tract infection were randomized into both treatment groups. The dose of levofloxacin iv. was 200-300 mg, bid and the duration of treatment was 7-14 days; the dose of ciprofloxacin iv. was 200-400 mg, bid for 7-14 days.

Clinical efficacy rate and microbiologic eradication rate for L group were 99.1% (107/108) and 92.4% (85/92), respectively; Clinical efficacy rate and microbiologic eradication rate for C group was separately 96.4% (106/110) and 93.3% (83/89). Clinical efficacy rate and microbiologic eradication rate were similar for both treatment groups. The incidence of adverse reaction including clinical reaction and laboratory abnormalities

was 8.3% for L group and 8.9% for C group ($P=0.859$). Five cases with mild clinical reactions in L group was observed (5/109) mainly in central nervous system (mild insomnia or headache). While five cases with clinical reactions in C group was reported (5/112), the most frequent reactions of C group were pain and secratch at the site of injection and skin rash. The results of bacterial sensitivity to levofloxacin and ciprofloxacin were 97.2% (176/181) and 86.7% (157/181) respectively.

It was concluded that levofloxacin had an excellent clinical efficacy and good safety profile in treating patients with bacterial infections

004 中心静脈カテーテル感染の治療方針に関する一考察

花谷勇治・小平 進・浅越辰男
長岡信彦・宜保淳一・戸枝弘之
帝京大学第1外科

中心静脈カテーテル (CVC) 感染は菌血症を伴う病態であり、重症化して治療に難渋することもまれではない。われわれはCVC感染発生の重症度判定と治療方針について検討したので報告する。

対象と方法: 1987年から1996年までの10年間に留置したCVC 2,202本を対象とした。CVC留置中に38℃以上の発熱を呈し、CVCの抜去により速やかに解熱した場合、あるいはCVC先端培養が陽性の場合、CVC感染陽性と判定した。CVC感染で血圧低下および/あるいは合併症を呈した場合に重症と判定した。

結果: CVC感染発生率は10.6% (233本) で、このうち13.3% (31本) が重症化した。発熱からCVC抜去までの期間が2日以内の場合の重症化率は10%前後であったが、3日以上では22.4%と有意に高率であった ($P<0.05$)。CVC感染例の性別、年齢、基礎疾患の良悪、併存症の有無により重症化率に有意差を認めなかった。最高体温が39℃以上で白血球数が10,000以上の場合には重症化率が35.0%と有意に高率であった ($P<0.001$)。CVC感染の検出菌はグラム陽性球菌 (GPC) が42.3%、真菌が39.7%、グラム陰性桿菌 (GNR) が14.7%であった。GPCとGNRの半数以上がいわゆる耐性菌であった。検出菌の年次推移をみると、真菌が52.7%から17.9%へと有意に減少し ($P<0.01$)、GNRが10.8%から25.0%へと増加傾向を示した ($P<0.10$)。検出菌別の重症化率はGPC 2.7%、GNR 36.4%、真菌 24.5%であり、GPCの重症化率は有意に低率であった ($P<0.01$)。

考察: CVC感染の重症化予防のために、CVC早期抜去の重要性が確認された。体温が39℃以上で白血球数が10,000以上の場合には中等症と判定し、重症に準じて取り扱う必要があると考えられた。軽症はCVC抜去のみで経過をみて良いが、中等症と重症はCVC抜去とともに抗菌薬投与を開始すべきであろう。CVC感染の治療にはcarbapenem, azole, vancomycinを選択する必要があると考えられた。

005 大腸癌手術症例におけるリンパ節へのBacterial Translocationの検討

上村健一郎¹⁾・竹末芳生¹⁾・横山 隆¹⁾
村上義昭¹⁾・坂下吉弘¹⁾・松浦雄一郎¹⁾
中井志郎²⁾

¹⁾ 広島大学外科

²⁾ 広島記念病院外科

目的: Crohn病や腸閉塞では腸間膜リンパ節へのbacte-

rial translocation (MLN-BT) が高率に起こっており、術中汚染以外にMLN-BTも術後感染の原因となりうる事が報告されている。今回大腸癌におけるMLN-BTと術後感染発症の関係について検討した。

方法: 大腸癌手術患者60例を対象とした。開腹後、癌近傍の腸間膜リンパ節を採取、培養陽性例をMLN-BTとし、腫瘍因子、術前宿主因子、術後感染合併率、発熱について検討した。

結果: MLN-BTは(17/50) 34%に認められ、分離菌はクラム陰性桿菌52%、クラム陽性球菌20%、個性嫌気性菌24%、真菌4%であった。腫瘍因子では、浸透度sm以下ではMLN-BT 0%、mp以上で37%と、進行癌でMLN-BTをおこす傾向を認めた ($p=0.052$)。術前宿主因子では、年齢はMLN-BT (+) 73才、MLN-BT (-) 63才とMLN-BT例で有意に高齢であり ($p<0.01$)、TPN期間も長期であった ($p<0.05$)。術前末梢血中リンパ球数はMLN-BT (+) $1.427/\text{mm}^3$ 、MLN-BT (-) $1.625/\text{mm}^3$ であった ($p=0.126$)。術後感染合併率はMLN-BT (+) 29.4%、MLN-BT (-) 12.1%であり、術後2日目の体温はMLN-BT (+) で37.8℃、MLN-BT (-) 37.4℃と有意差を認めた ($p<0.01$)。

総括: 大腸癌における術後感染にBTの関与の可能性が推察され、過大侵襲時のみ問題とされてきたBTが、意外に身近に起こる可能性が示された。

006 高度進行および再発胃癌に対するLow dose FP療法の有効性とその問題点

金 隆史・大井裕子
井上秀樹・峠 哲哉

広島大学原爆放射線医学研究所腫瘍外科

目的: 高度進行および再発胃癌に対するLow dose FP療法の有用性を奏効率、生存期間、QOLから検討した。

方法: 1993年からの高度進行胃癌36症例 (Stage IVa 2例、Stage IVb 34例)、再発胃癌14症例を対象とした。投与方法は、28日を1サイクルとし、5-FUは250 mg/m²連日24時間持続投与、CDDPは3.5 mg/m²点滴静注を5投2休とした。効果判定は固形癌直接効果判定基準、生存率はKaplan-Meier法によった。QOLは、治療前後のPSの変化、経口摂取の変化、Hospital stayより検討した。

結果: 奏効率は高度進行胃癌47%、再発胃癌36%、一年生存率は、各々36.2%、28.8%であった。治療後に明らかなPSの改善が認められたものは、各々13.9%、21.4%。経口摂取内容の改善、もしくは摂取量の増加は33.3%、28.6%に認められた。Hospital stayの平均は72%、67%であった。副作用はすべてGrade 2以下であった。平均奏効期間は5ヶ月であったが、FP耐性腫瘍に対してはCPT-11 (60 mg/m²) + ADR (20 mg/m²) 期間差療法 (Sequential therapy) を施行し、腫瘍増殖抑制効果を認めた。さらに、同腫瘍におけるFP療法の感受性の増加が認められた (Resensitization)。

結論: 高度進行胃癌に対するLow dose FP療法はその高奏効率、低副作用から、生存期間の延長およびQOLの向上に有用である可能性が示され、奏効期間の延長にCTP-11 + ADR療法の有用性が示唆された。

007 5-FUの間歇 (On and Off) 投与方法

杉山勝紀・水沼信之・五月女隆
大間知謙・藤原慶一・高橋俊二
伊藤良則・相羽恵介・堀越昇
癌研究会附属病院化学療法科

はじめに: 5-fluorouracil (5-FU) の有用性は胃癌, 大腸癌をはじめとする消化癌に対して確立されているが, その至適投与方法は未だ確立されていない。私たちは, *in vitro* 実験系にて, 5-FU の間歇 (On and Off) 投与方法が持続投与方法とほぼ同等の効果をもたらす可能性の示唆を得た。そして臨床的には, 副作用軽減も得られる可能性を考慮し, 5-FU On and Off 療法を開発し, pilot study を施行した。

対象, 方法: 1998年4月より進行癌8症例に対し本療法を施行した。男性5例, 女性3例, 年齢の中央値65歳(56-75), 直腸癌3例, 結腸癌2例, 胃癌1例, 盲腸癌1例, 肛門癌1例であった。転移臓器数は1臓器3例, 2臓器4例, 3臓器1例であり, 転移臓器は肝4例, 肺3例, リンパ節3例, 腹膜2例, 局所1例, 骨1例であった。本療法施行前に何らかの化学療法を受けていた症例は7例, 未施行例1例, 術後補助化学療法施行例は1例, 再発あるいは原発進行の病巣に対しては, 放射線療法が1例に, 化学療法が7例に施行されていた。この7例の化学療法のレジメン数は1: 4例, 2: 1例, 3以上: 2例であり, その主な内容は5-FU (UFT) + CPT-11: 5例, 低用量 CDDP + 5-FU: 2例等であった。本療法のスケジュールは, 5-FU 750 mg/m²/day および 850 mg/m²/day 24時間持続静注を隔日投与で4週間施行し, 2週間休薬し反復した。

結果: 副作用は Grade 1 の白血球減少, 1例に Grade 1 の ALP 上昇および Grade 2 の T-Bil 上昇, 1例に Grade 1 の嘔気, 嘔吐, 1例に Grade 1 の口内炎, 1例に Grade 3 の下痢を認めた。抗腫瘍効果は PR 1例, NC 5例, PD 2例であった。今後症例を追加し, 至適投与量および至適投与様式の検討を行う予定である。

008 胃癌における TS 活性および DPD 活性による 5-FU の抗腫瘍効果並びに副作用予測に関する検討

寺島雅典・入野田 崇・中屋 勉
滝山郁雄・川村英伸・斉藤和好
岩手医科大学第一外科

目的: 細胞の酵素活性による 5-FU の治療効果及び副作用予測の可能性について検索する事を目的として, 胃癌において腫瘍組織の TS 活性と DPD 活性を, 肝組織及び末梢血単核球の DPD 活性を測定し, 5-FU に対する感受性並びに副作用の発現と比較検討した。

方法: ノードマウス可移植腫瘍5株と胃癌臨床検体52検体を対象とした。これらの腫瘍において TS 活性及び DPD 活性を測定し, 5-FU に対する感受性と比較検討した。また, 胃癌症例29例において肝組織と末梢血単核球の DPD 活性を測定し経口 5-FU 系薬剤投与による副作用の発現と比較検討した。ノードマウス可移植腫瘍においては 5-FU 50 mg/kg を4日毎に3回投与し, 薬剤非投与対象群との腫瘍体積の比で抗腫瘍効果を判定し, 臨床検体においては無血清培養を用いた ATP 法により 5-FU の感受性を判定した。

結果: ノードマウス可移植腫瘍においては, 5-FU の感受性は TS 活性, DPD 活性の両者と相関していた。臨床検体においては, 5-FU に対する感受性と TS 活性, DPD 活性の両者との間に有意な相関が認められた。腫瘍組織と肝組織, 末梢血単核球における DPD 活性の比較ではいずれの間

にも有意な相関は認められなかった。副作用の発現に関する検討では, 副作用の認められた症例において肝組織の DPD 活性が有意に低値であった。

結語: 腫瘍組織の TS 活性, DPD 活性により 5-FU の抗腫瘍効果を, 肝組織の DPD 活性により副作用を予測出来る可能性が示唆された。

009 進行肺癌に対するイリノテカン (CPT-11), ウラシル/テガフル (UFT) 併用の臨床第 I 相, 第 II 相試験

平野明夫¹⁾・山崎博之¹⁾・船越 哲¹⁾
大沢 浩¹⁾・倉石安庸¹⁾・秋山佳子²⁾
栗原悦子²⁾・佐藤哲夫²⁾・水沼信之³⁾
相羽恵介³⁾

¹⁾東京慈恵会医科大学附属病院血液・腫瘍内科

²⁾同 呼吸器・感染症内科

³⁾癌研究会附属病院化学療法科

目的: 我々は, *in vitro* の実験系の検討から, CPT-11 の活性代謝産物 SN-38 が時間依存性の抗腫瘍効果を有し, 5-FU と相乗効果を示すこと, またこの相乗効果は 5-FU 先行投与によって増強されることも示した。以上の結果より, 我々は進行肺癌症例に対してウラシル/テガフル (UFT) に CPT-11 の 24 時間点滴静注を組み合わせた臨床第 I 相, 第 II 相試験を立案した。

方法: 投与スケジュールは UFT 400 mg を7日間内服投与と固定, 8日目に CPT-11 を 24 時間持続点滴静注とし, 投与量は 100, 120, 140, 160 mg/m² の 4 Level を設定し, 2週間毎に繰り返すものとした。副作用 Grade 3, 4 の非血液毒性または Grade 4 の血液毒性を 2/3 以上の症例で認めた Level を MTD とした。

結果: 対象は前治療を有さない非小細胞性肺癌 15 例 (腺癌 14 例, 扁平上皮癌 1 例) であり, 男性 10 例, 女性 5 例, 年齢中央値は 62 歳 (34~72 歳), PS (ECOG) 中央値は 0 (0~2) であった。総投回数 59 コースであり, DLT は白血球減少と下痢であった。本併用療法の MTD は CPT-11 160 mg/m² であり, 臨床第 II 相試験の推奨投与量は, CPT-11 140 mg/m² と結論された。臨床薬理学的検討では CPT-11 と SN-38 の PK パラメーターと副作用は相関しなかった。抗腫瘍効果は 12 例で評価が可能であり, CR が 1 例, PR が 3 例, 奏効率 33% で Level I: 100 mg/m² から PR が認められた。以上より本併用療法の有用性が示され, 今後さらに症例を追加し, 検討すべきと結論した。

010 多剤耐性克服におけるアポトーシス誘導の意義

大井裕子・金 隆史
井上秀樹・峠 哲哉

広島大学原爆放射能医学研究所腫瘍外科

目的: これまで, P-gp や MRP が過剰発現した腫瘍に対して, 膜蛋白の修飾による耐性克服が試みられてきたが, 十分な耐性克服が得られないことが報告されている。われわれは, MRP 発現細胞 KB/7d においてアポトーシス誘導関連遺伝子 bcl-Xs の発現が低下していることに着目し, bcl-Xs を遺伝子導入することによる抗がん剤耐性克服の可能性について検討を行った。

対象および方法: ヒト鼻咽腔類表皮癌 KB とその VP-16 耐性株 KB/7D の 2 種を用いた。抗がん剤感受性は MTT assay, アポトーシス誘導は DNA ladder formation assay, *in vitro* における抗がん剤感受性規定因子およびアポトーシ

ス誘導関連遺伝子の mRNA の発現は Northern 法、蛋白の発現は Western 法を用いて検討した。KB-7d への遺伝子導入は、CMV のプラスミドに bcl-Xs を組み込みリポフェクション法により行った。KB および KB-7d における抗がん剤の細胞内濃度は、[H] でラベルした VP-16 を用いて accumulation assay により検討した。

結果および考察: KB-7D は、ADR, VP-16, VCR, VDS に多剤耐性を示し、MRP の過剰発現および bcl-Xs の発現低下が見られ、MRP による抗がん剤排出と同時にアポトーシス誘導の抵抗性も関与していることが示唆された。そこで、KB-7D に bcl-Xs を遺伝子導入すると、ADR, VCR, VDS に対する感受性の増強が認められた。以上のことから、MRP 発現細胞における抗がん剤耐性には、bcl-Xs は MRP より優位に関与していることが予測された。したがって、MRP の過剰発現が報告されている大腸癌、胃癌などにおいても、MRP の修飾なしにアポトーシス誘導により耐性克服が可能であることが示唆された。

011 フラノナフトキノン誘導体の抗腫瘍活性

平井圭一¹・島村英理子¹・島田ひろき¹

小山淳子²・田が原清²

¹金沢医科大学解剖学第1

²神戸薬科大学分析化学

目的: キノン系抗腫瘍薬はアンスラキノン類、ベンゾキノン類がよく知られているが、強い細胞毒性が問題である。我々は 20 種類のフラノナフトキノン (FNQ) 誘導体を植物から抽出または化学合成し、ヒト悪性腫瘍細胞株に対する抗腫瘍活性および正常細胞に対しては低細胞毒性である可能性を検討した。

方法: マイクロプレート培養法を用い、ヒト子宮頸上皮細胞、細気管支上皮細胞、線維芽細胞等の正常細胞を対照に、ヒト子宮頸癌、肺腺癌、喉頭癌、舌癌、乳癌、骨肉腫、前立腺癌、胆管癌、結腸癌の樹立細胞株に対する細胞増殖阻害毒性 IC₅₀ 値を求めた。次いで BALB/c-nu マウス背部皮下に移植した 6 種類の腫瘍に対する誘導体 FNQ 3 の抗腫瘍効果を調べ相対的腫瘍増殖率 (T/C%) を算定した。さらに作用機構を検討する目的で、FNQ 3 の抗腫瘍活性に対する antioxidant による抑制実験を行った。

結果: 培養実験において FNQ 誘導体のうち 7 種は正常・腫瘍細胞両者に同等の細胞毒性を示した。しかし 2-methylnaphtho [2,3-b] furan-4,9-dione (FNQ 3) と 8 (または 5) -hydroxy-2-methylnaphtho [2,3-b] furan-4,9-dione (FNQ 13) はすべての腫瘍細胞に対し正常細胞の 1/10~1/15 の IC₅₀ 値を示し SD は 14% 以内に留まった。残りの 9 種は 3.4 倍の差を示したのに過ぎず、2 種は無効であった。一方 200 mg/kg の FNQ 3 を 2 週間連続経口投与したときのヌードマウス xenograft に対する T/C% は、子宮頸癌 38.3 (p<0.01)、肺腺癌 35 (p<0.05)、喉頭癌 37.4 (p<0.01)、舌癌 41.6 (p<0.01)、乳癌 40.4 (p<0.05)、骨肉腫 9.7 (p<0.05) といずれも 50 を下回り、有意に腫瘍増殖を抑制した。FNQ 3 は電動的にすべての腫瘍細胞のミトコンドリアを選択的に破壊し、trolox 等の antioxidant 物質で抑制された。以上のことから、フラノナフトキノン類の FNQ 3 は、共通して多くの腫瘍細胞のミトコンドリアで活性酸素を生成して抗腫瘍作用を示す新しいタイプの低毒性抗腫瘍物質と考えられる。

012 肺非小細胞癌術前化学療法の問題点

奥石義彦・河内利賢

宮 敏路・呉屋朝幸

杏林大学医学部第2外科

非小細胞肺癌治療の現状を打破するための試みの一つとして、術前化学療法が行われている。しかし治療成績判定のための第三相試験は症例の集積が困難で、我が国では結論を出しうる研究がなされていない。

当教室では、95年2月より術前化学療法のプロトコルを開始した。PE2コースを標準とし、75歳以下、臨床病期 I B から III B の一部までを適応としている。入院加療した 427 例の肺癌症例のうち、372 例に根治的治療が行われており、うち外科治療は 274 例に、化学療法は 102 例に、放射線療法は 72 例に行われた。術前化学療法はプロトコルの存在にも関わらず、約 10% の 30 例に施行されたにすぎなかった。外科療法単独群と術前化学療法施行群の間に背景因子の偏りは認められなかった。当教室では前斜角筋リンパ節生検、縦隔鏡、胸腔内洗浄細胞診等を積極的に施行しているが、病期判定の正診率は約 50% と全く満足すべきレベルに達していない。腫瘍縮小効果は CR, goodPR は無く、有効症例は MR まで含めても 30 例中 14 例であった。組織学的効果でも、腫瘍細胞に明らかな影響を及ぼし得たのは 1 例にすぎなかった。術後合併症の発生頻度は術前化学療法非施行例と差は認められなかった。外科療法単独群・術前化学療法の 1 年・3 年生存率は各々 78, 57%・85, 59% と差が見られず、臨床病期・病理病期いずれの層別化を行っても、生存率に有意差はなかった。問題点として以下の項目を指摘しうる。①PE の再発予防効果は認められなかった。今後より効果的な化学療法の導入が必要である。②正確な層別化=病期診断が重要である。③術前化学療法に如く施行に時間と労力を要する比較試験では、問題解決を指向した症例集積が必要である。

013 非小細胞肺癌患者に対する clarithromycin の延命効果

- responder, non-responder の検討 -

坂本正洋¹・三笠桂一¹・古西 満¹

前田光一¹・善本英一郎¹・村川幸市¹

植田勝廣¹・眞島利匡¹・喜多英二²

成田巨啓¹

¹奈良県立医大第二内科

²同 細菌学

14 員環マクロライド系抗菌薬 clarithromycin (CAM) が BRM 活性を有し、切除不能非小細胞肺癌患者の生存期間を QOL を損なうことなく延長する事を報告してきた。今回、当科における CAM 投与非小細胞肺癌患者の臨床的検討を retrospective に行った。

対象: 入院中に抗癌治療を施行しあるいは無治療で退院後、CAM 1 日 400 mg を 4 週間以上内服可能であった 119 例の非小細胞肺癌患者を対象とし生存期間を算出した。また CAM 内服期間が 24 カ月以上の長期生存例 (R 群 11 例) と 6 カ月未満の短期死亡例 (N 群 25 例) で背景因子を比較した。男:女=90:29 (平均年齢 67.5 歳)。臨床病期は II 期 6, III A 期 16, III 期 B 42, IV 期 55 例で組織型は扁平上皮癌 66, 腺癌 49, 大細胞癌 4 例。前治療内容は放射線併用化学療法 45, 抗癌化学療法単独施行例 25, 放射線療法単独施行例 30, 高齢・合併症のため抗癌治療が施行不能例 19 例。

結果: 全症例の 50% 生存期間は 63 週で扁平上皮癌 78 週、腺癌 49 週、大細胞癌 68 週。組織型は扁平上皮癌が R

群で8例(73%), N群13例(52%)。臨床病期はIV期がN群で18例(72%), R群で3例(27%)。前治療, p.s. はN群で化学療法単独が9例(36%), R群では1例(9%)で, R群9例(36%)が放射線療法を含む前治療を受けていた。R群ではp.s. 良好例が多く, CAM投与3カ月後にはほぼ全例で体重, Hb, ChE, Albの増加が認められたが, N群では有意な変動はなかった。IL-6はN群でR群と比較してCAM投与前でも有意に高く3カ月後もなお高値であったが, R群では投与前でもIL-6は低値で投与3カ月後にはさらに低下した。

考察: CAMのresponderと考えられる長期生存例は扁平上皮癌でp.s. が良好であり, 放射線療法を含む前治療がなされたIII期症例が多かった。またIL-6, CAM投与3カ月後の体重, Hb, ChE, AlbはCAM投与非小細胞肺癌患者の予後予測に有用であると考えられた。

014 非小細胞肺癌に対する Clarithromycin (CAM) 投与の有用性の検討

眞島利匡¹⁾・坂本正洋¹⁾・三笠桂一¹⁾
古西 満¹⁾・前田光一¹⁾・善本英一郎¹⁾
村川幸市¹⁾・喜多英二²⁾・成田巨啓¹⁾

¹⁾奈良県立医科大学第2内科
²⁾同 細菌学教室

目的: 我々は非小細胞肺癌患者に Clarithromycin (CAM) を投与し, 生存期間の延長と QOLの改善が得られることを報告してきた。今回はその機序解明のため基礎的検討では肺癌モデルとして Lewis 肺癌 (LLC) 細胞接種マウスを用いて, また臨床的検討では非小細胞肺癌患者を対象に cytokine mRNA を測定した。

方法: LLC 接種マウスには CAM を経口投与し, その cytokine mRNA の変動を RT-PCR 法, Northern Blot Hybridization を用いて測定した。非小細胞肺癌患者には抗癌治療終了約4週後に CAM を投与し, 投与前後の cytokine mRNA の変動を RT-PCR 法を行い, その検出にはより定量性を増すために Southern Blot Hybridization 法を用いて測定した。

結果: CAM 投与 LLC 接種マウスは CAM 非投与例に比較して IL-12, IFN- γ など Th 1 系 cytokine が増強していた。非小細胞肺癌患者では CAM 投与後に IL-12, IFN- γ など Th 1 系 cytokine が増強していた。以上の結果は CAM 投与により担癌患者の cytokine を Th 1 優位に誘導することが示唆された。

015 新規ニューキノロン薬 CS-940 の Legionella pneumophila に対する細胞内増殖抑制効果の検討

竹村 弘・池島秀明・國島広之
山本啓之・金光敬二・東海林洋子
石田一雄・賀来満夫・嶋田甚五郎
聖マリアンナ医科大学微生物学教室

目的: Legionella 属は細胞の食胞内で増殖可能な細菌で, 気道末梢の肺マクロファージ等の細胞の中で増殖し, 比較的重症の肺炎を惹起することが知られている。今回, 我々は新規ニューキノロン薬である CS-940 を含む各種抗菌薬に対する, Legionella 属菌の薬剤感受性を検討するとともに, L. pneumophila に対する細胞内増殖抑制効果を検討した。さらに, ヒト単球由来細胞株である THP-1 に対する, ニューキノロン薬の細胞内移行性を検討した。

方法: 供試菌株は L. pneumophila の血清型 1~6, L.

umoffii, L. bozemanii, L. micdadei, L. gormanii, L. jordanis の標準菌株と L. pneumophila 血清型 1 の臨床分離株である。抗菌薬は CS-940, 対照薬として ciprofloxacin (CPFX), levofloxacin (LVFX), tosufloxacin (TFLX), sparfloxacin (SPFX), erythromycin, azithromycin, clindamycin, minocycline, rifampicin を使用した。MIC は化学療法学会標準法に準じて微量液体希釈法で測定した。また, ヒト単球由来細胞株である THP-1 を用いて L. pneumophila に対する細胞内増殖抑制効果を検討し, さらに, THP-1 に対するニューキノロン薬の細胞内移行性を HPLC 法を用いて検討した。

結果及び考察: CS-940 の Legionella 属菌に対する MIC・MBC は, 菌種によってあまり差がなく, 0.004~0.064 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で CPFX, LVFX と同程度の優れた値を示した。また, CS-940 は MIC と等濃度の 0.008 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で L. pneumophila の細胞内増殖を抑制した。さらに, ニューキノロン薬は, THP-1 に対しいずれも優れた細胞内移行性を示し, IC/EC 比は SPFX (22.7 \pm 2.0) > TFLX (14.2 \pm 2.1) > CS-940 (8.6 \pm 0.8) > CPFX (7.3 \pm 1.2) > LVFX (4.4 \pm 1.2) であった。以上の結果より, CS-940 は Legionella 属菌に対して最も優れた抗菌力を示す薬剤のひとつで, 本菌による呼吸器感染症の治療に有効な薬剤であると考えられる。

会員外協力者: 寺久保繁美

016 肺炎球菌臨床分離株のキノロン剤感受性および耐性機構の解析

小野寺宜郷・田中眞由美
千葉めぐみ・佐藤謙一
第一製薬創薬第一研究所
小林宏行
杏林大学第一内科

材料と方法: 菌株: 1997年1~6月に杏林大学附属病院で分離された肺炎球菌60株を供試した。

供試薬剤: シタフロキサシン (DU-6859 a), レボフロキサシン, オフロキサシン, シプロフロキサシン, スパルフロキサシン, トスフロキサシンおよびベンジルペニシリン。

抗菌活性の測定: 各薬剤の抗菌活性は日本化学療法学会標準法に準拠して寒天平板希釈法によって測定した。

耐性機構の解析: gyrA および parC のキノロン耐性決定領域 (QRDR) を PCR により増幅し, タイデオキシ法により塩基配列を解析した。

結果および考察: ベンジルペニシリンの MIC₉₀ は 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であったが, MIC range は 0.006~3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の広範囲で二峰性の分布を示し, ペニシリン中等度耐性肺炎球菌 (PISP) が 60 株中 17 株 (28%), ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) が 13 株 (22%) 存在した。それに対し, キノロン剤ではシプロフロキサシンの MIC が 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上である耐性菌が 3 株が存在したものの MIC range はほぼ一峰性の分布であり, シタフロキサシンの MIC₉₀ は 0.10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, スパルフロキサシンおよびトスフロキサシンは 0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$, レボフロキサシンは 1.56 $\mu\text{g}/\text{ml}$, シプロフロキサシンおよびオフロキサシンは 3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。今回測定した薬剤中で, シタフロキサシンが最も良好な抗菌活性を示し, ベンジルペニシリンと比べ約 16 倍高活性でありベンジルペニシリンとの交差耐性は示さなかった。また, キノロン耐性菌の gyrA および parC の QRDR を解析したところ, 両遺伝子に変異が認められ, 当該遺伝子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。

肺炎球菌は呼吸器感染症の起原菌として高頻度に分離さ

れ、最近各種抗菌剤に対する耐性菌の増加が問題となっている。特に PRSP の分離率は増加傾向を示しているが、シタフロキサシンは PRSP に対し良好な抗菌活性を示した。

017 黄色ブドウ球菌由来 DNA トポイソメラーゼに対する pazufloxacin (PZFX) の阻害活性

山田 尚・濱田栄美子・満山順一
南新三郎・渡辺泰雄
富山化学工業株式会社総合研究所
山口恵三

東邦大学医学部微生物学教室

目的: キノロン感受性黄色ブドウ球菌に対する pazufloxacin (PZFX) の特徴について検討した結果、以下のことを見出した。(1) ciprofloxacin (CPFX) 存在下 7 代継代後の菌株に対する MIC は 2 管上昇したが、PZFX では変化しなかった。(2) SA 113 株を、CPFX 1 MIC 存在下で液体培養した際に、DNA トポイソメラーゼ IV (TopoIV) が変異したキノロン耐性株: CR-3 を得たが、PZFX ではこのような変異株は得られなかった。さらに、CR-3 に対する CPFX の MIC は親株の 8 倍に上昇したが、PZFX では 2 倍の上昇であった。

以上の結果より、PZFX の TopoIV および Gyr に対する阻害の程度が他のキノロン剤と異なることが示唆され、PZFX の黄色ブドウ球菌由来 TopoIV および Gyr に対する阻害活性について検討し、他のキノロン剤と比較した。

方法: 使用薬剤: PZFX, CPFX, LVFX

使用菌株: 黄色ブドウ球菌 SA 113, CR-3 (SA 113 由来 TopoIV 変異株)

薬剤感受性の測定: 微量液体希釈法

Gyr および TopoIV の精製および IC₅₀ 値の測定: 田中らの方法² に準じ、SA 113 より TopoIV, Gyr の各サブユニットをクローニングし、大腸菌 DH 5α にて生産した。各蛋白を精製後、各薬剤の阻害活性を測定し IC₅₀ 値を求めた。

結果および考察: PZFX の SA 113 由来 TopoIV に対する IC₅₀ (6.05 μg/ml) は、CPFX (1.06 μg/ml), LVFX (2.28 μg/ml) より高い値を示し、Gyr に対する PZFX の IC₅₀ (13.6 μg/ml) は、CPFX (58.1 μg/ml), LVFX (35.0 μg/ml) より低い値を示した。また、CR-3 由来 TopoIV に対する IC₅₀ は、PZFX (180 μg/ml), CPFX (52.9 μg/ml), LVFX (140 μg/ml) とともに SA 113 由来 TopoIV より高い値を示した。

CR-3 に対する CPFX, LVFX の MIC は、それぞれ SA 113 の 8 倍 (0.5→4 μg/ml), 4 倍 (0.25→1 μg/ml) に上昇したのに対し、PZFX では 2 倍 (0.25→0.5) の上昇であり、TopoIV, Gyr に対する各薬剤の IC₅₀ との相関が認められた。

以上のことから、CPFX, LVFX の一次標的酵素は、TopoIV であると考えられた。これに対し、PZFX は、TopoIV, Gyr を同程度に阻害していると考えられ、TopoIV が変異した自然耐性菌を選択しにくい薬剤であることが示唆された。

1) Mitsuyama et al., JAC 39 (1997)

2) M. Tanaka et al., Antimicrob. Agents Chemother. 41 (1997).

018 キノロン耐性 *E. faecalis* の GyrB, ParE 変異および排出ポンプ遺伝子の解析

山岸純^{1,3)}・小山田義博¹⁾・藤本孝一¹⁾
小寺玲子¹⁾・後藤直正²⁾・岡本了一³⁾
井上佐久³⁾

¹⁾ 大日本製薬創研

²⁾ 京都薬大微生物

³⁾ 北里大医微生物

近年、臨床材料から分離される腸球菌が、キノロン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。私共は、*Enterococcus faecalis* のキノロン耐性機構について研究中、GyrA, ParC 変異以外のキノロン耐性変異を有する株を見出した。今回、これら変異株の GyrB, ParE 変異の解析並びに排出ポンプ遺伝子のクローニングを試みたので報告する。

使用菌株は、*E. faecalis* ATCC 29212 を野生株として SPFX, NFLX の二段階選択により分離した変異株 3C, 3E を用いた。変異株 3C, 3E の SPFX の MIC は、親株 (二段階変異株 2B) と同一の値を示したが、NFLX では、4~8 倍高い値であった。3C 株では ParE (E 459 K) 変異が認められたが、3E 株では親株 2B の ParC 変異以外に加わった GyrA, GyrB, ParE 変異は検出できなかった。また、3E 株の場合、NFLX の菌体内蓄積量が親株 2B に比べ減少していたが、CCCp を添加すると親株 2B と同程度に回復した。このことから 3E 株には、透過性変異が生じたと考えられた。この透過性変異の実体を明らかにするため、3E 株のクロモソームよりショットガンクローニングを行い、キノロン耐性遺伝子 *orf 384* を *E. coli*-*E. faecalis* シェアトルベクターにクローン化した (組換えプラスミド pQR1)。*orf 384* のアミノ酸同源性は、*B. subtilis* の Bmr 2, Bmr 1 および *S. aureus* の NorA とそれぞれ 40%, 40%, 22% と高く、薬剤排出蛋白であると推察される。形質転換株 (*E. faecalis* ATCC 29212/pQR1) は、宿主株に比べ NFLX の MIC は 4 倍耐性化した。SPFX では同一の感受性を示し、E 株の耐性パターンと同傾向であった。このことは、E 株の二段階目のキノロン耐性メカニズムは、*orf 384* の発現亢進によるものと考えられる。

以上のことより、腸球菌 *E. faecalis* の場合、標的酵素である Gyrase と TopoIV のサブユニット変異および *orf 384* の様なキノロン排出ポンプの発現亢進変異が、段階的に組合わさることにより、キノロンに高度耐性化することが明らかになった。

019 ニューキノロン耐性 *Enterococcus faecalis* における耐性機構

米本洋次¹⁾・大槻雅子²⁾・西野武志²⁾
荒川創一¹⁾・守殿貞夫¹⁾

¹⁾ 神戸大学医学部泌尿器科

²⁾ 京都薬科大学微生物学教室

目的: 細菌のニューキノロン薬に対する耐性機構は、標的酵素である DNA gyrase と Topoisomerase IV における変異、または膜変化にともなう細胞内薬剤濃度の低下などが示唆されており、これらの単独もしくは複数の組み合わせによって生じることが判明している。標的酵素の変異は、多くの細菌において GyrA 蛋白及び ParC 蛋白のキノロン耐性決定領域 (QRDR) 上で認められているが、近年、GyrB 蛋白及び ParE 蛋白での変異も報告されている。今回我々は、腸球菌 *E. faecalis* に関して、標準株を用いて *gyrB* 及び *parE* 遺伝子の QRDR の部分塩基配列の決定を試み、さらに臨床

分離株 16 株での *gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE* の各遺伝子の変異を調べたので報告する。

方法: 標準株 *E. faecalis* ATCC 29212 株の *gyrB* 及び *parE* 遺伝子の QRDR における塩基配列の決定には、既に報告されている他の細菌の *GyrB* 及び *ParE* 蛋白のアミノ酸配列を参考にした。これらの相同性の高い部分を使用して、degenerate プライマーを設計し、PCR を行った。これにて得られた DNA 断片をクローニングし、dideoxy 法による DNA シークエンシングにて塩基配列を解析した。また、臨床分離株から DNA を抽出し、*gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE* 遺伝子に関してそれぞれ PCR を行い、QRDR を含む目的断片を増幅させた。得られた DNA 断片の塩基配列を解析し、変異の有無を調べた。

結果: キノロン感受性株 10 株は、*gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE* のいずれの部位においても変異を認めなかった。キノロン耐性株 6 株においては、*gyrA*, *parC* のいずれかに変異を認めた。その内の 1 株には *parE* にも変異がみられた。しかし、*gyrB* 変異は認めなかった。

020 強酸性電解水作用時の菌体の形態変化

辻 雅克・三和秀明

塩野義製薬(株)創薬研究所

目的: 強酸性電解水は、薄い食塩水を電気分解することにより生成される強酸性 (pH 2.7 以下) で酸化還元電位 (1,100 mV 以上) の高い電解食塩水であり、院内での手指洗浄に使用されている。今回、強酸性電解水の殺菌作用について、形態学的に検討するとともに次亜塩素酸の殺菌作用と比較したので報告する。

方法: 菌株は *E. coli* SR 9519 (O 157:H 7) を使用した。強酸性電解水はスーパーオキシドラボ (JED 020) を用いて生成し (残留塩素濃度 50 ppm), 生菌数測定には SCDLP 培地を用いた。形態観察は走査型 (Hitachi S-800) および透過型 (JEM-1200 EX) 電子顕微鏡を使用した。

結果: 強酸性電解水作用後の生菌数および濁度変化について検討した結果、*E. coli* SR 9519 は作用 5 分以内に殺菌されたが、溶菌を伴っていなかった。次に、電子顕微鏡を用いて形態観察した結果、膜障害に由来すると考えられる突起 (bleb) 様構造を多数もつ像が観察され、膜が菌体内内容物に押し出されている内部構造であった。菌体の内部では、原形質分離や空胞様構造は観察されず、電子密度も均一であった。強酸性電解水と同じ遊離残留塩素濃度の次亜塩素酸 (pH 2.5, pH 9) と殺菌作用を比較した結果、強酸性電解水と次亜塩素酸 (pH 2.5) の殺菌効果は同じであり、両者をアルカリ性にするると殺菌作用が弱まった。また、次亜塩素酸 (pH 2.5) を作用させた場合、強酸性電解水と同じ突起様構造が観察された。

結論: 強酸性電解水を *E. coli* SR 9519 に作用させた場合、菌体表層に突起様構造が観察された。この構造はキノロン作用時にも見られるが、強酸性電解水では数や大きさが異なっていた。また、この突起様構造は次亜塩素酸 (pH 2.5) 作用でも観察されたことから、遊離残留塩素のひとつである HClO が、形態変化を誘発していると考えられた。

(会員外共同研究者, 星元満里子, 丸山敏之)

021 緑膿菌の β -ラクタム薬に対する自然耐性への外膜の透過障害の寄与

後藤直正・岡本清美・西野武志

京都薬大微生物

緑膿菌は、 β -ラクタム薬を含めて種々の抗菌薬に自然耐

性を示す。これは、本菌が持つ外膜の透過性が低いために起こるとされてきたが、私どもは最近緑膿菌の β -ラクタム薬自然耐性は、染色体性 AmpC β -lactamase と野生株で僅かに発現している多剤排出システム MexAB-OprM の一連の変異株を PAO 1 から組換え DNA の手法で作成した。その結果、AmpC β -lactamase と MexAB-OprM の二重欠損株は、 β -ラクタム薬に高度に感受性化することを見いだした (Antimicrob. Agents Chemother. 43: 400-402, 1999)。これは、二つの耐性機構の共存が、本菌の β -ラクタム薬自然耐性の主因であることを示している。しかし、本菌の特徴である外膜透過性の低さがどのように自然耐性に関わるかは本研究では明らかではない。これを調べるためには、何らかの方法で緑膿菌の外膜の高い透過障壁性を減少させることが必要であると考えられた。そこで、私どもは、緑膿菌の外膜に存在する透過孔よりも大きな孔を形成する *E. coli* の主要なポーリン OmpF を *E. coli*-*P. aeruginosa* シャトルベクター上にクローン化し、緑膿菌細胞中で発現させた。作成したプラスミドの導入により、OmpF 相当する 37-kDa の外膜蛋白質の産生に連動して、 β -ラクタム薬に対する外膜透過性が野生株のそれに比べて約 3 倍上昇していることが分かった。このプラスミドを導入した株の種々の β -ラクタム薬に対する感受性を測定した結果、野生株、AmpC β -lactamase または MexAB-OprM の欠損株、さらに AmpC β -lactamase および MexAB-OprM の二重欠損株でも高感受性化が観察された。これらの結果は、外膜透過性の低さも緑膿菌の β -ラクタム薬自然耐性に寄与する機構であることを示している。

022 緑膿菌の臨床分離株での *nfxC* 型多剤耐性変異の検出

西野武志^{1,2)}・後藤直正^{1,2)}

¹⁾京都薬大微生物

²⁾抗菌薬サーベイランス研究会

1996 年から 1997 年の 2 年間に全国の臨床各科で分離された緑膿菌を用いて、キノロンとイミベネムに交差耐性を示す *nfxC* 変異株の存在を調べた。

nfxC 変異は、内膜蛋白質 MexE およびペリプラスム蛋白質 MexF と共同して多剤排出システムを構成する 49-kDa の外膜コンポーネントの過剰産生と 46-kDa 外膜蛋白質の減少を引き起こす。後者の蛋白質についてはイミベネム耐性が同時に起こることから、イミベネムに特異的な透過孔を形成する OprD であると推定されているが確かな結果は得られていない。新しく構築した OprD 発現プラスミドを *nfxC* 変異株に導入したところ、*nfxC* 変異株で 46-kDa 外膜蛋白質の産生量の増加と連動して、イミベネムに対する感受性の復帰が観察されたことから、*nfxC* 変異株で減少する 46-kDa 外膜蛋白質は OprD であることを実験的に示すことが出来た。

次に、臨床分離株 66 株を用いて *nfxC* 変異に関する解析を行った。これらの株の内、シプロフロキサシンの MIC が $\geq 0.5 \mu\text{g/ml}$ 株であるものは 40 株 (MIC₅₀: $2 \mu\text{g/ml}$; Range: $0.5\text{--}128 \mu\text{g/ml}$) 存在し、それらの株に対するイミベネムの MIC を測定したところ、MIC₅₀: $4 \mu\text{g/ml}$; Range: $2\text{--}16 \mu\text{g/ml}$ であった。これらの株で抗 OprN マウス単クローン抗体を用いたイムノプロットを行ったところ、10 株で OprN の産生が検出されたが、それらの株のイミベネム感受性および OprD の産生量を測定したところ、OprN を産生するにも関わらず、イミベネムに感受性で、OprD の産生量が減少していない株が見いだされた。

以上の結果は、*mpcC* 変異と連動した *OprD* の産生抑制は複雑な機構により制御されている可能性と、抗薬薬の感受性プロファイルから臨床分離株における耐性機構を解析することは困難であることを示している。

023 シタフロキサシン作用時の大腸菌の核構造の変化

田中真由美・佐藤謙一

第一製薬(株)創薬第一研究所

目的: キノロン剤の標的酵素は DNA ジャイレースおよびトポイソメラーゼ IV であることが知られている。これらの酵素は DNA 複製に関与しており、その阻害により核構造に変化が起こることが予想される。そこでキノロン剤としてシタフロキサシンを用い、薬剤作用後の核構造を観察し、2種の標的酵素の作用を観察したので報告する。

方法: 対数増殖期の大腸菌 KL-16 (野生株) および MH-5 (*gyrA* 変異株) にシタフロキサシンの 1/4, 1, 4 MIC 濃度を作用させ、2 および 4 時間後にコロジオン膜貼付メッシュ上に菌液を滴下し 15 分放置した。乾燥後、固定液 (70% エタノール, 0.02% フェノール, 2.7% ホルムアルデヒド, 3% 酢酸) にて 15 分間処理した。洗浄・乾燥後、RNaseA およびペプシン処理し、再度洗浄・乾燥後、蒸着し、透過型電子顕微鏡により観察、写真撮影を行った。

結果: 対照の薬剤非作用群では、菌体の分裂状況に応じた数の核構造が観察された。野生株では、1/4 MIC 作用により 4 時間目まで菌体の分裂は行われているものの核の複製、分配にやや異常が認められた。1 MIC 作用 2 時間後では、伸長化した細胞に核様構造が点在し、核の複製に異常をきたしていることが明確となった。*gyrA* 変異株では、1/4 MIC 作用時に菌体の分裂は行われているものの核の分配にやや異常が認められる細胞が存在した。1 MIC 作用後では、伸長化した細胞に伸長化した核様構造が複数存在した。いずれの株においても 4 MIC 作用後にはほとんど全ての菌体に核構造は認められなかった。*gyrA* 変異株では、MIC 付近の濃度ではトポイソメラーゼ IV の活性のみが阻害されていると考えられ、その条件下での核構造の観察結果より、DNA 複製は行われるが分配が阻害されたために、野生株よりも大きな核構造が観察されたと考えられた。

024 ニューキノロン系薬およびアミノ配糖体系薬耐性を伴った ESBL 産生の *E. coli* と *K. pneumoniae* についての基礎的検討

松村 充¹⁾・川上小夜子¹⁾・小泉博昭¹⁾
山本美和¹⁾・宮澤幸久¹⁾・斧 康雄²⁾
岡本了³⁾・井上松久³⁾

¹⁾ 帝京大学医学部附属病院中央検査部

²⁾ 同 微生物講座

³⁾ 北里大学医学部微生物学

目的: 欧米ではニューキノロン系薬 (NQs) や、アミノ配糖体系薬 (AGs) にも耐性を伴った多剤耐性の Extended-spectrum β -lactamase (ESBL) 産生菌が報告されている。今回当院においてもその様な株が分離されたのを機に、基礎的な検討を行った。

対象および方法: 被験菌は当院で分離された *E. coli* (Ec 1) 1 株と、対象として韓国延世大学分離の *E. coli* (Ec 2, Ec 3) 2 株を使用した。方法は β -ラクタム系薬 15 剤, NQs 系薬 6 剤, AGs 系薬 3 剤についての MIC 測定, R プラスミドの接合伝達実験, PCR 法による遺伝子解析, 等電点電気泳動

および当院で検出された患者の背景調査を実施した。

結果および考察: R プラスミドの接合伝達実験では、 $10^4 \sim 10^6$ の頻度で β -ラクタム系および AGs 耐性のプラスミドが伝達された。Wild と transconjugant の MIC 値, PCR 法および等電点電気泳動による解析結果を総合すると, Ec 1 は TEM-1 型と Toho 1 型の β -lactamase を産生し, Toho-1 型 ESBL 遺伝子の存在するプラスミド上には, AGs 耐性遺伝子も存在することが判明した。また, Ec 2 と Ec 3 は TEM-1 型, TEM-53 型の他に pl 7.6 の β -lactamase を産生し, TEM-53 型の ESBL 遺伝子の存在するプラスミド上に AGs 耐性遺伝子も存在することが判明した。当院で Ec 1 が分離された 1 才の女児は, 都内の他院より転入時すでに, NQs および AGs 耐性の *E. coli* が便から検出されており, 入院 4 ヶ月目にそれらに ESBL 産生を伴った *E. coli* が便から検出された。これより患者の腸管内で ESBL 遺伝子が接合伝達されたことが示唆された。当院でこのような NQs や AGs 耐性を伴う ESBL 産生菌が分離されたのは初めてであるが, プラスミド性の耐性遺伝子は異なる菌種へも伝達され, 今後さらなる耐性菌が出現する可能性をも有しており, 検査時には十分な注意が必要と思われる。

025 Class B type β -lactamase を産生する *K. pneumoniae* の基礎的検討

小泉博昭¹⁾・川上小夜子¹⁾・松村 充¹⁾
山本美和¹⁾・宮澤幸久¹⁾・斧 康雄²⁾
岡本了³⁾・井上松久³⁾

¹⁾ 帝京大学医学部附属病院中央検査部

²⁾ 同 微生物学講座

³⁾ 北里大学医学部微生物学

目的: 近年本邦では、緑膿菌において class B type β -lactamase を産生する株が臨床材料より分離され、問題となり始めている。今回、IPM の MIC $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ を示す *K. pneumoniae* 3 株を入手したので基礎的検討を実施した。

対象と方法: 菌株は関東地区の 2 つの病院で分離された K 17, K 20 と当院で分離された K 8 であり、方法は β -lactam 系薬 14 剤についての MIC 測定, R プラスミドの接合伝達実験, UV 法による基質特異性の測定, PCR による遺伝子解析, 等電点電気泳動を実施した。

結果および考察: K 17 および K 20 に対する 14 薬剤の MIC 値は, ABPC, ABPC/CVA, PIPC, PIPC/CVA, CPZ, CPZ/SBT, CAZ, CTX, CPDX, CMZ, LMOX, CFPM では $\geq 256 \mu\text{g/ml}$ と高度耐性であったが, AZT では $1.025 \mu\text{g/ml}$ と低く, IPM は $64.8 \mu\text{g/ml}$ であった。transconjugant の MIC は wild とほぼ同様であった。一方, K 8 に対する MIC 値は, AZT も他の β -lactam 系薬と同様に $512 \mu\text{g/ml}$ の高度耐性を示し, IPM は $16 \mu\text{g/ml}$ であった。しかし, transconjugant における AZT の MIC 値は $\leq 0.5 \mu\text{g/ml}$ に低下した。基質特異性は, K 17, K 20, K 8 の IPM に対する活性がそれぞれ 2, 22, 7 U/mg protein と高く, EDTA の添加により各々 2~3 倍低下した。Wild および transconjugant の MIC 値, 基質特異性, PCR 解析結果, 等電点電気泳動結果を総合的に判断すると K 17 は同一プラスミド上に TEM-1 型と class B 型の β -lactamase 産生遺伝子を有していた。K 20 は染色体上に SHV 又は LEN-1 型遺伝子を, プラスミド上に K 17 と同一遺伝子を有していた。K 8 は染色体上に K 20 と同じ SHV または LEN-1 型遺伝子を, プラスミド上に K 17, K 20 と同じ TEM-1 型 + class B 型遺伝子を有し, さらに別のプラスミドに Toho-1 型の ESBL 産生遺伝子を保有していることが判明した。プラスミ

ド性の耐性遺伝子は、別の菌種への伝達頻度は低いものの、患者の体内で接合伝達され、さらなる耐性菌が出現する可能性をも有している。このため、今後これらの耐性菌による院内感染にも注意が必要と思われる。

026 Class C型β-ラクタマーゼ産生大腸菌の解析

佐藤優子¹⁾・久我明男¹⁾・矢野寿一¹⁾
入野田一彦¹⁾・中崎信彦³⁾・平田泰良³⁾
井上松久¹⁾・岡本一¹⁾

¹⁾北里大学医学部微生物学

²⁾長崎大学耳鼻咽喉科

³⁾北里大学病院臨床検査部

目的: 最近、わが国でも肺炎桿菌や大腸菌においてセフェム系薬耐性菌が分離されるようになり、これら耐性菌の一部として Extended-spectrum β-lactamase (ESBL) 産生菌が検出されるようになった。そこで、我々は北里大学病院において1997年3~5月に異なる患者から分離された大腸菌120株について1) β-ラクタム系薬に対する感受性、2) β-ラクタマーゼ産生性、および3) 産生されるβ-ラクタマーゼの型別を行い、院内におけるESBL産生菌を含めたβ-ラクタム系薬耐性菌の実態調査とその耐性機構を解析した。

方法: 1) MIC測定には寒天平板希釈法を用いた。2) β-ラクタマーゼ産生性は、基質としてABPCおよびCET/CVAを用いたUV法によりClass AとClass C酵素の活性を分けて測定した。3) TEM型およびSHV型酵素産生遺伝子に特異的なプライマーを用いて、PCR法により酵素の型別を行った。4) Class C産生菌についてはパルスフィールド電気泳動(PFGE)を行った。

結果および考察: 1) 検査した大腸菌120株のうち35株(29%)がβ-ラクタム系薬耐性菌であった。2) この35株のうち、24株(20%)はClass A産生菌であり、PIPC耐性(MIC: 32→128 μg/ml)、CPDX感受性(MIC: ≤2)であった。また、これらの酵素はすべてTEM型であった。3) 8株(6.7%)は、PIPC中等度耐性(MIC: 8-32)、CPDX耐性(MIC: 8-32)であり、すべてClass C酵素の産生菌であった。このClass C酵素産生遺伝子は伝達されず、染色体性であると考えられた。4) Class C産生菌についてPFGEを行った結果、数種類の菌株が広がっている可能性が示唆された。5) 今回の調査では、明らかなESBL産生菌は検出されなかった。

027 過去2年間に長崎大学医学部附属病院にて検出されたESBL産生菌と臨床像

泉川公一¹⁾・山口敏行¹⁾・宮崎治子¹⁾
宮崎義継¹⁾・平潟洋一¹⁾・上平 憲¹⁾
前崎繁文²⁾・朝野和典²⁾・田代隆良²⁾
河野 茂²⁾・石井良和³⁾・馬 リン³⁾
山口恵三³⁾

¹⁾長崎大学医学部臨床検査医学

²⁾同 第二内科

³⁾東邦大学医学部微生物学

目的: 長崎大学医学部附属病院にて1997年から1998年までに各種臨床材料から検出された大腸菌、肺炎桿菌の薬剤感受性パターンを調査し、当院におけるESBL産生菌のスクリーニングを行い、その臨床像を検討した。

方法: 1997年から1998年までに各種臨床材料から検出された大腸菌784株、肺炎桿菌580株のうちCTM、CPZ/SBT、CZX、CTRX、CAZ、CPR、LMOX、AZTのいずれ

かのMICが2 μg/ml以上を示した株を対象とした。P/Case TESTによりβ-ラクタマーゼの産生性を確認後、寒天平板法によりCPDXおよびCVA/CPDXのMICを測定した。さらに、CVAによりMICが2管以上低下した株について、TEM、SHV、Toho-1、IMP-1の各β-ラクタマーゼ遺伝子の有無をPCRにて検出した。さらに、陽性菌について臨床像を検討した。

結果: 大腸菌142株と、肺炎桿菌95株がβ-ラクタマーゼ検査の対象となった。このうちCVA添加によりCPDXのMICが2管以上低下した株は大腸菌では10株、肺炎桿菌で2株であった。このうち肺炎桿菌の2株はPCRにてSHV型のプライマーのみに陽性を示し、Southern hybridizationにて耐性遺伝子が染色体上にあることが確認された。さらに部分的なDNA sequenceにてSHV型をプロトタイプに持つESBL産生菌であることが判明した。臨床像については、44歳、急性リンパ球白血病の男性が抗ガン剤による化学療法中に本菌による敗血症にて死亡した。

結論: 1997年から1998年までに各種臨床材料から検出された大腸菌784株、肺炎桿菌580株のうちESBL産生が疑われた大腸菌は10株、肺炎桿菌は2株で、このうち、今回検索したβ-ラクタマーゼ遺伝子を保有していたのは肺炎桿菌の2株でSHV型であった。また、臨床像については敗血症という重篤な転帰をたどっており、今後の動向に注意を払う必要がある。

028 当科で血液より分離された腸内細菌属56株に対する各種抗菌剤の薬剤感受性

織田慶子・赤須裕子・升永憲治
池澤 滋・津村直幹・阪田保隆

久留米大学小児科

本廣 孝

ゆうかり学園

方法: 1989年1月より1999年5月までに当科で血液より分離された腸内細菌属56株(*E. coli* 17, *Klebsiella* spp. 8, *E. aerogenes* 7, *E. cloacae* 13, *C. diversus* 2, *P. mirabilis* 4, *Serratia* spp. 5)に対する薬剤感受性を検討し、さらにESBLの産生状況を検討した。薬剤感受性はNCCLSのmicrodilution法により行った。

結果: 血液より腸内細菌属が分離できたのは34症例であった。年齢は1生日より33歳で平均6.5歳であった。基礎疾患としては血液・悪性疾患が18例と53%を占めた。新生児は6例であった。腸内細菌属による敗血症を繰り返した症例は5例、14%を占めた。各種腸内細菌に対するMICは、まず*E. coli*では従来のβ-ラクタム剤ではCTXが最も良好な抗菌力を示し、MIC₉₀は0.125 μg/mlであった。New cefem, carbapenemsではMEPM, PAPM, CZOPの順で良好でMIC₉₀は0.016, 0.032, 0.06 μg/mlであった。*Klebsiella* spp.では、従来のβ-ラクタム剤ではAZTが最も良好な抗菌力を示し、MIC₉₀は0.032 μg/mlであった。New cefem, carbapenemsではMIC₉₀はPAPM 0.032 μg/ml, MEPM, CZOPがともに0.06 μg/mlであった。*E. aerogenes*では従来のβ-ラクタム剤のMICはどれも高く、MIC₉₀は16~256 μg/mlであった。New cefem, carbapenemsのMIC₉₀はMEPM 0.06 μg/ml, PAPM, IPMが0.5 μg/ml, CZOP, CPRともに2 μg/mlであった。*E. cloacae*では従来のβ-ラクタム剤はどれも高くAZTで16 μg/mlが最も良好であった。New cefem, carbapenemsではMIC₉₀はMEPM 0.06 μg/ml, PAPM, IPM 0.5 μg/ml, CZOP, CPRはともに8 μg/mlであった。*P. mirabilis*はCTX, CAZ, AZTに良好な感受性

を示しているが (MIC 0.06-0.125 $\mu\text{g/ml}$), *Serratia* spp. は従来の β ラクタム剤に耐性の菌の出現がみられている (MIC 256-512 $\mu\text{g/ml}$)。以上の検討より CFX, CAZ, AZT, CPDX, CTRX 全ての MIC が 2 $\mu\text{g/ml}$ 以上の株を ESBL 産生株の疑いがあるとし (16 株), β ラクタマーゼ阻害剤により MIC が改善するかどうかを検討した。13 株が β ラクタマーゼ阻害剤により MIC が改善した。これらの株を対象に ESBL の検出を目的に PCR を行った。TEM type の PCR が 6 株で陽性で最も優位の ESBL と思われた。SHV は 3 株, Toho は 1 株で陽性となった。今後 direct sequence を行って詳細な検討を加える予定である。

029 超高齢者における Levofloxacin の Population Pharmacokinetic Study—第 2 報—

健山正男・伊志嶺朝彦・新里 敬
仲本 敦・斎藤 厚

琉球大学医学部第 1 内科
野村 寿・長野康助
第一製薬株式会社

目的: 我々は、すでに本学会において 51 例の高齢者における LVFX の Population Pharmacokinetic Study を行い、高齢者における本剤の推奨用量・用法を簡便に算出できる簡易表を報告した。今回は、推奨用量の簡易表を用いて個別に投与設計した患者から得られた LVFX の血中濃度を測定し、我々の作成した簡易表の妥当性を検討した。

対象患者と方法: 対象患者は 75 歳以上の、経口投与で治療可能な感染症患者 8 名を対象とした。投与量は原則として簡易表に基づいて、LVFX 100 mg を 1 日 1~3 回投与し、服薬履歴を分単位で記録した。血中薬物濃度の測定は治療期間 (平均 8.4 日) を通じて 1 人平均 1.9 回の採血を行なった。単一患者個人の薬物動態速度論的パラメータは、ベイズ法に基づいて、母集団パラメータと、単一の患者における LVFX の血中濃度の測定値から推定した。

結果と考察: 男性が 3 名、女性が 5 名、平均年齢は 83.0 歳で、平均体重は 42.3 kg、血清クレアチニンは 0.93 mg/dl。LVFX の投与量は推奨用量と一致して投与されたのは 5 例で、推奨用量より高用量で投与されたのが 2 例、低用量で投与されたのが 1 例であった。推奨用量よりも投与量の多い症例では、LVFX の血中濃度 5.11~6.32 $\mu\text{g/ml}$ となり最高血中濃度は 6~9 $\mu\text{g/ml}$ に達することが推定された。推奨用量よりも投与量の少ない症例では、LVFX の最低血中濃度は 0.12 $\mu\text{g/ml}$ と有効濃度に達しない測定値となった。我々がすでに本学会で報告した推奨用量・用法は、高齢者に安全かつ効果的に個別投与を設計する上で有用と思われた。

030 Vancomycin 投与における TDM の検討

五十嵐正博¹⁾・林 昌洋¹⁾
中谷龍王²⁾・中田紘一郎²⁾

¹⁾ 虎の門病院薬剤部
²⁾ 同 呼吸器科

VCM は、患者の体重や腎機能に応じて投与量を決定し、血中濃度を有効域にすべき薬物である。そこで、VCM の理論的な投与方法を検討したので報告する。

方法: 初回の投与量は、Moellering のノモグラムに基づいて投与した。さらに、投与開始後 3~4 回目の投与直前と投与終了 2 時間後の血中濃度を測定し、ベイズ法を用いて投与設計を行った。母集団パラメータには、1-compartment model に基づく Randy Pryka らの報告値を用いて

MULTI 2 (BAYES) で解析を行った。透析患者では、負荷投与量である 15 mg/kg を投与し、血中濃度の確認は初回の投与後 2~4 時間と 2~3 日目に行い簡易的な手計算で投与量を算出した。

結果および考察: 22 人の患者 (年齢 15~82 歳、体重 11~65 kg、クレアチニクリアランス 10.3~102 ml/min、男性 15 人女性 7 人) について投与設計を行った。ノモグラムで投与した結果、トランプ濃度が 15 $\mu\text{g/ml}$ を超えた例は無く、安全性は十分であったが、5 $\mu\text{g/ml}$ 未満となった患者が 3 例存在するなど、早期に投与量を再検討する必要があった。ベイズ法による投与量再検討後は、出血性ショックを起こした 1 例を除き、全例トランプ濃度 5~15 $\mu\text{g/ml}$ の有効域に保たれていた。なお、VCM の投与前後で血清クレアチニンの上昇 (0.4 mg/dl 以上) を起こした症例は 2 例であり、1 例は消化管出血によるショックが、他の 1 例は心不全と脱水の関与が疑われ、いずれも VCM の副作用とは考えられなかった。

今回実施した投与方法は、安全で、かつ有用性の高い投与方法であると考えられる。

031 呼吸器における Levofloxacin の血液、喀痰及び肺組織中濃度の検討: Breakpoint からみた有効性の評価

藤田 敦・宮 敏路・古屋敷剛
河内利賢・渡辺健・奥石義彦
呉屋朝幸

杏林大学第 2 外科

今回我々は levofloxacin (LVFX) 投与時の、痰、肺組織、血清内濃度を液体高速クロマトグラフィー法により測定し、呼吸器における組織移行率を検討した。対象症例は肺切除術または気管支鏡検査を受けた患者 23 名であった。LVFX 200 mg を経口投与し、痰を 2 時間後、肺組織を 3 及び 5 時間後、血清を 2、3 及び 5 時間後にそれぞれ採取した。肺組織内濃度の 3 時間後の平均値は $3.91 \pm 2.33 \mu\text{g/ml}$ 、痰および血清内濃度の 2 時間後の平均値は各々、 0.71 ± 0.63 、 $2.08 \pm 1.01 \mu\text{g/ml}$ であった。肺組織内濃度と血中濃度の間には強い相関が認められたが ($p < 0.0001$)、痰中濃度と血中濃度の間には有意な相関は認められなかった。肺組織移行率は 217.2%、痰移行率は 4.05% であった。今回の結果をもとに臨床的 Breakpoint を計算すると肺炎に対しては 4 $\mu\text{g/ml}$ 、慢性気道感染症に対しては 1 $\mu\text{g/ml}$ であった。LVFX の肺組織へ移行性は良好で、代表的な呼吸器感染症の起炎菌の MIC₉₀ を大きく上回る濃度が得られた。また BP も 4 $\mu\text{g/ml}$ と良好であり、肺炎など気道感染症に対して有効な抗生物質であると考えられた。

032 腎機能低下患者を対象とした Pazufloxacin 注射薬の体内動態

石田裕一郎・桜井 馨・岡本日出数
高橋孝行・森田雅之・松本文夫

神奈川県衛生看護専門学校付属病院

目的: 腎機能低下患者におけるキノロン剤 Pazufloxacin 注射薬の体内動態を実施し、腎機能低下時の投与間隔の調節について検討した。また、本薬の透析性についても検討した。

方法: 37 歳から 58 歳までの腎機能低下患者に、本薬 300 mg を 30 分かけて点滴静注し、経時的に血中および尿中濃度を測定した。得られた血中濃度より薬動力学的パラメータを算出し、連投時の血中濃度推移を予測した。また、透析患者においては、投与開始 24 時間後より 4 時間血液透析を行

った時の血中濃度を求め、その透析性を検討した。

結果：腎機能の低下に伴い、 $T_{1/2\beta}$ の延長および $AUC_{0-\infty}$ の増大が認められた。特に、透析患者においては、 $T_{1/2\beta}$ は20時間以上となり、健常成人の $T_{1/2\beta}$ 約2時間と比べて著しく延長した。尿中排泄においても、腎機能低下に伴う明らかな腎クリアランスの低下と尿中排泄の遅延が認められた。

本薬の透析性は比較的良好で、透析時の見かけ上の半減期はそれぞれ2.78, 3.63 および4.00時間と非透析時の約1/6となった。また、その時の本薬の透析による除去量は、それぞれ64, 66 および59 mgであった。

得られたパラメータをもとに、個々の患者の連投シミュレーションを行ったところ、 $C_{cr}=44.7$ および13.6 ml/minの患者においては、1日300 mg 2回投与が可能である事が示唆され、投与間隔の調節は必要無い事が分かった。一方、透析施行患者 ($C_{cr}=0$ ml/min) 3例では、1~2日に1回投与に調節する必要が示され、高度腎機能低下患者では投与間隔の調節が必要である事が示唆された。

033 痙攣誘発作用をめぐるキノロン薬と非ステロイド薬の薬物相互作用に関する研究

—非ステロイド薬からみた相互作用の程度の検討—

堀 誠治・佐藤淳子*・川村将弘

東京慈恵会医科大学薬理学講座第1

*現: 国立医薬品食品衛生研究所

キノロン薬が潜在的に痙攣誘発作用を有することは、よく知られている。その痙攣誘発作用は、非ステロイド薬の併用により、増強されることが報告されている。我々は、キノロン薬がGABA受容体結合を阻害することを、また、その結合阻害作用は非ステロイド薬の共存により増強されることを示し、キノロン薬単独および非ステロイド薬併用時の痙攣発現に、これらの薬物によるGABA受容体結合が関与している可能性を示してきた。キノロン薬からみた痙攣誘発作用・薬物相互作用は検討されているが、非ステロイド薬からみたものはない。そこで、キノロン薬・非ステロイド薬における薬物相互作用を、非ステロイド薬の立場から検討した。Biphenylacetic acid, flurbiprofen, indomethacinにより、enoxacinによる痙攣誘発作用およびGABA受容体阻害作用は増強された。Ibuprofenでは、痙攣増強作用は軽度であったが、GABA受容体結合阻害作用は増強した。一方、aspirin, diclofenac, phenylbutazone, mefenamic acidでは、痙攣誘発作用の増強もGABA受容体結合阻害作用にたいする増強も認められなかった。これらの成績より、非ステロイド薬のなかでも、キノロン薬と高度の薬物相互作用を引き起こすものと、軽度(ほとんど相互作用のないもの)とに区別できる可能性が示唆された。

034 アマンタジンの痙攣誘発作用およびテオフィリン誘発痙攣に及ぼす影響

佐藤淳子*・堀 誠治・川村将弘

東京慈恵会医科大学薬理学講座第1

*現: 国立医薬品食品衛生研究所

アマンタジンは、パーキンソン症候群などの治療に用いられていたが、最近になり、A型インフルエンザにも適応が拡大され、その使用量の増大が予想される。アマンタジンには、種々の副作用が報告されており、中枢神経系副作用のひとつとして痙攣の報告がなされている。一方、テオフィリンは、気管支喘息の治療をはじめとして、ひろく用いられている薬物である。テオフィリンは、治療域がせまく、体内蓄積にと

もない痙攣などの中枢神経系副作用を発現することが知られている。そこで、アマンタジン誘発痙攣が実験的に再現可能か、また、テオフィリン誘発痙攣に対して何らかの作用を及ぼすかが興味を持たれる。そこで、マウスを用い、アマンタジンによる痙攣誘発ならびにテオフィリン痙攣に及ぼすアマンタジンの影響を検討した。アマンタジンは、腹腔内投与により投与量依存的(45-270 mg/kg)に、マウスに痙攣を誘発した。経口投与では、高投与量で、痙攣の発現が認められた。テオフィリンの腹腔内投与(270または360 mg/kg)により痙攣が誘発されるが、この痙攣誘発にようする時間は、アマンタジン(20 mg/kg, 経口投与)の前投与により短縮された。以上の成績より、アマンタジンは、体内に蓄積したさいには痙攣を誘発する可能性が示された。さらに、テオフィリン併用時には、テオフィリンの痙攣誘発作用を増強する可能性が示唆された。

035 白血球遊走阻止試験によるスバルフロキサシンの光線過敏症の検討

宇野勝次・八木元広

水原郷病院薬剤科

関根 理

同 内科

スバルフロキサシン(SPFX)による光線過敏症疑診患者4症例に対して、白血球遊走阻止試験(LMIT)によるアレルギー起因薬剤の検出同定を行い、SPFXによる光線過敏症における光アレルギー反応の関与について検討した。

SPFXによる光線過敏症疑診患者3例(症例1:40歳の女性, SPFXの1日の服用量:100 mg, 潜伏期間:14+3日間, 症例2:28歳の女性, SPFXの1日の服用量:200 mg, 潜伏期間:10日間, 症例3:31歳の男性, SPFXの1日の服用量:200 mg, 潜伏期間:2日間)では、患者単核球+SPFXと患者単核球+SPFX+患者血清の二つの反応系でLMITを実施し、1例(症例3)にのみ患者単核球+SPFX+患者血清に疑陽性を示した。また、SPFXによる光線過敏症疑診患者1例(症例4:78歳の男性, SPFXの1日の服用量:200 mg, 潜伏期間:1日間)では、患者単核球+SPFX, 患者単核球+SPFX+患者血清, 患者単核球+(SPFX+UVA)および患者単核球+(SPFX+UVA)+患者血清の四つの系でLMITを実施し、患者単核球+(SPFX+UVA)+患者血清にのみ陽性を認めた。

したがって、SPFXによる光線過敏症に光アレルギー反応が関与する場合があります、その発現機序にUVAにより分解されたSPFXと患者血清が関与することが示唆された。

036 高齢者における抗菌薬関連下痢症の臨床的検討

山本俊信¹⁾・鳥居正芳¹⁾・鈴木幹三¹⁾

山本俊幸¹⁾・真下啓二²⁾・品川長夫²⁾

有我憲仁³⁾

¹⁾名古屋市厚生院附属病院内科,

²⁾同 外科

³⁾同 検査科

加藤直樹・渡邊邦友

岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設

加藤はる

金沢大学医学部微生物学教室

目的: *Clostridium difficile*による下痢症の集団発生は、欧米では多数の報告例を認めるが本邦での報告例は少ない。今回、私共は「寝たきり」の高齢患者で *C. difficile* によ

る抗菌薬関連下痢症の集団発生と思われる事例を経験したので報告する。

対象・方法: 1997年2月から1ヶ月間にA病棟(定員32名)で下痢症状をきたし、糞便の嫌気培養で*C. difficile*を認めた65歳以上の高齢者6症例、8例(期間中2回再発した1例を含む)を対象に臨床的検討をおこなった。また、糞便から検出された*C. difficile*のタイピングをパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)およびPCRリボタイピングでおこなった。

結果: 1) 患者背景は、性別(男1名、女5名)、平均年齢87.7歳、平均体重34.2kgで「寝たきり」を5例に認めた。「非寝たきり」の1例も下痢発症時に心不全、肺炎のため全身状態は悪くおむつを使用中であった。2) 下痢症の発症時期は、2月1例、3月2例、5月5例であった。3) 原因と考えられた抗菌薬は、CTM、OFLXが各2例、CMZ、CZOP、LVFXが各1例であった。再発例では、下痢が軽快後新たな抗菌薬の投与なしで発症した。4) 大腸内視鏡検査は、4例で行い2例で偽膜を認めた。PFGEを用いたタイピングでは、毒素産生株6株のDNAは抽出段階で破壊した為、型別不能であった。PCRリボタイピングでは、これら6株は同様のバンドパターンを示した。6) 可能な限り抗菌薬の中止または変更をおこない、VCMを5例に使用し、2例で再発した。

考察: 「寝たきり」の高齢患者で*C. difficile*による抗菌薬関連下痢症の集団発生を経験し、PCRリボタイピングの結果より病院感染の可能性が示唆された。高齢者の*C. difficile*による抗菌薬関連下痢症は、VCMを使用しても再発する場合があります、注意が必要である。

037 北方領域での極めて複雑な地球汚染問題とアニサキッドの宿主汚染に基づくダイオキシン蓄積問題等について

石倉 肇¹・中村健治²・藤本哲也²
八木欣平¹・日登 弘³・角川雅俊³
佐藤昇志⁴

¹札幌医大第一病理寄生虫・環境汚染学研究室

²IDL研究所(札幌)

³小樽水族館CO

⁴札幌医大医学部第一病理学教室

昨年の本学会(1998, 和歌山)に於て我々は地球温暖化が日本のAnisakid感染症に及ぼす影響と同感染症の我々の実施した化学物質を用いた基本的な実験結果について報告した。今回は引継ぎベトナム・日本などで使用された枯草剤・DDT・PCB・HCH等化学物質と、赤道附近でのマダガスカル島沿岸のアフリカ大陸より紅海・インド洋・ミクロネシアを経て東太平洋→カリブ海・ハーミユダ島に及ぶせかいのサンゴ礁の絶滅問題又は、オホーツク海や北日本海の豊富なオキアミがダイオキシンやジベンゾフランの微量蓄積のあるものをクジラ・アザラシ・イルカが多量に食べながら北方の浅い海流にのってベーリング・北極海を経て北海に行つてスカンチナビア諸島附近で脂肪にたまったダイオキシン類の為大量死亡した(岩田)ところが最近北海よ深い海流(これは浅い北方域海流の流れとは逆で日本に向かって流れる)に乗って日本に向かって流れることがわかった。その他時間があれば昨年度に起こった太平洋の暖流の変化と北支那を通して日本上空に入ってくる偏西風の変化についても述べたいと思う。

038 アンケートより見た抗MRSA薬剤 長谷川正光¹・伊豆川愛²・真辺忠夫³

¹名古屋市立大学第1外科

²橋南病院薬剤部

MRSAに対する薬剤として1998年7月よりTEICが加わった。この薬剤はブリックテスト施行が推奨されている点、半減期が長くローディングドーズがPRされている点などに特徴がある。これらが臨床の場でどの程度理解されているか、医師・薬剤師・看護婦を対象にアンケートを行なった。MRSAの認識率は99.3%職種間に差を認めず、医師の使用経験は97.3%であった。VCMの認識率は95.0%職種間に差を認めず、医師の使用経験は97.3%であった。ABKの認識率は80.7%職種間に差を認めず、医師の使用経験は64.9%であった。TEICの認識率は57.4%職種間に差を認めた、医師の使用経験は27.0%であった。医師でMRSAの治療に前記3剤以外の使用経験者は30.6%であった。アレルギー確認の方法(複数回答可)では、皮内反応75.7%、パッチテスト34.3%、ブリックテスト27.1%、少量静注法16.4%で職種間に差を認めた。TEIC使用時の薬剤アレルギー確認の方法でブリックテスト・皮内テストと回答された方は医師37人中3人、薬剤師42人中11人、看護婦61人中1人で職種間に差を認めた。それぞれの職種でTEIC既知者に占める割合に差はあったが、ブリックテスト既知者に占める割合には差が認めなかった。ローディングドーズ既知率は医師39.4%、薬剤師66.7%であった。これらの職種の人に推定していただいた抗菌薬の半減期は2.0時間でありTEICの半減期が50時間と記載されていることをお知らせし、ローディングドーズの意味について質問したが、長い半減期の薬でローディングドーズを行うことに何らかの疑問を持たれ選択肢を選ばれた方が延べ85人に達した。安全に薬剤を使用する為の第1歩として、基礎的な教育の充実と対象に応じた情報提供が大切であり、正しく伝達されているか、疑問点の解決はなされているか、新たなフィードバックシステムの構築も必要であろうと考えた。

039 クラリスロマイシンドライシロップの服薬性

—アンケート調査を中心として—

中村はるひ・岩井直一

名鉄病院小児科

小児用製剤においては、患児にとってのみやすいこと、保護者によつてのませやすいことが大切な条件となる。最近、いくつかの薬剤で、服薬性の向上を目指し、製剤の改良が行われるようになってきたが、その1つであるクラリスロマイシンドライシロップについてアンケート調査を実施し、本製剤の服薬性、牛乳、アイスクリームを用いた場合の服薬性の改善度について検討を行った。

対象は、1997年11月から1998年12月にかけて、当院小児科を含む4施設に受診し、本剤の投与を受けた151例に対し行った。アンケートの内容は、患児の普段の服薬状況について、本剤の服薬方法、服薬性、問題点について、本剤に対して服薬拒否、困難を訴えた者に牛乳、アイスクリームを用いた場合の改善度について聞くものとした。

151例中、散剤処方された146例の普段の服薬状況は「全部飲んでいる」と答えた者は77.2%、「飲めないことがたまにある」と答えた者は18.6%、「飲めないことがよくある」は4.1%であった。本剤の服薬方法については、何かに溶かしたり、練って飲んだと答えた者は、全体では60%、0才児では80%以上、1~3才児では75%以上であった。そ

の際に用いられるものは水、次いでジュース、スポーツドリンク、アイスクリーム、牛乳、ミルクの順が多かった。このような背景の患児の本剤に対する服薬性は、「喜んで飲んだ」、「問題なく飲んだ」は60.2%、「いやがったが全部飲んだ」は25.3%、「いやがったため全部飲めなかった」もしくは「全く飲めないか毎回もどしてしまっただ」は14.4%であった。本剤の問題点は、苦みと懸濁性、ざらつきで、前者は52.8%、後者は30.5%の者が訴えた。牛乳、アイスクリーム以外のものを用いて服薬拒否、困難を示した者にそれらを用いた場合、前者では17例中3例、後者では半数の者に改善がえられた。

040 抗菌薬の供給停止、発売中止の現状

—日本医師会疑義解釈委員会から—

柴 孝也

東京慈恵会医科大学

松田静治

江東病院

平成10年度の供給停止、発売中止の現状について、日本医師会疑義解釈委員会の記録から報告する。

目的：医薬品の供給停止、発売中止の方法を知り、医薬品の寿命、使命の終幕について考える。

経過および結果：供給停止、発売中止の作業は次のように行なわれる。1. 企業は製造・輸入を中止を内定した時点で「供給停止の事前報告書」を厚生省に提出。2. 厚生省は日本医師会に答申を求める。3. 厚生省、日本医師会を経て疑義解釈委員会にはかられる。4. 企業は供給停止の情報提供を行った後に「薬価基準削除願」を厚生省に願出する。5. 願いを受け、厚生省は日本医師会疑義解釈委員会に報告し最終的に年2回、経過処置品目として告示する。6. 原料供給元の都合による場合などでは適宜に対応する。

以上の経過をとり、平成10年度に供給停止、発売中止とされた現状は次の通りである。

1. 比較的シェアーの高い品目（9社16品目）と近い品目（9社57品目）に分けられる。

1953年（昭和28年）発売のバイシリン（ベンジルペニシリン）、1958年（昭和33年）発売のカナマイシン「万有」、明治が供給停止になった。しかしながら、バイアル製剤は消失したものの「明治」のアンプル製剤のみが残ることとなった。

2. 供給停止の理由として、①需要僅少31%、②販売不振29%、そして、③原料入手困難25%となり、他に不採算7%もあった。

3. 会社精算にともなう供給停止（2社12品目）も見られた。

結語：平成10年度における供給停止、発売中止の現状を報告した。わが国の化学療法の進歩発展に尽くしたベンジルペニシリンを供給停止になる時代を迎えているのも事実である。

041 慢性涙囊炎の Fosfomycin 投与による サイトカインに及ぼす影響

大石正夫

白根健生病院眼科

宮尾益也

新潟大学医学部眼科

目的：慢性涙囊炎は鼻涙管狭窄に起因する細菌性感染症で、保存的治療（点眼、涙囊洗浄など）により、ときに急性増悪を繰り返す難治性の症例を経験する。Fosfomycin (FOM) には抗菌作用の外に、種々の生物学的活性を有することが報告されている。今回、難治性の慢性涙囊炎の症例に FOM を投与して、*in vivo* におけるサイトカインの産生に及ぼす影響について検討した。

方法：3% 耳科用 FOM 液 1 ml を涙囊内に注入、週 1 乃至 3 回投与した。FOM 注入前、注入後に涙囊内を生食水で洗浄し、これを検体として ELISA を用いて各種サイトカイン濃度を測定した。

予備実験として行った症例で、IL-8 は全ての検体で高濃度に検出された。IL- β は低値を示し、IL-4、TNF α は検出されなかった。よって今回は IL-8 に測定を絞って FOM の影響をみることにした。IL-8 値は検体の総蛋白質量を基準に算出した。

結果：検体の性状で、膿性、slime (+++) のものでは IL-8 は高濃度を示した。7 症例に FOM を注入して、6 例には検体の性状の改善に伴い、IL-8 値の低下が認められて有効に作用した。のこり 1 例では、はじめ IL-8 は低下したが後検体の性状の悪化とともに上昇した。

これら IL-8 値の変動は、検体の性状をほぼ反映するものであった。FOM 涙囊内注入による副作用はみられなかった。

考察：FOM 液を涙囊炎症例の涙囊内に注入して、検体の性状の改善に伴い IL-8 値の低下が認められて、FOM による涙囊内サイトカイン産生への影響が示された。また、慢性涙囊炎に対する FOM 局所療法の有用性が認められた。

042 頸部壊死性筋膜炎からの検出菌と薬剤感受性

坂本春生・佐々木次郎

東海大学医学部口腔外科学教室

青木隆幸・内藤博之・椎木一雄

総合磐城共立病院口腔外科

背景：菌性感染症に継発した頸部壊死性筋膜炎は、時に縦隔進展を伴い致死的な経過をとる。壊死性筋膜炎からの検出菌の薬剤感受性について検討したので報告する。

対象：東海大学及び磐城共立病院にて経験した壊死性筋膜炎 4 例を対象とした。

結果：4 例から計 43 株（好気性菌 18 株、嫌気性菌 25 株）が検出された。1 例当たりの検出菌株数は 6 株から 21 株であった。口腔レンサ球菌、Prevotella、Peptostreptococcus が関与率の高い株であった。これは一般の菌性感染症からの検出菌と変わらない。口腔レンサ球菌、Prevotella、Pep-

042 の表

検出菌の MIC₉₀ (ug/ml)

	MEPM	PAPM	ABPC	PIPC	CMZ	CLDM	CAM	AMK
口腔レンサ球菌 (12 株)	1.56	0.78	12.5	6.25	50	100<	100<	50
Prevotella (6 株)	0.20	0.39	100	25	3.13	<0.025	0.39	100
Peptostrepto (8 株)	0.39	0.39	0.78	0.39	3.13	0.20	3.13	100

tostreptococcus に対する薬剤感受性を検討した。

Streptococcus oralis, *S. mitis*, *Prevotella buccae*, *P. oris* に ABPC 耐性株が見られた。

P. buccae, *P. oris* は beta-lactamase 産生株であった。

考察: 重症感染症では既に抗菌薬の投与がなされてから当科へ転送されることが多い。複数菌混合感染である本症例にたいしては、現在の時点では MEPM などのベネム系抗菌薬の使用が許されると考えられる。血清抗体価の変動を各菌についてあわせて検討したが、耐性株と抗体価を上げている株とは一致しなかった。結果的に、今回の症例は 4 例とも MEPM を使用した。4 例とも救命できた症例であった。

043 内服抗菌薬による抜歯後菌血症の検討

佐々木次郎¹⁾・金子明寛¹⁾・山崎純子¹⁾
佐藤智明²⁾・小林寅詰³⁾

¹⁾東海大学医学部口腔外科

²⁾東海大学付属病院中央検査部

³⁾三菱化学ビーシーエル化学療法研究室

抜歯などの歯科観血処置が一過性菌血症を発生することは衆知の通りである。心奇形とその術後、心弁置換術後あるいは細菌性心内膜炎の罹患歴があると、この一過性菌血症が誘因となって心内膜炎を発生することがある。

アメリカ合衆国では、AHA から抗菌薬による予防投与の勧めが出されているが、投与量が多すぎることとか、本邦では抗菌力が著しく劣化している抗菌薬を用いるものなので、直ちに本邦において使用できるものではない。そこで、本邦独自のレジメンを作成するために、今まで注射用抗菌薬での予防投与方法を、抜歯時の血培陽性率でみる臨床試験を行ってきた。その内訳は、high risk にはカルバペネム系抗菌薬の処置開始前の点滴静注を、また、moderate risk にはアンピシリンかセフェムの点滴静注でよいと本学会に報告した。

今回は、moderate risk に経口の抗菌薬で血培陽性率を低くすることができないかの臨床試験を行った。セフトラムピボキシル 1 回 300 mg の処置開始前経口投与を行ったところ、実施 14 症例で血培陽性 9 例という高い発症率であった。

そこで追加実験を行った。

① BACTEC の好気と嫌気の media とセフトラムの吸着率を調べたところ、接触 30 分で 70%、4 時間で 100% の力価消失であり、多剤と差はなかった。

② 今回の血培陽性例から同定された口腔レンサ球菌 8 株の MIC は、0.78 μg/ml 以下であった。2 MIC のセフトラムと接触させて菌数の変動をみたが、菌数の低下はみられなかった。

③ アルブミン存在下での MIC を同じ 8 株口腔レンサ球菌で測定したところ、MIC は 2~8 倍高くなった。

結論: 今回の実験からは、セフトラム ピボキシル 1 回 300 mg の処置前経口投与は、抜歯時菌血症の予防投与に適しているとはいえない。

044 1994 年から 1998 年に分離された MRSA に対する Teicoplanin を含む抗菌薬の抗菌力について

相原雅典・岩崎瑞穂・島川宏一
小松 方・長坂陽子・山中 亨

天理よろづ相談所病院臨床病理部

はじめに: 近年、Vancomycin (VCM) および Teicoplanin (TEIC) を含むグリコペプチド系に中等度耐性を示すグリコペプチド薬ヘテロ耐性 *Staphylococcus aureus* (GISA) の

検出例が報告されている。そこで過去 5 年間に分離した 307 株を対象として GISA の検出率を調べ、抗 MRSA 剤による MIC 測定を行った。

対象および方法: 1994 年から 1998 年の 5 年間に患者から検出された *S. aureus* (MRSA) 307 株 (1994 年 51 株, 1995 年 67 株, 1996 年 42 株, 1997 年 50 株 および 1998 年 97 株) を対象として MIC 測定は化療標準微量液体希釈法 (測定薬 7 種: TEIC, VCM, ABK, ST, MINO, RFP および LVFX) で行い、コアグラエゼ型別 (デンカ生研), TSST-1 産生試験 (デンカ生研) および Mu 3 増地 (日本ベクトン) によるヘテロ VRSA スクリーニングを実施した。

結果および考察: 各薬剤での MIC 50 および 90 は TEIC 2, 4 μg/ml, VCM 1, 1 μg/ml, ABK 0.25, 1 μg/ml, ST 1, 1 μg/ml, MINO 1, 32 μg/ml, RFP ≤ 0.06, ≤ 0.06 μg/ml, LVFX 8, 32 μg/ml であった。NCCLS ブレークポイントによる各薬剤毎の耐性率は TEIC, VCM, ABK, ST, MINO, RFP および LVFX の順で 0, 0, 0.3, 0.7, 30.0, 1.0 および 84.0% であった。5 年間の範囲内では著明な耐性化傾向を来した抗菌薬はみられなかった。コアグラエゼ型別は II 型が 96.0%, TSST-1 産生性は 80.9%, およびヘテロ VRSA は 4.7% であった。ヘテロ VRSA と判定された 4.7% (14 例) の内、感染の起炎菌と判断された症例が 9 例あり、内 VCM 使用例は 1 例のみで、この例を含め治療に難渋した例はみられなかった。

045 テイコプラニン (TEIC) の薬剤感受性について

日暮芳己・奥住捷子
米山彰子・中原一彦

東京大学医学部附属病院検査部

目的: 近年、多剤耐性 MRSA の分離頻度が増加し、平均分離率は 60% を越えるとの報告がある。私達は TEIC に対する MIC を測定した。

対象・方法: 1997 年に血液培養より分離・同定された MSSA 15 株, MRSA 11 株, CNS 71 株, *E. faecalis* 10 株, *E. faecium* 13 株を対象とした。また、TEIC と併せて VCM, MUP, ABK, TOB, AMK, CLDM, FMOX を測定し、主なものを抄録に記録する (以下単位は全て μg/ml)。

結果: MSSA では VCM・TEIC の MIC₅₀ は 1, MRSA は両者と MIC₅₀ は 2 であり、MUP の MIC₅₀ は MSSA 0.25, MRSA 0.13 であった。MSCNS (MIPIC ≤ 0.25) では VCM・TEIC の MIC₅₀ は 2, MRCNS (MIPIC ≥ 0.5) では VCM の MIC₅₀ は同様であった。MRCNS の TEIC の MIC₅₀ は 8 であった。MUP の MIC₅₀ は MSCNS 0.25, MRCNS 0.5 であった。*E. faecalis* および *E. faecium* の VCM の MIC₅₀ は 1, TEIC に対する MIC₅₀ は *E. faecalis* 0.13, *E. faecium* 1 であった。MIPIC 耐性 *Staphylococcus* spp. に対する TEIC と VCM の相関は、MRCNS では VCM 1 のとき TEIC は 0.25~2 に分布し、VCM 2 のとき 0.13~16 と分布した。しかし、MRSA では、VCM 0.5 のとき TEIC は 0.5~1 に、VCM 1 のとき TEIC は 0.5~2 に、VCM 2 のとき TEIC は 2~4 に分布した。

046 マクロライド耐性口腔レンサ球菌のケトライド HMR 3647 に対する感受性

小野恒子・弘田克彦
根本 謙・三宅洋一郎
徳島大学歯学部口腔細菌

目的: 菌性感染症の主要な起炎菌である口腔レンサ球菌のマクロライド耐性機構の解析と各種耐性菌に対する ketolide HMR 3647 の抗菌活性について検討を行った。

材料と方法: 口腔および鼻腔由来の erythromycin 耐性 *S. oralis* 11 株, *S. mitis* 7 株および感受性株 6 株を被検菌とした。抗菌薬として erythromycin, rokitamycin, clarithromycin, および HMR 3647 を使用した。MIC の測定は微量液体希釈法を採用した。

結果と考察: マクロライド耐性機構を解析するため、各種耐性遺伝子を PCR 法で検出した。その結果、6 株が *erm* 遺伝子、3 株が *mefE* 遺伝子プライマーによって PCR 産物が得られ、その塩基配列を決定し、*erm* 陽性 6 株中の 5 株と *mefE* 陽性株全株がそれぞれ *erm*, *mefE* 遺伝子を保有していることが確認された。

これらの耐性菌に対する erythromycin, clarithromycin の MIC は *erm* 遺伝子保有株に対し $\geq 512 \mu\text{g/ml}$ の高度耐性を示した。*mefE* 型およびその他の耐性菌に対する MIC はそれぞれ $4\text{--}32 \mu\text{g/ml}$ および $4\text{--}16 \mu\text{g/ml}$ であり中等度耐性を示した。rokitamycin の MIC は *erm* 保有株には $1\text{--}16 \mu\text{g/ml}$, *mef* およびその他の耐性菌には $0.063\text{--}1 \mu\text{g/ml}$ を示し比較的高い抗菌活性があった。HMR 3647 はさらに抗菌力が高く全ての耐性菌に対して MIC は $0.003\text{--}1 \mu\text{g/ml}$ を示した。さらに *erm* 遺伝子保有株の erythromycin 誘導菌に対する HMR 3647 の抗菌活性を測定したところ、非誘導時と同等の MIC を示し、23 SrRNA がメチル化されたリボソームに対しても結合能を有し、この遺伝子型による高度耐性株にも有効な抗菌薬であることが示唆された。

(会員外共同研究者: 土屋友房, 塩田澄子, 相川文子)

047 菌性感染症由来 oral streptococci のマクロライド系抗菌薬耐性について

金子明寛¹⁾・森鼻健史¹⁾・山崎純子¹⁾
佐々木次郎¹⁾・山根伸夫²⁾・松崎 薫³⁾
金山明子³⁾・小林寅詔³⁾

¹⁾東海大学医学部口腔外科

²⁾足利赤十字病院口腔外科

³⁾三菱化学ピーシーエル化学療法研究室

目的: 菌性感染症から主に分離される Oral streptococci のマクロライド薬耐性機構について検討を行った。一般にマクロライド薬耐性は主に、細胞内蓄積低下と不活化酵素によるものと言われている。またこれらの耐性はマクロライド、リンコサマイドならびにストレプトグラミン B にも交差耐性を示す。Oral streptococci についても例外でなく erythromycin 耐性株は種々のマクロライド、アザライド薬に交差耐性を示している。今回我々は種々の Oral streptococci のマクロライド耐性株について蓄積低下の主要因であるリボソームの質的变化の *erm* 遺伝子および能動的排出の *mef* 遺伝子について検討を行った。

方法: DNA の抽出は *N*-アセチルムラミダーゼにより被験菌株を溶菌させ、フェノール/クロロホルム処理により行った。得られた DNA を用い PCR 法により *ermA*, *ermB*, *ermC* および *mefA* の一部の領域を増幅した。プライマーは Joyce Sutcliffe らのものを使用した。PCR 産物の一部をアガロースゲル電気泳動を行い、目的とするサイズのバンドが

得られていることを確認後、Model 373 A オートシーケンサーにてシーケンスを行った。

結果: Oral streptococci のうちマクロライド薬に耐性を示す株は viridans group に属する株が多く anginosus group の中では *S. intermedius* のみに存在した。これらの耐性株 8 株のうち *ermB* または *mefA* のいずれかを検出したのは 5 株であった。残り 3 株のうち *S. intermedius* の 1 株は CAM 高度耐性にもかかわらず検討した遺伝子は認められなかった。すなわち Oral streptococci のマクロライド薬耐性に関する遺伝子の関与では *ermB* または *mefA* でありまたそれ以外の耐性機構も存在することが示唆された。

048 臨床分離エリスロマイシン高度耐性緑膿菌のマクロライド・リン酸化酵素

中村昭夫・小原康治・澤井哲夫
千葉大学薬学部微生物薬品化学

目的: マクロライド抗生剤 (ML) は副作用が少ないことから、小児領域を中心に使用され、最近ではびまん性汎細気管支炎等にも使われている。近年、臨床分離大腸菌で ML を不活化するエステラーゼや ML リン酸化酵素 [MPH (2')] が見出されている¹⁻³⁾。しかしながら、臨床分離緑膿菌における ML 不活化株の報告はない。本研究は、1997 年臨床分離緑膿菌について ML 高度耐性株の検索を行い、得られた耐性菌株の ML 耐性機構について検討した。

実験: 菌株: 1997 年度臨床分離緑膿菌 286 株。EM 耐性標準株の大腸菌 Tf 481 A, BM 2506, および BM 694/pAT 63。ML 感受性標準株の大腸菌 K 12 W 3110 rif。

薬剤 (治療略号): EM, CAM, RXM, OL, TAO, AZM, LM, SPM, JM, MDM, RKM, MOM。

MIC 測定: 日本化学療法学会標準法。

抗生剤不活化反応系: 既報^{1,3)}に従った。

残存力価測定: *B. subtilis* ATCC 6633 による生物検定。

結果: 臨床分離株の EM 感受性を調査した結果、MIC₉₀ 値は $200 \mu\text{g/ml}$ であり、そのうち MIC₉₀ $\geq 3,200 \mu\text{g/ml}$ の株は 2 株であった。これら高度耐性菌から調製した粗酵素試料を用いて ML の不活化反応を行ったところ、2 株ともに ML 不活化株であった。これら不活化株 2 株は、補酵素として ATP を必要とした。さらに PCR により ML 不活化遺伝子の検出を試みたところ *mphA* 様遺伝子が見出された。これらのことから、緑膿菌で初めて見出された ML 不活化株は ML 2'-リン酸化酵素産生株であることが明らかとなった。

文献: (1) *J. Antibiot.*, 41, 823, 1988 (2) *Microbios*, 79, 231, 1994 (3) *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 40, 1036, 1996

049 多チャンネル電極式溶存酸素濃度測定装置 (DOX-96) を用いた迅速薬剤感受性検査法の開発

—臨床分離株の測定—

奥村千晶・植谷絵美・河野 緑
保科定頼・町田勝彦

東京慈恵医大臨床検査医学

目的: 当講座ではこれまで 10 ch の電極式溶存酸素濃度測定装置 (DOX-10) を用いた薬剤感受性測定について報告してきた。感受性結果は従来法と良く一致したが、実用化には更に多チャンネル化が必要であった。今回、96 ウェルマイクロプレートと同形の電極 (MEC-96), および測定装置 (DOX-96) を開発し、薬剤感受性測定を行ったので報告する。

原理: 酸素電極には、溶存酸素濃度に比例した電流が流れる。好気性菌・通性嫌気性菌は、酸素存在下では酸素を消費してATP産生を行うため、酸素濃度変化で呼吸量が判明する。抗生物質を加えた菌液の、呼吸抑制の有無から、薬剤感受性を判定する。

材料: 菌株: 基準株7種、臨床株2種(東京慈恵会医科大学中央検査部由来 *P. aeruginosa* 27, *S. aureus* 32) 従来法: 基準株-Sensititre(日本製薬)、臨床株-WalkAway(デイド)

方法: 寒天培地で一夜培養した供試菌株を、Mef濃度0.5に調整し、電極上で測定菌液を調整する。DOX 96で3~8時間電流値を測定し、結果判定を行う。

結果: 微量液体希釈法と同様の操作手順による測定が可能であった。従来法との一致率は、基準株では1管差内80%、2管差内93%であった。緑膿菌では、1管差内73%、2管差内85%で、測定時間6~7時間であり、黄色ブドウ球菌では、1管差内67%、2管差内71%で、測定時間は2~4時間であった。

本研究は、平成9年度NEDO新規産業創造型提案公募事業として行われている。

050 1998年臨床分離株の各種抗菌薬に対する感受性調査

吉田 勇・木村美司
東山伊佐夫・佐々木 繁*
塩野義製薬(株)創薬研究所
*現: 品目開発部

我々は1992年から隔年で日本全国から各種臨床分離菌株を収集し、各種抗菌薬に対する感受性調査を実施してきており、今回、1998年臨床分離株の結果について報告する。

材料と方法: 供試菌株は日本全国14施設から各種臨床分離菌株の分与を受け、再同定後使用した。使用薬剤の殆どは力価の明らかな原末を使用した。感受性測定は日本化学療法学会感受性測定標準法(寒天平板希釈法)に準じ測定した。

結果および考察: *S. aureus* の中、MRSAの割合は51.7%であり、1992年より継続して50%を超えた高い分離頻度であった。MSSAに対しては経口β-lactam薬の抗菌力は、FRPM, S-1090, CFNDが優れ、MIC₉₀で0.78 μg/ml以下であった。MRSAに対しては、ABK, VCM, TEICの抗菌力が優れていたが、MIC 6.25 μg/ml以上の菌株はTEICで1株、ABKで2株認められた。

S. pneumoniae 79株中、PRSPの分離率は46.8%であり、増加傾向は認められなかった。PRSPに対して経口β-lactam薬ではFRPM, CDTR, CFPNおよびCFTMがMIC₉₀で0.78 μg/ml以下を示し優れた抗菌力であった。

E. coli においては全ての薬剤が良好な抗菌力を有していたが、ESBL産生株と考えられる1株が認められ今後の動向に注意が必要であった。

H. influenzae においては、CDTR, CFTM, CFPNの抗菌力が優れMIC₉₀で0.1~0.2 μg/mlを示し、次いでS-1090, CPDX, CETBであった。β-lactamase産生株は徐々に増加傾向を示し、BLNARは1996年から急激な増加傾向を示しており、注意が必要であった。

P. aeruginosa に対しては、β-lactam薬では新規カルバペネム薬として開発中のS-4661の抗菌力が最も優れ、次いでMEPM, IPM, CAZ, CZOPであった。また有効な薬剤が少ない中で多剤耐性化傾向が進んでおり早急な対策が必要と考えられた。

051 臨床分離緑膿菌に対するmeropenemの抗菌力について

山根伸夫¹⁾・川島千恵子²⁾・金子明寛³⁾
佐々木次郎³⁾・松崎 薫⁴⁾・長谷川美幸⁴⁾
小林寅吉⁴⁾

¹⁾ 足利赤十字病院口腔外科

²⁾ 足利赤十字病院中央検査部細菌室

³⁾ 東海大学医学部口腔外科

⁴⁾ 三菱化学ビーシーエル化学療法研究室

目的: 近年分離された緑膿菌に対する抗菌剤の薬剤感受性を測定し、CAZ耐性の緑膿菌についてはカルバペネム薬の治療効果をマウス実験感染モデルで検討した。

実験材料と方法: 薬剤感受性の測定は1994年から96年の間に分離された*P. aeruginosa* 400株について検討を行った。使用薬剤は、MEPM, IPM, CAZ, AZT, PIPC, AMKおよびOFLXの7薬剤を用いNCCLSの基準に基づいた微量液体希釈法で検討を行った。

マウス実験感染モデルによる治療効果の検討はICR系4週令のマウスを1群10匹で検討した。2MLDを腹腔内に接種し、1時間後に各被験薬を一回、背部皮下投与し7日間観察しED₅₀値を求めた。

結果: 各年度に分離された*P. aeruginosa*に対するMEPMのMIC₅₀およびMIC₉₀はそれぞれ0.5および8 μg/mlと年度別MICに変化はなく、測定した抗菌薬中もっとも強い活性を有していた。特にCAZ耐性(MIC: 32 μg/ml以上)の株に対するMIC₅₀値は94年から96年分離株に対し、それぞれ4, 2および2 μg/ml、PIPC耐性(MIC: 128 μg/ml以上)株では2, 1および4 μg/mlと優れた成績を示した。また、OFLX耐性(MIC: 8 μg/ml以上)株に対しても同様な傾向を示した。同系統のIPMとの比較においてもMIC_{50, 90}値ともに2から8倍低い値であった。

またCAZ耐性株感染マウスに対する治療効果ではCAZ, MEPMおよびIPMのED₅₀は>40, 8.16および5.24 mg/mouseであった。

結論: 臨床分離*P. aeruginosa*に対しMEPMは今回検討を行った7薬剤の中で最も優れた抗菌力を有していた。1994年から96年の間ではMEPMの抗菌力は経年的にも変化していないことが判明した。

052 黄色ブドウ球菌、肺炎球菌、緑膿菌に対するCefoselis, Cefpirome, Cefozopran, Cefepime, Panipenem, Meropenemの抗菌力の比較検討

水谷 哲
北野病院内科
松尾清光・藤川 潤
同 臨床検査部

目的・方法: 98年臨床分離株黄色ブドウ球菌(MSSA 51株、MRSA 47株)、肺炎球菌(PSSP 52株、PISP 24株、PRSP 22株)、緑膿菌'93-94分離50株、'98分離44株、cefoselis(CFSL)、cefpirome(CPR)、cefozopran(CZOP)、cefepime(CFPM)、panipenem(PAPM)、meropenem(MEPM)の薬剤を使用。最小発育阻止濃度(MIC)を日本化学療法学会標準法に従い寒天平板希釈法で測定。また、NCCLS breakpoint(μg/ml)に準じて、黄色ブドウ球菌、緑膿菌: 第4世代セフェム8、カルバペネム4、肺炎球菌: PAPM 0.12, MEPM 0.25、第4世代0.5と設定、breakpoint以下を薬剤感受性率(S)とし第4世代セフェム4剤、カルバペネム2剤の抗菌力の比較検討を行った。

結果: ①MIC₉₀ (μg/ml) MSSA: PAMP ≤ 0.0313, MEPM 0.125, CFSL 1, CPR 1, CZOP 1, CFPM 4 MRSA: CFSL 32, PAMP 64, MEPM 64, CPR 128, CZOP 128, CFPM > 128 PSSP: PAMP ≤ 0.0039, MEPM 0.0156, CFSL 0.125, CPR 0.125, CZOP 0.25, CFPM 0.25 PISP+PRSP: PAMP 0.0625, MEPM 0.5, CPR 0.5, CFSL 1, CFPM 1, CZOP 2 緑膿菌 '93-94: CZOP 8, MEPM 16, CFPM 16, PAMP 32, CPR 32, CFSL 32 緑膿菌 '98: MEPM 32, CZOP 32, CFPM 32, PAMP 32, CPR 128, CFSL 128

②S (%); MSSA: すべて 100 MRSA: PAMP 19, MEPM 15, CFSL 13, CZOP 9, CFPM 2 PSSP: すべて 100 PISP+PRSP: PAMP 100, CPR 94, CFSL 85, MEPM 76, CFPM 28, CZOP 26 緑膿菌 '93-94: CZOP 90, MEPM 82, CFSL 68, CFPM 66, CPR 58, PAMP 40 緑膿菌 '98: MEPM 82, CZOP 80, CFPM 68, CFSL 66, CPR 64, PAMP 25

結語: ①MSSA, PSSP に対する抗菌力は感受性率では有意差を認めなかったが MIC 累積曲線からは MSSA: PAMP > MEPM > CPR > CFSL, CZOP > CFPM PSSP: PAMP > MEPM > CPR, CFSL > CFPM > CZOP の順に強かった。②MRSA では CFSL が MIC₉₀ 32 と最小で感受性中も最も狭かったが感受性率は 6 薬剤すべて 20% 未満以下で強い耐性を認めた。③PISP+PRSP に対する感受性率では CFPM, CZOP 2 剤が他の 4 剤より有意に低く MIC 累積曲線からは PSSP と同様の傾向を認めた。④緑膿菌 '98 分離株の感受性率では PAMP が他の 5 剤より有意に低く MIC 累積曲線からは MEPM > CZOP > CFPM > PAMP, CFSL, CPR の順に強かった。'98 株は '93-94 株より耐性化が進行しており中でも PAMP はこの傾向が最も強く、逆に MEPM と CFPM はわずかであった。カルバペネムに対しては D₂ 欠損株による耐性の進行が示唆された。

053 抗菌薬選択のための疫学情報としての細菌検査結果集計について

稲松孝思¹⁾・深山牧子¹⁾・増田義重¹⁾
鈴木里和¹⁾・安達桂子¹⁾・柴崎公子²⁾

¹⁾東京都老人医療センター

²⁾東京都老人総合研究所

目的: 経験的治療における起炎菌推定の根拠として、起炎菌動向、薬剤感受性動向などの疫学情報が重要である。今回は病院単位での検査結果集計方法について検討する。

対象・方法: 東京都老人医療センターにおける、血液分離菌中の汚染菌の出現状況を検討した。また、1987年~1997年の痰検出菌について、全検体の集計成績と、年度ごとに同一患者の初回検体の結果のみを集計した成績とを比較した。

結果と考察: 血液分離菌の年次推移を見ると、coagulase negative Staphylococcus の検出頻度は、1973~1985 までは、血液分離菌の 15% 前後であったが、レズン入り培地、振盪培養を導入した 1985 年以降は年々増加し、近年は検出菌の 30% を超えるようになった。これらの例の臨床的検討からは 90% 以上が採血時のコンタミネーションによると判定された。疫学情報としてこの様な採血時の汚染菌と見なされる事例を集計に加えて公表すると、一般医師の誤解を招き誤った治療を誘導することになる。

喀痰分離菌の全てを集計すると、分離度数の高い菌種の順位は、MRSA、緑膿菌、MSSA、クレブシエラと、治療後の交代菌の頻度が増幅されて表現され、抗菌薬選択の参考とならない成績となる。同一患者の初回検査成績のみを集計すると、検出度数の高い菌種は、インフルエンザ菌、肺炎球菌、

MSSA、緑膿菌、MRSA、クレブシエラの順となり、真の起炎菌をより忠実に反映した成績が得られ、一般臨床医に対して教育的な意味のある成績となる。

一般医師に提供される細菌検査の疫学情報は、治療薬選択に役立つように工夫すべきであろう。厚生省の委託調査による抗生物質感受性状況調査や、製薬会社の収集した感受性報告は、感染症を専門としない一般医師に起炎菌や選択すべき薬剤に関して誤解を招きかねない。

054 アゾール耐性 *Candida albicans* マウス播種性モデルにおける FK 463 の治療効果

前崎繁文・佐々木英祐・橋口浩二
黒木美鈴・富山由美子・東山康仁
宮崎義継・朝野和典・田代隆良
河野 茂

長崎大学医学部第 2 内科

目的: HIV 患者の口腔カンジダ症からアゾール系抗真菌薬に耐性を示す *Candida albicans* が分離され、臨床的な問題となっている。さらに骨髄移植患者に発症した耐性株によるカンジダ血症も報告され、その治療は今後問題となることが予想される。今回我々は、アゾール耐性 *C. albicans* によるマウス播種性カンジダ症を作成し、(1,3)-β-D-グルカン合成酵素阻害薬である新規抗真菌薬 FK 463 の治療効果を検討した。

方法: 1) *in vitro* 抗真菌活性。菌株はアゾール耐性 *C. albicans* 臨床分離株 C 26 株 (*CDR 1* 遺伝子発現耐性株) と C 40 (*CaMDR* 遺伝子発現耐性株) を使用した。薬剤感受性試験は NCCLS 標準法 M 27-A に準じて測定した。2) *in vivo* 抗真菌活性。マウス播種性カンジダ症は BALB/C マウス、雄、6 週令の尾静脈より 1×10^7 CFU の菌液を接種し、fluconazole (FLCZ) 20 mg/kg は経口、amphotericin B (AMPH) 1 mg/kg, FK 463 1 mg/kg をそれぞれ 1 日 1 回 5 日間、尾静脈より投与した。菌数測定は 1×10^6 CFU の菌量で接種したマウスにて同様に治療し、感染 6 日目に両側の腎臓を摘出し、生菌数を測定した。また、ファンゲテック G テスト MK (生化学工業) にて血漿中の (1,3)-β-D-グルカン量を測定した。

結果: 薬剤感受性試験では FLCZ の MIC は両菌株ともに 128 μg/ml 以上と高度耐性を示したが、FK 463 はともに 0.0156 μg/ml と優れた感受性を示した。マウス播種性カンジダ症の治療効果では両菌株感染群ともに 100% の生存率を認め、AMPH と同等以上の成績を示した。また腎臓内生菌数は両菌株感染群ともに無治療群および FLCZ 治療群に比較して有意に減少し、また血漿中 (1,3)-β-D-グルカン量の上昇も認めなかった。

結論: 新規抗真菌薬 FK 463 はアゾール耐性カンジダ症の治療に有効であることが示唆された。

055 菌球形肺炎アスペルギルス症例における Itraconazole の組織移行についての検討

林 嘉光・山腰雅宏・太田一隆
春日井市民病院呼吸器科

方法と対象: 菌球形肺炎アスペルギルス症 3 症例に Itraconazole (ITCZ) を 20 日から 21 カ月間、手術当日朝まで経口内服とした。約 8 時間後に菌球を含む外科的肺切除術を行い、ITCZ の血中濃度、肺組織内と菌球内濃度を測定した。

症例 1: 20 歳, 女性。1995 年 1 月より咳嗽が続いていた。同年 6 月には 3 回の血痰があり 7 月 25 日に当科を受診した。胸部 X 線写真, 胸部 CT では左上, 下葉の背側に数個の囊胞と囊胞内に腫瘤陰影と三日月状の透亮像を認めた。外来にて ITCZ 1 日 100 mg 内服を 21 ヶ月間続けたが, 本剤の臨床効果は無効と判断し, 切除術を判断した。

症例 2: 62 歳, 女性。1998 年 4 月より咯血が頻回にあるため当科を受診した。胸部 X 線写真で右上葉に腫瘤陰影を認め, 経気管支肺生検の結果, 本症と診断し, ITCZ 1 日 150 mg の内服を開始した。しかし, 本剤内服による嘔気, 胸痛等の副作用が強く, 1 日 50 mg の内服にリズルを得なかった。同年 12 月より咯血が頻回に続き, 菌球の縮小がみられないため, 左舌区切除が行われた。

症例 3: 62 歳, 男性。1998 年 10 月より血痰があり, 近医を受診した。本症と診断され, 手術を勧められたが, 放置していた。しかし, その後も血痰が頻回に続くため手術目的で当科に入院した。胸部 X 線写真で右上葉に菌球を認め, ITCZ 100 mg 日の 20 日間の内服後, 右上葉切除手術が行われた。

結果と考察: 起炎菌は症例 1, 2 では *Aspergillus* sp., 症例 3 は *Aspergillus fumigatus* (ITCZ に対する MIC は 0.125 $\mu\text{g/ml}$) であった。ITCZ の血中濃度は各々 64, 84, 46 ng/ml, 肺組織内と菌球内濃度は 3 症例とも 10 ng/ml 以下であった。3 症例とも ITCZ の血中, 肺組織及び菌球内濃度が低く臨床効果が得られなかった。今後は ITCZ の血中濃度をモニターして, 投与量の増量を考慮する必要がある。

056 肺アスペルギローム 5 例の検討

江部 司¹⁾・森 健²⁾・松村万喜子²⁾
高橋まゆみ²⁾・小原共雄²⁾・磯沼 弘³⁾
猪狩 淳³⁾・松本俊治³⁾

¹⁾順天堂大学医学部総合診療科

²⁾同 内科血液学

³⁾同 臨床病理学

5 症例は全て男性で, 肺結核治療後の空洞に合併したもの 2 例, 結核性病変切除後に合併した 1 例, *Klebsiella* 肺炎治療後の遺残空洞に合併した 1 例, そして肺膿瘍または肺アスペルギロームを疑って切除した病巣内に真菌要素を認め病理解学的にアスペルギロームと診断された 1 例である。

1 例は結核性病変に伴う空洞性病変が両肺尖部に見られ, 初め右肺尖部に菌球像を認め itraconazole (ITCZ) の内服を行った。後に両肺尖部に菌球像を認めるようになり, 空洞内に amphotericin B (AMPH) を注入したが反応がなく, 再度 ITCZ の内服療法中に弁膜症により死亡した。

3 例は抗真菌剤の内服を行い, うち 2 例では菌塊の咯出を見, 咯痰中の真菌と血中沈降素も検出されなくなっている。1 例は ITCZ の内服を行っていたが, 肺アスペルギロームが原因と考えられる大量の咯血のため自宅で死亡した。

残る 1 例は 20 数年前に発熱を主訴に入院し, 肺膿瘍を疑い, 当時は抗生剤による治療で軽快したが, 肺アスペルギロームも疑われていた症例で, 以来十数年間ときに発熱を繰り返して入院し, 安静と抗生剤投与で軽快するという状態を繰り返して, 切除材料の病理学的検索により診断された。初診以来手術に至るまで, 咯痰から真菌を検出したことはなく, 血中沈降素も検出されなかった症例である。恐らくは菌球を巻き込んで被包化された古い膿瘍の型で存在していたのではないかと推測された。

検出された *Aspergillus* に対する ITCZ の MIC は RPMI 培地を用いた場合 0.125~0.5 $\mu\text{g/ml}$ であった。ITCZ の血中濃度は, 200 mg 投与 2 時間後で 0.263~1.782 $\mu\text{g/ml}$ で

あった。

肺アスペルギロームでは, 可能であれば切除することが最も確かな治療であるが, 多くは既存の病変を有するため手術に耐え難く, 内科的治療を行うが, 如何なる方法を用いるかは症例によって選択する必要がある。

057 侵襲性肺アスペルギルス症における β -グルカン測定 の意義

吉田 稔

帝京大学済生病院第 4 内科

外島正樹・高橋弘憲

高 清彦・三浦恭定

自治医科大学血液学

大林民典

自治医科大学臨床病理学

侵襲性肺アスペルギルス症は白血病などの血液疾患患者に発症することが多く, 近年, 増加傾向が指摘されている。確定診断は困難で, 急速に進行し予後は不良である。種々の免疫血清学的診断法や遺伝子診断法が開発され, ガラクトマンナン抗原や (1,3)- β -D-グルカン測定が比較的普及しているが, 早期診断における有用性は確立していない。今回我々は侵襲性肺アスペルギルス症で β -グルカン値を測定し得た 17 例について報告する。対象は 1988~1994 年の間に自治医科大学血液科で経験した血液疾患に合併した本症 17 例で, 診断はいずれも剖検で確定している。年齢は 18~70 歳 (中央値 44 歳), 基礎疾患は急性骨髄性白血病 6 例, 急性リンパ性白血病 2 例, 慢性骨髄性白血病 4 例, 悪性リンパ腫 1 例, 再生不良性貧血 2 例, 成人 T 細胞性白血病 1 例, 多発性骨髄腫 1 例で, 好中球減少日数 (500/ μl 以下) は 4~137 日 (中央値 50 日) であった。 β -グルカン値の測定は Fungal Index により行われ, 10 pg/ml 以上を陽性とした。レトロスペクティブにみた本症の一連の発熱エピソードで初期の β -グルカン値は中央値 11.7 pg/ml (1.9~27.6 pg/ml) で, 4 例 (23.5%) は陰性であった。経時的に測定した 15 例での β -グルカンの最高値は中央値 37.3 pg/ml (11.5~369.5 pg/ml) で, 全例が陽性となった。血液疾患に伴う侵襲性肺アスペルギルス症において β -グルカン値の測定は有用で病勢の進行とともに増加するが, 病初期においては必ずしも著明な上昇はみられない。従って早期診断をこれのみに頼ることは危険であり, 胸部レントゲン写真や CT を併用する必要がある。また本法では菌種の同定はできないため, 診断確定には ELISA 法によるガラクトマンナン抗原や PCR による DNA 診断を併用する必要がある。

058 婦人科領域における深在性真菌症の現状とフルコナゾールの治療効果

早崎 容・三嶋廣繁

佐藤泰昌・玉舎輝彦

岐阜大学産科婦人科

山田新尚

岐阜県立岐阜病院産科婦人科

伊藤邦彦

岐阜市民病院産科婦人科

和泉孝治

岐阜北総合病院産科婦人科

川添香子

揖斐総合病院産科婦人科

1993 年から 1998 年までの 6 年間に, 骨盤腹膜炎と診断され, 腹水の真菌培養が陽性であった患者 38 名を対象と

し、深在性真菌症の現状とフルコナゾールを1日、200~400 mg 点滴静注し、薬剤の有効性および有害事象について調べた。

検出された菌種は *Candida albicans* (61.9%), *Candida glabrata* (19.0%), その他 *Candida tropicalis*, *Candida parapsiosis*, *Candida krusei* を認め non-*albicans* によるカンジダ症が全体の約40%を占めた。

これらをフルコナゾールで治療したところ、フルコナゾール投与終了時には、*Candida albicans* は約70%が投与終了時に消失し、non-*albicans* の代表である *Candida glabrata* は消失率が25%と低くアゾール型の抗真菌薬であるフルコナゾールの治療の限界を示唆するものであった。また、投与終了時およびフォローアップ期間における臨床評価では38株中30株が治癒および改善を示し、これらは、フォローアップ期間においても再発例は1例のみであった。真菌学的には、投与終了時に42株中26株が菌消失、9株が減少を示した。

婦人科領域における深在性真菌症は non-*albicans* によるカンジダ症が増加してきている。また、フルコナゾールは骨盤内真菌症に対して高い効果および安全性が認められるが、今後副作用の少ないアゾール型抗真菌薬では抗菌活性や殺菌力がアンホテリシン B に近い優れた抗真菌薬の開発が望まれる。

059 MRSA の病原因子と遺伝子診断および DNA gyrase inhibitor について

中山一誠・川口 広・山地恵美子
日本大学医学部第三外科

術後感染症のうち、MRSA による菌血症・敗血症、特に Toxic shock syndrome を合併すると予後が悪く、早期診断と治療が必要となる。

ヒト病巣由来 MRSA 120 株について、PCR 法による *mecA* 遺伝子の検出、病原因子として、コアグララーゼ型、TSST-1 産生能、Enterotoxin 型、Hemolysin 産生能、 β -lactamase 産生能、および寒天平板希釈法による感受性試験を施行した。その結果 MRSA の感受性がメチシリン 800 μ g/ml 以上の耐性株は、全て *mecA* 遺伝子を検出した。コアグララーゼ型は II 型が 78.4% と優位であった。TSST-1 の産生能 63.3%、Enterotoxin 型は C 型 64 株、B 型 23 株、A 型 23 株であった。Hemolysin 産生能 32.5%、 β -lactamase 産生株 27.5% であった。

MRSA 感染症の予後を左右する病原因子は、コアグララーゼ II 型、TSST-1 産生、Enterotoxin C 型、Hemolysin 産生の 4 つが重要因子である。選択薬剤は Vancomycin、Teicoplanin が第一選択剤であり、今後、Coumermycin A₁ の開発に期待する。

060 MRSA におけるリポタイコ酸の局在性に及ぼすバンコマイシンならびにアルベカシンの影響

山田作夫・松本 明
川崎医大微生物

目的: 従来より我々は、抗菌剤による溶菌機構について検索してきた。今回はその一環として、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) に対するバンコマイシン (VCM) およびアルベカシン (ABK) の新たな作用点の解明を目的として、それぞれの抗菌剤によって処理された菌体の形態ならびに処理菌体におけるリポタイコ酸 (LTA) の局在性について検索した。

材料・方法: 臨床由来 MRSA R 207 株よりプロテイン A 欠損株として分離した R 207 F-2 株の対数増殖培養菌に抗菌剤を添加し、3 時間後に得られる処理菌の形態変化を、常法に従って透過型電子顕微鏡 (TEM) にて観察した。菌体内の LTA 局在性は、抗 LTA 抗体を用いた post-embedding 法による免疫電顕法にて観察した。

結果・考察: VCM による処理菌体の TEM 観察では、溶菌に至る多様な形態変化が観察できたが、分裂進行中の双葉状菌体における隔壁先端部位の解裂を伴う溶菌が最も顕著であったことから、VCM は主として隔壁形成後の菌体分裂時における細胞壁の構築阻害によって溶菌を誘導することが示唆された。さらに、VCM により双葉状になった菌体では LTA は細胞質膜と細胞壁の間隙に生じた多数の小胞に局在することが認められ、正常菌で観察できた LTA のメソソーム (MS) への局在とは明かに異なることから、溶菌菌体で生じた小胞は MS に由来するが、この MS 小胞は、VCM による細胞質膜障害作用により誘発された異常 MS と考えられた。一方、ABK 処理によって肥厚化した細胞壁内における LTA の局在は、細胞壁内 LTA 分布が最外部にわたる正常菌とは異なり、細胞質膜上にしか観察できなかったことから、ABK により細胞壁内の LTA 構築が妨げられていることが強く示唆された。

061 マウスの MRSA 血行性肺感染モデルを用いた抗菌薬の効果についての比較検討

富山由美子・黒木美鈴・朝野和典
前崎繁文・宮崎義継・田代隆良
河野 茂

長崎大学医学部第 2 内科

目的: マウスに MRSA を血行性に感染させた実験モデルを用いて肺炎に対する抗 MRSA 抗菌薬の治療効果を比較検討する。

方法: 6 週齢、雄、ddY 系、SPF マウスに、MRSA (長崎大学臨床分離株 NUMR 101) を封入した agar beads を、 2.5×10^6 CFU/マウスの菌量に設定し尾静脈より接種することで血行性肺感染症を作製した。Vancomycin, Teicoplanin, Arbekacin, SCH 27899 を治療薬として用いて治療効果の比較検討を行った。投与方法は、薬物の濃度を 5, 25, 125 mg/kg の 3 濃度、また、初回投与の時間を菌接種後の 2, 12, 24 時間後の 3 群に分けて、1 日 1 回計 7 日間腹腔内投与後に、それぞれの薬剤についての細菌学的検討 (肺内菌数) を行った。

結果: 初回治療を菌接種 2 時間後に開始した場合、VCM・TEIC・ABK の 3 薬剤とも、投与量に相関して肺内菌数は減少したが、菌接種後 24 時間経過したのちに初回治療を開始した場合、VCM・TEIC 群では高濃度投与群のみ菌数は低下した。これに対して SCH 27899 では 24 時間後に治療を開始しても、少ない投与量で菌数を低下させることが可能であった。今回の治療実験の結果から、MRSA 血行性肺感染モデルでは、迅速な治療が重要であると考えたが、SCH は他の抗菌薬と比較して感染の成立後も抗菌効果を発揮することが期待された。その理由として、肺の病理組織像にて、感染成立後、感染巣を取り囲むフィブリン膜が観察されるが、この膜を通過して感染巣に抗菌薬が移行するために、抗菌薬の効果が発現するのではないかと考え、今後検討予定である。

062 血液由来 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* に対する各種抗菌剤と Arbekacin の抗菌併用効果の検討

渋谷泰寛^{1,2)}・杉山幸比古¹⁾
北村 諭¹⁾・大野高司²⁾

¹⁾自治医科大学呼吸器内科
²⁾同 臨床病理部

目的・方法: 1996年11月から1999年4月の間、自治医科大学附属病院中央検査部細菌検査室で血液培養から分離された臨床分離 MRSA 206 株について各種抗菌剤と ABK との併用効果について *in vitro* の検討を行った。MPPIC の MIC $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ の *S. aureus* を MRSA とした。MIC の測定は日本化学療法学会標準法(微量液体希釈法)で行った。ABK と他剤との併用効果は ABK 100 mg 投与後3時間の血中濃度を1とした時の各種抗菌剤常用量投与後3時間の血中濃度の比に薬剤を混合して測定を行った。FIC index ≤ 0.5 を相乗効果、 $0.5 < \text{FIC index} \leq 1.0$ を相加効果、 $1.0 < \text{FIC index} \leq 2.0$ を不関、 $2.0 < \text{FIC index}$ を拮抗と判定した。

結果・考察: ABK の単独 MIC₅₀ 値は $2 \mu\text{g/ml}$ で、 $0.25 - 4 \mu\text{g/ml}$ の間に感受性が分布した。各種抗菌剤の併用によって、MIC 分布曲線は左に偏位し、TEIC, ABK において著明であった。ABK との併用によって IPM/CS, LVFX の MIC 分布曲線は著明に左方に偏位した。FIC index の平均値は、IPM/CS は 0.85, LVFX は 0.89 であった。ABK との併用によって TEIC, VCM の MIC 分布曲線は軽度左方に偏位した。FIC index の平均値は VCM が 1.15, TEIC は 0.93 で、TEIC では 52.3% で、VCM は 37.9% の菌性が相乗または相加効果を示しました。拮抗を示した薬剤、菌性は1株もなかった。FMOX, SBT/ABPC, FOM, LVFX, CMZ で NCCLS の耐性基準である $12.5 \mu\text{g/ml}$ 以上の菌株で FIC index が有意に改善した。

063 MRSA を含む複数菌感染症に対する IPM/CS + ABK 併用療法の臨床的検討

小橋吉博¹⁾・矢野達俊¹⁾・中村淳¹⁾
沖本二郎¹⁾・副島林造²⁾

¹⁾川崎医科大学附属川崎病院呼吸器内科
²⁾川崎医療福祉大学

目的: 近年、何らかの基礎疾患を有した重症患者において、MRSA の単独感染のみでなく、*Pseudomonas aeruginosa* をはじめとしたグラム陰性桿菌との混合感染も問題となる。今回私共は、こういった患者に IPM/CS + ABK の併用療法の臨床的検討を行った。

対象と方法: 対象は、1995年4月から1999年3月迄の4年間に MRSA を含む複数菌による重症感染症患者31例とした。投与方法は、IPM/CS 0.5 g x 2/日と ABK 150 mg x 1/日を IPM/CS 先行群と ABK 先行群の2群に分類して比較検討した。投与期間は4~28日で、臨床効果判定は自覚症状、炎症所見、浸潤影の改善度から総合的に検討した。

結果および考察: 臨床効果は、有効率が IPM/CS 先行群 63% に対し、ABK 先行群は 75% であった。細菌学的検討では、MRSA と *Pseudomonas aeruginosa* の同時分離が最も多く、除菌率が IPM/CS 先行群が MRSA 26%、*Pseudomonas aeruginosa* 38% に対し、ABK 先行群では MRSA 42%、*Pseudomonas aeruginosa* 43% と ABK 先行群がいずれの分離菌にも高率であった。ABK の血中濃度は、測定しえた12例のうち大半の症例は Peak 値および Trough 値ともに至適濃度がえられていた。副作用は1例もなかったが、臨床検査値異常は IPM/CS 先行群 21%、ABK 先行群 33%

といずれも高率であった。今回の検討から、MRSA を含む複数菌感染症において、IPM/CS と ABK による併用療法を行った結果、ABK 先行群の方が有効率、除菌率で良好であったが、安全性では臨床検査値異常が ABK 先行群で高率であり、有用性においては両群間で差は認められなかった。

064 MRSA による敗血症性血栓性静脈炎および感染性心内膜炎の一治癒症例

大蔵 暢・古川恵一
聖路加国際病院内科

我々は中心静脈カテーテル感染に続発した MRSA による右内頸静脈の敗血症性血栓性静脈炎と僧帽弁の感染性心内膜炎の症例を経験し内科的治療にて治癒したので報告する。

症例: 22歳女性

病歴: 入院4日前からの発熱、頭痛、咽頭痛を主訴に当科に入院し、入院3日後の朝、急に全身性痙攣、意識障害が出現、ICUに入室した。人工呼吸管理となり、右内頸静脈から中心静脈カテーテルが挿入された。肺炎と診断してアシクロビル、アキサメサゾン等の投与を開始した。8月11日より39℃台の発熱が出現した。血液培養から MRSA が検出され、右内頸静脈に血栓を認めたため敗血症性血栓性静脈炎と診断した。更に心エコーで僧帽弁に vegetation を認め感染性心内膜炎と診断した。治療として Vancomycin (1.5g/day) 静注(7週間)と ST 合剤 (6A/day) 静注(5週間)と Rifampicin (0.6g/day) (6週間) を併用した。その結果、静脈血栓は消失し、僧帽弁の vegetation も縮小しこれらの感染症は治癒した。

考察: 最近 MRSA による血管内カテーテル感染が増加し、それに起因して敗血症性血栓性静脈炎や感染性心内膜炎を合併する例が増加している。また黄色ブドウ球菌による感染性心内膜炎(特に左心系、中脳神経合併症)の Vancomycin による治療不成功例は約 40% と高率であることから本症例では初期の段階から Vancomycin に加えて組織移行性の良い ST 合剤と Rifampicin を併用して治療した。今後このような重症 MRSA 感染症に対して Vancomycin に ST 合剤や Rifampicin を併用する方法の有用性を検討すべきである。

065 当院におけるヘテロ VRSA の分離状況について

沢村治樹¹⁾・古田伸行¹⁾・青島 満¹⁾
渡辺邦友²⁾・松波登志子²⁾・加藤直樹³⁾
石原 哲³⁾・岩田 尚³⁾・後藤千寿³⁾
河村好章³⁾・村上啓雄³⁾・森脇久隆³⁾

¹⁾岐阜大学医学部附属病院中央検査
²⁾岐阜大学医学部附属細菌気性菌実験施設
³⁾岐阜大学医学部附属病院院内感染対策室

目的: 1996年頃から我が国において VCM 低感受性 MRSA の報告がなされ注目をあつめている。当院においても VCM の多用により VRSA の出現が危惧されている。そこで今回我々はヘテロ VRSA の検出用に開発された MU3 寒天培地(BBL)を用いてヘテロ VRSA の検出を試み若千の知見を得たので報告する。

方法: 平成10年6月から平成11年1月までの8ヶ月間に当中央検査部に提出された臨床材料から分離した MRSA の保存株 195 株を使用した。

ヘテロ VRSA の判定は、生理食塩水に被検菌を光電比色計(OD 578 nm)で吸光度 0.3 の濁度に調整した菌液を滅菌綿棒を用いて MU3 寒天培地に均等に塗布し、AZT のディスクを置き 35℃ の孵卵器で 24 時間培養し、ディスクの

周囲のみに発育を認めるものとした。

VRSA はディスクに関係なく培地全体に発育を認め MIC 値が $8 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上のものとした。

結果: MRSA 195 株中ヘテロ VRSA と判定されたもの 28 株 (14.4%) であった。また培地全体に発育がみられた 4 株をポピュレーション解析した結果 VCM が $4 \mu\text{g}/\text{ml}$ で発育が認められないものが 1 株あった。

考察: 今回の検討によりヘテロ VRSA 28 株が検出されたが、これらの分離株は MRSA 感染症の起因菌とは判定されていなかった。また VCM を長期投与した症例由来のものでもなかった。VRSA が生み出される背景には抗生物質の多用が指摘されてきたが、VCM の長期投与症例以外の患者にも定着が認められることから院内での伝播にも十分注意する必要があると思われる。

066 治療中に MRSA からヘテロ-VRSA へ耐性獲得をみた 2 症例

西谷 肇・桑原京子¹⁾・花木秀明¹⁾
 斧 康雄²⁾・杉山 肇・宮下 琢
 島本祐子・松本かおる・小渋陽司
 国井乙彦・平松啓一¹⁾・佐藤友英

帝京大学医学部内科学講座

¹⁾順天堂大学医学部細菌学教室

²⁾帝京大学医学部微生物学教室

最近ヘテロ-VRSA の臨床分離株が散見される。我々は MRSA 敗血症のバンコマイシン治療中に MRSA からヘテロ-VRSA へ耐性獲得をみた 2 症例を経験したので報告する。

症例 1: 50 歳, 女性 主訴: 腰痛, 右肩部痛, 左臀部痛。

既往歴: RA, SLE 経過: 1998 年 1 月, 腰痛, 左臀部痛が出現。歩行困難となり 1 月 24 日入院。入院時の血培で MRSA が検出され, 以後 MRSA 敗血症を繰り返した。右第 5 趾膿瘍, 左大腿部深部膿瘍を認め, それぞれ切開, 吸引を行った。バンコマイシン $1.0 \sim 2.0 \text{ g}/\text{日}$ 投与し一時 MRSA が消失しバンコマイシンを中止した。その後再び検出されたためバンコマイシン再投与したところ 6 月に, ヘテロ耐性 VRSA が検出された。

症例 2: 40 歳, 男性 主訴: 持続する高熱, 急性腎不全。

既往歴: 高血圧 経過: 1998 年 2 月浮腫, 急性腎不全にて他院で定期的に HD を受けていた。5 月中旬シャント閉塞, MRSA シャント創部感染後, 高熱が持続し MRSA 敗血症となり 5 月末転院してきた。血培から繰り返し MRSA が検出され三尖弁に疣贅を認め MRSA による細菌性心内膜炎と診断した。バンコマイシン治療中に 6 月中旬には血培よりヘテロ耐性 VRSA が検出された。ABPC/SBT, ABK 投与により一時除菌されたが 8 月上旬呼吸器不全となり 8 月 2 日に死亡した。

結果: 症例 1, 2 の血培から分離された MRSA, ヘテロ耐性 VRSA を PFGE で検討したところそれぞれの症例で同一の株がバンコマイシン治療中にバンコマイシンヘテロ耐性を獲得したことが明らかになった。

in vitro ではヘテロ VRSA から VRSA への変化もみられ, 臨床的にもヘテロ耐性 VRSA から VRSA へ変化する可能性もあり治療上十分な注意が必要と考えられる。

067 実験的肺炎における抗菌剤の抗炎症作用に関する検討

—主に抗エンドトキシン作用について—

中川朋幸・河合 伸・酒寄 享
 斎藤七重・井上 玄・太田見宏
 小林宏行

杏林大学第一内科

目的: 抗菌剤の抗炎症作用を観察する目的で, シプロフロキサシン (CPF) と γ -グロブリン (γ -glb) を用いて抗エンドトキシン作用を観察するとともにサイトカイン, 特に TNF と IL-10 の産生におよぼす影響について検討した。

方法: (1) 6 週齢 (雄) の ICR マウスに *K. pneumoniae* (DTS 株) を $1 \times 10^7 \text{ CFU}/\text{ml}$ 噴霧し未治療群, CAZ 投与群, CPF 単独投与群, CPF + γ -glb 併用投与群, γ -glb 単独投与群について血清中, BALF 中のエンドトキシンおよび BALF 中の TNF, IL-10 について測定した。(2) ヒト末梢血リンパ球を分離し $1 \times 10^6 \text{ cell}/\text{ml}$ に調整しリンパ球単独群, CAZ ($0.12 \text{ mg}/\text{ml}$) 添加群, CPF ($0.6 \text{ mg}/\text{ml}$) 添加群を作製, すべての群に LPS (*E. coli* 由来) $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ を負荷, リンパ球を活性化する目的で血清を添加した群と, IL-2 ($10 \text{ ng}/\text{ml}$) を添加した群とに分けそれぞれの TNF, IL-10 を測定した。

結果: (1) 血清中のエンドトキシンは噴霧後 3 日目でコントロール群, γ -glb 単独投与群で著明な増加がみられた。CAZ 投与群でも増加がみられたが CPF 単独投与群と, CPF + γ -glb 併用群での増加は軽度であった。BALF 中ではコントロール群, γ -glb 単独投与群ともに血清中と比較して早期にエンドトキシンの増加がみられた。CAZ 投与群では噴霧後 24 時間より著明な増加がみられた。BALF 中の TNF は CAZ 投与群において噴霧後 2 日目より著明な上昇がみられ 5 日目にはほぼ消失したのに対し, 他の群では著明な上昇はみられなかった。IL-10 は CAZ 投与群で TNF と同様の動きがみられたが, その他の群では観察期間を通じて濃度が維持された。(2) *in vitro* において血清添加群, IL-2 添加群いずれにおいても LPS 負荷後 24 時間で CPF は有意に TNF を抑制した。IL-2 添加群において CPF は IL-10 を有意に増加させた。

考察: CPF はエンドトキシン遊離を抑制しそれに伴う TNF 産生を抑制する。さらに, リンパ球 TNF の抑制, IL-10 増加により過剰炎症の制御作用が考えられた。

068 ステロイド投与後肺炎の成立に関する検討

—とくにサイト, カイン動態との関連において—

杉原徳彦・河合 伸・中川朋幸
 井上 玄・酒寄 享・小林宏行

杏林大学第一内科

ステロイド投与群, コントロール群に分けたマウス緑膿菌肺炎モデルを作成し, それぞれの末梢血および BALF 中の TNF, IL-10 の変動を観察した。その結果, ステロイド投与群において血清, BALF ともに菌噴霧後初期には, TNF は抑制され, 経過とともに増加した。血清 IL-10 は, コントロール群, ステロイド群ともに菌噴霧後早期から増加が示されたが, ステロイド群において噴霧前から高値であった。また BALF 中の IL-10 は, コントロール群に比しステロイド群において噴霧前から全経過を通じて高値を示す傾向がみられた。

一方, ヒトリンパ球に LPS を負荷し, ステロイドを添加による TNF, IL-10, IL-2, 可溶性 IL-2 受容体の変化を観

察したところ、24時間培養後の培養上清中のTNFは、ステロイド添加により減少し、容量依存的に増加した。一方IL-10はステロイド添加により増加し、容量依存的に減少した。可溶性IL-2受容体は、ステロイド添加により増加が認められたが、IL-2はステロイドによる影響は認められなかった。以上のことから、ステロイド投与後の緑膿菌肺炎の成立に関しては、感染初期におけるTNF産生抑制作用に伴う炎症反応の低下が重要な因子であると考えられた。一方IL-10はステロイドにより産生が促進されることが示され、その結果として、マクロファージ、好中球などの活性を抑制し、感染を助長する可能性が示唆された。また、ステロイドはリンパ球の可溶性IL-2受容体の産生を促進し、IL-2によるリンパ球活性を抑制している可能性が考えられ、これらの炎症性サイトカインの抑制と、抗炎症性サイトカインの増加が緑膿菌肺炎の成立に関与しているものと考えられた。

069 マクロライドのサイトカイン産生に及ぼす影響

黒木美鈴¹・富山由美子²・朝野和典³
宮崎義継²・前崎繁文¹・田代隆良¹
河野 茂¹

¹長崎大学第2内科

²同 臨床検査医学

³医療技術短大

DPBをはじめとする慢性気道感染症におけるマクロライド系抗菌薬の作用機序は近年多くの研究により明らかとなってきた。しかし臨床において、その作用機序は直接細菌側へ作用し、その病原因子を阻害し、生体の炎症反応を抑制したのか、生体側に作用しその結果除菌が誘導されたのかは結論が得られていない。我々は緑膿菌慢性気道感染モデルにおけるマクロライド系抗菌薬のBALF中の菌数及び好中球数、サイトカインへの影響を検討し、本系薬の慢性気道感染症における作用機序を検討した。

投与方法は、クラリスロマイシン 10 mg/kg を5%アラビアゴムに懸濁してゾンデにて感染90日目のマウスに経口的に14日間投与した。コントロールには5%アラビアゴム0.2 mlを投与した。

TNF α はクラリスロマイシン投与群では菌数の多寡に関わらず、コントロール群に比べ、抑制されていた。好中球と菌数はクラリスロマイシン投与群、コントロール群とも、菌数が少ないもの程、好中球数も少ない傾向にあった。

本実験においては、治療群において菌数に関わらずTNF α が低下していたため、まず生体側への作用が先にあるのではないかと推測された。この生体側に対する作用と細菌学的効果は、例えばTNF α が直接あるいは好中球接着分子であるMac-1等を介して間接的に好中球、菌数の低下をもたらす可能性も推測される。今回はIL-1 β やIL-10などに対するマクロライドの効果は不明であったが、今後さらに経時的に追っていき、その作用機序を明らかにしていきたい。

070 *Mycobacterium avium* 感染症における単球由来炎症性サイトカイン産生に対するクラリスロマイシンの作用の解析

菊地 暢・五味和紀・高橋 洋
渡辺 彰・貫和敏博

東北大学加齢医学研究所呼吸器腫瘍研究分野

本田芳宏

仙台厚生病院内科

抗酸菌により宿主細胞から誘導された様々のサイトカイン

は、宿主の感染防御免疫を誘導し、肉芽腫形成を促進する clarithromycin (CAM) の投与が推奨されている *Mycobacterium avium* (MAC) 感染症では、CAMが宿主の免疫を制御することにより感染防御に作用している可能性が示唆される。

今回我々は、MAC刺激による単球のサイトカイン産生に対するCAMの効果を検討した。

方法:

1) 日本赤十字から譲渡されたbuffy coatからプラスチック付着法にて単球を分離する。

2) 10% FCS 添加 RPMI 1640 培地に懸濁した単球 (2, 10⁶ 個/well) を MAC (0.1, 1 mol) で刺激し、更にCAMを0, 1, 100 μ g/ml 加え24時間培養する。

3) 上清中のTNF- α , IL-1 β , IL-8をELISA法にて測定する。

4) 細胞よりRNAを分離後、競合RT-PCRにてTNF- α のmRNAを定量的にする。

結果:

1) MAC刺激により単球からTNF- α , IL-1 β 及びIL-8産生が亢進するが、CAM投与により濃度依存的に抑制された。

2) RT-PCRより、TNF- α の産生はmRNAレベルで抑制された。

まとめ:

1) CAMは本来の抗菌作用に加え、単球からの炎症性サイトカイン産生を抑制することにより炎症を抑制している。

2) CAMはまた、単球からのケモカイン産生を抑制し、好中球の遊走・活性化を抑え、炎症の抑制に関与している。

3) CAMのサイトカイン産生抑制は、転写レベルで作用しており、細胞内シグナル伝達のカスケードに働いている可能性がある。

071 呼吸器感染症における起炎菌の分離頻度と主要菌の薬剤感受性

渡辺貴和雄¹・真崎宏則¹・渡辺 浩¹
永尾敬美¹・天野秀明²・吉嶺裕之²
大石和徳³・永武 毅⁴・宇都宮嘉明²
苑田文成³・降杉正和⁴

¹長崎大学熱帯医学研究所内科

²志岐立病院

³国立療養所川棚病院

⁴田上病院

目的: 私共は今日の耐性化の現況把握を目的に、呼吸器感染症5大起炎菌の薬剤感受性試験を行ない、興味ある知見を得たので報告する。

材料及び方法: 1) 細菌: 1997年1月から1998年5月までに喀痰定量培養法にて起炎菌と決定した肺炎球菌53株、インフルエンザ菌47株、プランハメラ・カタラーリス52株、黄色ブドウ球菌54株、緑膿菌52株の5菌種を対象とした。2) 薬剤: 33薬剤を用いた。3) 薬剤感受性測定法: 本学会標準法に準拠した寒天平板希釈法によってMICを測定した。

成績及び考察: 1) 肺炎球菌: PCGの分布域は0.013~3.13 μ g/mlで、0.1~0.78 μ g/mlに分布するPISP, ≥ 1.56 μ g/mlに分布するPRSPは夫々28%, 32%認められた。又、CTRX, CFTM-PIなどのセフェム剤においても耐性菌の増加が顕著であった。2) インフルエンザ菌: β -ラクタメース産生菌及び非 β -ラクタメース耐性菌(BLNAR)は夫々13%, 36%認められた。ニューキノロン剤に対し共通の耐性

菌4株が認められた。3) プランハメラ・カタラーリス; 本菌はβ-ラクタメース陽性率が高く、今回の菌株においても90%の株が保有していた。また第3世代セフェム剤に対しても2峰性分布が見られた。MEPMに対し全株が0.013 μg/ml以下であった。4) 黄色ブドウ球菌; MRSAが80%認められたが、ABK, VCM, RFPには良好な感受性を示した。又ニューキノロン剤に明確な2峰性分布を示した。5) 緑膿菌; IPM, CAZなどの抗緑膿菌性β-ラクタム剤に対し、比較的安定したMICを示したが、ニューキノロン剤では ≥ 12.5 μg/mlに分布する耐性株が数株認められた。

072 喀痰より分離されたインフルエンザ菌の薬剤耐性化と患者背景との関係

綿貫祐司¹⁾・鈴木周雄¹⁾・高橋 宏¹⁾
高橋健一¹⁾・吉池保博¹⁾・小倉高志¹⁾
庄司 晃¹⁾・西山晴美¹⁾・戸田万里子¹⁾
小田切繁樹¹⁾・小熊暁子²⁾・戸田理恵子²⁾
富岡敏昭²⁾

¹⁾神奈川県立循環器呼吸器病センター呼吸器科

²⁾同 検査科

平成10年4月1日~12月31日の9カ月間に喀痰よりインフルエンザ菌が分離された呼吸器疾患患者125例のべ144検体を対象とした。インフルエンザ菌は、β-ラクタマーゼ産生株でSBT/ABPC耐性のBLPACR(12株)と、SBT/ABPC感受性のBLPACS(8株)、及びβ-ラクタマーゼ非産生株でABPC耐性のBLNAR(13株)とABPC感受性のBLNAS(111株)の4群に分類した。BLNASのみを感受性菌(77.1%)とし他の3群をβ-ラクタム薬耐性菌(33株, 22.9%)として、患者背景・病態と耐性菌率の関係を検討した。

年齢、性別、喫煙歴、基礎疾患・合併症の有無、罹患年数や肺の器質的変化の指標とした1秒率・PaO₂と同菌の耐性化との関係は認められなかった。年間の感染増悪回数が4回以上の症例では検出されたインフルエンザ菌の64%が耐性株であったが、4回未満の症例では耐性菌率は20%に過ぎなかった。非感染時よりP痰・PM痰を喀出する39症例中14例36%は検出されたインフルエンザ菌はβ-ラクタム薬に耐性であったが、非感染時に喀痰(-)かM痰であった105症例では耐性菌率は18%であった。緑膿菌持続感染患者から検出されたインフルエンザ菌の耐性菌率は42%、インフルエンザ菌反復感染症例より検出された同菌の耐性菌率は29%であったが、持続して検出される菌がない症例では同菌の耐性化率は19%であった。マクロライド連投の53症例では耐性菌率は32%と、非投与症例の18%にくらべ高値であった。感染病態の有無と耐性菌率との関係は認められず、インフルエンザ菌の起炎性と耐性化とは関係ないと考えられた。

β-ラクタム薬耐性インフルエンザ菌検出のリスクファクターとして、(1)年間の感染増悪回数が4回以上。(2)非感染時の喀痰の性状がP・PM痰。(3)緑膿菌・インフルエンザ菌定着症例。(4)マクロライド連投を要する症例があげられる。

073 呼吸器病原性β-lactamase negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* (BLNAR) の臨床的検討

池田 徹¹⁾・栗田伸一²⁾・渡辺貴和雄¹⁾
大石和徳¹⁾・永武 毅¹⁾

¹⁾長崎大学熱帯医学研究所内科

²⁾十善会病院

対象と方法: 呼吸器病原性β-lactamase negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* (BLNAR) の臨床的意義を解明するため1994.1.10より1998.3.31の間に当科と関連施設にて分離された呼吸器病原性 *Haemophilus influenzae* に対し以下の項目を検討した。1. BLNAR分離例(12例)に対してカルテ調査を実施した。2. 臨床分離株94例についてMICの測定を行った。3. 一部の分離株に対しPulsed-field gel electrophoresis (PFGE) を行い遺伝子型の疫学的検討をした。

結果: 1. 臨床診断は肺炎3例、急性気管支炎5例、COLDの二次感染3例であり、市中感染が9割を占めた。1/3の症例に混合感染を認めたが、BLNAR分離症例の治療効果は著効22.2%、有効77.8%であった。

2. MIC₉₀の比較ではCDTR, CFTM, CMX, CTRX, LVFXが0.05 μg/ml以下と優れており、12.5 μg/ml以上の耐性化をCCL, CEZ, FMOX, IPM/CS, CAMに認めた。

3. 感受性菌、β-lactamase産生菌、BLNAR各々3株についてPFGEを行った。TENOVERらの分類により結果を検討したが各菌群間に特有のパターンは見られなかった。更に、感受性菌とβ-lactamase産生菌、感受性菌とBLNARに同一と考えられる遺伝子型を認めた。

074 Cystic fibrosis および本邦における慢性呼吸器疾患を伴う患者由来ムコイド型緑膿菌の検討

岡崎充宏¹⁾・荒木光二¹⁾・古谷信滋¹⁾
内村英正¹⁾・渡辺秀裕²⁾・小林宏行²⁾

¹⁾杏林大学医学部付属病院中央臨床検査部

²⁾同 第一内科

目的: ムコイド型緑膿菌は欧米におけるcystic fibrosis (CF) および本邦における慢性呼吸器疾患を伴う患者への抗生物質治療による菌交代現象の結果、患者の喀痰から高頻度に分離される。これらの感染症治療において抗菌薬のMIC値の測定は抗菌薬の投与方法や投与量の設定の目安となるため重要である。今回我々はCFおよび本院の外来患者由来の本菌に対する抗菌薬のMIC値を比較するためにEtestを用いて検討したので報告する。

材料および方法: 供試菌株: CF患者の喀痰由来ムコイド型緑膿菌33株(Prof. Bauernfeindより分与)および本院の呼吸器外来の慢性呼吸器疾患を伴う患者の喀痰由来ムコイド型緑膿菌29株を供試した。薬剤感受性試験: Etest(アスカ純薬)を使用し、NCCLSに準拠してMIC値を測定した。抗菌薬はPIPC, AZT, CAZ, IPM, GM, AMK, OFLX, CPFEX, について検討した。使用培地はミューラーヒントン寒天培地(ベクトンデッキンソン)を用いた。

結果および考察: 杏林およびCF患者由来株のPIPC, CAZ, AZTに対するMIC₉₀は顕著な差異を認めなかったが、IPMに対してはCF患者由来株の方が3管差の耐性を示した。またCF患者由来株においてPIPCおよびIPMに対して高度耐性株(それぞれのMIC値が512および64 μg/ml)が存在した。OFLXおよびCPFEXに対する両者の菌株のMIC値は同程度であったが、高度耐性株(MIC値: 64 μg/

ml) が存在した。ムコイド型緑膿菌の中に高度耐性株が存在することから、感染症治療においてこれらの抗菌薬を使用するときは分離菌株に対する抗菌薬の MIC 値を測定すべきであろう。その方法として Etest は大きな機器を必要とせず簡便に MIC 値を測定することが可能である。

075 CLINICAL EFFICACY OF LEVOFLOXACIN IN LOWER RESPIRATORY TRACT INFECTIONS

Zhangcheng Gao · Yanwen Chen
Shuang Mu · Quanyin He
Erzhang Chen

People's Hospital, Beijing Medical University

Despite the availability of antimicrobial agents and effective vaccines, lower respiratory tract infection (LRTI), such as community-acquired pneumonia (CAP) and bronchitis, remains a common and serious illness worldwide. With the expanding number of pathogens and the emergence of drug resistant bacteria, such as *Streptococcus pneumoniae* and β -lactamase producing strains of *Haemophilus influenzae*, new options of therapy are needed to provide adequate coverage for these growing numbers of resistant pathogens. Levofloxacin is the active *l*-isomer of ofloxacin. It has all of the excellent features of its original compound. Its advantages of being even more effective against a wider spectrum of bacteria makes it exceedingly well tolerated. In this study, we evaluated the efficacy of levofloxacin vs augmentin in the management of LRTI including acute bacterial exacerbation of COPD, CAP and bronchitis.

Sixty patients were randomized into each group (levofloxacin 0.5 g qd for 7–10 days or augmentin 2.4 g bid for 7–14 days). The criteria of inclusion and exclusion, and clinical assessment were base on the guideline of new antibacterial agent evaluation issued by Health Ministry of China.

Forty-nine (mean age, 55.5 years) and fifty-three (mean age, 64.1 years) patients were completed the management

with levofloxacin and augmentin, respectively. The disposition of patients entered into antibacterial comparison was showed in Table 1.

94.2% and 98.1% of patients in levofloxacin and augmentin respective group had been completed therapy, clinical evaluation and safety evaluation. 13 of 49 patients and 11 of 52 patients in levofloxacin and augmentin group respectively were investigated with microbiologic evaluation. The bacterial eradication rates were 76.9% (10/13, levofloxacin) and 72.7% (8/11, augmentin) respectively (Table 2). The data suggested that *Acinetobacter calcoaceticus* and *Pseudomonas maltophilia* were hard to be eradicated by both levofloxacin and augmentin treatment. As shown in Fig. 1, total efficacy rates of levofloxacin and augmentin therapy were 88.5% and 90.5%, respectively ($P > 0.05$). There was just one case with mild adverse drug reaction (nausea) associated with levofloxacin in our study.

We concluded from the results: (1) Levofloxacin 500 mg once-daily was as effective as augmentin 2.4 g twice-daily regimen; (2) Once-daily dose of levofloxacin offers significant advantages in terms of compliance and cost-effectiveness, making it an effective and safe alternative for the treatment of mild to moderate LRTI; (3) It is active against respiratory pathogens which may reduce the need for combination therapy.

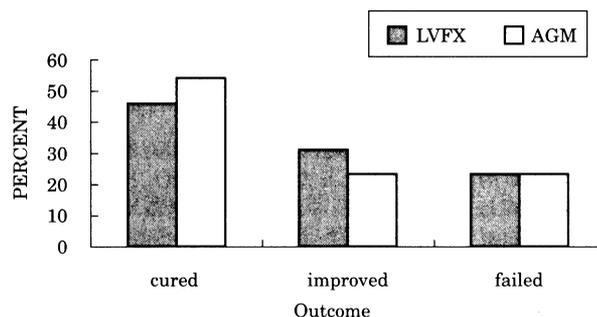


Fig. 1. Clinical response rates of levofloxacin and augmentin

Table 1. Disposition of patients entered into antibacterial comparison study

Outcome	Levofloxacin	Augmentin	Total
Randomized	60	60	120
Drug administered	52	53	105
Completed therapy	49 (94.2%)	52 (98.1%)	101 (96.2%)
Clinical evaluation	49 (94.2%)	52 (98.1%)	101 (96.2%)
Microbiology-evaluation	13 (25%)	11 (21.2%)	24 (23.8%)
Safety evaluation	49 (94.2%)	52 (98.1%)	101 (96.2%)

Table 2. Clinical response rate for patients with pathogens of primary interest

Pathogen	Levofloxacin			Augmentin		
	n	Cured/improved	failed	n	Cured/improved	failed
<i>Haemophilus influenzae</i>	4	4 (4/4)	0	2	2 (2/2)	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2	2 (2/2)	0	3	3 (3/3)	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	2 (2/2)	0	2	2 (2/2)	0
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	3	1 (1/3)	2	2	0	2 (2/2)
<i>Pseudomonas maltophilia</i>	1	0	1 (1/1)	1	0	1 (1/1)
<i>Serratia marcescens</i>	0	0	0	1	1 (1/1)	0
<i>Citrobacter freundii</i>	1	1 (1/1)	0	0	0	0

N: number of patient from whom pathogen was isolated either singly or in combination.

076 CLINICAL EFFICACY OF LEVOFLOXACIN IN LOWER RESPIRATORY TRACT INFECTIONS

Yingchun Tang · Kouxing Zhang
Tiantuo Zhang · Benquan Wu

The 3rd Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences

In China, levofloxacin has been used for the treatment of various bacterial infections for more than 3 years. Here we report the study on clinical evaluation of levofloxacin in the treatment of 122 cases of lower respiratory tract infections.

Enrolled 122 subjects were outpatients aged 18–65 years, definitely diagnosed as air-way bacterial infections (Table 1) and needed systemic antibacterial treatment. The dosage of levofloxacin was 200 mg twice daily for 7–10 days. No other antibacterial agents were used during the trial. Clinical and bacteriological response was assessed in accordance with "Guide of Clinical Practice of Antimicrobial Agents" issued by Health Ministry of China. Susceptibility disks (BBL) and agar dilution methods were used for susceptibility test.

Clinical response was shown on Table 2 and Table 3. Total efficacy rate was 88.52%. Of 111 isolates from sputum specimen of 122 patients, 109 responded to levofloxacin. MIC₉₀ of levofloxacin against *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *K. pneumonia*, *S. marcescens* and *H. influenzae* were lower to indicate brilliant antimicrobial activities, but *E. faecalis* and *P. aeruginosa* were resistant to it (MIC₉₀ were 16 and 8, respectively). Bacterial eradication was 90.99%.

Seven patients had drug related side effects, such as insomnia, gastrointestinal reaction and hepatic function temporarily abnormality.

Our results showed that most of RTI causative pathogens were sensitive to levofloxacin and it achieved 88.52% of total efficacy rate in the treatment of lower respiratory tract infections. Additionally, levofloxacin was a highly safe agent as well.

Table 1. Classification of Diseases

Classification	Number of cases
Pneumonia	30
Acute purulent tonsillitis	19
Acute exacerbations of chronic bronchitis	41
Bronchiectasis with infections	18
Acute bacterial bronchitis	14
Total	122

Table 2. Clinical Assessment

	No. of cases
Cure	21
Effective	87
Improved	18
Failure	6
Total efficacy rate	88.52%

Table 3. Recovery Duration of Symptoms and Signs

Clinical manifestations	Duration (days)
Fever	3.81±1.39 (n=102)
Cough, productive	7.74±2.23 (n=99)
Rale	5.48±3.11 (n=96)

077 小児の呼吸器感染症に対する cefozopran の臨床成績

坂田 宏 · 丸山静男

旭川厚生病院小児科

目的: cefozopran (CZOP) は 1990 年 11 月に小児科領域の臨床試験が開始されたが、実際に小児科の適応が認められたのは 1998 年 12 月であった。この約 8 年間に小児の呼吸器感染症の原因となる細菌として penicillin resistant *S. pneumoniae* (PRSP) や β lactamase negative ampicillin resistant (BLNAR) *H. influenzae* が増加してきている。したがって、このような耐性菌にも開発時の有効性が保たれているかを評価した。

対象と方法: 対象は 1999 年 1 月から 5 月までに当施設に細菌性呼吸器感染症が疑われて入院し、CZOP を投与した小児 61 名である。年齢分布は生後 5 か月から 13 歳であった。CZOP は 20 mg/kg/回を 8 時間毎に投与した。

成績: 61 名のうち CRP 陽性など細菌感染症を示唆する検査所見が得られ、上咽頭スワブまたは耳漏から原因菌が検出された 33 名では、全員有効以上の臨床効果が得られた。原因菌としては *H. influenzae* が 12 名と最も多く、ついで PRSP (penicillin に対する MIC が 0.1 μ g/ml 以上) が 9 名、PSSP (penicillin に対する MIC が 0.1 μ g/ml 未満) が 6 名であった。細菌学的効果は 6 名で菌が消失せず、82% の消失率であった。PRSP の 1 名は 2 週間後に再燃した。細菌感染症を示唆する検査所見が得られたが、原因菌が検出できなかった 14 名でも全員有効以上の臨床効果が得られた。ウイルス感染症など本剤適応対象外と考えられたのは 14 名であった。61 名における副作用は下痢・軟便が 2 名にみられた。

まとめ: CZOP は小児の細菌性呼吸器感染症の治療に有用な薬剤と考えられる。ただ、PRSP に対する除菌率は 13 名中 10 名 (77%) とやや低く、1 名では再燃していることから、PRSP 感染症には注意が必要と思われる。

078 マイコプラズマ肺炎に対するニューキノロン剤の臨床効果

沖本二郎¹⁾ · 藤田和恵¹⁾ · 狩野孝之¹⁾

矢野達俊¹⁾ · 小橋吉博¹⁾ · 中村淳一¹⁾

松島敏春²⁾ · 副島林造³⁾

¹⁾ 川崎医科大学附属川崎病院呼吸器内科

²⁾ 川崎医科大学呼吸器内科

³⁾ 川崎医療福祉大学

目的: マイコプラズマ肺炎に対するニューキノロン剤の臨床効果を、テトラサイクリン剤及びマクロライド剤のそれと retrospective に比較検討した。

対象及び方法: 1. 対象: 1985 年から 1997 年までに、川崎医科大学附属川崎病院呼吸器内科で入院加療を行ったマイコプラズマ肺炎患者の中で、ニューキノロン剤で治療された 26 例 (36.0±13.7 歳)、テトラサイクリン剤で治療された 48 例 (36.8±11.9 歳) 及びマクロライド剤で治療された 14 例 (26.4±12.9 歳)、計 88 例を対象にした。

2. 方法: ニューキノロン剤、テトラサイクリン剤及びマ

クロライド剤の臨床効果を、日本化学療法学会の、呼吸器感染症における新規抗微生物薬の臨床評価法に基づいて、投与3日後に比較検討した。

結果: 1. 臨床効果: 3日後に有効と判定された症例は、ニューキノロン剤投与26例中25例(96.2%), テトラサイクリン剤投与48例中45例(93.8%), マクロライド剤投与14例中14例(100%)と、各群とも極めて優れた結果であった。

2. 副作用: 4例が、副作用によって抗微生物薬の中止を余儀なくされた。嘔気・嘔吐がEMの2例、皮疹がMINOの1例、白血球減少がMINOの1例である。

結論: ニューキノロン剤のマイコプラズマ肺炎に対する臨床効果は、テトラサイクリン剤やマクロライド剤に匹敵し、副作用も少ないと結論された。

079 A STUDY ON LEVOFLOXACIN IN THE TREATMENT OF 120 CASES OF ACUTE LOWER RESPIRATORY TRACT INFECTIONS

Zhongsheng Rong · Kong Zhang

Pulmonary Medicine, The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, China

Levofloxacin, an optical isomer of ofloxacin, is twice as potent as ofloxacin against Gram-positive and Gram-negative bacteria such as *H. influenzae*, *S. pneumoniae* and *P. aeruginosa*, while it has been shown to be as safe as ofloxacin. In this study, we evaluated the efficacy and safety of levofloxacin in the treatment of acute lower respiratory tract infections.

The study was an open trial. One hundred and twenty patients (51 male, 69 female, aged 18-74 years) were enrolled in the trial. Type of infections was shown on Table 1. Levofloxacin was administrated orally 200 mg twice daily for 5-14 days. No other antibiotics were used during the treatment. Overall clinical efficacy was assessed as "excellent", "good", "fair" and "failure" in accordance with the guideline made by Health Ministry of China.

The clinical response was shown on Table 2. The average duration of the treatment was 8 days. Total

Table 1. Disease distribution

Diagnosis	No. of case
Acute bronchitis	28
Acute exacerbation of chronic bronchitis	14
Emphysema with acute infection	38
Pneumonia	16
Bronchiectasis with acute infection	20
Asthma with acute bronchitis	4
Total	120

Table 2. Clinical assessment

	No. of cases (%)
Excellent	66 (55%)
Good	43 (35.8%)
Fair	11 (9.2%)
Failure	0
Total Efficacy Rate	90.8%

efficacy rate was 90.8%. Eighty strains of pathogen were isolated from 120 patients and 60 of them (75%) were eradicated at the end of treatment.

Six from 120 patients had mild adverse reactions (5 gastrointestinal malaise, 1 allergic dermatitis).

In conclusion, levofloxacin is a safe and effective antibacterial agent. It can be used to treat the patients with acute lower respiratory tract infections.

080 LEVOFLOXACIN VS CEFACLOR IN THE TREATMENT OF LOWER RESPIRATORY TRACT INFECTIONS

Lixian He · Jieming Qu
Shanfu Niu · Bijie Hu
Caimei Ni

Respiratory Dept., Zhongshan Hospital of Shanghai Medical University, China

Levofloxacin was developed to take maximum advantage of the stereospecific activity. It has twice the activity of ofloxacin, and display excellent pharmacokinetics, with a wide antibacterial spectrum. In this study, we evaluated the clinical efficacy and safety of levofloxacin in comparison with cefaclor in the treatment of lower respiratory tract infections.

The study was open labeled and randomized clinical trial. Sixty enrolled patients, who were diagnosed lower respiratory tract infections, randomized into levofloxacin and cefaclor group. There was no statistic difference between two groups in patients' age, sex, type and serious of the infections. Levofloxacin was given 200 mg twice daily 7-14 days and cefaclor was administrated 250 mg four times daily 7-14 days. The drug evaluation was based on the clinical response, microbiologic eradication and the incidence of adverse reactions.

The clinical outcome showed that the total effective rates in levofloxacin and cefaclor treatment groups were 90.0% and 86.7%, respectively ($P > 0.05$). But in the treatment of bronchiectasis with infection, the cure rate of levofloxacin (70%) was much higher than that of cefaclor (16.7%), $P < 0.01$. Fifteen pathogens were isolated from levofloxacin treatment group, 14 of them were highly sensitive to levofloxacin and eradication rate was 93.3%. In cefaclor group, 11 strains were isolated and eradication rate was 81.8%. One case of mild insomnia in levofloxacin group and one case of mild dizzy in cefaclor group were found.

In conclusion, levofloxacin is as effective and well tolerated as cefaclor in the treatment of lower respiratory tract infections. In addition, for those difficult-to-treat respiratory tract infections such as bronchiectasis with infections, levofloxacin seems to be more effective than cefaclor. Levofloxacin could be one of the choice in the management of lower respiratory tract infections in outpatient clinic.

081 当院における市中肺炎の検討

中里義則・武田博明

済生会山形済生病院内科

目的: 市中肺炎における起炎菌の分離頻度, 抗生剤投与期間, 入院期間を基礎疾患の有無により検討した。

対象: 平成9年4月~平成11年3月末の期間に当院へ入院した市中肺炎症例 100例

結果: 平均年齢は全体で65.5才, 基礎疾患を有する症例で72.6才, 無い症例で54.4才と約20才の差がみられた。基礎疾患は, 肺癌, 肺気腫, 肺線維症等の呼吸器系の疾患が約42%, その他の疾患では脳梗塞が32%, 次いで糖尿病が10%と多く認められた。重症度は本学会呼吸器感染症新規抗微生物薬臨床評価法により分類し, 軽症19例, 中等症77例, 重症4例であった。

起炎菌は, 基礎疾患の有無により異なっており基礎疾患の無い症例では, 肺炎球菌が27.8%と最も多く, そのうち, ペニシリン耐性菌及び, 低感性菌は各1例, 合計2例で約11%の割合であった。次いでインフルエンザ菌, 黄色ブドウ球菌(MSSA)が多く, 以上の3菌種が約90%を占めていた。基礎疾患を有する症例は, 緑膿菌, 肺炎桿菌, MRSA, プロテウス属, セラチア等, 多岐にわたり, 複数菌感染も6例に認められた。抗生剤投与期間の検討では, 基礎疾患を有する症例は, 基礎疾患の無い症例と比較し約13日長なっていた。死亡例8例は, 全て基礎疾患を有しており平均年齢は83才であった。そのうち6例はMRSAを含む複数菌感染であった。

考察: 基礎疾患を有する高齢者では起炎菌は多彩であり, 初期投与抗生剤無効例は重篤化する傾向があるため早期の効果判定と有効な抗生剤への変更が必要と考えられた。

082 Q熱による市中発症型呼吸器感染症の検討

高橋 洋・五味和紀・菊地 暢

渡辺 彰・貫和敏博

東北大学加齢医学研究所呼吸器腫瘍研究分野

背景: Q熱は *Coxiella burnetii* の感染に起因する人畜共通感染症であり, 欧米では市中肺炎の数%を占める一般的な呼吸器感染症の原因としてよく認識されている。近年では国内にもQ熱症例が多数存在する可能性が高いことが明らかになってきたが, 国内におけるQ熱の頻度や病像に関しては未だに不明の点が多く残されているのが現状である。

目的: 日本国内におけるQ熱の病像を把握するために市中発症型呼吸器感染症の患者検体を prospective に収集し, そのなかでQ熱症例が占める頻度と臨床像を解析する。

方法: 宮城県内各地域の18施設で研究会を組織し, 1997年12月から1998年3月の間に市中発症型呼吸器感染症として各施設を受診した患者から本人の同意のもとに血清, 咽頭拭い液, 喀痰を収集した。これら検体に関してまずIFA法による血清Q熱IgMおよびIgG抗体価を測定し, また同時に nested PCR法により血清, 咽頭拭い液, 喀痰からの *Coxiella* 遺伝子の検出を試みた。

結果: 登録症例数は237例で内訳は肺炎51例, 気管支炎89例, 急性上気道炎97例であった。抗体価に関してはIgG抗体価が320倍以上の高値を示した4例を陽性と判断した。一方のPCRでは咽頭から3例, 血清から1例の計4例が nested PCR の段階で陽性となった。これら陽性例の臨床像は高熱, 全身倦怠感, 肝障害など従来の欧米の報告に概ね合致していた。また陽性例の背景因子では, 都市部に居住し動物との直接接歴が乏しい症例がむしろ多数を占めてい

た。

考察: 今回の検討では, 237症例中の8例, 3.4%が陽性と判断された。すなわち日本国内においても欧米と同程度にQ熱症例が存在している可能性が示唆された。

083 PBP 3 (ftsI) の遺伝子異変による cefotaxime 耐性 *Haemophilus influenzae* の出現中山信子¹⁾・千葉菜穂子¹⁾・生方公子^{1,2)}¹⁾市中感染研究会²⁾(財)微生物化学研究所

近年, β -ラクタマーゼ非産生アンピシリン耐性インフルエンザ菌(BLNAR)が急速に増加している。BLNARは感性菌に比べ明らかに発育速度が遅く, 小コロニーを形成し, 菌分裂時の隔壁合成に異常が生じていることが示唆されたことから, それらの遺伝子解析を行った。

感性菌のABPCに対するMICが0.125 $\mu\text{g/ml}$ であるのに対し, BLNARのそれは, 2 $\mu\text{g/ml}$ と高い。CTXには感性菌は0.008 $\mu\text{g/ml}$ であるのに対し, BLNARでは0.063 $\mu\text{g/ml}$ 程度の菌株(Group I)と, 1 $\mu\text{g/ml}$ の菌株(Group II)とにグループに分けられる。

遺伝子解析のターゲットとしたのはインフルエンザ菌に見出されるPBP3のうち, 薬剤親和性の低下しているPBP3と, PBP4である。

PBP3はftsIという遺伝子にコードされる隔壁合成酵素で, アミノ酸残基610, 分子量67 kDのタンパクである。このftsIのトランスペプチダーゼ領域を解析した結果, BLNARの株にはトランスペプチダーゼ領域に共通して3つの遺伝子置換が認められた。グループIIとしたCTX高度耐性株では, さらに3つのアミノ酸置換が保存性アミノ酸配列SSNの近くに認められた。

PBP4はdacBという遺伝子にコードされるカルボキシラーゼで479アミノ酸残基, 分子量53 kDのたんぱくである。コード領域の途中から遺伝子解析した結果, 遺伝子の欠損がみられる株があったが, MICの結果と照らし合わせると, これが薬剤耐性化に主に関わっているとは考えにくかった。

以上の結果より, インフルエンザ菌の β ラクタム薬耐性化はftsI遺伝子の変異が深く関与し, 特にftsI遺伝子の変異レベルによってそのセフェム系薬に対する耐性度に違いのあることを報告した。

084 ディスク法による β -lactamase非産生アンピシリン軽度耐性 *Haemophilus influenzae* (BLNAR) の識別千葉菜穂子¹⁾・中山信子¹⁾・生方公子²⁾¹⁾市中感染症研究会²⁾(財)微生物化学研究所

インフルエンザ菌は薬剤感受性測定時に接種菌量の影響を受けやすく, また, 現行のディスク法では, 薬剤含有量が高すぎてBLNARを正確に識別出来ないという問題点がみられる。

このようなことから, PBP3とPBP4の遺伝子解析結果に基づき, 耐性化に関わる遺伝子領域をPCR法で検索し, BLNARと感性菌を識別するための薬剤とその含有量を検討した。

111株に対するABPCの感受性分布とPBP遺伝子変異, ならびに β -lactamase産生性の関係を見ると, 遺伝子変異のない株は0.25 $\mu\text{g/ml}$ に1峰性のピークとして存在するが, PBP3単独変異株とPBP3あるいは4に変異を有する

株は、0.5~8 $\mu\text{g/ml}$ まで広く分布していた。 β -lactamase 産生菌は、酵素のみの産生株と、PBP3 変異をも同時に有する株が6株認められた。

CCLにはPBP3変異株のほとんどが16 $\mu\text{g/ml}$ 以上のMICを示し、BLNARは感性菌から比較的明瞭に識別出来たが、その他の薬剤では、BLNARは耐性側に位置するものの、感性菌とは明確に区別出来なかった。これらの成績からBLNAR識別のためにABPC 2 μg とCCL 30 μg 含有ディスクを試作した。

ABPCディスクの阻止円とMICとの関係では、感性菌は ≥ 20 mmの阻止円を形成するのにに対し、PBP3あるいは4の遺伝子に変異のある株と β -lactamase産生株は ≥ 19 mmの阻止円で、ブレイクポイントは19 mmであった。CCLディスクでは現行の30 μg が適当で、感性菌は ≥ 19 mm以上の阻止円、PBP3変異株は阻止円を形成しなかった。CCLでは緩衝ゾーンが広く、容易にBLNARを識別できた。加えて、ABPCディスクと併用すると、「 β -lactamase産生+PBP3変異株」と β -lactamaseのみの株をも識別できることを明らかにした。

085 ESBLsの鑑別を目的としたCPDX/CVAディスクの評価

菅野治重¹⁾・久保勢津子¹⁾

中島一弘²⁾・池田正成³⁾

¹⁾千葉大・医・臨床検査医学

²⁾千葉大学病院検査部

³⁾栄研化学(株)

目的: ESBLは β -ラクタム薬の新しい耐性因子として注目されている。ESBL産生 *E. coli* や *Klebsiella* spp. は院内感染菌として今後問題となる可能性が高く、その確実な検出法の整備が急がれる。NCCLSは本年の指針(M 100-S 9)でESBL産生株のスクリーニングおよび確認法を提唱した。今回NCCLSのESBL検出法と自作したCPDXディスクによるESBL検査法の評価を行った。

材料と方法: 被検菌は1997年に関東の10施設から分離された *E. coli* 26株 (ESBL産生株7株)、*K. pneumoniae* 35株 (14株)、*K. oxytoca* 5株 (1株)を用いた。NCCLS法ではESBL産生株のスクリーニングとしてCTX、CAZ、CPDX、AZT、CTRXのいずれかに ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$ のMICを示す株をESBL産生の可能性があるとして、確認検査を行うよう指示している。確認検査はCAZ、CTXにCVAを、希釈法では4 $\mu\text{g/ml}$ 、ディスク法では10 μg 加えた場合に、単剤に比べて希釈法はMICが3管以上低下、ディスクは阻止円径が5 mm以上拡大した場合にESBL産生と判定する。今回はCPDXにCVA 10 μg を加えたディスクを栄研化学において試作し実験に加えた。

結果: *E. coli*におけるCPDX/CVA、CTX/CVA、CAZ、CVAのESBL検出の(感度、特異性)は各々、(100%、100%)、(100%、100%)、(57%、100%)であった。同様に *Klebsiella* spp. における成績は各々、(80%、92%)、(80%、92%)、(33%、100%)であった。

考察: 今回の成績ではCTXとCPDXの成績が良かった。しかしCPDXの方がCVAの効果が大きく、MICの低下の管差やディスク阻止円径の拡大が著しかった。このためESBLの検査薬にはCPDX/CVAが最も適していると思われる。しかし *Klebsiella* spp. にはさらに適当なESBL検出法を開発する必要がある。

086 画像処理法による β -lactamase誘導性の検討

尾上孝利¹⁾・山口智子²⁾・前田健生²⁾

松本和浩²⁾・木下智²⁾・村田雄²⁾

白数力也²⁾・佐川寛典¹⁾

¹⁾大阪南大細菌

²⁾同 口外I

目的: 粗酵素液をSDS-PAGE後にニトロセフィンで活性染色できることに目をつけ、バンド上で β -lactamaseによる β -lactamase活性の誘導性を比較出来るかどうか検討した。

材料と方法: 菌株は β -lactamase産生性 *P. corporis* TO 175 (*Pc* 175)と *P. melanocephala* TO 130 (*Pm* 130)を用いた。活性誘導は7種 β -lactamase (ABPC, PIPC, CEX, CMZ, LMOX, AZT, IPM)を用い、1/16 MICで4と15時間行った。分光光度法では基質CEZの分解活性をもとめた。画像処理法ではSDS-PAGE後に β -lactamaseをニトロセフィンで活性染色し、コンピューターに入力後、NIHImageで計測した。

結果と考察: SDS-PAGE後にニトロセフィン染色した像をデジタルカメラで撮影し、コンピューターに入力し、画像改善すると活性染色部位は明瞭になった。*Pc* 175を供試抗菌薬で処理したときの β -lactamase (分子量39,000)活性の誘導比(薬剤無処理に対する比)は、薬剤によって異なるが、分光光度法ではAZTを除く抗菌薬で2.0~7.0、画像処理法では全抗菌薬で1.3~2.3であり、誘導が認められた。

Pm 130の4時間誘導の場合 β -lactamase (分子量33,000、分子量24,000)活性の誘導比は分光光度法ではPIPC、CEX、CMZ、IPMで1.2~3.7であったが、画像処理法では向酵素で供試全抗菌薬で誘導比が得られ、分子量33,000の場合4.4~56.7、分子量24,000の場合3.2~23.4と分光光度法の値より大きかった。15時間誘導の場合に両測定法で誘導比に差がなく、画像処理法で分子量33,000の値を求めると1.0~2.0であった。分光光度法より画像処理法で値が大きい理由の一つはSDS-PAGEで β -lactamaseが精製されたためと考えられる。

以上の事実は、 β -lactamaseによる β -lactamase活性の誘導比は分光光度法と画像処理法で異なるが、画像処理法で測定領域を正確に取ることにより β -lactamaseによる誘導性を検討できることを示唆している。

087 β -lactamase耐性 *Prevotella nigrescens* TO 167 β -lactamaseの基質特異性

山口智子¹⁾・前田健生¹⁾・松本和浩¹⁾

栗林信仁¹⁾・村田雄¹⁾・白数力也¹⁾

尾上孝利²⁾・佐川寛典¹⁾

¹⁾大阪南大口外I

²⁾同 細菌

目的: 嫌気性グラム陰性桿菌の *Prevotella* はヒトの菌性感染症から頻りに分離される。これらのある菌株のうちニトロセフィン陽性のヒト口腔由来株のMICを測定すると、稀にIPMで高値を示す菌株が検出される。そこで本研究では、これら菌株からcarbapenemaseが検出されるか否かについて検討した。

材料と方法: 供試菌株は菌性感染症から分離しIPMのMICが32 $\mu\text{g/ml}$ 以上を示す *Prevotella nigrescens* TO 167を用いた。 β -lactamaseはABPC、PIPC、CEX、CMZ、CMX、CFTM、LMOX、FRPM、IPM、PAPMおよびAZTを使用

した。MICは寒天平板希釈法で測定し、酵素活性は、11種β-lactam薬を基質として分光光度法で求めた。Carbapenemase活性は金属イオンキレート剤で阻止されるため粗酵素液にEDTA-2Naを添加後30℃に20分保ってからPAPM, IPM, FRPMを基質として活性を測定した。

結果・考察: 供試菌に対する11種β-lactam薬のMICは接種菌量10⁸CFU/mlの時、32~1,024 μg/ml以上であり、著しく大きい値であった。供試菌由来β-lactamaseは基質IPM, PAPMおよびFRPMを加水分解し、その値はそれぞれ最大14, 66, 591 mU/mg proteinであった。また、基質ABPC, PIPCおよびCMZも加水分解したが、基質CEX, CMX, CFTM, LMOXおよびAZTを加水分解しなかった。2.0 mM EDTA-2 Na添加によりPAPM, IPMでは加水分解活性は完全に阻害され、FRPMのそれは約1/2に減少した。

以上の事実は、口腔由来 *Prevotella nigrescens* TO 167 のβ-lactam薬耐性にはβ-lactamaseが関与し、カルバペネム系抗菌薬を加水分解すること、また、EDTA-2 Naで活性を阻止できることから本β-lactamaseはcarbapenemaseであることが示唆される。

088 肺炎球菌におけるキノロン耐性機構の解析

福田秀行・岸井粒太
弦巻葉子・武井雅也

杏林製薬株式会社中央研究所
平松啓一

順天堂大学医学部細菌学教室

目的: 肺炎球菌のキノロン耐性変異株及び臨床分離株に対する種々のキノロン剤の活性を測定した。さらに、キノロン耐性機構の解析を行い、耐性獲得に関して考察を加えた。

材料と方法: 菌株: 肺炎球菌ID 553と各種キノロン剤で選択されたキノロン耐性変異株、及び臨床分離株(99株)を用いた。

使用薬剤: GFLX, Trovafloxacin (TVFX), SPFX, LVFX, CPFY, 及びNFLXを使用した。

遺伝子変異の同定: *gyrA*, *gyrB*, *parC*, 及び *parE* のQRDRの塩基配列を決定し変異を同定した。

結果及び考察: 野生株からGFLX及びSPFXによって *gyrA* 変異株が選択され、その他のキノロン剤によって *parC* 変異株が選択された。これら第1段階の *gyrA* 変異株あるいは *parC* 変異株からは、どのキノロン剤で選択しても *gyrA* + *parC* の二重変異株(第2段階変異株)が得られた。また、こうした変異株に対してGFLX, TVFXは他剤より優れた活性を示した。変異株の選択のし易さはキノロン間で異なり、GFLXは選択し難かった。これらの結果より、野生株におけるGFLX及びSPFXの主たるターゲットはDNA gyraseであり、他のキノロン剤はTopoIVであることが示唆された。また、*gyrA* 及び *parC* 変異株におけるキノロン剤の主たるターゲットはそれぞれTopoIV及びDNA gyraseであることが示唆された。耐性変異株を選択し難いキノロン剤はTopoIV及びDNA gyraseを近いレベルで阻害する(Dual target)薬剤であることが考えられた。臨床分離株において、その多くはキノロン感受性であり、キノロン剤のターゲット遺伝子に変異が認められなかったのに対し、中等度耐性株では3/4株で *parC* あるいは *parE* に変異が認められた。また、高度耐性株2株では *gyrA* + *parC* の二重変異が認められた。今後、肺炎球菌による感染症治療にキノロン剤を用いる場合、その活性はもちろん耐性菌の増加を防ぐために耐性を選択し

難い薬剤の使用が重要と考えられる。

089 肺炎球菌のオキシミノセファロスポリン耐性化について

北山理恵子・満山順一・山田 尚
南 新三郎・渡辺泰雄

富山化学工業株式会社総合研究所

目的: 我々は本学会において、オキシミノセファロスポリンにより、*pbp2x* が変異したオキシミノセファロスポリン耐性PSSP(以下OR-PSSPと略す)が選択されること、またOR-PSSPはさらに *pbp2b* および *1a* 変異が加わることによって各種β-ラクタム剤に高度耐性化したPISPに至ることを報告した。今回、オキシミノセファロスポリン以外のβ-ラクタム剤による *pbp2x* 変異株出現の可能性を検討したのでその結果を報告する。

材料および方法: 自然耐性菌出現の親株およびtransformationのhostとしてオキシミノセファロスポリン感受性PSSP(OS-PSSP)のD-993株を用いた。薬剤のセレクション濃度は1MICとし、親株に対するMICより1管以上上昇したコロニーを自然耐性菌、またCFTMのMICが2管以上、上昇したコロニーをOR-PSSPとした。

結果および考察: D-993に1MICのペニシリンを作用させると、PCGおよびAMPCの作用によって10⁻⁹~10⁻⁷の頻度で自然耐性菌が出現し、そのうちOR-PSSPは全体の10⁻¹⁰~10⁻⁹の頻度で出現した。ペニシリンで選択されたOR-PSSPの *pbp2x* をD-993に導入した株に対するオキシミノセファロスポリンのMICはhostに対するMICより2管上昇し、donorに対するMICに達していたこと。このことからペニシリンの選択で得られたOR-PSSPはオキシミノセファロスポリンの選択で得られたOR-PSSPと同様に *pbp2x* が変異しているであろうと推察された。

以上、オキシミノセファロスポリン使用以前にも *pbp2x* 変異株が潜在し、ペニシリンによって選択されてきた可能性が示唆された。

090 肺炎球菌のカルバペネム系薬軽度耐性菌における *pbp2b* 遺伝子の解析

生方公子¹⁾・中山信子²⁾・千葉菜穂子²⁾

¹⁾(財)微生物化学研究所

²⁾市中感染症研究会

肺炎球菌のβ-ラクタム系薬耐性化には、薬剤の標的であるPBPの中、PBP1A, 2X, 2Bをコードする遺伝子の変異が関与している。PRSPに対してタイプの異なるβ-ラクタム系薬が示すMICの挙動は、この3つの遺伝子変異がどのように組み合わせるかによって規定されている。PCGやPAPMのMICは *pbp1a* と *2b* 変異の影響を等しく受けるが、*pbp2x* 変異の影響はほとんど受けない。これに対し、セフェム薬は隔壁合成に関わる *pbp2x* 遺伝子の変異の影響を強く受ける。この成績はとりもなおさず各β-ラクタム系薬が標的とするPBPはどれかということをも意味している。標的ではないPBPには薬剤は結合しないので、その変異の影響は受けないはずである。

PAPMはPRSPに対して最も優れた抗菌力を有する薬剤であるが、それでもそのMICは0.063-0.25 μg/mlへと低下している。最近、さらにPAPMに対して0.5-1 μg/mlのMICを示す株が散見されるようになった。これらのPRSPの *pbp2b* 遺伝子を解析すると、保存性アミノ酸配列であるKTG近くに新たな10個のアミノ酸置換が共通して見出された。これらの置換の中ではKTGから1個離れたSSN

と KTG の 2 つの保存性アミノ酸配列近くに置換が生じていることになる。このことが PAMP に代表されるカルバペネム系薬に対するさらなる耐性化に深く関わっていると推定される。

新たなタイプの *pbp2b* 遺伝子変異を保持する株は、現在 PRSP 中の 1% 程度であるが、これらの株に PAMP を作用させ、その経時的殺菌効果を調べると、殺菌力は次第に低下してきている。このことは、既存の β -ラクタム系薬に一段と耐性化した PRSP が出現しつつあるということの意味し、今後その動向には十分な監視が必要と思われる。

091 最近における肺炎球菌、インフルエンザ菌の耐性化について

高橋孝行・辻原佳人・松本文夫

神奈川県衛生看護専門学校附属病院

目的: 肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) およびインフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*) は呼吸器感染症の起原菌として共に重要な菌種である。しかし、近年これらの菌の耐性菌が多く報告されている。ペニシリン耐性肺炎球菌はペニシリンばかりでなく他の β -ラクタム系薬にも耐性を示し、分離率は増加傾向にあり治療上問題となってきた。また、インフルエンザ菌の ampicillin (ABPC) 耐性は β -ラクタマーゼ (BL) 産生によると考えられていたが、近年 BL 非産生の株の中に ABPC 耐性株が散見されるようになり、BL 非産生 ABPC 耐性菌 (BL-negative-ABPC-resistant: BLNAR) として注目されている。メイアクト (CDTR-PI) は経口セフェム薬の中でもこれらの耐性菌にすぐれた臨床効果を発揮している。今回は、最近分離された菌株に対する CDTR の *in vitro* 抗菌力を他の経口 β -ラクタム薬と比較したので報告する。

材料と方法: 1998 年に分離された肺炎球菌 64 株、インフルエンザ菌 143 株を使用し、日本化学療法学会標準法に準じた寒天平板希釈法により MIC を測定した。MIC は以下の薬剤について測定した。cefactor (CCL), cefotiam (CTM), ceftaram (CFTM), cefdinir (CFDN), cefpodoxime (CPDX), cefditoren (CDTR), cefcapene (CFPN), faropenem (FRPM) と肺炎球菌には benzylpenicillin (PCG) をインフルエンザ菌には ampicillin (ABPC) を加えた。インフルエンザ菌の β -ラクタマーゼ産生にはニトロセフィン法で検討した。肺炎球菌は PCG の感受性より PISP, PRSP と思われる菌株について PCR 法により PBP の変異箇所を確認した。

結果と考察: 肺炎球菌 64 株に対する抗菌力を MIC₅₀ で比較すると CDTR=FRPM>CFPN=CFTM>CPDX>CFDN=CTM>CCL の順に優れていた。今回測定した菌株には PCG の MIC が 0.1 μ g/mL 以上のいわゆる PISP, PRSP が 64 株中 18 株 (28.1%) 存在した。しかし、*pbp* 遺伝子の変異を PCR 法で検討したところ PCG に感受性で PSSP であった菌株の中には *pbp 2X* に変異のある株が 14 株存在した。これらに対して CDTR, CFPN, CFTM, CPDX は変異のない PSSP に比較して抗菌力が悪くなっていた。一方、FRPM はこの *pbp 2X* の変異には影響されなかった。64 株中 *pbp* 遺伝子の変異で分類すると PSSP, PISP, PRSP はそれぞれ 31, 17, 16 株であった。これらから、PCG の感受性により PSSP とされた菌株の中にはセフェム系薬に感受性の悪いものがあることに注意をする必要があると思われる。インフルエンザ菌 143 株に対する抗菌力を MIC₅₀ で比較すると CDTR=CFTM>CFPN>CPDX>CFDN>FRPM=CTM>CCL の順に優れていた。143 株中 BL 産生菌は 24

株、非産生菌は 117 株であり、BL 非産生菌の中には ABPC の MIC が 1 μ g/mL 以上のいわゆる BLNAR が 12 株 (8.4%) 存在した。BLNAR に対しても CDTR の MIC は 0.2 μ g/mL 以下であった。それに比較し CFPN, CFTM, CPDX はそれぞれ 1.56, 0.78, 1.56 μ g/mL の MIC 値を示す株が存在した。

以上、CDTR は呼吸器感染症の主要起原菌である肺炎球菌、インフルエンザ菌いずれに対しても検討他剤より優れた抗菌力を示した。

092 ケニア共和国ナイロビ市スラム地域における急性呼吸器感染症とペニシリン耐性肺炎球菌の分離頻度

田口晴彦¹⁾・神谷 茂²⁾・堀 裕幸³⁾

千葉大学医学部微生物学教室

札幌医科大学小児科学教室

各林大学医学部第一内科学教室

目的: ケニア共和国ナイロビ市スラム地域における小児急性呼吸器感染症の現状を、病原体検索状況・薬剤感受性の観点から紹介することを目的とした。

方法: 1997 年 2 月~1998 年 9 月の間ナイロビ市スラム地域に住む 5 歳以下の小児を対象に、急性呼吸器感染症のプロジェクトを展開した。患者からは鼻咽頭スワブ・鼻腔吸引物を採取しウイルス・細菌・真菌の病原体検索を行った。分離された細菌・真菌についてはディスク法により薬剤感受性を行い、肺炎球菌についてはペニシリンに対する MIC を測定した。

結果: WHO の Standard Case Management に準じて 434 名の小児呼吸器感染症患者を登録した。その内 260 (59.9%) 名より病原体が検索され、最も高頻度に分離されたのは肺炎球菌 (39.3%) であった。分離された肺炎球菌の薬剤感受性は、WHO が急性呼吸器感染症の治療薬として推奨するペニシリンと ST 合剤に耐性を示すものが高頻度に存在した。ペニシリンの肺炎球菌に対する MIC を測定した結果、NCCLS の基準に準ずる PSSP が 58.3%、PISP が 41.7% であり、PRSP は 0% であった。

考察: 開発後進国における急性呼吸器感染症死亡率はマラリアに次いで多い。今回の我々の調査・研究から、WHO が推奨する抗生剤にすでに耐性を示す肺炎球菌などが高頻度に存在することが明らかとなった。さらに研究を推進させ、適切な治療薬の提案等を行って行きたい。

093 Pneumococcal resistance in the Asian region

Jae-Hoon Song

Division of Infectious Diseases, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University, Seoul, Korea

To investigate the prevalence of drug-resistant *S pneumoniae* in Asia as well as to document the spread of pneumococcal resistance between Asian countries, the Asian Network for Surveillance of Resistant Pathogens (ANSORP) has performed a multicenter *in vitro* surveillance study of pneumococcal resistance in Asian countries as well as pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and fingerprinting analysis of PBP genes of penicillin-nonsusceptible strains from Asian countries. ANSORP was first organized in 1996 to perform multinational studies on antimicrobial resistance in the Asian region. Pneumococ-

cal isolates which were consecutively collected from clinical specimens in 14 centers in 11 Asian countries during the period from September 1996 to June 1997 were tested. With the exception of lower respiratory tract specimens, isolates were recovered from clinical specimens representative of normally sterile body sites such as blood, cerebrospinal fluid (CSF), ascites, pleural fluid, synovial fluid, and sinus aspirate. Pneumococcal isolates from throat or nasal swab or nasopharyngeal aspirate specimens were excluded from the analysis.

A total of 996 isolates of *S. pneumoniae* were collected from 14 participating hospitals in 12 cities in 11 Asian countries during the period from September 1996 to June 1997. The most common specimen source was sputum (66.8%) followed by blood (14.1%), cerebrospinal fluid (3.6%), pleural fluid (0.7%), ascites (0.6%), and others including sinus aspirates, synovial fluid, closed pus and middle ear fluid (14.3%). The number and percentage of pneumococcal isolates which were not susceptible to different antimicrobial agents varied by country. Overall, 588 isolates (59%) were penicillin-susceptible, 182 (18.3%) were penicillin-intermediate, and 226 (22.7%) were penicillin-resistant. With regard to penicillin resistance, Korea ranked the first where 79.7% (95% C.I.; 73.0–85.3%) of total isolates were not susceptible to penicillin (MIC $\geq 0.1 \mu\text{g/mL}$) followed by Japan (65.3%, 95% C.I.; 54.3–75.5%), Vietnam (60.8%, 95% C.I.; 45.3–74.9%), and Thailand (57.9%, 95% C.I.; 48.8–66.7%). Percentage of non-susceptible strains to penicillin in Sri Lanka, Taiwan, Singapore, and Indonesia were 41.2% (95% C.I.; 26.3–57.9%), 38.7% (95% C.I.; 30.5–47.4%), 23.1% (95% C.I.; 14.2–33.1%), and 21% (95% C.I.; 8.9–38.9%), respectively. However, China (9.8%, 95% C.I.; 3.3–21.4%), Malaysia (9.0%, 95% C.I.; 1.9–23.7%), and India (3.8%, 95% C.I.; 1.6–7.7%) had relatively low prevalence of penicillin resistance during the study period. MIC_{90s} of penicillin ranged from 0.06 $\mu\text{g/mL}$ in China, India, and Malaysia to 8 $\mu\text{g/mL}$ in Korea, Taiwan, and Indonesia.

The most common serogroup in Asian isolates was 23 (30.2%) followed by 19 (24.9%), and 6 (15.1%).

A total of 154 penicillin-nonsusceptible strains from 7 Asian countries showed 60 different PFGE patterns. Several major PFGE patterns with *Sma*I restriction were noted to which many penicillin-nonsusceptible pneumococcal isolates from different Asian countries belonged. For example, type A pattern on PFGE was the most common one, which was shown in 35 strains from 6 countries, including Korea (6 isolates), Japan (1), Singapore (9), Taiwan (14), and Thailand (4). PFGE pattern of a serotype 23 F strain from Spain was identical to the type A pattern which was seen in many Asian strains, while those of strains from Iceland and France were quite different from any PFGE patterns of Asian strains. All of 12 pneumococcal strains from 6 Asian countries which were not susceptible to penicillin and showed the type A PFGE pattern had *pbp 1a*, *2b*, and *2x* gene fingerprints that differed from those of the penicillin-susceptible strain R 6. With *Hinf* I or *Dde* I plus *Mse* I digestion, 9 penicillin-resistant strains among 11 strains except two Japanese strains and one Malaysian strain showed the same

fingerprints of *pbp 2b* gene. One Japanese strain and a Malaysian strain had different fingerprints of the PBP 1A and 2X genes from those of other strains.

From the first multicenter surveillance of pneumococcal resistance in Asian countries by the ANSORP Study Group, increasing resistance to penicillin and other antimicrobial agents in many Asian countries was documented, which was more serious than expected. Data from molecular epidemiologic studies indicated that it may be partly due to the spread of resistant clones within and between Asian countries as well as due to injudicious use of antimicrobial agents. Continuous surveillance of pneumococcal resistance is strongly warranted in this region in the future.

094 *purR* 遺伝子への IS 挿入によるメチシリン高度耐性 *S. aureus* 株の耐性低下

藤村享滋¹・村上和久²

¹塩野義製薬(株)創薬研究所

²同 医科学研究所

目的: 高度耐性化した MRSA 株が再度耐性を低下させたことに関与する因子を解明する。

方法: 中等度メチシリン耐性 *S. aureus* (メチシリン MIC 6.3 $\mu\text{g/ml}$) より分離した高度耐性変異株 SRM 1647 (MIC 1,600 $\mu\text{g/ml}$)、および SRM 1647 株に由来する耐性低下変異株 SRM 1690 (MIC 50 $\mu\text{g/ml}$) と SRM 1691 (MIC 800 $\mu\text{g/ml}$) を用いた。ゲノム DNA 中の変異の解析には restriction landmark genomic scanning (RLGS) 法を用いた。すなわち DNA を制限酵素 *Hind* III で消化後、切断末端を放射能標識してから一次元目の電気泳動を行ない、更に *Mbo* I で消化後、二次元目の電気泳動を行なった。オートラジオグラムを比較して株間の差異を検出した。組み換え実験には温度感受性プラスミドを用いた。

結果と考察: RLGS 法によって高度耐性変異株 SRM 1647 と耐性低下株 SRM 1690, SRM 1691 間でゲノム DNA の差異を調べた結果、プリン合成系オペロンのリプレッサー蛋白をコードする *purR* 遺伝子内に、SRM 1690 株では挿入配列 IS 1182 が、SRM 1691 株では IS 256 が挿入していることが判明した。*purR*: : IS を正常な *purR* に置き換えた株では SRM 1647 株と同程度まで耐性が上昇した。一方、SRM 1647 株の正常な *purR* 遺伝子のほぼ全体を欠失させても耐性は低下しなかったが、PurR の C 末端側に存在する PRPP (5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate, リプレッサーの DNA 結合を制御する因子) 結合領域から下流を欠失させると耐性が低下した。SRM 1691 株でも PRPP の結合領域のすぐ上流に IS 256 が挿入しており、*purR* への IS 挿入変異により PurR の機能が一部変化し、これが最終的に耐性に影響したものと推察された。

095 メチシリン耐性の伝達に関与する mobile genetic element

伊藤輝代・片山由紀・平松啓一

順天堂大学医学部細菌学教室

我々はメチシリン耐性の伝達の機構を解明するために、*mecDNA* のクローニングとその塩基配列の決定を進めてきた。その結果 *mecDNA* には少なくとも 3 つのタイプが存在するが、このこれら *mecDNA* は共通した特徴 (1; *mecA* 及びその制御遺伝子群の存在, 2; 両端の inverted repeats, 3; site-specific recombinase とホモロジーを示す二つの orf

の存在, 4; 染色体上の同一の部位に挿入される) を持つ一つの単位であると考えられた。我々は preMRSA 315 の *mecDNA* 上に存在する *site-specific recombinase* とホモロジーを示す二つの *orf* をプラスミド pYT3 にクローニングし, プラスミド pSR を作製し, このプラスミドを挿入した株は *mecDNA* の部位特異的脱落が促進されることを確認した。またこの脱落に伴って環状中間体が形成されることを確認した。この環状中間体上の挿入部位をプラスミド pSR にクローニングし, プラスミド pSRatt を作製した。このプラスミド pSRatt を MSSA に導入すると, pSRatt は部位特異的及び方向特異的に MSSA 染色体に挿入された。これらの結果は *mecDNA* は二つの *Orf* の働きにより, 染色体から脱落し, 挿入される一つの単位 (*mobile genetic element*) であることを示している。我々は *mecDNA* を, これまでに知られていない新しい *mobile genetic element* として *Staphylococcal cassette chromosome mec* (SCC*mec*) と呼び, 脱落と挿入に働く二つの *site-specific recombinase* 遺伝子を *cassette chromosome recombinase A, B* (*ccrA, ccrB*) と呼ぶことを提唱している。

096 最近分離された MRSA に対する抗 MRSA 薬の *in vitro* 抗菌力

原 哲郎・宮田愛子
川畑敏枝・荒明美奈子
明治製菓(株)薬品総合研究所

近年臨床材料より分離されるブドウ球菌のなかの MRSA 平均分離率は約 65.5% にのぼっている。このような抗 MRSA 薬としては *arbakacin* (ABK), *vancomycin* (VCM) が使用されたが, 昨年, *teicoplanin* (TEIC) が発売され, 現在 3 剤が使用されている。また, 近年ヘテロ型 VCM 耐性 MRSA の存在が報告されるようになってきている。そこで今回新鮮分離 MRSA のこれらの薬剤に対する感受性を測定, 比較するとともに VCM ヘテロ耐性菌のスクリーニングを試みたのであわせて報告する。

材料と方法: 1998 年に分離された MRSA 361 株を使用し, 日本化学療法学会標準法に準じた寒天平板希釈法により MIC を測定した。薬剤は ABK, VCM, TEIC を使用した。VCM ヘテロ耐性菌のスクリーニングには MU3 寒天培地を使用した。

結果と考察: 今回使用した MRSA は喀痰 (33.8%), 咽頭粘液 (21.3%) の他, 創部・褥瘡 (5.0%) など様々な検体から分離されたものであった。81.2% が β -ラクタマーゼ産生菌であり, コアグラマーゼ型は, II 型が 95.6%, III 型が 2.5%, I 型が 1.1%, VII 型 0.6%, IV 型は 0.3% であった。V, VI, VIII 型は検出されなかった。各薬剤に対する感受性を MIC₉₀ で比較すると ABK のそれは 0.78 μ g/mL であり, VCM, TEIC のそれは 0.78 μ g/mL, 1.56 μ g/mL であった。VCM は 1.56 μ g/mL で被験菌 361 株すべての発育を阻止し, 耐性菌は認められなかった。ABK は 12.5 μ g/mL で, TEIC は 6.25 μ g/mL ですべての菌の発育を阻止した。ABK は 12.5 μ g/mL の MIC 値を示す株が 1 株存在したのみであった。短時間殺菌力の検討では ABK は VCM, TEIC に比べ優れていた。また, MRSA 361 株について VCM ヘテロ耐性菌のスクリーニングの結果 24 株 (6.6%) が確認された。

今回検討した 1998 年分離菌株に対する ABK の抗菌力は, VCM および TEIC と同程度であって, 1990 年頃の分離菌株に対する抗菌力とほぼ同等であることが明らかとなった。しかし, 最近 VCM 低感受性菌 MRSA, いわゆる VCM ヘテロ耐性菌の検出が報告されるようになったことを考慮す

ると今後の MRSA に対するこれらの薬剤の抗菌力の変動に注意をはらう必要がある。

097 バンコマイシン低感受性 MRSA の検出と院内での分布状況

野村秀一¹⁾・永山在明²⁾

¹⁾中村学園大学臨床細菌学研究室
²⁾福岡大学医学部微生物学教室

目的: 福岡大学病院の入院患者の各種臨床材料より分離される MRSA の中にバンコマイシン低感受性株が存在することを確認し, 昨年の本学会総会において報告した。今回は菌株数を増やし検討して得られたバンコマイシン低感受性株の分離頻度と院内におけるそれらの分布状況について検討した成績について報告する。

方法: 1997 年 8 月から 1998 年 3 月の 8 カ月間に福岡大学病院において分離された MRSA 485 株を対象にした。バンコマイシン低感受性株の検出はディスク法, グラディエントゲル法とポピュレーション解析法を用いて行い, その結果をバンコマイシン低感受性の MRSA のホモタイプの Mu50 株, ヘテロタイプの Mu3 株の性状と比較して検討した。院内での分布状況は診療科を大きく外科系, 内科系および救命救急センターに分けて, それぞれの診療科より分離されたバンコマイシン低感受性 MRSA について, その生物学性状および PFEG による遺伝学的解析を行って検討した。

結果と考察: 検討した 485 株の中にホモタイプのバンコマイシン低感受性株は存在しなかったが, ヘテロタイプの低感受性株が存在し, その分離頻度は病院全体で 18.1% であった。診療科別では, 外科系では 9.2%, 内科系では 10.9%, 救命救急センターにおいて 40.0% で, 救命救急センターでの分離頻度が高かった。ヘテロタイプのバンコマイシン低感受性株の遺伝学的相似性は PFEG パターンより大きく 14 のタイプに分類されたが, 分離頻度の高かった株は 2 つのタイプであった。それらの生物学性状はコアグラマーゼ型は II 型, エンテロトキシン型は A, C 型, TSST-1 産生能+および II 型, C 型, TSST 産生能+であった。この 2 つのタイプの株は外科系, 内科系, 救命救急センターのすべての診療科より分離されたが, 特に, 救命救急センターより多く分離された。これらのことから救命救急センターが本病院のバンコマイシン低感受性 MRSA の発生源になっている可能性が示唆された。

098 尿路結石破砕体外衝撃波の大腸菌に及ぼす影響

松本弘人¹⁾・藤井 明¹⁾・中田勝久²⁾
荒川創一³⁾・守殿貞夫³⁾

¹⁾新日鐵広畑病院

²⁾大日本製薬(株)アニマルサイエンス部研究所

³⁾神戸大学泌尿器科

目的: 衝撃波の細菌に与える影響を調べるため, 細菌に衝撃波照射を行う方法を確立するとともに, 大腸菌に衝撃波照射し増殖曲線に及ぼす影響をみた。

材料: 使用菌株: *E. coli* NIHJ-JC 2

衝撃波発生装置: 東芝社製 ECHOLITH ESL 500 A/GP

細菌封入膜: 旭化成ポリフレックス社製ヒートシール N タイプ

封入装置: オーム電気製 Vacuum Bag Sealer BS-827

培養液: 栄研化学, トリプトソイブイオン

培地: 栄研化学, DHL 寒天培地

方法:

1. 大腸菌 NIHJ-JC 2 をブイオン液で 24 時間 35℃ で静置培養。

2. 培養後の菌液を 100 倍に希釈。

3. フィルムをヒートシーラーを用いて接着し菌液封入のためのバックを 2 個作成し、その中に調整した菌液約 1 ml を各々のバックに封入。

4. 一方のバックを 35℃ の水槽に固定し、衝撃波を 9,900 発照射。他方のバックを同温度の別の水槽に保存しコントロールとした。

5. 照射直後、2, 4, 6 時間培養後の生菌数を測定。

結果: 照射直後の生菌数は平均 35% まで減少したが、6 時間後ではコントロールとほぼ同等の菌数であった。

考察: 菌液に衝撃波を照射することにより、生菌数が減少することが明らかとなった。旭化成ポリフレックス社製ヒートシール N タイプは封入フィルムとして破裂、接着部よりの菌液漏出はみられず有用であった。菌液に衝撃波照射する場合、封入バックの形状が重要である。今後の研究として、照射後の細菌形態観察、菌種の変更、少量の抗生剤を細菌とともに封入しての施行を考えている。

099 発熱予測スコアによる体外衝撃波碎石術の抗菌薬投与

藤田公生・牛山知己

鈴木和雄・水野卓爾

浜松医科大学

波多野伸輔

社会保険三島病院

佐藤慈則・神林知幸

磐田市立病院

麦谷荘一

聖隷三方原病院

尿路結石に対する体外衝撃波碎石術 (ESWL) は、術後に急性の腎盂腎炎の発生することがあり、その予測はむずかしい。そのために過剰な抗菌薬予防投与が行われる傾向がある。

ESWL 予定の 348 例に対し、結石の大きさ、術前膿尿、術前細菌尿、腎盂腎炎の既往、併施操作の 5 因子にもとづいた危険予測スコア (藤田: 西日泌尿. 58: 1, 1996) を算出したうえで、無投与・LVFX 100 mg 1 回投与・1 週間投与の 3 コースを自由に選択させた。

結果: 術前細菌尿のあった 11 例中 1 例に腎盂腎炎が発生した。術前細菌尿のなかった 337 例中 4 例に術後細菌尿が認められた。1 週間投与例には発熱例も術後細菌尿例もみられなかった。多くの例で、抗菌薬投与の決定はスコアに依存しなかったと記載されていたが、選択要因を分析したところ、スコアとほぼ一致していた。危険性が高い例には医師が投薬を決定し、危険性が低い例は患者に任意に選択させる傾向がみられた。危険性が低い例でも、ほぼ半数に予防投与がなされていた。このようなスコアによって術後腎盂腎炎発生の危険性を定量化し、危険性の低い例の予防投与を節約し、他方では危険性の高い例にはダブル J カテーテルを積極的に留置するなどの方策を図ることは意義があると考えられる。

100 有熱性尿路感染症難治化因子に関する検討

門田晃一・石井亜矢乃

津川昌也・公文裕巳

岡山大学泌尿器科

目的: 今回、我々是有熱性尿路感染症の難治化因子を明らかにする目的で、当科で経験した症例を retrospective に検討した。

対象および検討項目: 1988 年から 1998 年の間に当科病棟で加療された有熱性尿路感染症 87 例を対象とした。便宜的に抗菌剤を投与後 38℃ 以上の発熱が 3 日間以上持続した症例を難治群、2 日以内に解熱した症例を非難治群として比較検討した。検討項目は年齢、性別、全身性基礎疾患、全身状態の指標として血清蛋白値、アルブミン値、赤血球数、Hb 値および尿路基礎疾患、尿路手術の有無、尿路カテーテル留置の有無、腎機能 (s-Cr, CCr)、尿路通過障害の有無と比較した。また起炎菌、投与薬剤、投与薬剤に対する起炎菌の感受性も比較検討した。

結果: 有熱性尿路感染症 87 例中、難治群は 31 例、非難治群は 56 例であった。年齢、性別、全身性基礎疾患、全身状態の指標として血清蛋白値、アルブミン値、赤血球数、Hb 値および尿路基礎疾患、尿路手術の有無、尿路カテーテル留置の有無、腎機能 (s-Cr, CCr)、起炎菌、投与薬剤、投与薬剤に対する起炎菌の感受性などの比較では難治群、非難治群の両者で有意差を認めなかった。患側上部尿路の通過障害の有無の検討で、難治群は 83.9%、非難治群では 33.9% に水腎症を認め、難治群で有意に患側の水腎症を示す割合が高かった。水腎症の有無で発熱日数を比較すると、水腎症有りの群は無し群に比べ有意に発熱日数の増加を認めた。しかし、発症後 24 時間以内に尿管ステントが留置された水腎症症例では元々水腎症を認めなかった症例と発熱日数の有意差はなく、難治化が予防できたものと考えられた。

考察: 有熱性尿路感染症の難治化に最も関与する要因は患側上部尿路の閉塞性病変の有無と考えられた。よって難治化予防対策として、発症時に患側の水腎症を認めた場合、尿管ステントの留置などによる上部尿路のドレナージを考慮する必要があると考える。

101 LEVOFLOXACIN IN TREATING COMPLICATED URINARY TRACT INFECTION

Weicheng Wu・Shenrong Zhuang

Kangping Luo・Chunlei Xiao

Urology Dept., The Third Affiliated Hospital of Beijing Medical University

Complicated urinary tract infection is one of the common diseases and is somewhat difficult to be cured due to the primary diseases. However, before disposal of the primary diseases, it is necessary to control the urinary tract infection effectively, otherwise there may be serious infections later since the treatment of primary diseases almost always accompanied with iatrogenic injury. Levofloxacin is the optical activity L-isomer of Ofloxacin and has strong antibacterial activity to both gram-negative and positive bacteria. In this study, we evaluated the clinical efficacy and safety of Levofloxacin in the treatment of complicated urinary tract infections.

Thirty patients aged 19-78 were enrolled in this study with 21 males and 9 females. All of them had some

Table 1. Primary diseases and clinical outcomes

Primary diseases	Cure	Improvement	Failure
Calculus	10 (77%)	2 (15%)	1 (8%)
Tumor	6 (75%)		2 (25%)
Prostatic hyperplasia	2 (40%)	2 (40%)	1 (20%)
Others	2 (50%)		2 (50%)
Total	20 (67%)	4 (13%)	6 (20%)

symptoms or signs related to urinary infections and abnormal urinary analysis (WBC > 2/H in uncentrifugated samples). Twenty-seven of 30 cases were urine culture positive. All of patients were administrated orally Levofloxacin 100–200 mg twice daily for 5–14 days.

The Table 1 showed the primary diseases of enrolled cases and clinical outcomes. The average treatment duration was 8.3 ± 2.4 days. Total effective rate and bacterial eradication rate were 80% and 78%, respectively.

Three patients (10%) had mild drug-related adverse events.

Our results indicate that Levofloxacin is a highly effective and safe agent for the treatment of complicated urinary tract infections.

102 非失禁型尿路変向術術後の尿路感染症

松川雅則・古屋亮兒・竹山 康
国島康晴・高橋 聡・廣瀬崇興
塚本泰司

札幌医科大学医学部泌尿器科

背景と目的: 非失禁型尿路変向術を行った症例での術後細菌尿、および急性腎盂腎炎等の有熱性尿路感染症の実態は明らかにされていない。

対象と方法: 当科で施行された neobladder 群 (Studer 法) 42 例, reservoir 群 (Indiana pouch 法) 53 例を対象とした。

横断的調査として両群を対象に 1998 年 11 月から 1999 年 3 月までに外来を受診時に尿培養検査を提出した。また、縦断的調査として neobladder 群を対象に臨床経過と尿培養所見を調査した。

結果: 横断的調査では neobladder 群 42 例中 27 例 (64.3%) に, reservoir 群 53 例中 22 例 (41.5%) に尿培養を施行した。術後経過期間はそれぞれ中央値で 23.6 か月, 58.5 か月であった。細菌尿陽性は 44.4%, 77.3% であり neobladder 群が有意に ($p < 0.05$, カイ二乗検定) 低かった。分離細菌は neobladder 群で 41.2% がグラム陽性球菌で, reservoir 群では 28.6% であった。多くは腸内細菌科に属していた。

縦断調査ではカテーテル留置時や 38℃ 以上の場合を除いて, 尿培養検査所見を調べた。Neobladder 群での術後 3 か月以内では 70% に細菌尿が陽性であり, 術後経過年数とともに低下し術後 5 年では 20% となり, 低下傾向が認められた。また, 術後の 38℃ 以上の発熱エピソードは 23 例 27 回認められ, 術後早期 1 か月以内の尿路操作後に多くみられた。

考察: 尿路変更術後の細菌尿は主に腸内常在細菌が検出されていると思われるが, 時間と共に陽性率は低下し, 腸管上皮への細菌付着性が減少する可能性が考えられた。

103 尿路感染症分離菌に対する抗菌薬の抗菌力比較

熊本悦明・塚本泰司・茂田士郎
村井 勝・猪狩 淳・松田静治
山口恵三・大江 宏・岡 聖次
河野 茂

尿路分離菌感受性調査研究会

1982 年以来我々は毎年尿路感染症 (UTI) 分離菌を集積し, 各種抗菌剤の MIC を検討し, その成績を Japanese Journal of Antibiotics (日本抗生物質学術協議会刊行) に発表しつづけており, 詳細はその論文を参照されたい。

現在迄に集積し得た UTI 症例は男子 4,771 例, 女子 5,447 例の計 10,208 例となり, 1 万例を超す検討となっている。16 年間に亘る研究年数を重ねても, UTI 症例における性別・年齢別また症型別 (単純性・カテーテル非留置及び留置の複雑性の 3 型) の分布比は殆ど変わらない。また分離菌の菌種構成も抗生物質投与前のものでは不変である。また投与後分離菌にしても, *S. aureus* の分離率が増加傾向を示すこと以外は, 全体として殆ど変化していない。これらのデータは, 本邦の大学や大病院における UTI 症例の代表的資料になっているものと考えている。

本年度は臨床分離菌の New Quinolone (N.Q) 耐性化が話題となっているので, 我々の UTI 分離菌の N.Q 耐性化に焦点を合わせて検討した。

MIC 25–32 μ g 以上を耐性菌として, 菌種別に OFLX 耐性菌出現率を 1984–86 年度と 1996–98 年度で比較してみると, *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis* では耐性化はみられていない。*Proteus* spp. (*mirabilis* 以外), *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *S. marcescens* は数%前後の耐性化に止まっている。一方, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Enterobacter* spp. ではそれぞれ 30–50% の耐性化がみられているが, その耐性化は 80 年代に上昇したが, 90 年代に入ってからはそのレベルの範囲に止まっており, 今後の推移が注目されているところである。

なお *S. aureus* 及び *E. faecalis* の球菌群における OFLX 耐性化を, 我々の UTI 分離菌と RTI 分離菌及び外科系分離菌との間で比較してみると, RTI 分離菌の耐性化が他の 2 群より低い。これは RTI 感染症の感染局所の複雑性が, UTI や外科系感染症のそれより低いことが示唆されているデータと考えている。

104 尿路由来緑膿菌の薬剤感受性

石原 哲・安田 満・横井繁明
西野好則・山本直樹・高橋義人
坂 義人・河田幸道・出口 隆

岐阜大学泌尿器科

目的: 複雑性尿路感染症起炎菌においてカルバペネム系薬剤に耐性を示す緑膿菌が増加傾向にあるように思われたので現状を検討した。

対象と方法: 当施設並びに関連病院泌尿器科から 1988 年以降 11 年間に得られた, 直前に抗菌剤が使用されていない複雑性尿路感染症由来の緑膿菌 435 株を対象とし, PIPC, CAZ, IPM, GM, OFLX の感受性を本学会標準法による MIC を測定した。1994 年以降の株については全株, 1993 年以前の株については CAZ または IPM に対する高度耐性菌を対象にして, メタロ型 β -ラクタマーゼの遺伝子 *bla_{ND}* の保有状況を Senda らの方法による PCR 法で検討した。

結果: 緑膿菌 435 株に対する CAZ の MIC₅₀, MIC₉₀ は 6.25, 100 以上であるのに対して, IPM では 3.13, 12.5 と

優れた抗菌力を示した。MIC 25 $\mu\text{g/ml}$ 以上を耐性とした耐性株の頻度は、通年では CAZ で 27%, IPM で 8% であったが、IPM では 1997 年、1998 年で 18%, 25% と最近になり上昇していた。*bla_{IMP}* を検討した 189 株中、17 株が陽性であり、そのうち、最近 2 年の分離株が 16 株であった。*bla_{IMP}* 陽性と IPM 耐性とはよく一致していた。当施設で 1998 年に分離された *bla_{IMP}* 陽性株については患者背景、発症までの経緯などを調査したが、医原性・院内感染の可能性を否定できない症例が認められた。今後もカルバペネム耐性緑膿菌について病院疫学的検討を続けることが必要であると思われる。

105 最近 1 年間の当院における尿中分離菌の検討

桜井 磐・石田裕一郎・松本文夫
神奈川県衛生看護専門学校附属病院内科
高橋孝行・辻原佳人
同 検査科

目的: 尿路感染症は日常診療でしばしば遭遇し、抗菌薬療法に良く反応するが再発も稀ではない。抗菌薬療法で残存した菌や菌交代した菌による耐性化の問題もある。従って起炎菌と薬剤感受性の動向を知ることが、本症の治療上極めて重要である。今回、我々は当院の外来、入院患者の本疾患から高頻度に分離された *E. coli*, *E. faecalis* について検討した。

対象と方法: 調査期間は 1998 年 1 月から 12 月迄の 1 年間に当院を受診し、臨床症状、膿尿、細菌尿で尿路感染症と診断した 194 例を対象とし、男性が 42 例、平均年齢 48.0 歳、女性が 152 例、平均年齢 50.5 歳であった。*E. coli* は 135 例、*E. faecalis* は 59 例で、単数菌はそれぞれ 115, 53 例、複数菌のそれは 20, 6 例であった。各種抗菌薬の MIC を測定した。

結果及び考察: 1997 年、1998 年の尿路感染症の検出菌のうち *E. coli* はそれぞれ 41.9, 39.3% で、次いで *E. faecalis* のそれは 19.4, 16.9% であった。*E. coli* と *E. faecalis* の年齢別検出率は *E. coli* が 50 歳代で最も多く、次いで 20, 60, 30 歳代の順であった。*E. faecalis* は 60 歳以上の高齢者に多くみられた。なお 10 歳未満では両群とも男性が多かった。尿路感染症疾患で *E. coli*, *E. faecalis* とともに、膀胱炎が最も多かった。尿路感染症の単純性は 91.2%, 複雑性は 8.8% であった。*E. coli*, *E. faecalis* のカテーテル留置群ではそれぞれ 5.2, 6.8% であった。*E. coli* の ABPC, CEZ, LVFX の MIC₉₀ 値はそれぞれ 100, 3.13, 0.78 $\mu\text{g/ml}$ であった。*E. faecalis* の ABPC, VCM, TEIC の MIC₉₀ 値はそれぞれ 1.56, 3.13, 0.39 $\mu\text{g/ml}$ であった。複数菌感染症は、*E. coli*, *E. faecalis* の混合感染が 38.5% と最も多かった。

以上、尿路感染症での抗菌薬療法は、第一選択として広い抗菌スペクトラムをもつニューキノロン薬が使用されたが、最近耐性菌の増加傾向が問題となっている。起炎菌が判明した場合は薬剤感受性成績を十分検討し、抗菌力のみならず体内動態や安全性などを考慮して適正な抗菌薬療法を実施していくことが肝要である。

106 難治性尿路感染症における分菌類の経時的推移

宮崎茂典・酒井 豊・米本洋次
中野雄造・荒川創一・守殿貞夫
神戸大学泌尿器科

目的: 抗菌薬化学療法が無効で、6 カ月以上にわたり尿路感染症が持続する 11 症例について経過観察を行った。

対象と方法: 当院泌尿器科外来通院中の難治性複雑性尿路感染症を有する患者のうち、カテーテル非留置で、基礎疾患に対する治療により排尿状態はほぼ正常化しており、抗菌薬化学療法が無効で、その後 6 カ月以上持続する尿路感染症を来している 11 例を対象とした。尿検査、尿培養検査、抗菌薬感受性試験を月 1 回施行し、原則として、発熱等の臨床症状が出現しないかぎり抗菌薬の投与は行わないこととした。

結果: 患者背景は男性 6 例、女性 5 例で、年齢は 41~85 歳、平均年齢 59 歳。基礎疾患は放射線性膀胱炎が 4 例と最も多く、次いで前立腺癌が 2 例で、前立腺温熱療法後、神経因性膀胱、尿道形成術後、不明がそれぞれ 1 例であった。分離菌は *E. haecalis* 3 株、*P. aeruginosa* 3 株、*E. faecium* 2 株、*S. epidermidis* 2 株、*K. pneumoniae* 1 株であった。尿中分離菌の存続期間は 6~16 カ月、平均 10.1 カ月で、経過観察中に 3 例が熱発を来しており、その際 3 例すべてで持続菌と同時に *E. coli* が尿中より分離された。抗菌薬感受性ではいずれの持続分離菌も多剤耐性化傾向にあった。

まとめ: 6 カ月以上にわたり尿路感染症が存続する 11 症例について経過観察を行った。基礎疾患は放射線性膀胱炎が 4 例と最多であった。持続する尿中分離菌は多剤耐性化傾向を示していた。経過観察中 3 例に熱発を認め、いずれも尿中より同時に *E. coli* が分離されたが、治療に難渋することはなかった。

107 最近 10 年間の尿路感染症分離菌の変遷および薬剤感受性の推移

石井亜矢乃・橋本英昭・門田晃一
那須良次・津川昌也・公文裕巳
岡山大学医学部泌尿器科

目的および方法: 1989 年から 1998 年の 10 年間に当科で分離同定された尿路感染症分離菌を集計し、年次推移を検討した。また当科病棟で使用された抗菌剤の使用量と尿路感染症分離菌の β -lactamase 産生能との関連について検討を加えた。対象は尿培養で総菌数 10^4 CFU/ml 以上とし、1 患者 1 感染を原則とした。 β -lactamase 産生能は disc 法を用いて判定した。

結果・考察: 単純性尿路感染症では大腸菌が主要分離菌種で 70~80% 前後を占め、年次的に大きな変化はなかった。複雑性尿路感染症では、グラム陽性菌の増加傾向を認め、特に *E. faecalis* と *S. aureus* の増加が顕著であった。グラム陰性桿菌では主要分離菌であった *P. aeruginosa* が 95 年頃より減少し、その結果、桿菌における菌種の多様化が進んだ。尿路感染症総分離菌の β -lactamase 産生率は全体として 64.5% であったが、高度産生株の減少傾向を認め、特にセファゾリン disc 陽性率の減少傾向を認めた。

入院患者に対する抗菌薬使用量の年次推移では、抗菌薬の使用量は減少傾向にあり、特に第 3 世代セフェム剤での減少が顕著であった。また、使用される抗菌薬の種類に大きな偏りがなくなった。ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌を除くグラム陰性桿菌において、抗菌薬使用量の年次推移が β -lactamase 産生率の変化に関与していることが示唆され、特にセファゾリン disc 陽性率とセフェム剤の使用量との間に

相関を認めた。その結果として、セファゾリン diac 陽性率の減少傾向を認めた。

108 岐阜大学泌尿器科外来における最近 11 年間の抗菌剤使用状況について

西野好則・安田 満・横井繁明
山本直樹・高橋義人・石原 哲
坂 義人・河田幸道・出口 隆
岐阜大学泌尿器科

目的: 過去 11 年間において、当科外来で尿路感染症の治療目的で投与された抗菌剤の使用頻度についてまとめ、各年で分離された主な起炎菌の MIC を測定し、その関連について検討した。

対象・方法: 1988-98 年の 11 年間に当科外来を受診した患者で、初診時に単純性、あるいは複雑性尿路感染症と診断され、抗菌剤を投与された 1,221 名を対象とした。MIC については、1988-97 年に当科外来において複雑性尿路感染症患者の尿から分離された主な菌種に対する OFLX の MIC を測定した。

結果: 使用抗菌剤の中でニューキノロン剤 (NQs) の占める割合は、単純性尿路感染症において 1988, 90, 92, 94, 96, 98 年でそれぞれ 50.9, 52.1, 48.7, 39.8, 28.3, 19.2%, 複雑性尿路感染症において 61.5, 65.1, 58.1, 56.3, 28.0, 26.7% と年々減少していた。OFLX に対する MIC 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上を耐性株とした場合、*E. coli* で、その割合は 1988-89, 90-91, 92-93, 94-95, 96-97 年でそれぞれ 0, 1.6, 3.2, 7.4, 6.0%, *P. aeruginosa* で、それぞれ 48.5, 76.2, 45.0, 44.0, 42.0% と若干減少傾向であった。*E. faecalis* では、それぞれ 6.5, 20.9, 27.7, 32.6, 33.0% であり、現時点では減少傾向がみられなかった。

考察: 単純性、複雑性尿路感染症患者に対する NQs の使用頻度は減少し、セフェム系薬剤、ペニシリン系薬剤は増加していた。このことは、NQs 耐性株の出現と増加に対してニューキノロン剤使用の適応を制限したためと思われる。1996 年以降において *E. coli* と *P. aeruginosa* で NQs 耐性株の割合は減少傾向にあり、ニューキノロン剤使用の制限が関与している可能性があると考えられた。

109 スルフイド誘導体 TY-50060, TY-50158 の *Helicobacter pylori* 持続感染に対する除菌効果

神谷 茂・田口晴彦
杏林大学医学部微生物学

目的: *Helicobacter pylori* (Hp) 感染に対し、抗生物質とプロトンポンプインヒビターなどの組み合わせによる除菌療法が行われ、良好な除菌効果を上げている。しかし、これらの療法では下痢、臓器障害、菌交代症などの副作用が懸念されているため、副作用の少ない薬剤が望まれている。スルフイド誘導体 TY-50060, TY-50158 は抗 Hp 作用を意図して新規に合成された化合物であり、これらの Hp に対する除菌効果を調べた。

方法: 使用菌株: 十二指腸潰瘍患者由来生検材料より分離された Hp TK 1402 株を実験に使用した。

感染モデルの作成: $10^8 \sim 10^9$ CFU の Hp TK 1402 を IQI/Jic (無菌) GF マウスに連続 3 日間胃内強制投与し、菌投与後 1 週後に 1 匹屠殺し、胃内の菌数を調べることで定着確認を行った。

被験スルフイド化合物の投与: Hp 定着確認後、TY-50060, TY-50158 および対照として用いた Amoxicillin (AMPC) を

PBS で各濃度で希釈して 5 日間あるいは 10 日間胃内強制投与した。

結果: TY-50158 を 1 日 5 mg/kg, 10 日間投与および TY-50060 を 1 日 50 mg/kg, 10 日間投与することにより Hp の消失が見られ、その後の回復も確認されなかった。しかし TY-50060 の 1 日 5 mg/kg, 10 日間投与では、Hp の減少が見られたが、その後菌数の回復が見られた。

考察: 今回、これらのスルフイド誘導体のうち、特に、TY-50158 は *in vitro* のみならず、*in vivo* においても著明な除菌効果が認められ、Hp 除菌療法への適用の可能性が示唆された。

会員外研究協力者: 林健二 (トーアエイヨー株式会社)

110 臨床分離 *Helicobacter pylori* が β -lactamase を産生する可能性は

雑賀 威¹⁾・佐藤弓枝²⁾・長谷川美幸³⁾
小林實祐¹⁾・岡本了¹⁾・井上松久¹⁾
¹⁾三菱化学ピーシーエル化学療法研究室
²⁾北里大学微生物学教室

目的: 現在 *H. pylori* の除菌治療には抗菌薬として主に amoxicillin (AMPC) および clarithromycin (CAM) が用いられている。しかし、多くの除菌失敗例から CAM 耐性株が検出され問題となっている。一方、アメリカやイタリアでは臨床分離株に AMPC 高度耐性株が報告されているが、我が国においては臨床分離株の AMPC 耐性に関する報告はほとんどない。そこで今回我々は、 β -lactamase 産生 plasmid 保有菌種からの plasmid 接合伝達により *H. pylori* が AMPC に耐性となる可能性について検討した。

方法: ドナーとして *E. coli* ML 4953 RP 4 株、レシピエントとして *H. pylori* ATCC 43504 および 43579 の 2 株を用いた。ドナー、レシピエントとも 10% 非酸化ウマ血清加ブルセラ broth で培養した後、各培養液 1 ml ずつと同 broth 2 ml を混合し、10% CO₂, 35°C で 24, 48, 72 時間静置培養し、抗菌薬含有血液寒天培地、HP 培地 (栄研化学)、ウマ血液寒天培地を用いて定量した。

結果および考察: 抗菌薬含有培地上にドナーの耐性性状を獲得した *H. pylori* の発育は認められなかった。また、HP 培地上に発育した *H. pylori* の各種抗菌薬感受性を測定した結果、すべて元株と同様な値を示し、 β -lactamase 活性も認められなかった。さらに、plasmid の抽出も行ったが、いずれの *H. pylori* からも plasmid は検出されなかった。

試験菌数が少ないため明らかなことは言えないが、現段階では、 β -lactamase 産生 plasmid の接合伝達により *H. pylori* が AMPC に耐性となる可能性は低いと考えられる。今後は、*H. pylori* の試験菌数を増やし同様な検討を行うとともに、electrotransformation 等の検討も行っていく予定である。

111 *Helicobacter pylori* 除菌治療前後の薬剤感受性の変化

村上和成・大本真美・久保田利博
佐藤竜吾・藤岡利生・那須 勝

大分医科大学第 2 内科

目的: *H. pylori* 除菌治療薬としてクラリスロマイシン (CAM) は中心的な薬剤となりつつある。しかし、除菌不成功後の耐性獲得、すなわち二次耐性菌の増加も懸念されているのが現状である。今回我々は、*H. pylori* 除菌治療不成功例において、治療前後の薬剤感受性変化を、使用した除菌治療薬レジメごとに検討した。

方法: 当科にて治療前の *H. pylori* 392 株について, CAM, AMPC, metronidazole (MNZ) に対する薬剤感受性試験を測定した。また, 各種薬剤の組み合わせで除菌治療を試みて不成功に終わり, 除菌前に CAM 感受性であった 50 例の薬剤感受性についても E-test を用いて検討した。

成績: CAM, MNZ, AMPC に対する一次耐性率は, それぞれの MIC 値で $1\ \mu\text{g}/\text{ml}$, $8\ \mu\text{g}/\text{ml}$, $0.5\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上を耐性とした場合, 10.2% (40/392), 26.5% (104/392), 0.3% (1/392) であった。除菌不成功 50 例中, CAM に対し二次耐性を獲得した症例は 22 例 (44%) であった。治療薬剤からみると, 3 剤併用療法における抗菌薬の組み合わせからは, CAM+AMPC で除菌不成功の場合の二次耐性化は 36% (9/25) であったのに対し, CAM+MNZ では 90% (9/10) と高率であった。また, PPI+CAM の 2 剤併用例では 80% (4/5) が二次耐性を獲得した。酸分泌抑制剤では PPI のほうが H^+ -blocker よりも除菌率は優れているが, 二次耐性化は高率であった。

結論: *H. pylori* 除菌不成功により CAM 耐性株の増加を認めた。CAM 耐性発現頻度は, 使ったレジメとして, CAM+MNZ よりも CAM+AMPC の方が低率であり, AMPC の併用により CAM 耐性株の増加が抑制される可能性が示唆された。

112 clarithromycin 耐性 *Helicobacter pylori* 菌の治療

星谷 聡¹⁾・高橋信一¹⁾
新垣正夫²⁾・伊藤 武³⁾

¹⁾杏林大学第三内科

²⁾東京都立衛生研究所

³⁾東京顕微鏡院

目的: clarithromycin (CAM) 耐性菌の存在が問題となっている。そこで今回我々は (1) CAM 感受性の違いによる除菌成績, (2) 除菌不成功例の CAM 耐性獲得率, (3) CAM 感受性と 2 次除菌成績につき検討した。

方法: 除菌療法を行い菌の薬剤感受性試験を施行し得た 133 例が対象である。除菌前は培養陽性をもって感染とした。除菌レジメンは PPI+CAM の 2 剤併用療法 (DT), PPI に CAM, AMPC あるいは MNZ のうち 2 剤を加えた 3 剤併用療法 (TT) である。E-テストまたはマイクロプレート法により除菌前後で得られた菌株について感受性を検討した。迅速ウレアーゼ試験, 培養法, 組織鏡検法の 3 種の検査がすべて陰性の時, 除菌成功と判定した。

結果: (1) 除菌療法別の除菌率は DT で感受性菌例は 18.2% で, 耐性菌例は 16.7% であった。CAM を用いた TT では 31.4% と 35.7% で耐性菌例で低かった。(2) 除菌不成功例の耐性獲得率は DT で 9 例中 8 例 (88.8%), CAM を用いた TT では 20 中 5 例 (25.0%) であった。(3) 耐性菌例に対する 2 次除菌療法では CAM を用いた TT の 2 例では除菌例はなく, CAM の代わりに MNZ を用いた場合 3 例全例が除菌された。

総括: (1) DT の除菌率は感受性試験の結果にかかわらず低かった。CAM を用いた TT の除菌率は感受性菌例が耐性菌例に比し有意に高かった。(2) CAM を用いた除菌療法での除菌不成功は高率に CAM 耐性を獲得し, DT の耐性獲得率は TT に比し有意に高かった。(3) 二次除菌では耐性菌例では MNZ を用いるべきである。以上より CAM 感受性の結果を知ることで除菌率の向上が期待される。

113 メチシリン高度耐性黄色ブドウ球菌に対するテイコプラニンとパニペネムの *in vitro* 併用効果

石井千加・阿部友美

角田正代・大屋 哲

三共株式会社第二生物研究所

宇津井幸男

三共株式会社総合研究所

目的: メチシリン高度耐性 *S. aureus* (MRSA) に対する抗菌活性増強と, MRSA との混合感染を想定した *P. aeruginosa* への抗菌活性拡大を目的とし, teicoplanin (TEIC) と panipenem (PAPM) の *in vitro* 併用効果を検討した。

方法: 1) チェッカーボード法: 高度耐性 MRSA (oxacillin の MIC: 128~512 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 47 菌株に対し, TEIC と PAPM を各種濃度の組み合わせで含有する寒天平板法で検討した。2) 殺菌作用: (a) MRSA に対する TEIC, PAPM の同時および時間差添加, (b) MRSA と *P. aeruginosa* の混合培養に対する TEIC, PAPM の同時添加, それぞれの生菌数を検討した。3) ヒト血中濃度シミュレート条件下の抗菌活性: TEIC 200 mg 1 日 2 回, PAPM 500 mg 1 日 2 回, および各々を併用投与した場合の血中濃度シミュレート条件下で, MRSA と *P. aeruginosa* の混合培養に対する殺菌作用を検討した。

結果: 1) チェッカーボード法: TEIC + PAPM は, 47 菌株すべてに相乗作用 (FIC index: 0.07~0.31) を示す, 優れた併用効果が認められた。2) 殺菌作用: (a) MRSA に対し, TEIC 1/4 MIC 先行 PAPM 1/4 MIC 添加では殺菌作用を示さなかったが, 両剤の同時添加および PAPM 先行 TEIC 添加で強い殺菌作用が認められた。(b) MRSA と *P. aeruginosa* の混合培養において, MRSA に対する TEIC 1/4 MIC + PAPM 1/4 MIC は, TEIC 1 MIC より MRSA に良好な殺菌作用を示し, また, *P. aeruginosa* に対しては PAPM による強い殺菌作用が認められた。3) 血中濃度シミュレート条件下の抗菌活性: MRSA に対し, TEIC 200 mg + PAPM 500 mg は各単独より強い殺菌作用を示した。*P. aeruginosa* は TEIC 200 mg で増殖抑制を受けなかったが, PAPM 500 mg, TEIC 200 mg + PAPM 500 mg では, PAPM による増殖抑制が認められた。

考察: TEIC + PAPM は, MRSA に対する抗菌活性増強と, MRSA 感染症における *P. aeruginosa* との菌交代を防止する意味で有用と考えられる。

114 Cefoselis (ウィンセフ) の PRSP と ABPC 耐性 *H. influenzae* 混合感染に対する有用性

松本佳巳・池本晶子・若井芳美

波多野和男・池田文昭

藤沢薬品工業・薬理研究所

目的: 近年, 呼吸器感染において増加傾向が見られる PRSP 及び β -lactamase 非産生の ABPC 耐性 (BLNAR) *H. influenzae* に対する Cefoselis (CFSL) の *in vitro* 及び *in vivo* 活性を Cefozopran (CZOP), Imipenem (IPM/CS) 等と比較検討した。

方法: PRSP 30 株及び BLNAR *H. influenzae* 23 株を用い, MIC は日本化学療法学会標準法に準じて測定した。CFSL 及び CZOP の 1 g, IPM/CS の 0.5 g 単回投与時のヒト喀痰中濃度を血清中濃度の 1/10 移行すると仮定し, 5% 馬血清, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ NAD, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ hemin を添加した Mueller-Hinton broth (Difco) 中にシミュレートする *in vitro* の評

価系を用い、寒天に包埋(寒天ブロック)した菌に薬剤を作用(0~8H)させ、殺菌効果を比較検討した。また、呼吸器混合感染に対する治療効果をマウスを用いて検討した。

結果および結論: CFSLはPRSPを含む*S. pneumoniae*及びBLNARを含む*H. influenzae*に対し、CZOPより4~16倍優れた抗菌力を示した。IPM/CSとの比較においてもCFSLはPRSPに4倍劣った(MIC₉₀: 2 µg/ml)が、BLNARには16倍優れた活性(MIC₉₀: 2 µg/ml)を示した。優れたMICを反映し、CFSLは0.5~1 µg/mlの低濃度においても混合培養した両菌を著明に殺菌し、CZOP、IPM/CSよりも優れた殺菌性を示した。喀痰中濃度のsimulation系においても混在する両菌を効果的に殺菌し、CZOP、IPM/CSよりも優れた。両菌によるマウス呼吸器混合感染系においてもCFSLはCZOP、CAZ、FMOXより優れた治療効果を示した。さらに、ヒトの血清中濃度推移をマウスに再現したPKモデルにおけるCFSLの治療効果はIPM/CSと比較しても優れる傾向を示した。

耐性化が問題となっている*S. pneumoniae*と*H. influenzae*による単独あるいは混合感染の頻度が高い呼吸器感染症におけるCFSLの有用性が示唆された。

115 緑膿菌に対するメロペネムとアミカシンの併用効果の検討

金澤勝則・上田 豊

住友製薬創薬第二研究所

目的: 臨床分離の緑膿菌に対するメロペネム(MEPM)とアミカシン(AMK)の併用効果について、他のカルバペネム薬との比較を含め*in vitro*および*in vivo*の基礎的検討を行った。

材料・方法: 菌株: 近年分離の緑膿菌臨床分離株; 培地: MHB, MHA(DIFCO); 薬剤: MEPM, イミペネム(IPM), パニペネム(PAPM), AMK; 併用効果評価系: ①チェックボード法(CB法)を用いた最小FIC indexの評価, ②ヒト血中濃度シミュレーションモデルを用いた殺菌曲線の評価, ③免疫不全マウス緑膿菌全身感染モデルを用いた救命効果の評価

結果: CB法による検討の結果、緑膿菌に対するAMKとの併用においてMEPM(相乗あるいは相加)はIPMおよびPAPM(相加あるいは不関)に比べて優れた併用効果を示した。また、*in vitro*ヒト血中濃度シミュレーションモデルを用いたAMKとの併用実験においてもMEPMはIPMより優れた併用効果を示し、その効果は時間差併用に比べて同時併用でより強いことが示唆された。さらに免疫不全マウス緑膿菌全身感染モデルを用いた検討においても単独では救命効果を示さない用量のAMKの併用によるMEPMの救命効果の向上が認められた。また、この*in vivo*併用効果も時間差併用に比べて同時併用でより強いことを示唆する結果が得られた。

結論: 以上の結果から、緑膿菌に対するAMKとの併用においてMEPMはIPMおよびPAPMを上回る併用効果を示し、その効果は*in vivo*での救命効果にも反映されることが示された。またMEPMとAMKの緑膿菌に対する併用効果は時間差併用に比べて同時併用でより強いことが示唆された。

会員外共同研究者: 浦崎幸吉, 平井康子, 兼西ゆか, 濱口恵里子

116 緑膿菌に対する ciprofloxacin の抗菌力と他抗菌薬との併用効果

板羽秀之¹⁾・横山 隆²⁾・竹末芳生³⁾

¹⁾ 広島大学医学部附属病院検査部, 総合診療部

²⁾ 同 第一外科

緑膿菌は、重症感染症の原因菌として重要な位置を占めており、その治療に難渋することが多い。また、多剤耐性緑膿菌の出現もさらに治療を困難にしている。今回我々は、注射用のニューキノロン系抗菌薬が近々日本でも使用可能となることから、臨床分離緑膿菌に対するCPFXの抗菌力と他抗菌薬との併用効果について検討したので報告する。

薬剤感受性試験は、1997年に本院の入院患者から分離された緑膿菌98株を使用して行った。薬剤感受性試験は、日本化学療法学会微量液体希釈法に準じて行い、試験薬剤は、ニューキノロン系としてCPFX、β-ラクタム系としてペニシリン系のPIPC、第3世代セフェム系のCZOP、カルバペネム系のIPM、アミノ配糖体薬としてAMKおよびホスホマイシン系のFOMを用いた。併用効果の検討は、薬剤感受性試験を行った緑膿菌98株のうち、CPFXのMIC値が1 µg/ml以上32 µg/ml未満の18株を用い、Checkerboard法によりCPFXとPIPC、CZOP、IPM、AMKおよびFOMとの組合せで各々の単独時のMIC値と併用時のMIC値からminimum FIC indexを算出し、その平均値を求めた。

緑膿菌98株に対するCPFXのMIC₅₀、MIC₉₀値は、それぞれ0.25以下、4 µg/mlであり、試験薬剤の中で最も優れていたが、4 µg/ml以上を示す耐性株が13株8.2%に認められた。CPFX耐性緑膿菌株の試験薬剤に対する感受性は低く、PIPCおよびIPMの耐性株が30%に認められた。併用効果の検討結果は、すべての組み合わせにおいて拮抗を示した株はなく、mean FIC indexはいずれも1以下を示した。中でもCPFXとFOMとのそれは0.72と低い値を示し、不関、拮抗を示した株はなかった。

以上の結果より、CPFX注射用の薬物動態を加味した濃度シミュレーションシステムを用いた他抗菌薬との併用効果を詳細に検討する必要があると考える。

117 2種類のAAC遺伝子の複合作用に対するアルベカシンの抵抗性

堀田国元・池田洋子*・近藤信一*

国立感染症研究所

*微生物化学研究所

抗MRSA剤アルベカシン(ABK)に対する耐性菌は、これまで二機能酵素AAC(6')/APH(2')を持つものに限定され、出現頻度が低く、耐性レベルも中等度に留まるといった特徴が認められる。しかし、ABKにはAAC(3)、AAC(2')およびAAC(6')の修飾標的のアミノ基が存在するので、それらによる耐性菌の出現の可能性が考えられた。そのことを検証するため、放線菌の3種のAAC遺伝子を用いてシミュレーション研究を行い、以下のことが明らかになった。

1. ABKは比較的容易にアセチル(Ac)化されるが、いずれも抗菌活性を維持する。
2. 極微量得られたジアセチル化物(2',6'-di-N-AcABK)は不活性であった。
3. そこで、2種のAACを組み合わせたによるABKのジアセチル(diAc)化について研究した結果、1)時間差混合では、①AAC(3)が生成する3'-N-AcABKは、AAC(2')とAAC(6')でdiAc化された。②AAC(2')が生成する2'-N-AcABKは、AAC(6')によりdiAc化されたが、AAC(3)によってdiAc化されなかった。③AAC(6')が生成す

る 6'-N-AcABK は AAC (3) により diAc 化されたが、AAC (2') による diAc 化を認められなかった。2) 同時混合では、①AAC (3) + AAC (6') および AAC (2') + AAC (6') によって diAc 化物が生成したが、monoAc 化物 (6'-N-AcetylABK) が残存した。②AAC (3) + AAC (2') では monoAc 化物が主産物で、diAc 化物の生成は僅かであった。

4. 2種の AAC 遺伝子をクローン化した放線菌 (*Streptomyces lividans* TK 21) の ABK 耐性は、ほとんど上昇せず、無細胞抽出液 (S 30) による ABK の diAc 化物への変換は不完全であった。以上のことから、ABK は二段構えの抗菌力を持つことが AMK や ISP にはない特徴で、AAC 依存性の ABK 耐性 MRSA は今後も出現しないと判断される。

研究協力者: 砂田亜津子, 石川淳 (国立感染症研究所)

118 A 群レンサ球菌刺激 KB 細胞のサイトカイン産生に及ぼすクリンダマイシンの影響

弘田克彦・湯本浩通*・村上欣也*
村上圭史*・根本 謙・小野恒子
松尾敬志*・三宅洋一郎

徳島大学歯学部口腔細菌
*同 歯科保存一

目的: 激症型 A 群レンサ球菌感染症の治療薬にクリンダマイシン (CLDM) が使用されることがある。既に CLDM には A 群レンサ球菌の M 蛋白や外毒素の合成抑制効果が報告されている。しかし A 群レンサ球菌刺激による上皮系細胞からのサイトカイン産生に及ぼす影響に関しては不明である。本研究では A 群レンサ球菌刺激 KB 細胞のサイトカイン産生に及ぼす CLDM の影響について検討した。

材料と方法: 使用菌株と細胞; TDP-1 株 (M 1 型) と A 374 株 (M 12 型), 共に糸球体腎炎患者由来株。ヒトの鼻咽腔由来の KB 細胞。

菌刺激 KB 細胞のサイトカイン産生に及ぼす CLDM の影響; 1.0×10^6 , 1.0×10^7 , 1.0×10^8 cfu/ml などの各菌量が、KB 細胞からのサイトカイン産生に及ぼす影響について ELISA 及び RT-PCR により検討した。次に①生菌と 1/2 MIC, 5 MIC の CLDM を同時に加えた場合、②1/2 MIC, 5 MIC の CLDM を加え 3 時間経過後、十分に洗浄し、生菌を加えた場合、③生菌と 3 時間接触させた後、1/2 MIC, 5 MIC の CLDM を加えた場合、について、培養上清中の IL-1 β , IL-6, TNF- α を経時的に定量した。また KB 細胞内の IL-1 β , IL-6, TNF- α 各 mRNA の経時的発現を RT-PCR にて検出した。

結果と考察: 1.0×10^6 cfu/ml の菌量が培養上清中の IL-1 β と IL-6 の産生量を増加させた。生菌と CLDM を同時に KB 細胞に加えた場合、5 MIC で IL-1 β と IL-6 産生を低下させた。細胞内 IL-1 β , IL-6 の各 mRNA 発現は、特に 5 MIC で減少した。CLDM を前に作用させた後菌を加えた場合、生菌と接触させた後 CLDM を作用させた場合共に、5 MIC では IL-1 β , IL-6 産生は有意に減少した。CLDM には菌側のみならず KB 細胞側のサイトカイン産生機構にも影響を与える可能性が考えられる。

119 Fosfomycin の好中球カルシウム代謝に対する影響

文森健秀・本田順一・大窪恭光
草場珠郁子・北島寛元・大泉耕太郎
久留米大学第 1 内科

以前我々は、FOM の好中球のカルシウム流入 (CDCI=

calcium depletion calcium influx) における抑制を示唆した。CDCI に関与するカルシウムチャネルは何種類が存在するが、今回我々はその中の一つである CRAC (calcium release activate calcium current channel) について FOM が関与するか検討した。細胞内小胞体の Ca²⁺ の取り込みを阻害するタブシガージン (ThG) にて処理を行い、これに FMLP 等の刺激を与えると細胞内小胞体の Ca²⁺ が枯渇して CRAC が活性化するという系を利用して実験を行った。

実験方法は、ACD-A 液を加えて採血を行い、それに Fluo 3-AM を加え、室温にて 40 分放置。その後塩化アンモニウムを加えて溶血させ、同時に ThG を加えて処理を行います。この時に FMLP を加えて刺激をする実験も行った。この時に FMLP を入れて次に HBSS に浮遊させ、200 μ g/ml のホスホマイシンで処理を行った。これを FMLP にて刺激をし、フローサイトメトリー (FCM) を用いて細胞内 Ca²⁺ の動態および細胞外 Ca²⁺ の流入を観察を行った。

ThG 処理なしの好中球に FMLP にて刺激を行い、細胞外 Ca²⁺ 非存在下で細胞内 Ca²⁺ 動態を観察したものは、小胞体から細胞質内へ放出した Ca²⁺ とその再取り込みを意味しているがホスホマイシンと鏡面体では有意な差はなかった。

ThG 処理した好中球にあらかじめ FMLP 刺激にして CRAC を開存させた検体の細胞外に Ca²⁺ を入れて FOM の CRAC への関与を検討したが有意な差はなかった。

好中球の走化能を促進する IL-8 が惹起させる Ca²⁺ シグナルは細胞内の小胞体から放出される瞬間的なものと、CRAC などによる遅延性の細胞外 Ca²⁺ 流入の 2 種類で構成されていることが報告されている。

今回我々は ThG 処理と FMLP 刺激でこの二つのシグナル発生を FOM の有無で観察したが有意な差を認めることはできなかった。今回の我々の実験で、FOM は CDCI には関与するが、少なくとも小胞体からの Ca²⁺ 放出や CRAC への作用は否定的であると考えられた。

120 endotoxin 刺激による炎症性サイトカイン産生に対する Clindamycin (CLDM) の抑制効果

岸 建志・平田範夫・村上純子
平井一弘・山崎 透・永井寛之
那須 勝

大分医科大学第 2 内科
平松和史

大分医科大学付属病院検査部

目的: 我々はこれまでに大腸菌からの CAZ 誘発 endotoxin 大量放出に対する CLDM の抑制効果を報告した。今回は宿主免疫細胞の炎症性サイトカイン産生に対する CLDM の抑制効果を検証した。

方法: 1) THP-1 細胞及び C3H/HeN マウスの脾細胞・腹腔マクロファージに CLDM を作用させ、ConA 刺激によるリンパ球の増殖 (MTT 法) と endotoxin 刺激による TNF- α の産生量 (ELISA) を比較した。2) D (+)-galactosamine (GalN: 18 mg/mouse) を投与して endotoxin に対して致死感受性を上げたマウス (C3H/HeN) モデルを用いて、CLDM (15 mg/mouse) 投与群と非投与群の間で生存率を比較した。

結果: 1) THP-1 細胞及びマウス脾細胞の増殖に対して 100 μ g/ml 以下の CLDM は抑制効果を示さなかった。一方、THP-1 細胞とマウス腹腔マクロファージの TNF- α 産生量は CLDM の作用により有意に抑制された。CLDM を皮下投与してから採取したマウスの腹腔マクロファージからの

TNF- α 産生量もコントロールに比して有意に減少した。2) GalN 感作マウスに endotoxin を 1 μ g/mouse 投与すると, CLDM 非投与群はすべて死亡したのに対して, CLDM 投与群はすべてのマウスが生残した。

考察: CLDM の先行投与は宿主細胞からの過剰な TNF- α の産生を抑制することから, endotoxin ショック発症の予防・緩和に有用である可能性が示唆された。

121 Clindamycin のヒト食細胞機能に及ぼす影響

斧 康雄^{*}・松本かおる^{*}・村井圭子^{*}

島本祐子・伊藤 正^{*}・小浜陽司

大谷津功・加藤淳子・杉山 肇

宮下 琢・西谷 肇・国井乙彦

^{*} 帝京大学医学部微生物学講座

同 内科

目的: clindamycin (CLDM) がヒト好中球の活性酸素産生能に影響を及ぼすかどうかを, ルミノール及び MCLA 依存性化学発光法 (CL) を用いて *in vitro* で検討した。また好中球の活性酸素産生能の低下を伴う糖尿病患者やその増強がみられる肺炎患者の好中球機能に及ぼす影響についても検討した。

方法: 健康成人 (20 名), 糖尿病患者 (6 名), 肺炎患者 (6 名) の末梢血より得た好中球浮遊液 (5×10^6 cells/ml) に種々の濃度の CLDM (0.1~50 μ g/ml) を添加し, ルミノール及び MCLA 存在下に 37°C で 10~60 分間保温後, zymosan, PMA, fMLP を刺激物として 20 分間の CL を測定した。また, 好中球を CLDM (0.1~50 μ g/ml) の濃度で前処理し, TNF- α の好中球 CL に対する priming 効果に影響がみられるかどうか検討した。

結果: 健康成人の好中球 CL 活性は, zymosan や PMA を刺激物とした場合は, 検討した CLDM の濃度において有意な影響を認めなかった。fMLP 刺激においては, CLDM 25 μ g/ml 以上の濃度で 10 分間前処理することにより濃度依存的に有意なルミノール依存性 CL 活性の増強が認められ, 50 μ g/ml の濃度では, 薬剤未添加の場合に比較して約 1.5 倍程 CL 活性の増強が認められた。血清存在下においても同様の効果が認められた。さらに, 糖尿病患者においても, CLDM による fMLP 刺激時の好中球の CL 増強効果を認めたが, 好中球の CL 活性が増強した肺炎患者の好中球においては, CLDM による好中球の CL 増強効果を認められなかった。また, 治療域濃度の CLDM で好中球を前処理しても, TNF- α による好中球 CL に対する priming 効果に影響がみられなかった。今回検討した濃度において, CLDM は MCLA 依存性 CL 活性に影響を与えなかった。

考察: CLDM は *in vitro* において fMLP 刺激時の好中球の活性酸素産生能を高めることが明らかとなったが, 臨床的意義については *in vivo* 効果を含めたさらなる検討が必要である。

122 Fosfomycin のマクロファージに対する機能修飾作用

安藤紀昭¹⁾・渡部宏臣²⁾・名倉 宏¹⁾

¹⁾ 東北大学大学院医学系研究科病理学講座病理形態学分野

²⁾ 明治製菓 (株) 薬品総合研究所

Fosfomycin (FOM) は抗菌作用の他に, 抗アレルギー作用や抗炎症作用など宿主の生体防御機能を修飾することが知られており, 炎症免疫反応に重要な役割を果たす腹腔マクロファージに対しても, NO やサイトカイン産生を修飾する。

しかし, そのマクロファージの作用に関する超微形態学的研究は報告がない。

目的: Fosfomycin のマウス腹腔マクロファージに対する機能修飾を解明することを目的に, Fosfomycin および LPS 添加時のマクロファージを超微形態学的に検討した。

材料および方法: マウス C3H/HeN (日本 SLC) 雄の腹腔内にチオグリコレート培地を投与後, 通常のごとくマクロファージを回収し, マクロファージ単層を作製した。培地に FOM または LPS を添加し, 37°C, 5% 炭酸ガスインキュベーター内で 60 分培養し食食能を測定するとともに, 電顕固定液で固定し, 走査型および透過型電子顕微鏡で観察した。

結果および考察: 対照群のマクロファージは細胞膜に細長い突起をもち, 付着面に広く伸展していた。FOM および LPS 添加群では, マクロファージの細胞表面には波動膜 (ruffle membrane) 形成が観察されたが細胞質の伸展は少なく, 球状となる傾向があり, FOM + LPS 添加群では LPS 単独添加群に比べて, 細胞質の伸展が悪くなり波動膜も減少し, 細長い突起が多く認められるようになった。以上の結果から, Fosfomycin は LPS 刺激に対し, マクロファージを抑制することが形態学的にも証明された。

123 顎骨感染モデルの多形核白血球食食能におよぼす抗菌薬の影響

—慢性炎症期について—

北原和樹・佐藤田鶴子

大村真基・藤城建樹

日本歯科大学歯学部口腔外科学教室第 1 講座

多形核白血球は感染症に対する生体防御機構において重要な働きをするが, 治療に用いられる抗菌薬がその機能にどのような影響を与えるかを知ることは重要である。そこで我々は, 顎骨の感染モデルを応用し, 日常臨床の場で多用されている抗菌薬が多形核白血球機能のうち食食能にどのような影響を与えるかについて, 感染モデルの急性炎症に加えて慢性炎症期についても検討を行った。

New Zealand white 種ウサギ雄の下顎骨中に, 佐藤-Heimdaahl 法に準じて *Streptococcus mellei*, *Bacteroides fragilis* の 2 菌種を接種して顎骨感染モデルを作製した。菌接種前, 菌接種後 3 日目, 7 日目, 21 日目, 8 週目, 12 週目において心臓穿刺にて得た血液より多形核白血球を分離し, 1×10^6 cells/ml に調整した後に, 1, 10, 100 μ g/ml の濃度に調整した抗菌薬 ABPC, CEM, OFLX を作用させ, 蛍光標識ラテックスビーズを用い食食能をフローサイトメーターにて解析した。

多形核白血球の食食能は菌接種後より亢進し始めて, 慢性炎症期においても菌接種前より亢進していた。ABPC は食食能に影響を与えず, EM は 10, 100 μ g/ml の濃度で食食能を抑制し, OFLX は 10 μ g/ml の濃度でわずかに食食能を亢進し, 100 μ g/ml の濃度で食食能を抑制した。

抗菌薬が多形核白血球機能に及ぼす影響は, 臨床血中濃度範囲で考えると食食能に影響を及ぼさないことが推測されるが, 生体防御機構の観点も考慮し, 各々の抗菌薬がもつ特徴を勘案して臨床に応用していく必要があると考えられた。

124 白血球減少マウスにおける細菌感染症に対する rhG-CSF の影響

三嶋廣繁¹⁾・佐藤泰昌¹⁾・早崎 容¹⁾
玉舎輝彦¹⁾・和泉孝治²⁾・川添香子³⁾

¹⁾岐阜大学医学部産科婦人科

²⁾岐阜県厚生連岐北総合病院産婦人科

³⁾岐阜県厚生連揖斐総合病院産婦人科

G-CSF は好中球の遊走能、貪食能、活性酸素産生能などを亢進させることが報告されており、G-CSF を使用することにより感染抵抗性の増強をはかることも可能であると考えられる。今回、我々は、白血球減少マウスにおける腹腔内膿瘍モデルを用いて G-CSF の効果を実験感染モデルで検討した。ICR マウス雌性 4 週齢を用い、cyclophosphamide (CY) 200 mg/kg, i.p. により白血球減少マウスを作成した。Weinstein らの方法に従って得られた autoclaved caecal content, 100 μ l と *B. fragilis* (臨床分離菌株) を GAM ブロスに 10⁶cfu/mouse で懸濁した菌液 100 μ l を腹腔内接種することにより感染を惹起させた。マウス 32 匹を、G-CSF, 50 μ g/kg/day, s.c. 投与群, clindamycin (CLDM), 50 mg/kg/day, s.c. 投与群, G-CSF, 50 μ g/kg/day, s.c. と CLDM, 50 mg/kg/day, s.c. 併用投与群, コントロール群の各 8 匹ずつに分けて、菌液接種直後より薬剤投与を開始した場合と、CY 投与 2 日後 (菌液接種 2 日前) より薬剤投与を開始した場合に、膿瘍形成数および形成された膿瘍内の生菌数を評価項目として治療効果を判定した。

白血球減少マウスにおいて、G-CSF は、感染惹起直後から投与しても膿瘍形成数および形成された膿瘍内の生菌数を抑制する傾向が見られたが、予防的に投与した場合には、コントロール群に比較して有意に膿瘍形成数および形成された膿瘍内の生菌数を抑制した。

G-CSF は、好中球減少患者の感染症治療においてひとつの選択と成り得るものと考えられた。また、白血球減少時の細菌感染症に対して、G-CSF は予防的投与がきわめて有効であると考えられた。

125 実験感染モデルでの抗菌薬基礎的検討の有用性

宮崎修一・館田一博・古谷信彦
松本哲哉・大野 章・山口恵三

東邦大学医学部微生物学教室

抗菌薬の基礎的検討は *in vitro* と *in vivo* の両面から行われている。一般的には *in vitro* 検討成績を踏まえて、*in vitro* 検討を行う。従来の感染モデルでの成績は、*in vitro* MIC との間に高い相関性のあることが知られている。一方、Craig らの白血球減少症マウスを用いた宿主側の治療効果に関わる要因を除いた大腿感染モデルや肺感染モデルでの抗菌薬と菌との関係のみの解析によると、実験動物での体内動態パラメーターである time above MIC または AUC/MIC (C_{max}/MIC) が治療効果に密接に関わっていると報告されている。市中感染症の多くは、宿主感染防御能の正常なヒトで発生する。このような感染患者に対する治療法について基礎的検討をする目的で、私共は正常マウスを用いてヒトの感染病態に類似した *S. pneumoniae* や *H. influenzae* による呼吸器感染モデルを作成している。これらモデルでは感染が確立した感染 2 日後から抗菌薬の投与を開始し、抗菌薬最終投与翌日に肺内に残存する生菌数を測定する。したがって、これらモデルでは、感染予防効果ではなく感染治療効果を評価できる。はじめに *S. pneumoniae* 肺感染モデルにおける抗菌薬の投与量と治療効果の関係について検討したところ、投与量

に依存した菌数減少効果を認めた。次に、抗菌薬による治療を同じ条件で比較したところ、この感染モデルでの成績は臨床での *S. pneumoniae* による肺感染患者での菌消失率 (治療効果) とよく一致していた。この成績は感染モデルでの評価からヒトでの治療効果を類推することが可能であることを示唆している。今後、治療効果と体内動態パラメーターとの関係について解析をする予定である。

126 産褥母子における MRSA 検出状況とその薬剤感受性

保田仁介・福岡正晃

田村尚也・本庄英雄

京都府立医大産婦人科

北田文則・渡部道雄

岡田 誠・岡田弘二

大阪府済生会吹田病院産婦人科

井上 伸・増池 昇

同 臨床検査部

目的: 新生児室や NICU における MRSA の院内感染が問題になっている。また新生児には院内常在菌の定着が起こりやすいと言われているが、感染部位は臍や鼻腔が多く、特に臍は MRSA が最も早期に付着しやすい部位と考えられている。新生児室における MRSA 感染の多発をきっかけに実態と対策を検討した。

方法: 妊婦は分娩のための入院時に膣と鼻腔より、また新生児は生後 2 日目と 5 日目に臍および鼻腔より細菌検査を行った。検出された MRSA の薬剤感受性を婦人科病棟で検出された MRSA と比較した。

結果および考察: 京府医大での 98 年 5 月後半より 6 月はじめまで (前期) の新生児からの MRSA 検出率は 34.9% (22/63)、対策を行ったのち 11 月まで (後期) は 7.7% (12/156) であった。この間 MRSA 感染症の発症はなかった。またこの間の済生会病院では 2.9% (6/201) であった。MRSA 対策としては臍の開放、アルコール消毒による臍脱の早期化、児ごとの手の消毒の徹底化が有効であった。

妊婦の膣よりの分離菌は GPC が 46.6%、GNR が 28.6%、嫌気性菌が 24.8% であり、MRSA は検出されなかった。妊婦鼻腔では GPC が 92.5%、GNR が 7.5% であり、MRSA は 5 株検出された。

前期での児の臍よりの MRSA 検出陽性例では腸内細菌や嫌気性菌と同時に検出されることが 24.4% と多く、後期では 19.0% であった。一方 MRSA 陰性例での頻度は前期で 15.8%、後期では 19.0% であった。MRSA が多発した前期では MRSA と同時に腸内細菌や嫌気性菌の検出が多く、児の便からの MRSA 感染が水平感染した可能性が高いと考えられ、この点における新生児室内での介助者の対策が必要であると考えられた。また新生児より検出された MRSA の耐性化率を婦人科患者のそれと比べると OFLX で 44.5% と 78.9%、GM で 50% と 75% と低かった。

127 一施設より複数検出された MEN-1 遺伝子陽性 *Klebsiella pneumoniae* の検討

小松 方¹⁾・島川宏一²⁾・相原雅典³⁾
山崎勝利⁴⁾・中町祐司⁵⁾・木下承昭⁶⁾
池田紀男⁴⁾

¹⁾大塚よろこ相談所病院臨床病理部

²⁾和歌山労災病院検査科

³⁾神戸大学医学部附属病院中央検査部

⁴⁾日本赤十字社和歌山医療センター検査部

目的: 本邦における Extended spectrum β -lactamases (ESBLs) 産生菌による院内感染報告は未だ少ない。今回、近畿内 A 病院において MEN-1 型 ESBL 産生性 *K. pneumoniae* による院内感染が疑われ、その事例からの分離菌株で遺伝学的な検討を行った。

対象および方法: A 病院内で 1998 年 2 月から 1999 年 4 月までに分離された CTX 耐性 *K. pneumoniae* を使用し、MIC 測定、 β -ラクタマーゼ遺伝子型の決定、DNA の相同性を調べ、患者背景の検討を行った。菌株はまず Microscan WalkAway™ (DADE) で CTX 耐性菌をスクリーニングした後、治療標準微量液体希釈法で MIC を測定した。その後 PCR 法により TEM、SHV、Toho-1 および MEN-1 遺伝子を検出した。DNA タイピングは pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) および 2 種のプライマーを使用した randomly amplified DNA polymorphism (RAPD) で型別した。

結果および考察: 17 株の MIC 値は CTX 4 から 128 μ g/ml、CPDX 16 から >128 μ g/ml、CAZ \leq 1 から 8 μ g/ml、CMZ \leq 1 から >32 μ g/ml および IPM は全て \leq 0.25 μ g/ml であった。PCR 法ではすべての株に MEN-1、TEM および SHV 型遺伝子の 3 種類が検出された。PFGE および RAPD による解析では CVA 非阻害株 1 株を除く 12 株は同一タイプと判定され、複数病棟間にまたがった感染が疑われた。調査した 13 例の臨床経過は、菌検出前 1 週間以内に第 2 世代以降セフェム剤使用が 7 例あり、症状の改善は認められなかった。診断後の治療薬としてはニューキノロン剤、ST 合剤、アミノ配糖体、カルバペネム剤およびオキサセフェム剤が投与されいづれも良好な治療効果が認められた。

128 ムピロシン中等度耐性 MRSA の出現背景についての検討

渡辺 浩・真崎宏則・渡辺貴和雄

大石和徳・永武 毅

長崎大学熱帯医学研究所内科

小林 忍

杏林病院内科

目的: ムピロシン中等度耐性 MRSA の動向および出現背景を明らかにする目的で以下の検討を行った。

対象と方法: 杏林病院で分離されたムピロシン導入前 (1990 年 6 月~1996 年 8 月) の MRSA 90 株 (56 症例、鼻腔 17 株、咽頭 12 株、喀痰 61 株) と導入後初期 (1996 年 9 月~1997 年 12 月) の MRSA 147 株 (41 症例、鼻腔 34 株、咽頭 55 株、喀痰 58 株) および導入後後期 (1998 年 1 月~) の MRSA 104 株 (31 症例、鼻腔 28 株、咽頭 38 株、喀痰 38 株) に対する各種抗生物質の MIC の推移を検討した。このうちムピロシン導入前後の MRSA それぞれ 90 株、168 株のコアグラマーゼ型別および β -lactamase 産生能について比較検討し、また導入前の MRSA 24 株と導入後の MRSA 24 株に対してパルスフィールド電気泳動法 (PFGE) による遺伝子解析を行った。

結果: ムピロシンに対する MIC₅₀、MIC₉₀ は導入前それぞれ 0.39、0.78 であったのに対し、導入後初期 0.39、12.5、導入後後期 0.78、12.5 とやや耐性化が進んでいる傾向にあるものの、依然ムピロシンに対する耐性は MIC 25 μ g/ml までの中等度に止まっており、高度耐性株は認められなかった。コアグラマーゼ型は導入前後とも II 型が 85% 以上と大部分を占めていたが、 β -lactamase 産生株は導入前 80% に対し導入後 56% と低下していた。PFGE による遺伝子解析では、導入前は A~J の 10 パターンであったのに対し、導入後は A~C の 3 パターンであり耐性株の患者間伝播の可能性が示唆された。

結論: ムピロシン鼻腔内塗布後の局所濃度は高濃度であるため、現在の耐性度では鼻腔からの MRSA の除菌は充分可能であるが、今後高度耐性株の出現に注意が必要と思われる。

共同研究者: 佐藤晃嘉、水尾敬美

129 本邦初と思われる *mupA* 保有 MRSA の出現

菊池 賢・志関雅幸

戸塚恭一・内山竹彦

東京女子医科大学感染対策科

松井山香

同 臨床検査科

白髪宏司・伊藤克己

同 野崎病総合医療センター野崎小児科

欧米では mupirocin 耐性ブドウ球菌が問題となっている。我々は先の 1999 年細菌学会総会にて、1998 年 6 月以降 mupirocin 耐性遺伝子 *mupA* が既に本邦の *S. epidermidis* から検出されたことを報告した。その後、1999 年に入り、mupirocin 高度耐性メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) が分離され、*mupA* が確認された。患者は 4 ヶ月の女児で、基礎疾患に先天性ネフローゼ症候群があり、他院より当院野崎小児科に紹介されてきた。mupirocin の使用歴はなかった。蛋白漏出を抑えるため、片側腎の摘出手術を予定し、術前検査で採取した鼻腔、糞便検体の両者より MRSA が分離された。この MRSA は mupirocin 耐性スクリーニング寒天培地にも増殖し、PCR により *mupA* が確認された。また、同時に *mupA* 保有 *S. epidermidis* も検出された。このため、mupirocin による除菌は行えず、やむなく vancomycin を術中、術後の予防投与に用いた。術後この MRSA、*mupA* 保有 *S. epidermidis* は消失した。この菌の由来と、拡がりを確認するため、患者の収容されていた病棟の別の患者、医療従事者のスクリーニングを行ったが、*mupA* 保有 MRSA は検出されなかった。この MRSA の mupirocin 耐性は filter mating 法により 10⁻⁷ 程度の頻度で伝達可能であった。パルスフィールド電気泳動による型別では院内で検出された他の患者由来の MRSA、職員スクリーニングで検出された MRSA、母親由来の黄色ブドウ球菌のどれとも異なっており、前医より持ち込まれた可能性が高いと考えられた。

今後、本邦での mupirocin の使用に当たっては、耐性の有無を確認する必要があると考えられた。

130 東邦大学附属大森病院で分離された嫌気性菌に対する抗菌薬の臨床効果の検討

古谷信彦¹⁾・松本哲哉¹⁾・館田一博¹⁾
宮崎修一¹⁾・山口恵三¹⁾・森千佳子²⁾
櫻谷絵子²⁾・岩田守弘²⁾・鈴木九里³⁾

¹⁾東邦大学医学部微生物学

²⁾東邦大学附属大森病院中央検査部

³⁾東邦大学附属大森病院第一泌尿器科

ヒトに感染する嫌気性菌は一部のものを除けば、その多くは常在細菌叢に由来し、しばしば日和見感染症として発症する。また嫌気性菌による感染症は単独感染によるものは少なく、多くは好気性菌や他の嫌気性菌との混合感染であるとされている。今回我々は東邦大学附属大森病院において1996年から1998年の過去3年間に各種検査材料より分離された嫌気性菌の分離状況と、1995年から1998年の過去4年間に*Bacteroides*属が分離された183症例および*Prevotella*属が分離された83症例について感染症状の有無と患者背景、抗菌薬による治療効果について検討した。

1996年から1998年にかけて分離された嫌気性菌はそれぞれ全分離菌の2~2.8%を占めており、53.9%が複数菌として分離された。分離された嫌気性菌の中では*Prevotella*属の頻度が26.4%と最も高く、*Bacteroides*属が16.5%とこれに次いでいた。*Bacteroides*属が分離された症例のうち、感染症と診断できたものは66.4%で、*Prevotella*属が分離された症例では感染症と診断できたものは69.9%であった。*Bacteroides*属あるいは*Prevotella*属が分離された感染症例に対して著効あるいは有効を示した抗菌薬としてはカルバペネム系、ペニシリン系、第三世代セフェム系の頻度が高かった。また、本来抗菌力の乏しいペニシリン系、第一世代セフェム系、第二世代セフェム系でも混合感染の場合、著効あるいは有効を示す症例がみられた。

以上のことから、嫌気性菌が共存菌として分離された場合には原因菌か否かの鑑別が重要であると考えられた。

131 がん専門施設における患者由来菌の動向

林 泉¹⁾・塩谷讓司²⁾・稲村延子²⁾

¹⁾癌研究会附属病院内科

²⁾同 臨床検査第I部

当院における患者由来菌を1990年、1997年、1998年で比較し動向を見た。

結果/考察: ①MRSAの動向が全体に影響する。②*P. aeruginosa*が全体の15%を占め、増減なく、常に要注意であるが、メタロβ-lactamase産生株は無く、多剤耐性菌の比率は5%である。③多剤耐性*S. marcescens*が急増の兆しである。④PRSP、BLNARの*H. influenzae*が担癌患者の市中感染で重大問題である。⑤腸球菌が多く、多剤耐性であるがVRE、VREFはいない。⑥多剤耐性*S. epidermidis*が問題化し始めた。⑦結核菌・非定型抗酸菌が多い。⑧*H. pylori*が上部消化管の分野で大きな問題である。⑨以前大問題であった真菌はフルコナゾールの静注により確実に減少している。

MRSAの性質が変化している。コアグララーゼII型が100%、エンテロトキシンC型77%、TSST-1産生(X128以上)55%、β-lactamase産生77%、VCM耐性0%、ABK耐性1%、IPM/CS耐性99%、MINO耐性70%。したがってMRSA感染症にはABK、VCM、TEICさらにRFP+ST合剤を上手に使う必要がある。

骨髄炎、関節炎などVCM長期投与を要する場合に、FOM+ABK、RFP+ST合剤で開始し、FOM+VCMまたはTEIC、RFP+ST合剤にスイッチする療法は、治療期間を短縮できる。

ABKはdose dependent、グリコペプチドはtime dependentであることを考慮し、TDMにより薬剤のピーク値とトラフ値を見ながら治療する必要がある。

132 担癌患者における細菌感染症の実態と対策

齋藤七重・中瀬 綾

高安 聡・小林宏行

杏林大学第一内科

1993年1月から1998年8月までの過去5年間に、当院に入院した担癌患者延べ12,963人にみられた主要感染症(肺炎・敗血症)について検討した。担癌患者におけるこれらの致命率は、肺炎で53%、敗血症で70%、肺炎・敗血症合併例で89%と重症感染症の発生頻度が極めて高値であった。これらの症例のうち、感染症発症前7日以内に白血球数が測定された92例について検索を行ったところ、末梢白血球数3,000以上の群でも約63%に肺炎の合併を認めた。そこで、白血球減少がみられていない担癌症例の好中球機能について検討した。まず、LPS刺激後のsuper oxide産生能について検討した。健常人と担癌無治療例ではほぼ同等であった。当科入院中の肺癌症例のうち白血球数3,000以上の10例についてCDDP投与群と非投与群とにわけて比較したところ、投与群において有意に低下していた。次に、好中球をCDDP刺激したときの好中球過酸化水素産生能について検討した。健常人では亢進したが、CDDP投与中の担癌症例では低下していた。白血球数3,000以上の担癌症例10例においてCDDP投与群と非投与群とにわけ、LPS刺激に対する好中球エラスターゼ活性について検討したところ、投与群の方が活性は低値を示す傾向にあった。以上より、担癌症例、なかでも化学療法中の症例では好中球減少がみられない例でも好中球殺菌能が低下していると考えられた。すなわち、化学療法中の担癌症例では好中球数が保たれている状態でも好中球機能は低下しており、それが易感染性、感染症を難治化する要因と考えられた。それゆえ、担癌症例における感染症の対策には、早期から広域スペクトラムを有する抗菌剤による適切な抗菌化学療法が重要であると考えられた。

133 肺癌術後感染症対策と抗菌薬投与

吉田祐一・炭山嘉伸・草地信也

倉重真澄・川井邦彦・有馬陽一

石橋弘成・長沼浩二・中村陽一

東邦大学3外科

はじめに: 肺癌手術においては、罹患年齢が高齢で肺予備能が低下しているため肺炎などの術後感染が起りやすい。しかし、術操作における術中の術野汚染は来しにくく、いわゆる術野汚染対策としての抗菌薬予防的投与としては、第1世代セフェム薬の投与でも充分と考えられる。1997年から、当科では肺癌手術症例における術後感染予防的抗菌薬投与を見直し、術後感染発症率の変化を検討した。

対象および方法: 1987年1月から1999年6月までに当科で施行した肺癌手術症例(172症例)を対象とした。これらの患者の年齢、性別、腫瘍組織型、術後感染予防的抗菌薬の投与期間と種類、術後感染発症率(以下iと略す)の有無を検討した。

結果: 当科での肺癌手術: 肺癌手術症例は、男性122例、

女性 50 例で、男性では扁平上皮癌 54 例、腺癌 51 例、その他 17 例であった。女性では扁平上皮癌 6 例、腺癌 32 例、その他 11 例であった。予防的抗菌薬の変化: 1987-1988 年までは、第 3 世代セフェム薬やアミノ配糖体との抗菌薬併用療法が用いられ、平均投与期間は 7.9~8.2 日であった ($i=3.7\%$)。1989 年より消化器外科領域にて MRSA 感染症の流行を見たため、第 3 世代セフェム薬を術後感染予防に用いることはほとんどなくなり、第 1 ないし 2 世代セフェム薬が用いられるようになった。1989-1996 年までの、平均投与期間は 5.5-8.1 日であった ($i=6.3\%$)。1997 年から、第 1 世代セフェム薬のみ 4 日間投与し、術後感染症例を認めなかった。1998 年には、投与期間を 1 日のみに変更し、1999 年 3 月には抗菌薬の術中投与の後は全く抗菌薬を使用しなかった。

合併症: 肺炎 7 名、膿胸 1 名、敗血症 1 名で、緑膿菌、腸球菌、*Enterobacter*、連鎖球菌が検出され、MRSA 感染症は認めなかった。

考察: 抗菌薬投与期間が短縮しても、術後感染症発症率の有意な増加は認めなかった。術後感染予防のための抗菌薬投与は術中投与のみで充分である可能性が高く、術後の予防的抗菌薬投与は不要である可能性が示唆された。

134 乳癌術後感染予防におけるセファゾリン (CEZ) の成績

藤本幹夫・井上 直

伊藤 了・塚本泰彦

市立藤井寺市民病院外科

乳癌術後感染巣からの分離菌はグラム陽性球菌、特にブドウ球菌が過半数を占めている。そこで、これらの菌に最も優れた抗菌力を有するセファゾリン (CEZ) を選択し、乳癌術後感染の予防効果を検討したので報告する。

対象は 1994 年から本年 2 月までに当科で手術した 160 例で、内訳は 1 日 2g \times 3 日間 14 例、4g \times 3 日間 9 例、2g \times 6 日間 111 例、4g \times 6 日間 26 例となる。術後感染は全て創感染で、160 例中 8 例 (5.0%) に認められた。

そこで、各投与量・投与期間別に年齢、手術時間、出血量などについて検討したが有意差は認められなかった。これは、症例数にばらつきが多いためと考え、1 日投与量別 (2g vs 4g)、あるいは投与期間別 (3 日 vs 6 日) に分けて検討したが、有意差は認められなかった。次に症例の多い長期投与群について年齢、手術時間、出血量などについて正規近似法を用いて検討した。その結果、手術時間では 121 分以上、出血量では 151 ml 以上、痛進行度では stage III 以上、ドレーン留置 8 日以上、抗癌剤術中使用例には有意に感染が増えることが判明した。

ドレーンと感染巣からの分離菌が一致したのは 2 例に過ぎなかったが、*P. aeruginosa* と MRSA が認められ、いずれも進行例で、術中に抗癌剤が投与されていた。

以上のことから、乳癌術後感染予防には CEZ 1 日 2g、3 日間投与で十分と思われるが、手術侵襲の大きいもの、術中に抗癌剤などが投与された進行例には投与期間の延長も考慮すべきである。

135 予防抗生剤術中再投与の必要性について

大毛宏喜・竹末芳生・横山 隆*
赤木真治・松浦雄一郎

広島大学第一外科

*同 総合診療部

目的: 予防抗生剤は手術中十分な濃度を保つ必要があり、近年執刀直前の投与が一般的となってきたが、術中再投与に関する検討はまだ少ない。今回我々は長時間となることの多い、臍切除を要する手術を対象に、組織内における抗生剤の濃度の経時的変化を測定し、抗生剤術中再投与の必要性和適切な投与法を検討したので報告する。

対象・方法: 1) 臍切除を要した 10 症例を対象に、1 時間毎に血清、腹膜、皮下脂肪織を、また臍切除時に臍組織を採取し、抗生剤の組織内濃度を測定した。抗生剤濃度の測定は *B. subtilis* の発育阻止円を用いた disk 法で行った。組織採取については患者から文書での同意を得て行った。予防抗生剤は cefazolin (CEZ) を用いて、手術執刀時に 1g を静注した。2) 1997 年に当院で臨床から分離された Methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) 360 株、*Klebsiella pneumoniae* 204 株、*Escherichia coli* 314 株、*Streptococcus* spp. 30 株を対象に、CEZ に対する最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。

結果・考察: 各菌種の CEZ に対する MIC₈₀ (80% の株の発育を阻止する最小濃度) は MSSA で 0.5 μ g/ml、その他の 3 菌種ではいずれも 4.0 μ g/ml であった。抗生剤投与後 3 時間目の血中の平均抗生剤濃度は 21.00 \pm 1.30 μ g/ml であったが、腹膜及び皮下脂肪織内ではそれぞれ 3.47 \pm 0.52 μ g/ml、3.26 \pm 0.45 μ g/ml と、MSSA を除く 3 菌種の MIC₈₀ 以下であった。また、臍組織は抗生剤投与後 90 分から 220 分の間に切除されており、切除時の組織内抗生剤濃度は腹膜や皮下脂肪織とはほぼ同様の数値であったが、慢性肺炎の 2 症例、術中多量出血の 1 例では他の症例と比較して臍組織内濃度は低い傾向にあった。

結語: 抗生剤投与 3 時間後では、腹膜や皮下脂肪織および臍組織内では感染予防に必要な抗生剤濃度を維持しておらず、術中の抗生剤再投与が必要と考えられた。

136 *Bacteroides fragilis* のイミペネム耐性に関与すると思われる IS element の検出

山添喜久雄^{1,2)}・加藤直樹¹⁾・渡邊邦友¹⁾

¹⁾岐阜大・医・嫌気性菌実験施設

²⁾朝日大・村上記念病院・薬剤部

目的: *cfiA* gene は *Bacteroides fragilis* のイミペネム (IPM) 加水分解酵素である metallo- β -lactamase をコードする遺伝子である。先に我々は、*cfiA* gene を含む上流領域を増幅する Podglajen らの primer G/E を用いて、*cfiA* 陽性で IPM 感性株では約 0.4 kb の PCR 産物を検出したが、*cfiA* が発現していると考えられる *cfiA* 陽性、IPM 耐性株では 0.4 kb よりも大きいサイズの PCR 産物を検出し、*cfiA* gene の発現には IS element の関与が示唆されることを報告した。今回、これらの IS-like element の一部について *B. fragilis* における分布状況を調べた。

方法: *B. fragilis* の *cfiA* 陽性、IPM 高度および低度耐性株のそれぞれ 3 株、*cfiA* 陽性、感性株 9 株および *cfiA* 陰性、感性株 119 株を用いた。IS-like element No.1 (菌株 KY 1 由来) 又は No.19 (菌株 KY 19 由来) の PCR による検出には、primer G/E の PCR により IPM 高度耐性株 KY 1 又は

KY 19 から得られた PCR 産物の塩基配列から選択した primer GBI 1-5/1-6 又は GBI 1-3/19-4 を用いた。

結果および考察: IPM 耐性 6 株の IS-like element は、その塩基配列から 5 種類に分類された。PCR による IS No.1 の検出では、KY 1 以外に *cfiA* 陰性の 119 株中 7 株 (5.9%) が PCR 陽性で IS No.1 の存在が示唆された。IS No.19 の検索では、KY 19 以外の株はすべて PCR 陰性であった。IPM 高度耐性化に関与していると思われる IS-like element は *B. fragilis* の間で広くは分布しておらず、IPM 感性株では *cfiA* gene とこれらの IS element が共存している確率はきわめて低いものと思われた。

137 尿路より分離された *E. coli* の抗菌剤耐性機作について

村谷哲郎・高橋康一・山田陽司
赤坂聡一郎・真鍋憲幸・松本哲朗
産業医科大学泌尿器科学教室

目的: *E. coli* は尿路感染症患者より最も多く分離される菌種であるが、近年キノロン剤や β -lactam 剤耐性菌が報告されている。そこで我々は、当院における尿路由来 *E. coli* の薬剤耐性の状況把握と耐性化機序として、 β -lactamase に関して検討を加えた。

材料と方法: 使用菌株は 1998 年 1 年間に当院尿検体より分離された *E. coli* 109 株を用いた。薬剤感受性測定は、寒天平板希釈法で、 β -lactamase の等電点電気泳動は nitrocefin を用いて検出し、活性測定は UV 法にて行った。また、PCR による TEM type などの β -lactamase 遺伝子の検出も行った。

結果: ABPC 耐性株 (>8 $\mu\text{g/ml}$) は 21.1%, CCL および CPDX 耐性株 (>8 および >4 $\mu\text{g/ml}$) は 4.6% であった。カルバペネム系と FRPM に耐性を示す株はなく、注射用第 3 および 4 世代セフェム、AZT は 1 株または 2 株が耐性を示した。キノロン耐性株は 10.1% 存在した。

TEM 型 β -lactamase の PCR 陽性および pI 5.4 を示す β -lactamase 産生の 17 株は、ABPC に耐性を示したが、CCL は感受性を示した。CCL に耐性を示した 5 株中 4 株は CET 分解活性の高い β -lactamase を産生していた。そのうち 1 株は TEM 型 β -lactamase に加えて、pI 8.8 付近のプラスミド性の β -lactamase を有しており、PCG、CET のどちらに対しても高い活性を有し、さらに CAZ 分解活性が検出された。

考察: ABPC 耐性株の 82.6% は TEM 型 β -lactamase を保有していた。また、セフェム剤に耐性を示した 5 株中 4 株は、CET 分解活性の高い β -lactamase を産生しており、このことが耐性化の機序であると考えられたが、1 株は、CET 分解活性は低く、別の耐性化機序もあると考えられた。尿路由来 *E. coli* に対して、経口セフェム剤耐性菌も存在しており、今後の動向には注意が必要であると考えられた。

138 1996 年に当院で分離された緑膿菌耐性株の特徴

丸茂健治・中村良子

昭和大学・藤が丘病院・臨床病理科

病院内で分離される緑膿菌は、抗菌剤への耐性獲得が容易で、院内感染の起原菌である。このため、病院内での分離状況や耐性機序を把握することは、院内感染対策や薬剤の適正使用に役立つ。今回、昭和大学藤が丘病院で 1996 年 4 月から 8 月までに患者検体から分離された緑膿菌 150 株中、ピペラシリン耐性 (MIC \geq 100 $\mu\text{g/ml}$) 23 株の耐性機序と分

離状況に関して以下の知見を得た。

ピペラシリン耐性の一因として、 β -ラクタマーゼの影響がある。薬剤耐性緑膿菌 23 株からの β -ラクタマーゼの検出を、等電点電気泳動法で行ったところ、尿から分離された 4 株のみが外来性 β -ラクタマーゼ (pI 7.5) を所有していたので、PCR-SSCP 法¹⁾で、これらの酵素が OXA-4 β -ラクタマーゼであることを同定した。この酵素は 1992 年から 93 年にかけて 180 株中 26 株 (14%) 分離されたので、今回有意に減少していた ($p < 0.01$, χ^2 検定)。これら 4 株は、OXA-4 遺伝子と染色体上でハイブリダイズしたが、元々存在することが知られている伝達性プラスミドとはハイブリダイズしなかった。他の耐性菌を含めた外膜蛋白の解析 (12% SDS-PAGE) では、排出蛋白である Opr-J または -M の過剰産生とポリンである Opr-D の欠損が認められ、耐性への寄与が示唆された。また、これら耐性菌出現は尿 (48%) と喀痰 (26%) で多く、薬剤使用の背景として、ベナム、第 1 & 2 世代セフェム、ゲンタマイシン購入量の長期的減少、カルバペネム、第 3 世代セフェム、ニューキノロンの高購入量の継続中に起きていた。

文 献

1) Marumo, K et al., J. Antimicrob. Chemother. (1999) 43, 187-193.

139 緑膿菌の薬剤耐性化における bla-IMP 遺伝子検出の試み

佐藤 毅・加藤高明・大塚一秀
中川良英・加藤るな・伊藤裕美子
牛尾真由美・佐藤博信・岩井重富

日本大学医学部第三外科

院内感染菌である緑膿菌は種々の薬剤に抵抗性を示す株が増加している。この薬剤抵抗性の原因を検討すると共に感染の動向および耐性菌に対する併用療法も検討した。板橋病院からは教室保存 274 株、駿河台病院は各科から提出された株のうち IPM 16 $\mu\text{g/ml}$ 以上を示す 42 株を使用した。板橋病院の 274 株を 7 剤の抗菌薬 Disk で薬剤感受性を screening した。3 剤以上に抵抗性を示した 10 株の MIC を測定した結果、AGs 3 剤および抗緑膿菌製剤である CFS でも MIC はすべて 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 以上であった。この 10 株を PCR 用検体とした。駿河台病院の 42 株で、他の抗菌薬に対する MIC は、ABPC では全てが 32 $\mu\text{g/ml}$ 以上で、PIPC も 64 $\mu\text{g/ml}$ 以上を示すものが 16 株、CAZ でも 32 $\mu\text{g/ml}$ 以上が 17 株にみられた。院内感染との関係性をみるために O 抗原型別を検討すると F 型が最も多く、ついで G, A, の順であった。さらに耐性遺伝子が存在する可能性の高い CAZ に 64 $\mu\text{g/ml}$ 以上を示す株では PIPC に 128 $\mu\text{g/ml}$ またはそれ以上で、型別でも 15 株中 8 株が F 型であった。PCR は千田らの方法に準じて行った。プライマーは 587 ベースに近いものを用いた。多剤耐性株に対する併用療法は ABK を基剤として AMK, GM, CAZ, CFS, PAMP, IPM の 6 剤を使用し行ったが、効果はあまり良くなかった。結論として 52 株に PCR を施行、なかでも IPM/CS 16 $\mu\text{g/ml}$ 以上、CAZ 50 $\mu\text{g/ml}$ 以上を示し、耐性遺伝子の存在が高いと考えられたものが 18 株あったが、遺伝子は見られなかった。今後、他の耐性遺伝子検出も検討する予定である。

140 セフォセリスを含む第四世代セフェム薬の新鮮分離株に対する抗菌作用

小川美保・江田孝志・星野和夫
監物正視・瀬戸 勇

株式会社ビー・エム・エル総合研究所

目的: 感染症の起炎菌は抗菌薬の使用頻度により, 耐性を獲得することは周知の事実であるが, 医療現場において感染起炎菌の薬剤感受性を知ることは, 治療薬選択上重要な情報となる。今回, β -ラクタム薬を中心に感受性の比較試験を行ったので, その成績を報告する。

方法: 1998年7月~12月の6ヶ月間に分離した主要菌株について, 日本化学療法学会標準法に準じてマイクロプロス法でMICを測定した。測定薬剤は, CFSL, CZOP, CPR, CFPM, CAZ, FMOX, CEZ, IPM/CS, PAMP/BP, CPZ/SBTの10薬剤で, それぞれ力価の明らかなものを用いた。*S. aureus*と*S. pneumoniae*の耐性区分はNCCLSの基準に準じた。

結果: CFSL, CZOP, CPR, CFPM, CAZ, FMOX, CEZ, IPM/CS, PAMP/BP, CPZ/SBTのMIC₅₀は薬剤順に以下の通りであった。MSSA (99株) は, 1 μ g/ml, 1 μ g/ml, 0.5 μ g/ml, 2 μ g/ml, 8 μ g/ml, 0.5 μ g/ml, 0.5 μ g/ml, \leq 0.06 μ g/ml, \leq 0.06 μ g/ml, 4 μ g/ml, MRSA (100株) は, 32 μ g/ml, 64 μ g/ml, 64 μ g/ml, >128 μ g/ml, >128 μ g/ml, 128 μ g/ml, >128 μ g/ml, 64 μ g/ml, 64 μ g/ml, >128 μ g/ml, PSSP+PRSP (100株) は, 0.5 μ g/ml, 1 μ g/ml, 0.5 μ g/ml, 1 μ g/ml, 4 μ g/ml, 2 μ g/ml, 2 μ g/ml, 0.13 μ g/ml, 0.13 μ g/ml, 4 μ g/ml, *H. influenzae* は, 0.13 μ g/ml, 0.5 μ g/ml, \leq 0.06 μ g/ml, 0.13 μ g/ml, 0.13 μ g/ml, 2 μ g/ml, 8 μ g/ml, 0.5 μ g/ml, 0.5 μ g/ml, 0.13 μ g/ml, *E. coli* は, \leq 0.06 μ g/ml, 0.13 μ g/ml, \leq 0.06 μ g/ml, \leq 0.06 μ g/ml, 0.5 μ g/ml, \leq 0.13 μ g/ml, 4 μ g/ml, 0.25 μ g/ml, \leq 0.06 μ g/ml, \leq 0.06 μ g/ml, \leq 0.06 μ g/ml, 0.13 μ g/ml, \leq 0.06 μ g/ml, 2 μ g/ml, 0.25 μ g/ml, 0.25 μ g/ml, 0.5 μ g/ml, *P. aeruginosa* は, 16 μ g/ml, 8 μ g/ml, 16 μ g/ml, 8 μ g/ml, 8 μ g/ml, >128 μ g/ml, >128 μ g/ml, 8 μ g/ml, 16 μ g/ml, 64 μ g/mlであった。

まとめ: 第四世代セフェム薬及びカルバペネム薬は, 総じて優れた抗菌力を示した。ESBLと推定される株は*K. pneumoniae*に1株(2%)検出され, *E. coli*中には検出されなかった。メタロ β -ラクタマーゼ産生株と推定される*P. aeruginosa*は100株中1株(1%)存在した。

141 眼分離株の耐性現況 (好気性菌)

坂本則敏・清水公也

北里大学眼科学教室

井上松久

同 微生物教室

星野和夫・小川美保

BML 細菌検査室

我々は市中病院である坂本眼科において, 前眼部感染性疾患に対して眼脂を採取し, 分離同定した。'97年7月~'99年4月の期間に210株を同定した。グラム陽性菌107株51%, グラム陰性菌103株49%。上気道感染症と急性カタル性結膜炎の合併率は46%であった。ヘモフィリス属: 77株37%, 肺炎球菌: 46株22%, モラキセラ・カタラリス: 11株5%。上気道感染症で多く認められる複数菌感染症は, 急性結膜炎にて, 6症例4%に認められた。上記の原因菌の年齢別・季節別の検出率を検討した。ヘモフィリス属: 3才以

下43%, 5才以下77%, 但し, 各年齢層に分布。冬季・夏季の小さな二峰性。肺炎球菌: 3才以下58%, 5才以下63%, 20~39才: 22% (成人の急性カタル性結膜炎)。冬季と夏季の二峰性。M (B) ・カタラリス: 3才以下63%, 5才以下75%。秋季~春季 (夏季: 検出なし)。

次に, 上記3菌種の薬剤感受性を報告した。ヘモフィリス属の β -lactamase産生株は77株12%, BLNARは6株8%, intermediateは14株18%。BLNARはII型83%, III型17%。年次変化は'98は5%, '99は14%と増加傾向。Intermediateは全体の10~20%を占め, II・III型はほぼ同数。 β -lactamase産生株で, '98年2%, '99年24%と増加。II・III型はほぼ同数。PSSP: 57% (26/46株), PISP: 41% (19/46株), PRSP: 1株2%。PRSP (1株)のABPCのMIC: 6.25 μ g/ml, CMX: 0.78。また, EM耐性株について (PSSP: 50%, PISP: 47%, PRSP: 100%), GM・TC耐性株: 全例, OFLX耐性: 1株4%。そして, 人工水晶体挿入術時の眼内還流液の中に使用されるIPMは, PISP: MIC₅₀=0.2 μ g/ml, PRSP: 0.78 μ g/mlと上昇傾向。M (B) ・カタラリスでは, IPM: MIC₅₀=0.2 μ g/mlと高感受性。カタラリスのTCのMIC: (1株) 50 μ g/ml。緑膿菌: III型, 4株67%。

PSSP: ムコイドの3型減少

PISP: 14が大幅に増加

19型, 23型は減少

PRSP: 19型40%, 6型27%に増加

14型も5%弱と増加

肺炎球菌 ('97.11~'98.8: 32株)

PSSP (18株): 6型 (17%: 3/18), 14型 (11%: 2/18),

23型 (11%: 2/18), NT (61%: 11/18)

PISP (13株): 6型 (23%: 3/13), 19型 (15%: 2/13),

NT (62%: 8/13)

PRSP: 19型 (100%: 1株)

142 琉球大学病院における β -lactamase非産生ABPC耐性*H. influenzae*の検出状況とその解析

久保田徹¹⁾・金森修三¹⁾・新里 敬¹⁾

健山正男¹⁾・斉藤 厚¹⁾・仲宗根 勇²⁾

草野展周²⁾・山根誠久²⁾・本山 寛³⁾

山野佳則³⁾

¹⁾琉球大学第一内科

²⁾同 検査室

³⁾塩野義製薬創薬研究所

目的: 近年, *H. influenzae*のCTM耐性株が増加し, 実際に臨床的に無効例を経験している。その耐性機序と, 同様に増加傾向にあるBLNAR (β -lactamase negative ampicillin resistant)との関係を明らかにしていく。

材料と方法: 薬剤感受性試験: 供試菌株は1995年1月から1998年6月までに琉球大学病院検査部にて分離された*H. influenzae* 159株 (同一患者からの重複菌株は除外)。薬剤感受性試験はNCCLSの標準法に準じて微量液体希釈法で行った。対象薬剤はABPCを含む11薬剤とした。 β -lactamase産生試験はニトロセフィン法にて行った。ABPC MIC \geq 2 μ g/ml, β -lactamase陰性をBLNARとした。PBP assay: *H. influenzae* ATCC 49766 (CTM MIC: 0.39 μ g/ml), 臨床分離株C 2163 (CTM MIC: 25 μ g/ml, ABPC MIC: 2 μ g/ml)を使用。PBP assayはRI([³H]-PCG)の方法とnon RI (Biotin-AMP)の方法を併用した。

結果および考察: 1995年から1998年にかけてBLNAR

およびCTM耐性株の分離率は年々増加傾向にあり、約20%に達していた。今回検討した*H. influenzae*C2163 (BLNARかつCTM耐性)はCTMに対するPBP3の親和性低下を認めた。さらに、C2163は標準株と比較してPBP3遺伝子の変異が認められ、10カ所以上でアミノ酸の変異が認められた。蛋白構造の変化からPCGおよびCTMの親和性低下をきたしたものと思われる。CTM耐性でもBLNARではない株など他のMICの特徴をしめす耐性株も存在しており、同様なPBPの調査を行っていく必要があると考えられた。

143 歯性感染症の起炎菌に対するβ-ラクタム剤の抗菌力について

中戸川倫子¹⁾・金子明寛¹⁾・佐々木次郎¹⁾
山根伸夫²⁾・松崎 薫³⁾・小林寅詰³⁾

¹⁾東海大学医学部口腔外科

²⁾足利赤十字病院歯科口腔外科

³⁾三菱化学ビーシーエル化学療法研究室

目的: 近年分離された歯性感染症の主な起炎に対する抗菌剤の抗菌力を測定した。

実験材料と方法: 薬剤感受性の測定は1996年から97年の間に歯性感染症の閉塞膿瘍から分離された口腔レンサ球菌110株、*Peptostreptococcus* 30株、*Prevotella* 30株および*Porphyromonas* 30株の計200株について検討を行なった。使用薬剤は、CDTR、CCL、CEX、CFDN、CFPNおよびABPCの6薬剤を用い日本化学療法学会標準法に基づいた寒天平板法で検討を行なった。

結果: 口腔レンサ球菌のうち、ミレリーグループに対するMIC₅₀/MIC₉₀ (μg/ml)はCDTR 0.20/0.20, CCL 1.56/1.56, CEX 6.25/6.25, CFDN 0.78/0.78, CFPN 0.20/0.39およびABPC 0.39/0.78であった。ピリダンスグループはミレリーグループよりMICは高く、*S. mitis*ではMIC₅₀/MIC₉₀はCDTR 0.05/0.39, CCL 0.78/6.25, CEX 3.13/12.5, CFDN 0.20/3.13, CFPN 0.10/0.78およびABPC 0.20/0.78であった。測定を行った嫌気性菌では*Prevotella*のMICが高くMIC₅₀/MIC₉₀はCDTR 3.13/25, CCL 0.78/>100, CEX 1.56/>100, CFDN 0.10/12.5, CFPN 0.39/25およびABPC 0.39/>100であった。

結論: ① ABPCのMICは新経口セフェムに比べ劣っており、今回測定を行った菌種では唯一*Peptostreptococcus*に対する抗菌力がセフェム剤より優れていた。

② CCLおよびCEXのMICは高く、口腔レンサ球菌の中では特に*S. mitis*に対する感受性が劣っておりMIC rangeの幅は0.05-100 μg/ml以上であった。

③ 新経口セフェム3剤の抗菌力は何れの菌種でもほぼ同等であった。

144 近畿地区におけるESBL産生が疑われた*Escherichia coli*および*Klebsiella pneumoniae*の解析

小松 方¹⁾・島川宏一¹⁾・木下承皓²⁾
浦 俊郎³⁾・西尾久明⁴⁾・山崎勝利⁵⁾
山下知成⁶⁾・鷺津良道⁶⁾・相原雅典¹⁾

¹⁾天理よろづ相談所病院臨床病理部

²⁾神戸大学医学部附属病院中央検査部

³⁾国立循環器病センター臨床検査部

⁴⁾滋賀県立成人病センター中央検査部

⁵⁾和歌山労災病院検査科

⁶⁾ファルコバイオシステムズ総合研究所検査部

目的: 近畿地方において臨床材料から分離した*E. coli*および*K. pneumoniae*を対象としてextended spectrum β-lactamase (ESBL)産生菌を調査した。

対象および方法: 1998年の1月1日~31日および10月1日~11月30日の2期間に、近畿圏6施設で患者検体から分離した*E. coli* 163株および*K. pneumoniae* 150株を対象とした。方法は治療標準微量液体希釈法によるMIC測定およびP/Cアーゼ®テスト(昭和薬品化工)を実施後、NCCLSが推奨するESBL検出基準薬のいずれかに2 μg/ml以上を示した株を対象とし、PCR法によるβラクタマーゼ遺伝子型別、プラスミド接合伝達試験およびRandomly amplified DNA polymorphism (RAPD)によるDNA相同性を検討した。

結果および考察: ESBL検出基準薬のいずれかで2 μg/ml以上を示した株は、*E. coli*および*K. pneumoniae*でそれぞれ19株(11.7%)および7株(4.7%)あった。これらの内、PCR法で*E. coli*ではTEM型が4株、*K. pneumoniae*ではMEN-1+TEM+SHV型が3株、MEN-1+SHV型1株、Toho-1+SHV型1株およびSHV型2株となった。P/Cアーゼ®テストの成績および接合伝達試験の成績からこれらの株のMIC値上昇は、*E. coli*はクラスC型βラクタマーゼ過剰産生性、*K. pneumoniae*ではMEN-1あるいはToho-1に起因するものと考えられた。今回の検討ではESBL産生株は*K. pneumoniae*のみに認められたが、遺伝子型はMEN-1およびToho-1タイプであり、RAPDで同一タイプと思われる株が存在した。今後、ESBL産生菌の病院検査室における積極的な検出と広範な監視システムの構築が急務と思われる。

145 皮膚バイオフィルム感染モデルに対するロキシシロマイシン、イミペネムの併用効果

山崎 修・秋山尚範・荒田次郎

岡山大学皮膚科

目的: 皮膚細菌感染症におけるロキシシロマイシン(RXM)の併用効果を検討する。

材料および方法: ①Furuncle由来黄色ブドウ球菌について、Checker board法でIPM, RXMの併用効果を検討した。②黄色ブドウ球菌X株をセルデスクを加えたウサギ血漿中で、immature biofilm modelを作製しIPM, RXMの併用効果を検討した。③X株とウサギ血漿とラテックスビーズを反応させ、正常マウス皮膚に接種し異物感染モデルを作製。*in vivo*でのIPM, RXMの併用効果を検討した。④シクロホスファミドを前投与した免疫抑制マウスに切創を作製。RXM高度耐性のMRSAを塗布し、RXMを投与し電顕的に観察した。

結果: ①17株中相乗作用を6株、相加作用を5株を認め

た。②IPM 単独群, RXM 単独群, 併用群いずれも control と有意差を認めなかった。③接種 8 日後, 単独群に比し併用群は菌量が有意に低下した。併用群では好中球が菌塊を破壊する像を認めた。④電顕的には RMX 投与では biofilm 内に好中球が侵入する像を認めた。

まとめ: IPM, RXM の併用効果は *in vitro* biofilm model では認められないが, *in vivo* model では認められた。RXM による好中球による biofilm 貪食促進効果が重要とされた。

146 EFFECTS ON THE *P. aeruginosa* IN BIOFILM OF FLEROXACIN COMBINED WITH UROKINASE OR EARTHWORM KINASE

Wang Rui · Chen Qian

Fang Xiangqun · Liu Youning

Department of Clinical Pharmacology, Chinese PLA General Hospital

OBJECTIVE: Bacterial biofilm is defined as mucoid matrix-enclosed bacterial populations adherent to each other and to surface. Biofilms have been found on the surfaces of biomaterials and tissues in chronic bacterial diseases that are characterized by resistance to chemotherapy and resistance to clearance by humoral or cellular host defense mechanisms. In our previous report, we presented the new finding that treatment of the biofilms with fleroxacin resulted in the eradication of slime-like structure and bactericidal activity to *P. aeruginosa* in biofilm. But the action of fleroxacin on biofilm was partial and middle.

Proteolytic enzymes and protease inhibitors have been shown *in vitro* to have the capacity to inhibit some fundamental activities of bacteria. It is unclear whether the enzymes have activity on bacterial biofilm. In the study we investigated the interaction of fleroxacin combined with urokinase or earthworm kinase on biofilm of *P. aeruginosa*.

METHODS: Establishment of bacterial biofilm model. The sterile silicon discs were added in a 24 well tissue culture plate and incubated with *P. aeruginosa* suspension for 7 days, and then TSB containing different concentration of fleroxacin plus urokinase or earthworm kinase was added for 24 h. The biofilm was rapidly identified by staining of silver nitrate. The ultrastructure photography was observed with SEM. Viable count of *P. aeruginosa* in biofilm were determined using MTT method.

RESULTS: There were black materials (glycocalyx) and some viable bacilli in the space using the rapid identification method of silver staining.

The electronphotography of biofilm showed that the cells of *P. aeruginosa* were coagulated in microcolonies and surrounded by a thick layer of mucoid glycocalyx materials in control group (untreated). Both of the cells of *P. aeruginosa* and glycocalyx materials in biofilm treated by 4 × MIC of fleroxacin were reduced. The cells were less and most of them was broken into pieces, there was nearly no mucoid materials in the groups treated by fleroxacin plus urokinase or earthworm kinase.

Viable count of *P. aeruginosa* cells in biofilm treated by

floxacin plus urokinase or earthworm kinase was significantly less than that treated by fleroxacin alone. The synthetic bacterial activity of fleroxacin plus earthworm kinase was stronger than plus urokinase ($P < 0.05$).

CONCLUSION: The results of the present study suggested that the urokinase or earthworm kinase is able greatly enhance the activity of fleroxacin against the sessile *P. aeruginosa* cells in biofilm.

147 実験的尿路バイオフィーム感染症動物(ラット)における cytokine の変動

山田博司¹⁾ · 高畑正裕¹⁾ · 南新三郎¹⁾

渡辺泰雄¹⁾ · 長谷川真常²⁾ · 公文裕巳³⁾

¹⁾ 富山化学工業株式会社総合研究所

²⁾ 長谷川病院

³⁾ 岡山大学医学部泌尿器科学教室

目的: 実験的ラット膀胱結石に *Pseudomonas aeruginosa* を定着させ, バイオフィームを形成させた時の尿中サイトカイン (MIP-2, IL-1 β) の変動について検討した。

材料と方法: 使用動物として Wistar/ST 系雌性ラット (7 週齢), 菌株として尿路由来臨床分離 *P. aeruginosa* S-1305 株を用いた。膀胱内手術用絹糸留置と 1% エチレングリコール摂水により結石を惹起し, 絹糸留置 7 日後に *P. aeruginosa* を経尿道的に感染させる (10⁶CFU/ラット) ことにより実験的尿路バイオフィーム感染症モデルを作製した。治療効果の検討については, 感染 7 日後から 20 mg/kg の tosufloxacin (TFLX) を, 2 回/日 × 3 日, 5 日および 10 日の 3 通りのスケジュールで経口投与し, 投与前後の結石定着菌数および尿中サイトカインを測定した。サイトカインの定量には ELISA KIT (岩城硝子) を用いた。

結果および考察: 感染後の結石定着菌数は感染 17 日後まで結石 1 mg 当たり約 10⁶CFU の菌数を維持した。腎内菌数は感染 3 日目にピーク (約 10⁶CFU) となり, それ以降減少した。走査型電子顕微鏡による観察では, 感染 3 日後では, 結石に多数の菌の定着がみられ, 感染 7 日後には成熟したバイオフィーム像が観察された。尿中 MIP-2 および IL-1 β は, 成熟したバイオフィームの形成が認められた感染 7 日以降, 比較的高い値を持続した。また, TFLX 投与により, 結石定着菌数の減少がみられ, 尿中 MIP-2 および IL-1 β は低下した。

148 Potential of Macrolide Antibiotics to Inhibit Protein Synthesis of *Pseudomonas aeruginosa*

—Suppression of Virulence Factors and Stress Response—

舘田一博 · 小林隆夫 · 松本哲哉

古谷信彦 · 宮崎修一 · 山口恵三

東邦大学医学部微生物学教室

Recently we have reported that sub-MICs of macrolide antibiotics, such as erythromycin, clarithromycin and azithromycin, induce loss of viability of *P. aeruginosa* in longer incubation periods. In the present study we have examined potential activity of sub-MICs macrolide antibiotics on protein synthesis, expression of heat shock proteins (Gro-EL) and those association with viability of *P. aeruginosa*. In 7 strains of clinical isolates of *P. aeruginosa*, suppression of protein synthesis was generally observed in bacteria grown on agar with sub-MIC azithromycin (8 μ g/ml) at 24 h, which was followed by loss

of viability after additional 24 h incubation. The suppression of protein synthesis was shown in bacteria treated with sub-MICs erythromycin and clarithromycin, but not other antibiotics examined (josamycin, oleandomycin, tobramycin, ofloxacin, clindamycin, ceftazidime) even at relatively high sub-MICs. In heat shock condition (45 C), strong expression of Gro-EL was induced in bacteria grown on antibiotic-free medium whereas delay of such response was indicated in bacteria exposed to 4 µg/ml of azithromycin. Reflecting these results, abrupt reduction of viability in azithromycin-treated bacteria was observed within 3 h in heat shock condition. Western blot analysis using specific antibody for Gro-EL demonstrated that erythromycin, clarithromycin and azithromycin from concentrations of 0.5–2 µg/ml suppressed expression of lower molecular weight Gro-EL bands in constitutive state. These results indicated that the macrolides at far below MICs suppress protein synthesis of *P. aeruginosa*, which may attenuate their virulence and induce loss of viability in longer incubation. Moreover, it is likely that the macrolides may sensitize bacteria to stresses since these antibiotics induced inhibition of a major stress protein Gro-EL in constitutive and inducible states.

149 慢性緑膿菌感染症における BPI-ANCA の意義

太田見さつき・太田見宏・小林 治
中川朋幸・小林宏行

杏林大学第一内科

目的: BPI-ANCA (anti neutrophil cytoplasmic antibody) は、好中球細胞質内に局在する蛋白の一つである BPI (Bactericidal/permeability increasing protein) に対する自己抗体であり、びまん性汎細気管支炎 (DPB) や気管支拡張症 (BE) などの慢性気道感染症の遷延化の一因と考えられている。今回、私どもは、慢性気道感染症として当院で観察しえた DPB 25 症例および BE 41 症例における BPI-ANCA の臨床的意義についての検討を行ったので報告した。

方法: 1) DPB 25 症例および BE 41 症例について、ELISA 法を用いて血清 BPI-ANCA の測定を行った。さらに比較対象として、ANCA 関連血管炎 6 症例、急性肺炎 13 症例、肺結核症 21 症例の血清を使用した。

2) BPI-ANCA の好中球細菌貪食に対する作用を観察する目的で、*in vitro* にて好中球培養液に緑膿菌、大腸菌、ブドウ球菌を添加し、培養上清中の BPI 濃度を経時的に観察した。さらにこの培養液に BPI-ANCA を添加し、同様の観察を行った。

結果: 1) ANCA 関連血管炎や急性肺炎においては BPI-ANCA は陰性であったが、DPB 25 例中 20 例 (80.0%) および BE 41 例中 28 例 (68.3%) に BPI-ANCA が陽性を示し、その平均値は高く観察され、次いで慢性肺感染症である肺結核症でも上昇が見られ、慢性感染症における特異性が示された。また、過去 3 ヶ月間に同一の菌種が喀痰中より検出されたものをグラム陽性菌、グラム陰性菌に分類し、それぞれの BPI-ANCA 値を比較すると、グラム陰性菌長期定着群では有意に BPI-ANCA 値が高く観察され、特異性が示された。

2) 好中球 BPI はグラム陰性菌存在下で経時的に放出されたが、BPI-ANCA を添加すると培養上清中の BPI 濃度は抑

制して観察された。

考察: 今回の検討から慢性気道感染症においては、気道における長期にわたる菌の定着の結果、好中球内の BPI は持続的に放出され生体に BPI-ANCA が産生され、BPI に対し中和的に作用し菌の貪食を抑制することによりさらなる感染の遷延化に関与すると考えられた。

150 シェーグレン症候群モデルマウスにおけるホスホマイシンの効果

石丸 直澄・三枝かおる・林 良夫

徳島大学歯学部口腔病理学講座

目的: シェーグレン症候群は、慢性唾液腺炎・乾燥性角結膜炎による乾燥症候群を主徴とする難治性の自己免疫疾患である。我々はヒト・シェーグレン症候群に極めて類似した疾患モデル NFS/sld マウスを確立し、その病態発症のメカニズム、唾液腺特異的な自己抗原の同定など詳細な病態解析を行ってきた。このモデルマウスにホスホマイシンを投与することにより、涙腺・唾液腺における自己免疫病変が抑制されることをすでに本学会にて報告した。今回は、エフェクター細胞へのホスホマイシンの直接作用を *in vivo* および *in vitro* で検討した。また、自己抗原 α -fodrin に対する反応性・サイトカイン産生などに及ぼす影響について詳細な解析を行い、病態発症へのホスホマイシンの抑制効果のメカニズムについて検討した。

材料および方法: モデルマウスの脾臓での T 細胞分画 (CD 4, CD 8) において、 $[^3H]$ -FOM の取り込み・自己抗原 α -fodrin に対する増殖反応および ELISA を用いて各種サイトカイン (IL-2, IFN- γ , IL-4) 産生に対する FOM の抑制効果を検討した。また、自己抗原の反応に伴う CD 25 (IL-2 receptor α) の発現をフローサイトメトリーにて解析した。さらに、シクロスポリン A (CyA)・PKC インヒビターを用いて、自己抗原 α -fodrin に対する T 細胞シグナルへの FOM の影響を検討した。

結果と考察: モデルマウス脾細胞を用いた *in vitro* での解析では、CD 4 陽性 T 細胞に $[^3H]$ -FOM の取り込みが上昇していたこと、および自己抗原 α -fodrin に対する反応性が FOM で特異的に抑制されていたことから FOM は CD 4 陽性 T 細胞の自己抗原に対する反応性を効果的に抑制できることが示唆された。また、自己抗原による IL-2 の産生および CD 25 の発現は FOM により抑制されていることが明らかとなった。さらに、CyA, PKC インヒビターを用いて FOM の免疫抑制効果を検討した結果、CyA との共培養にて相乗的に自己抗原 α -fodrin に対する反応性を抑制することが判明したことから、FOM はカルシニューリンもしくは PKC 以降のシグナルを介した自己抗原特異的免疫応答を抑制する可能性が示された。以上の結果より、FOM が T 細胞依存性自己免疫疾患に対して治療効果を発揮する可能性が示唆された。

151 各種抗菌薬の緑膿菌 *in vivo* 病原性への影響

—マクロライド剤処理はマウス急性致死率を高める—

小林隆夫・館田一博・松本哲哉
古谷信彦・宮崎修一・山口恵三

東邦大学医学部微生物学教室

目的: 種々の抗菌薬が sub-MIC で緑膿菌の病原因子の産生を抑制することや、びまん性汎細気管支炎へのマクロライド剤の少量長期投与の有効性が報告されているが、その機序には不明点も多い。今回、sub-MIC の抗菌薬含有培地で培

養した緑膿菌のマウス経鼻感染モデルで興味深い結果が得られたので報告する。

方法: 緑膿菌標準株 PAO-1 と臨床分離株 2 株を, sub-MIC (20%~3.9% MIC 未満) の各種抗菌薬含有または非含有 Mueller-Hinton 寒天培地で 35°C・24 時間培養, ICR マウス (6 週令・雄) に菌液 40 μ l (3.7 \times 10⁷CFU) を経鼻注入し, 接種 48 時間後まで生存率を観察した。接種の 3 時間後にマウスを sacrifice し, 気管支肺胞洗浄 (BAL) を行い, 細胞数を測定し, ELISA 法で TNF α を測定した。また, sacrifice の 5 分前に 3% Evans blue 液 0.1 ml を静注し, BALF の吸光度を 620 nm で測定した。摘出肺ホモジネートを培養し肺内菌数を求めた。

結果: CAM, AZM, EM 処理緑膿菌の接種時は 48 時間以内に大多数のマウスが死亡したが, JM, OL, CAZ, LVFX, TOB, CLDM, MINO, 無処理群では死亡しなかった。CAM と PAO-1 で検討すると, 3, 6 時間後では CAM 処理群で肺内菌数が増加し, BALF 中細胞数は減少した。BALF 中の TNF α は CAM 処理群で高く, 非処理菌や熱処理死菌の接種では上昇せず, LD 50 の 2 分の 1 相当のエラスターゼ, プロテアーゼ, Exotoxin-A の単独投与では増加せず, LPS 10 μ g との同時投与では誘導された。血管透過性は CAM 処理群で亢進し, 上記物質の投与時は亢進しなかった。CAM 処理群の肺組織では強い炎症所見と出血性の変化が認められた。本現象の機序に関しては, 菌体構成成分及び菌体外産物質の両面からさらにマクロライド剤の作用を検討する必要があると考えられた。

152 腸管出血性大腸菌 (EHEC) におけるマクロライド系抗菌薬の verotoxin 遊離抑制に関する検討

村上純子¹⁾・平田範夫¹⁾・岸 建志¹⁾
平井一弘¹⁾・山崎 透¹⁾・永井寛之¹⁾
那須 勝²⁾・平松和史²⁾

¹⁾大分医科大学第 2 内科

²⁾大分医科大学付属病院検査部

腸管出血性大腸菌 (EHEC) は, 菌体より遊離される verotoxin (VT) が, 重篤な合併症を引き起こす原因の一つであると言われている。

今回, マクロライド系抗菌薬の一つであり, 腸管感染症に適応のある Rokitamycin (RKM) を選び, *in vitro* にて EHEC に作用させ, その上清中の VT に対する効果を検討した。また, EHEC 感染マウスモデルを作成し, RKM の経口投与を行い, その便中の生菌数および VT に対する効果も確認したので報告する。

材料: 使用菌株は臨床分離株 *E. coli* O 157: H 7 で, VT 1, 2 両産生性である。マウスは C 3 H/HeN (SPF, 3 週齢, 雄) を用いた。VT の測定は, 逆受身ラテックス凝集反応法を用いた。

方法および結果: ミューラー-ヒントンプロス内で, EHEC に RKM を 3.1~100 μ g/ml の濃度 (RKM の EHEC に対する MIC は 25 μ g/ml) で培養を行い 6, 18 時間にてサンプルを採取し, 上清中の VT 2 の測定を行った。上清中の VT 2 量は, 薬剤を添加せずに培養した control 群と比べ, RKM の濃度依存的に有意に抑制されていた。

次に, 10⁶cfu の EHEC を day 0 に接種した感染マウスに day 1 より RKM 240, 480 および 960 μ g を連日経口投与した。その結果, 便中の EHEC 生菌数は, 960, 480 mg 投与群において減少が観察され, さらに便中の VT 1, 2 はいずれも RKM 投与群において有意にその量が抑制されていた。

考察: RKM は, マクロライド系抗菌薬であり, 小児に対する安全性の面からも, さらに VT 抑制効果の面からも, EHEC 感染症に対する治療薬剤としての可能性が示唆された。

153 尿路病原性大腸菌の病原性発現におけるアポトーシスの関与

李 勝¹⁾・本田武司²⁾・酒井 豊²⁾
米本洋次²⁾・中野雄造²⁾・宮崎茂典²⁾
荒川創一²⁾・守殿貞夫²⁾

¹⁾神戸労災病院泌尿器科

²⁾神戸大学泌尿器科

³⁾阪大微研細菌感染

目的: 尿路病原性大腸菌 (UPEC) のマウスマクロファージ細胞に対する影響を *in vitro* で検討する。

方法: 菌株は急性単純性膀胱炎由来の UPEC 4 株 (C 5 (*pil*), C 92 (*pil*, *pap*), C 189 (*pil*, *pap*, *cnf1*), C 85 (*pil*, *pap*, *cnf1*, *hly*))。細胞は murine macrophage cell line J 774 を用いた。方法は超音波破砕処理した UPEC 4 株および LPS (10 μ g/ml) を各々 J 774 に接種し 24 時間培養後, 細胞の形態学的変化, 細胞障害性, DNA 断片化の有無を観察し, フローサイトメトリーにより定量化した。尚, 対照として non pathogenic *E. coli* DH 10 B を用いた。

結果: Hoechst 33258 による形態学的観察では UPEC 群で核クロマチンの凝集, 偏在化が認められたが, DH 10 B および LPS では認められなかった。DNA 断片化については UPEC 群で, DNAladder が検出されたが, 対照群では認められなかった。フローサイトメトリーにより apoptotic cell の定量を行うと, DH 10 B に比較して UPEC 4 株は, 有意に apoptotic cell が増加していた。また UPEC 菌株間に有意差は認められなかった。

考察: UPEC が murine macrophage に apoptosis を誘導することが観察され, 誘導物質として LPS 以外の物質が存在し, UPEC の尿路病原性に関与することが示唆された。

154 腸管および膈から分離されたラクトバチルスの同定と H₂O₂ の産生性

加藤直樹・渡邊邦友

岐阜大・医・嫌気性菌実験施設

近年, ヒトから分離されやすい *Lactobacillus* の分類が一部変更されているが, 新しい分類法に基づいたヒトの腸管および膈由来の *Lactobacillus* の検討はほとんどなされておらず, これらの部位における常在細菌叢としての *Lactobacillus* に関する情報は極めて限られている。今回, 我々は通常の生化学的方法では極めて困難か, 不可能である *Lactobacillus* の菌種レベルでの同定を DNA-DNA ハイブリダイゼーション法を用いて行った。また, 分離菌の H₂O₂ 産生性と APICHL 50 キットを用いた同定も検討した。検体は出産直後の母親 49 名の糞便と膈スワップ, その母親から生まれた新生児 36 名の糞便, 妊婦 70 名の膈スワップとした。その結果, 母親および新生児の糞便からは, それぞれ 10 種類と 8 種類の *Lactobacillus* が分離されたが, 最も高頻度に検出されたのは *Lactobacillus gasseri* であった。同定不能株はそれぞれ 3 株と 1 株であった。健康女性の膈からは 7 種類の *Lactobacillus* が分離され, 最も高頻度に分離されたのは *Lactobacillus crispatus* で, ついで *L. gasseri* であった。同定不能株は 6 株あった。H₂O₂ 産生性では, 他の菌種とは異なり, *L. crispatus* は全ての株で強産生性を示した。糖の発酵試験から *Lactobacillus* を同定する API CHL 50 キット

トは *L. crispatus* や *L. gasseri* を含む *Lactobacillus acidophilus* group の同定は不正確であった。

155 透析患者における抗 HIV 薬の体内動態

吉川晃司・相澤久美子・中澤 靖
吉田正樹・柴 孝也・細谷龍男

東京慈恵会医科大学内科学講座第 2

背景・目的: 透析患者では副作用に留意して投与量を減ずることにより十分な臨床効果が得られないことがある。HIV 陽性の慢性腎不全による血液透析患者を経験し, zidovudine (AZT), lamivudine (3TC) の血中濃度を測定し, 血液透析患者における抗 HIV 薬の投与方法について検討した。

症例: 24 歳男性, 日本人。感染経路は, STD (Bisexual)。当院にて IgA 腎症によるネフローゼ症候群, 腎障害と診断され, 加療を受けていたが, 徐々に腎機能低下が進行し, 1997.12.6 慢性腎不全末期にて血液透析導入した。透析導入時の検査で HBs 抗原・HBe 抗原陽性, HIV 抗体陽性と判明。CD4 396, CD8 504, HIV-RNA 1.6×10^4 , 日和見感染症は認められず ARC と診断し, AZT 100 mg/1 回/日, 3TC 25 mg \times 1 回/日を開始した。しかし効果が不十分・貧血の悪化がみられ, その後 AZT 200 \rightarrow 100 mg の後 d4T に変更し, 3TC 50 \rightarrow 75 mg に増量した。

血中濃度の測定: 測定は, 検体を凍結保存し, 米国グラクソウェルカム社にて HPLC で行った。

AZT, 3TC 開始約 1 ヶ月後に, 非透析日に AZT 100 mg, 3TC 50 mg を同時内服後, 翌日血液透析 4 時間終了後つまり次回の投与まで, 経時的に採血し, 血中濃度を測定した。

結果・考案: AZT: C_{max} 331.2 ng/ml, T_{max} 1.0 h, $T_{1/2}$ 2.85 h, AUC_{1-6} 673.1 ng \cdot h/ml。3TC: C_{max} 428.5 ng/ml, T_{max} 1.5 h, $T_{1/2}$ 6.20 h, AUC_{1-6} 1,500 ng \cdot h/ml。

AZT \cdot 3TC とともに C_{max} , AUC と臨床効果や副作用との関係はわかっていないが, HIV に対する IC_{50} などから考えて, 透析患者に対する投与方法は AZT 100 mg/2 \sim 3 回/日, 3TC 初回 150 mg, その後 50 \sim 100 mg/日が良いと思われた。また両薬剤とも血中濃度の推移, 分子量, 蛋白結合率などより, 透析性が同われ, 透析終了後に補充投与が必要と思われた。

結語: 血液透析患者に対する AZT, 3TC の投与は, AZT 100 mg \times 2 \sim 3 回/日 (透析後同量補充), 3TC 初回 150 mg, その後 50 \sim 100 mg/日 (透析後同量補充) と, 投与量・投与間隔の調整が必要である。

156 プロテアーゼ阻害薬を含む抗 HIV 治療の有用性に関する検討

古西 満・善本英一郎・高橋 賢
眞島利匡・植田勝廣・村川幸市
坂本正洋・前田 光・三笠桂一
成田亘啓

奈良県立医科大学第 2 内科

目的: プロテアーゼ阻害薬が抗 HIV 治療薬に加わり, HIV 感染者の予後は改善している。今回我々は当科での治療経験からプロテアーゼ阻害薬を含む抗 HIV 治療の有用性について検討した。

対象・方法: 対象はプロテアーゼ阻害薬の服用経験のある HIV 感染者 15 例 (平均年齢 32.5 歳, 全例男性, HIV 感染経路: 血液製剤 11 例・異性間性行為 2 例・同性間性行為 2 例) であった。3 カ月以上プロテアーゼ阻害薬を継続服用した 23 ケースで有効性, 1 回でもプロテアーゼ阻害薬を服用した 31 ケースで安全性を検討した。

結果: ①投与したプロテアーゼ阻害薬はネルフィナビルが

9 ケースと最も多く, リトナビルとサキナビルとの併用投与も 4 ケースあった。26 ケースは核酸系逆転写酵素阻害薬 2 剤との併用治療であった。②CD4 陽性リンパ球数の平均は治療前 137/ μ l, 1 カ月後 172/ μ l, 3 カ月後 192/ μ l, 6 カ月後 189/ μ l, 12 カ月後 203/ μ l であった。③log HIV-RNA 量の平均は治療前 4.18 コピー/ml, 1 カ月後 3.08 コピー/ml, 3 カ月後 3.10 コピー/ml, 6 カ月後 3.58 コピー/ml, 12 カ月後 3.51 コピー/ml であった。④一部の症例で治療効果が低かった。⑤副作用は 22 ケースに認め, 嘔気が最も多く, リボジストロフィーなどは長期服用後に出現した。⑥臨床検査値異常は 11 ケースに認め, 肝障害が最も多かった。

考察: プロテアーゼ阻害薬を含む抗 HIV 治療は有効性がみられたが, 一部の症例では既存の治療薬では効果がなく, 新たな治療法の開発が望まれる。安全性は今後も注意深く観察する必要があると考える。

157 *Chlamydia trachomatis* に対する Tosufloxacin の抗菌作用について

二口直子・古田要介
高畑正裕, 南新三郎

富山化学工業株式会社総合研究所

目的: *Chlamydia trachomatis* は他の細菌に見られない独特の生活環を有しており, 生活環の時期によって薬剤に対する感受性が異なる事が知られている。ニューキノロン剤の tosofloxacin (TFLX) は *C. trachomatis* に対して強い抗菌力があり, クラミジア感染症に有効な薬剤であるが, これまで *in vitro* における効果は十分に検討されていない。今回, 我々は, TFLX の *C. trachomatis* に対する *in vitro* での効果と作用形態について明らかにするため, 従来 MIC 測定に加え, 生活環の各時期における抗菌作用を同じくニューキノロン剤である ofloxacin (OFLX) と比較, 検討した。

方法: 試験菌株として *Chlamydia trachomatis* D/UW-3/Cx 株を, 宿主細胞として Hela 229 を使用した。MIC を日本化学療法学会標準法に準じて測定した。生活環の各時期における抗菌作用の比較は, クラミジア感染後, 0-6 時間 (基本小体期), 6-12 時間 (網様体形成期), 24-30 時間 (分裂増殖期) に, TFLX, OFLX をそれぞれ 1, 3 及び 10 μ g/ml 作用させた。感染 60 時間後に, 直接蛍光抗体法 (Micro Trak 法) により染色した封入体を計数し, Yield-ELISA 法で感染性粒子数を計測した。また, 封入体内の菌体密度をギムザ染色法により観察した。

結果: TFLX 及び OFLX の *C. trachomatis* D 株に対する MIC は各々 0.125 及び 0.5 μ g/ml であった。生活環の各時期における抗菌作用は, 封入体数及び感染性粒子数を指標に比較した。封入体数は, 基本小体期及び網様体形成期に薬剤を作用させた時に減少していたが, 分裂増殖期に薬剤を作用させた場合は対照群との間に差が見られなかった。しかし, 分裂増殖期の薬剤作用群では封入体内菌体密度の低下が見られた。感染性粒子数で比較した場合, 網様体形成期以降に作用させた時に両薬剤に強い阻害効果が認められ, 基本小体期作用時には TFLX に強い効果が認められた。すなわち, TFLX 及び OFLX は網様体形成期以降に作用させた場合に強い抗菌作用を示し, TFLX は基本小体期に作用させた場合にも強い抗菌作用を示した。以上, TFLX は *C. trachomatis* に対して, 生活環のいずれの時期にも強い抗菌作用を示すと考えられた。

158 フラノナフトキノン誘導体のクラミジアに対する抗菌活性について

岸本寿男

川崎医科大学健康管理学

池上元保・松本 明

同 微生物学

松島敏春

同 呼吸器内科

小山淳子

神戸薬科大学分析化学

平井圭一

金沢医科大学解剖学第一

目的: *C. pneumoniae* の動脈硬化症への関与や, *C. trachomatis* による不妊など, クラミジアの慢性感染によると思われる疾患が重要視されているが, これらの疾患の予防や治療のために従来の抗クラミジア薬を長期に投与することには, 耐性菌の出現, 副作用などの点で問題が生じる可能性が高いと思われる。したがってクラミジアによる慢性疾患の予防・治療薬になり得る新たな物質をスクリーニングすることには意義がある。

我々は, 選択性抗腫瘍作用や各種抗菌作用を有するとされる南米の植物 *Tecoma ipe* Mart 由来の物質, フラノナフトキノン (FNQ) の誘導体に注目し, 今回抗クラミジア効果を *in vitro* で検討した。

方法: 培養細胞には HeLa 229, McCoy, WI 38 の各細胞を用いた。クラミジアは *C. pneumoniae* は TW-183 株, KKpn-1 株を, *C. trachomatis* は L2 株, D 株, F 株を, *C. psittaci* は Cal 10 株を用いた。フラノナフトキノン誘導体は FNQ 3 および FNQ 19 について, 日本化学療法学会標準法に準じて MIC を測定した。また電子顕微鏡による形態観察も行った。

結果・考察: FNQ 3, FNQ 19 共に 0.25~1.0 $\mu\text{g/ml}$ の低濃度で, いずれのクラミジア種に対しても完全に増殖を抑制した。HeLa 229 細胞を使用した場合に比べ, McCoy および WI 38 細胞を使用した方が MIC 値が 1/2 程度に低下する傾向を認めた。電子顕微鏡でも 18 時間の薬剤添加時点で増殖は停止し, 72 時間後も全く増殖は阻止されていた。抗クラミジア作用の機序についての詳細は現時点では不明であるが, FNQ 誘導体はクラミジア慢性感染による疾患の予防・治療薬になり得る可能性が示唆された。

159 クラミジア性産道感染予防に対する抗菌剤の短期日 (5 日) 投与の有効性について

本村龍太郎

長崎市光仁会病院

目的: 妊婦は胎児への影響を心配して, 必要な薬剤でも内服しない傾向がみられる。そこで, クラミジア (*Chlamydia trachomatis*) による産道感染防止に対する短期日投与の有効性について検討した。

方法: 1) 子宮頸管からクラミジア抗原が検出された妊婦 (クラミジア陽性妊婦: 16~33 才) 34 例を対象にした。クラミジア抗原検出は IDEIA 法と DNA プローブ (DNA) 法の併用, 又は AMPLICOR (PCR) 法単独で行なった。2) 新生児の眼結膜および鼻咽頭からのクラミジア抗原検出は, 生後 1 週間頃, Micro Trak 法と DNA 法の併用, 又は PCR 法で行なった。3) 新生児血清中の抗クラミジア抗体価は, 生後 30~45 日頃, セロイバライザ法で測定した。4) クラミジア陽性妊婦の妊娠中期~後期経過中に, Clarithromycin

(CAM) 400 mg/日, 又は josamycin (JM) 1,200 mg/日, 5 日間投与を 1 クールとした。

結果: 1) 部位別にみたクラミジア検出率は, 眼結膜 0%, 咽頭 7%, 尿道 52% および直腸 50% であった。2) 抗菌剤 1 クール投与後のクラミジア消失率は, 子宮頸管では CAM 82%, JM 61% (計 2 クール投与で消失率は 100%), 尿道では CAM 88%, JM 62% (計 2 クールで 100%) および直腸では CAM 81%, JM 60% (計 3 クールで 100%) であった。3) 新生児の眼結膜と鼻咽頭からは, クラミジアは検出されなかった。4) 新生児血清中の抗クラミジア抗体の陽性率は, IgA および IgM 抗体は 0%, IgG 抗体は 59% であった。この 59% の陽性例の母体および臍帯血清中の IgG 抗体もすべて陽性であった。

結論: クラミジア陽性妊婦の子宮頸管におけるクラミジア消失率は, 抗菌剤 1 クール投与の段階で CAM 83% (15/18) および JM 82% (10/16) であった。新生児への産道感染は認められなかった。したがって, 適切な抗菌剤の短期日 (5 日) 投与の場合, かなりの有効性が期待された。

160 *Neisseria gonorrhoeae* の薬剤感受性の検討

松本哲哉^{1,2)}・村上日奈子²⁾・鈴木九里³⁾

岩田守弘²⁾・石井良和¹⁾・馬 リン¹⁾

大野 章¹⁾・古谷信彦^{1,2)}・館田一博^{1,2)}

宮崎修一¹⁾・山口恵三^{1,2)}

¹⁾東邦大学医学部付属大森病院微生物学

²⁾同 臨床検査部

³⁾同 第一泌尿器

近年, ペニシリン耐性 *Neisseria gonorrhoeae* の出現に続き, アジア地域を中心に, フルオロキノロン耐性 *N. gonorrhoeae* の分離頻度の増加が報告されている。フルオロキノロンは淋菌性尿道炎等に対し, 治療に用いられる頻度が高く, 我が国においても耐性菌の増加を示唆する報告が見られるようになってきた。そこで今回我々は, 1994 年より 1998 年末までの過去 5 年間に東邦大学大森病院において, 96 例の淋菌性尿道炎患者の尿道分泌物, 尿, 膣分泌物から分離された 98 株の *N. gonorrhoeae* を対象に, NCCLS に準じて寒天平板希釈法でフルオロキノロンを中心に薬剤感受性の検討を行った。その結果, ciprofloxacin に対する MIC が $\geq 1 \mu\text{g/ml}$ を示す耐性株が約 1 割認められ, これらは他のフルオロキノロンに対しても交叉耐性を示した。ciprofloxacin の MIC 分布は $1 \mu\text{g/ml}$ を境に二峰性のパターンを示したことから, NCCLS におけるこの耐性の基準は妥当なものと考えられた。フルオロキノロン耐性株は, 94, 95 年には 1 株も認めなかったが, 96, 97 年と急激な増加を認めた。セフェム系, マクロライド系, テトラサイクリン系の抗菌薬に対しては, 全体的に良好な感受性を示し, β -lactamase 産生株は 98 株中 4 株しか存在しなかった。以上の結果から, 今後, フルオロキノロン耐性を含めた耐性菌の動向を注意深く観察していく必要があるものと考えられた。

161 最近の臨床分離淋菌株のペニシリン感受性の再増加

小島弘敬

日赤医療センター泌尿器科

淋菌性尿道炎 (GU) は最近増加傾向にある。淋菌は耐性獲得がはやい。1930 年代 90% に達したサルファ剤の有効性は, 1940 年代には 10% に激減した。ペニシリン (PCG) の感受性は染色体性の耐性により次第に低下し, 1940 年代

には0.03単位/ml以下であったが、1950年代には分離菌の1%以下ではあるが0.06 μ g/ml以上の分離株を生じ、さらに1960年代には50%に達した。1970年代にはプラスミド耐性によるペニシラーゼ産生淋菌 (PPNG) が世界各地で分離された。PPNGの分離率は、ペニシリンが常用されるアジア、アフリカ諸国では50%に達している。PCGの使用量が少ない日本ではPPNG分離率は5%以下とひくい。淋菌分離株のMICはテトラサイクリン (TC)、クロラムフェニコール (CP)、スペクチノマイシン (SPCM) に対して、PCGと同様に1940年代に比して1980年代には約100倍増加している。ニューキノロン系薬 (NQ薬) はGUに合併率がたかいクラミジアにも有効な薬剤が多いことから1980年代以降GUに常用されたが、NQ薬に対する淋菌MICは急増して1990年代無効症例が増加しつつある。日赤医療センターの分離淋菌株では、OFLXについては年代順のMIC増加が1997年まで認められた。分離株を1982~85年、1990~91年、1996~97年の3群に分けて検討すると、PCG、TC、SPCMについてはいずれも1990~91年群が最高のMICを示し、以下1982~85年群、1996~97年群の順となり、最近の1996~97年群のMICは1982~85年群より低下していた。PCGについてのMIC₉₀は最高値である。1990~91年群では1.2 μ g/ml、1996~97年群では0.4 μ g/mlであった。淋菌のPCG感受性の再増加は淋菌のPCGへの接触の減少によると思われる、染色体性の淋菌のPCG耐性の増加が不可逆的でないことを示すものである。病原菌である淋菌と、感染巣からも分離されるが常在菌としての広大な分布生存域をもつ大腸菌、ブドウ球菌などの抗菌剤MICの推移の相違は興味深い。

162 福岡市における薬剤耐性淋菌の推移

田中正利・原岡正志
持田 蔵・内藤誠二
九州大学泌尿器科
小林寅詰・雑賀 威

三菱化学ビーシーエル化学療法研究室

目的: 福岡市で分離された淋菌におけるニューキノロン (NQ) 系薬をはじめとする薬剤耐性株の検出率の年次推移、およびキノロン耐性機構を検討した。

材料・方法: 1981~84年分離27株、1993~94年分離151株、1995~96年分離154株、および1997~98年分離197株、合計529株の淋菌に対する各種薬剤のMIC値をアメリカ法に準じた寒天平板希釈法にて測定し、各薬剤のMIC値、NQ耐性淋菌およびペニシラーゼ産生淋菌 (PPNG) の検出率における年次推移を検討した。接種菌量は10⁶CFU/mlとした。使用薬剤はNQ系薬4剤 (NFLX, CPFX, LVFX, SPFX)、および各種系統の5剤 (PCGG, CTRX, TC, AZM, SPCM) の合計9剤であった。また、128株についてNQ系薬の標的酵素であるGyrAおよびParCのキノロン耐性決定領域におけるアミノ酸変化を検討した。

結果・考察: NQ系薬のMIC₉₀値は年々上昇し、1997~98年分離株に対するMIC₉₀値は、1981~84年分離株に対するそれより64~256倍も高い値を示した。NQ耐性淋菌 (CPFIX MIC \geq 1 μ g/ml) の検出率は、1981~84年0% (0/27)、1993~94年6.6% (10/151)、1995~96年15.6% (24/154)、および1997~98年24.4% (48/197) と年々上昇した。一方、 β -ラクタム系薬をはじめとするNQ系薬以外の薬剤に対する淋菌の感受性においては目立った変化は認められなかった。また、PPNGの検出率は年々低下し、1993~94年では7.9% (12/151)、1997~98年では2.0% (4/197) であった。このように、福岡市で分離された淋菌においてはNQ系薬に対し特異的に耐性化が進行していた。NQ系薬耐性株はGyrAに2カ所、およびParCに1または2カ所の複数のアミノ酸変化を有していた。特にGyrAにおけるSer-91 \rightarrow Phe変化は全ての耐性株が保有し、耐性獲得において重要なアミノ酸変化と考えられた。

結論: 淋菌感染症の治療においてはNQ系薬は第一選択薬として使用するべきでないと考えられた。

163 AS-924の男子淋菌性尿道炎における臨床効果

持田 蔵・田中正利・内藤誠二
九州大学泌尿器科
小林寅詰・雑賀 威
三菱化学ビーシーエル

目的: 近年、ニューキノロン耐性淋菌の蔓延により、淋菌治療におけるfirst choiceとする薬剤の再検討が必要となってきた。今回、経口用プロドラッグ型セフェロスポリン剤であるAS-924の男子淋菌性尿道炎における臨床効果ならびに抗菌力を検討した。

対象: 対象疾患は男子淋菌性尿道炎、対象総症例数40例 (21~59歳: 平均33歳)。薬効評価可能症例35例。MIC測定淋菌37株。

方法: AS-924、1回200mgを1日2回投与、3日間内服。UTI薬効評価および主治医判定を行った。MIC測定を18剤 (ニューキノロン剤、セフェム系薬剤、ペニシリンG、テトラサイクリン、スペクチノマイシン) につき行った。

結果: UTI薬効評価および主治医判定において、有効率とともに100%であり、著効を示したものは、UTI薬効評価において73%、主治医判定において78%であった。

MIC測定にて、ニューキノロン剤はセフェム系薬剤に比べ、MICのバラツキが強く、MIC₅₀およびMIC₉₀ともに高い値を示した。AS-924は、ニューキノロン剤より強い抗菌力を示し、MIC₅₀およびMIC₉₀は、MIC測定薬剤中、最も低い値を示した。ニューキノロン耐性淋菌に対してもAS-924は強い抗菌力を示した。

結論: AS-924は、淋菌治療のfirst choiceとして有用であることが示唆された。