

ペニシリン耐性肺炎球菌によるラット髄膜炎モデルの
作製 — 除菌効果と髄液内薬力学パラメーターの相関 —

塩野義製薬 (株) 創薬研究所

松田 早人、竹間 盛夫

実験感染、 β -ラクタム剤、Time above MIC、

【目的】ペニシリン耐性肺炎球菌 (*Penicillin Resistant S. pneumoniae*) の分離頻度が急増しており臨床で大きな問題となっている。特に、抗菌薬の移行性がよくない中耳炎、副鼻腔炎、化膿性髄膜炎などでは遷延化あるいは重症化する傾向にある。そこで、我々はラットを用い PRSP を起炎菌とする化膿性髄膜炎モデルの作製を試みた。また、抗菌薬での治療実験を行ない除菌効果と髄液内薬力学パラメーターの相関性についても検討を加えたので報告する。

【方法】感染はケタミン・キシラジン麻酔下のラット大槽内に菌液を接種することで惹起した。抗菌薬の髄液内移行は感染 48 時間後に検討した。髄液内除菌効果は感染 48 ならびに 55 時間後に静脈内投与し、感染 72 時間後に髄液内生菌数を測定した。抗菌薬としては CFSL, CTRX, PAMP/BP を用いた。

【結果】血清型別による髄液内増殖性は 6 型 > 23 型 > 19 型の順に強かった。強毒株 (6 型) の 10^5 接種では感染 4 日後まで髄液中に 10^6 オーダーの生菌が確認された。感染翌日には 10^5 cells/mm³ の白血球を認め、髄液内蛋白量は対血清比で 3.1% に上昇していた。病理所見でも炎症性細胞浸潤による髄膜の肥厚を認めた。使用した全ての抗菌薬で感染による髄液移行性の亢進 (4~10 倍) が認められた。この PRSP 性髄膜炎モデルに対し、CFSL (MIC: 0.78 μ g/ml) では 30 mg/kg 投与で、PAMP/BP (0.05 μ g/ml) では 10 mg/kg 投与で、髄液内生菌数を測定限界以下 (200 CFU/ml) に減少させた。CTRX (MIC: 0.39 μ g/ml) は 30 mg/kg 投与でも非投与群と有意差を認めなかった。髄液内薬力学パラメーター (Cmax, Cmax/MIC, AUC, AUC/MIC, Time above AUC, Time above AUC/MIC, Time above MIC) と除菌効果の相関性を検討した結果、トータル濃度ならびにフリー濃度ともに Time above MIC が最も良好な相関 ($r^2=0.707$, 0.763) を示した。実際に、髄液内生菌数を測定限界以下に減少させる投与量では、フリー濃度換算で CFSL で 3.4 時間、PAMP/BP で 3.6 時間におよぶ Time above MIC が認められた。

【結論】PRSP によるラット髄膜炎モデルに対して、 β -ラクタム剤は髄液内除菌効果に Time above MIC が重要であることが示唆された。

(会員外共同研究者: 渡辺 芳浩)

MRSA 血行性肺感染モデルにおける Linezolid の効果の解析

長崎大学医学部第二内科¹⁾、同中央検査部²⁾、
長崎医療技術短期大学³⁾

○ 柳原克紀¹⁾、金子幸弘¹⁾、黒木美鈴¹⁾、
大井英生¹⁾、掛屋弘¹⁾、東山康仁¹⁾、宮崎義継¹⁾
平瀉洋一²⁾、朝野和典¹⁾、門田淳一¹⁾、田代隆良³⁾、
河野茂¹⁾

【目的】Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 感染症は、院内での感染症として重要である。Vancomycin (VCM) や Teicoplanin (TEIC) は MRSA に有効な治療薬であるが、これらの抗菌薬に対しても耐性の MRSA が報告されるようになってきた。近年、これまでの抗菌薬とは異なる作用機序を有するオキサゾリジノン系抗菌薬である Linezolid が開発され、MRSA や VRE (Vancomycin-resistant enterococcus) などに対する効果が期待されている。今回、Linezolid の MRSA に対する効果を in vivo で解析するため、agar beads 法による血行性肺感染モデルを用い検討を行ったので報告する。

【材料および方法】実験動物は ddY 系、6 週令、雄、SPF マウスを用いた。菌株は臨床分離 MRSA (NUMR101 株) を用いた。血液寒天培地にて 24 時間培養後、生理食塩水に浮遊させ 10^9 cfu/ml に調製し、その菌浮遊生理食塩水と、4% Agar noble (DIFCO) とを混合し、これを攪拌中の氷水中に急速に注入することにより菌を封入した agar beads を作製した。このようにして作製した agar beads をマウスの尾静脈より接種し MRSA 血行性肺感染モデルを作成した。感染後 24 時間後より 5 日間、50mg/kg、1 日 2 回、Linezolid をマウスの腹腔内に注射した。最終治療の 12 時間後にマウスの肺を摘出し、肺内の生菌数を比較した。

【結果】無治療群および Linezolid 投与群の両者において死亡したマウスはなかった。無治療群においては 4.5 ± 0.5 log cfu/ml、Linezolid 投与群においては 1.9 ± 0.2 log cfu/ml の菌が検出され、Linezolid 投与群は有意に生菌数を減少させた。

【考察】以上より、Linezolid は MRSA 血行感染モデルにおいて明らかに菌数を減少させ、その有効性が示された。Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* に対する効果についても検討して報告する予定である。

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

岡山大学皮膚科

○山崎 修、秋山尚範、荒田次郎

【key words】ロキシシロマイシン、バイオフィルム、黄色ブドウ球菌

【目的】皮膚バイオフィルム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・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 (MSSA) 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。④in vivo model にコルヒチンを投与し併用効果を検討した。⑤シクロフォスファミドを前投与した免疫抑制マウスでの biofilm model の RXM 投与による影響を組織学的に観察した。

【結果・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。好中球の遊走を抑制させるためコルヒチンを投与すれば、併用効果は認めなかった。組織学的に RXM 投与では biofilm 内に好中球が侵入する像を認めた。RXM の抗 biofilm 作用として好中球による biofilm 貪食促進効果が重要であると思われる。

Chlamydia pneumoniae 感染マウスにおける動脈硬化促進作用と抗菌薬の治療効果

国立感染症研究所ウイルス第一部

○岸本寿男、山崎 勉

駿河台日本大学病院循環器科 大口純人、野坂忠政、
済生会下関総合病院小児科 尾内一信

【key words】*Chlamydia pneumoniae*、マウス感染モデル、動脈硬化

【目的】近年、動脈硬化症の成立と進展における病原体の関与が注目されており、特に *C.pneumoniae*(*C.pn*)の関与が濃厚に疑われている。欧米におけるマウスとウサギでの動物実験成績では、*C.pn* 感染による動脈硬化進展を認める報告が多く、さらにウサギでは抗菌薬による進展予防効果も認めたとの報告もある。しかしマウスでは成功例の報告はない。今回 *C.pn* 感染マウスを用いて動脈硬化促進作用の有無を検討し、マクロライド系薬の投与が病変進行速度を抑制するか否かを検討した。

【方法】8週齢の高脂食飼育下の Apo-E ノックアウトマウスに *C.pn* を経気道的に3回、1週おきに感染させる感染群(29匹)と非感染群(9匹)に分け、感染群をクラリスロマイシン(CAM)で感染2日後から14日間治療する群と非治療群に分けた。23週齢において大動脈の摘出標本を作成し、HE染色、脂肪染色(ズダンIV染色)および免疫組織染色を行った。大動脈の動脈硬化病変面積を顕微鏡デジタルカメラおよびコンピューター解析器を用いて計測し、各群間で病理学的に検討した。

【結果】非感染群と比較して、感染+非治療群では大動脈全表面に対する動脈硬化病変の割合が95%有意に増大した(9.1% vs 17.7%, $P < 0.0001$)。感染+治療群では感染+非治療群と比較して、大動脈の動脈硬化病変が43%減少した(17.7% vs 10.1%, $P < 0.0001$)。

【結論】以上のことから *C.pn* 経鼻感染により、ApoE ノックアウトマウスの動脈硬化が促進されること、さらにCAMの投与により、動脈硬化の抑制効果がみられることが示された。今後、他の抗菌薬でも検討予定である。

ラット急性炎症モデルを用いたホスホマイシンの
炎症修飾作用の検討

相模女子大学食物学科臨床栄養学教室

○森川 景子、野中 美津子
島根医科大学第一病理学教室

鳥井 郁子、森川 茂

ホスホマイシン、カラゲナン、炎症動物モデル、

「目的」我々はホスホマイシン (FOM) がヒトでの免疫担当細胞による cytokine の産生を抑制することによって免疫修飾作用を有することを *in vitro* の実験系で報告してきたが、今回は FOM のこの作用が *in vivo* でも発揮されるかどうかを炎症動物モデルを用いて検討した。

「方法」Wister rat の背部に air-pouch を作成し、そこに起炎剤 carageenan を注入し、carageenan 誘発 rat 急性炎症 model を作成した。FOM は saline に溶解し、1 時間前に局所に投与した。48 時間後の炎症反応の指標として air-pouch 内の滲出液量、蛋白量、細胞数を測定し、滲出液中の TNF- α 、prostaglandinE2 (PGE2)、MCP-1、MIP-2、RANTES 等の炎症伝達物質を ELISA 法にて測定した。有意差検定は unpaired T test を用いた。局所の病理組織所見についても検討した。

「結果」FOM 投与群(100mg/kg)では vehicle 投与群にくらべ、滲出液量、蛋白量、細胞数ともに有意な減少をみた ($p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.05$)。この抑制作用は抗菌作用のない光学異性体 FOM 投与群でも見られた。また滲出液中の TNF- α 、PGE2、RANTES の濃度も有意に低下していた ($p<0.0001$, $p<0.01$, $p<0.001$)が、MCP-1、MIP-2 の濃度は低下がみられなかった。投与方法では1時間前、同時、1時間後で検討したが、1時間前で最も強い抑制効果が見られた。30,100,300mg/kg の投与量ではいずれでも抑制効果が見られた。投与経路は局所、静注、腹腔内、経口で検討したが、局所での投与で最も強い抑制効果が見られた。以上の結果より、FOM の炎症修飾作用は *in vivo* の実験系でも発揮されることが判明した。

Azithromycin の THP-1 細胞に対する cytokine modulation に関する検討

福井医科大学

第二病理学 池ヶ谷論史

同第一内科 井上 仁、高木和貴、上田孝典

同輸血部 岩崎博道

【key words】azithromycin、cytokine、modulation
【目的】宿主の生体防御に関連する cytokine

modulation に対する新しい15員環マクロライド系薬剤である azithromycin の効果について明らかにするため対照として ofloxacin を用いて比較検討した。また感染成立前に薬剤を投与することによって予防投与に関する cytokine modulation についても検討した。

【方法】ヒト単球系 cell line である THP-1 細胞を一定時間病原物質 (*P.aeruginosa* lipopolysaccharide、以下 LPS) 存在下で培養し抗生物質 (azithromycin、ofloxacin) を加え、上清の cytokine (TNF- α 、IL-10、IL-12) を ELISA を用いて測定した。また抗生物質の濃度、添加する時間、添加する時期を変えた条件下で cytokine を測定し比較検討した。

【結果】THP-1 2×10^6 cell/ml を LPS $10 \mu\text{g/ml}$ で刺激すると、上清中の IL-12 45.8pg/ml (S.D.4.7) TNF- α 11.7pg/ml (S.D.1.3) と上昇した。LPS で刺激後 azithromycin を加えると dose dependent に IL-12、TNF- α の低下を認めた。また THP-1 に azithromycin を加えた後に LPS で刺激すると、IL-12 2.24pg/ml (S.D.0.27) と上昇が抑制された。ofloxacin ではほとんど modulation としての効果は認められなかった。

【考察】感染症の病態及び治療において、病原体と抗菌薬という観点のみならず、近年宿主の response という面からも検討がなされてきている。感染症、特に敗血症の際には宿主の過剰な response により cytokine storm が起こり、Systemic Inflammatory Response Syndrome となり病態悪化の主因となると考えられている。また一部の薬剤は cytokine modulator として働き病態に影響を及ぼす可能性が示唆されてきているが、その臨床的な意味合いについては未だ明らかではない。今回の我々の実験では azithromycin を添加することにより炎症性 cytokine の抑制が認められ過剰に反応する cytokine 誘導を抑制する可能性が示唆された。(第9回臨床薬理研究振興財団研究助成金の援助を受けた)

実験的肺炎におけるシプロフロキサシンの抗炎症作用に関する検討

杏林大学第一内科

○中川朋幸、河合 伸、酒寄 享、斎藤七重、太田見 宏、渡辺秀裕、小林宏行

【Key words】シプロフロキサシン、エンドトキシン、サイトカイン
 【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(CPEX)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 1×10^7 CFU/ml噴霧し未治療群をコントロールとしてCAZ投与群、CPEX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 1×10^6 cell/mlに調整しリンパ球単独群、CAZ(0.12mg/ml)添加群、CPEX(0.6mg/ml)添加群を作製、すべての群にLPS(*E.coli*由来)1 μ g/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(10ng/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)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CPEX単独投与群での増加は軽度であった。BALF中ではコントロール群は、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。②BALF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)① *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CPEXは有意にTNFを抑制した。②血清添加群では有意な変化はみられなかったが、IL-2添加群においてCPEXはIL-10を有意に増加させた。

【考案】①CPEXはエンドトキシンの菌体からの遊離を抑制しそれに伴うTNFの産生を抑制して過度の炎症を抑える働きがあると考えられた。②CPEXはリンパ球に直接作用しTNFを抑制、IL-10を増加させリンパ球産生サイトカインを抑制系に傾ける作用があることが示唆された。

Ketolideのヒト好中球機能に及ぼす影響

帝京大学医学部微生物学講座¹⁾、同内科²⁾

○斧康雄¹⁾、松本かおる¹⁾、村井圭子¹⁾、丹生茂¹⁾、村山琮明¹⁾、池田達夫¹⁾、山岡利守²⁾、島本祐子²⁾、伊藤 匡²⁾、小渋陽司²⁾、杉山 肇²⁾、宮下 琢²⁾、西谷 肇²⁾、国井 乙彦²⁾

【key words】ketolide, 好中球機能, 遊走能

【目的】新規の経口抗菌薬であるKetolide (HMR 3647)は、好中球などの食細胞内への移行性に優れ、好中球機能を修飾する可能性が示唆される。今回、好中球機能の中で、遊走能、貪食能、活性酸素産生能に及ぼす本薬の影響を*in vitro*で検討した。

【方法】活性酸素の測定は健常成人の末梢血より得た好中球浮遊液(5×10^5 cells/ml)に種々の濃度のKetolide (0.1~30 μ g/ml)を添加し、ルミノール存在下に37℃で10~60分間保温後、zymosanやPMA, fMLP (10^{-5} M)で刺激して20分間の化学発光(CL)を測定した。好中球遊走能の測定は、48穴マイクロケモタキシス・チャンバー(Neuro Probe)に好中球浮遊液 (1×10^6 cells/ml)と種々の濃度のKetolide (0.1~10 μ g/ml)を添加し、fMLP (10^{-7} M)を遊走因子として37℃で90分間、5%CO₂気圧下で反応させた。反応後、メンブランフィルターを通過した細胞を光学顕微鏡を用いて数え、5視野あたりの遊走好中球数で遊走能を評価した。好中球の貪食能は、顕微鏡下でルミスフェア粒子の貪食率で評価した。

【結果】好中球とKetolideを10分間ないし60分間接触させた後に、PMA, fMLP, zymosanで刺激しても、今回検討した濃度において、Ketolideは好中球の活性酸素産生能に影響を与えなかった。また、好中球の貪食能に対する影響もみられなかった。

一方、Ketolideは5 μ g/ml以上の濃度においてfMLPによる好中球の遊走能を濃度依存的に抑制した。

【結論】Ketolideは、ヒト好中球の貪食能や活性酸素産生能には影響を与えず、遊走能を血中濃度よりやや高い濃度で有意に抑制した。この臨床的意義は不明であるが、今後は*in vivo*での検討が必要と思われる。

抗菌薬の作用による緑膿菌多剤排出システム
の連動した発現

京都薬大・微生物
○後藤直正, 西野武志

多剤耐性、MexAB-OprM、MexXY/OprM

【目的】緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)の染色体上には少なくとも 4 種類のマルチコンポーネント型多剤排出システムがコードされ、本菌の抗菌薬交差耐性に寄与していることが知られてきた。これらの排出システムの研究過程で、MexX-MexY の発現は、基質となる抗菌薬の存在下で起こり、すでに発現している OprM と協同的に抗菌薬の排出に働くことをすでに報告した。今回、MexX-MexY の発現をより詳細に調べる実験の過程で、MexA-MexB-OprM の発現が MexX-MexY の発現と連動的に亢進することを見いだした。

【材料および方法】野生型 PAO1 株およびその MexA-MexB-OprM 欠損変異株を使用した。排出システムは、すでに報告した特異抗体を用いたイムノブロット法により検出した。また細菌の増殖は 650 nm での濁度により測定した。薬物の除去は、菌体を遠心洗浄することにより行った。

【結果および考察】エリスロマイシン(EM)、テトラサイクリン(TC)またはゲンタマイシン(GM)存在下で培養したところ、既報のように MexX-MexY の発現が起こることを観察した。培養菌体を遠心洗浄し、薬物を含まない培地で培養したところ、経時的に MexX-MexY は消失した。また、このとき、MexX-MexY の発現、さらには消失と比例して、MexA-MexB-OprM システムも高発現すること、さらに、薬物の除去によって発現量が減少することが分かった。MexX-MexY はその機能発揮に OprM の補助を必要とすることから、MexX-MexY と MexA-MexB-OprM の発現量が一過的に増加することは、緑膿菌は環境に応じて複数の多剤排出システムの発現を亢進させ、自己を効率的に防御していることや感染部位での緑膿菌の抗菌薬感受性と分離後の緑膿菌での抗菌薬に対する感受性に差が生じる可能性を示している。

(会員外共同研究者: 村田 健)

緑膿菌の抗菌薬抵抗性におよぼすストレス応答遺伝子の影響

徳島大学歯学部口腔細菌学講座

○村上圭史, 谷口和子, 小野恒子, 根本謙, 弘田克彦, 三宅洋一郎

【key words】 緑膿菌, バイオフィーム, トレランス, *rpoS*

【目的】バイオフィームを形成した細菌が多くの抗菌薬に対し著しくトレランス(抵抗性)になる事はよく知られている。また、バイオフィーム形成以前の単に固相に付着しただけの細菌においても抵抗性を示す。緑膿菌 PAO1 株では、カルバペネム系抗菌薬である biapenem に対し、浮遊菌での MBC に比べ付着菌では 128 倍高い MBC^{AD} を示した。また浮遊菌においても、定常期の細菌は、対数増殖期のそれよりも抵抗性を示し、heat shock においても抗菌薬抵抗性が上昇することが明らかになった。そこで、定常期転写開始因子である RpoS 蛋白が抗菌薬抵抗性に関与している可能性が考えられるため *rpoS* 変異株を作成しその影響について検討した。

【材料と方法】菌株として緑膿菌 PAO1 株, PAO1 株由来 Sm^r 変異株 SM7 および SM21 株, プラスミドとして pGEM, pMOB3 を使用した。抗菌薬としてβ-ラクタム系の biapenem, cefepime, cefoperazone を使用した。

【結果と考察】*rpoS* 変異株の作成については、まず PCR で増幅した *rpoS* 内部にΩ Gm^r cassette を挿入したベクターに、Mob cassette (*sacB oriT*, Cm^r) を挿入した pGW1 を作成した。次に SM21 株に mating により pGW1 を導入し、相同組み換えにより、染色体上の *rpoS::Ω Gm^r* 変異株 KMS1 を作成した。*rpoS* 変異株 KMS1 において、biapenem, cefepime, cefoperazone などの抗菌薬に対し付着菌の MIC^{AD}, MBC^{AD} は、浮遊菌との差はほとんど見られなかった。しかし、浮遊菌において biapenem 添加後、経時的に CFU を計測したところ、定常期の菌の抵抗性は低下し、対数増殖期と同程度の抵抗性しか示さなかった。また、対数増殖期の菌について 30℃と 43℃で biapenem 添加後、CFU を計測したところ、heat shock による抵抗性の上昇が見られた。以上の結果から緑膿菌における抗菌薬抵抗性には *rpoS* gene が何らかの関与をしており、さらに heat shock 遺伝子の関与も示唆された。

Hypeptin: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌のペプチドグリカン合成阻害剤

塩野義製薬(株) 創薬研究所

○巻 秀樹, 三浦 憲司, 山野 佳則

【key words】 hypeptin、MRSA、ペプチドグリカン

【目的】 細菌由来のペプチド性抗生物質 hypeptin は、MRSA、VRE を含むグラム陽性菌に抗菌力を示す。hypeptin のペプチドグリカン合成系への作用メカニズムを vancomycin と比較した。

【方法】 菌体ペプチドグリカンへの前駆体の取り込み *S. aureus* NCTC8325 株を Cell-Wall-Synthesis Medium にて 37°C で培養し、 $[^{14}\text{C}]$ N-acetylglucosamine (GlcNAc) のペプチドグリカン画分への取り込みを測定した。in vitro ペプチドグリカン合成 MRSA SRM133 株をガラスビーズで破砕し、細胞壁-膜画分及び上清画分を調製した。それらを用いて $[^{14}\text{C}]$ glycine のリピッド中間体、ペプチドグリカンへの取り込み実験を行い、TLC で分離後、Bio-Imaging Analyzer BAS2000 (Fuji Photo Film) にて検出した。

【結果】 Hypeptin は菌体ペプチドグリカンへの GlcNAc の取り込みを MIC (1.56 $\mu\text{g}/\text{ml}$) に近い濃度で阻害し、ペプチドグリカン合成系の阻害剤であることが示唆された。in vitro 実験ではリピッド中間体形成を阻害し ($\text{IC}_{50} = 6.8 \mu\text{g}/\text{ml}$)、さらに、ペプチドグリカン形成をリピッド中間体形成よりも低い濃度で阻害した ($\text{IC}_{50} = 0.8 \mu\text{g}/\text{ml}$)。一方、vancomycin はリピッド中間体形成を阻害しなかったが、ペプチドグリカン形成を阻害した ($\text{IC}_{50} = 4.1 \mu\text{g}/\text{ml}$)。リピッド中間体末端の類似体 acetyl-Lys-D-Ala-D-Ala は、vancomycin によるペプチドグリカン形成阻害を顕著に抑制したが、hypeptin のペプチドグリカン形成阻害は抑制しなかった。

【結論】 Hypeptin はペプチドグリカン合成系におけるトランスグリコシレーション及び、その前段階を阻害した。トランスグリコシレーションの阻害メカニズムは vancomycin とは異なっていた。以上が vancomycin 耐性株にも抗菌活性を示した原因と考えられた。

E. faecalis のクマリン系化合物感受性に影響を与えるキノロン耐性 GyrB 変異

大日本製薬 創薬研¹⁾、京都薬大 微生物²⁾、北里大 医 微生物³⁾

○藤本美佳¹⁾、小山田義博¹⁾、藤本孝一¹⁾、山岸純一^{1,3)}、後藤直正²⁾、井上松久³⁾

E. faecalis, SPFX, Novobiocin, GyrB, ParE

私共は、*Enterococcus faecalis* のキノロン耐性機構について研究し、今までにキノロン耐性変異として、GyrA、ParC 変異を有する株を見出している。今回、更に GyrB、ParE 変異の解析を行った結果、キノロン耐性に加え、クマリン系化合物に高感受性を示す新しい GyrB 変異を見出したので報告する。

使用菌株として、*E. faecalis* ATCC29212 (野生株) から SPFX、NFLX の三段階選択により分離した変異株 (3C および 3F) を用いた。変異株 3C の SPFX の MIC は、親株 (二段階変異株 2A) と同一の値を示したが、NFLX では 8 倍高い値であった。この変異株の Novobiocin (NB) の MIC は親株 (2A) と同一であった。3C 株では 2A 由来の変異 (GyrA; Glu88Gly) に加えて、ParE の 473 番目の Glu から Lys への変異 (Glu473Lys) が認められた。この変異にほぼ対応する変異 (Asn470Asp) が Hooper により *S. aureus* で見出されている。この変異株は NB に高感受性を示すことを報告している。変異株 3F の NFLX の MIC は、親株 (二段階変異株 2B) と同一の値を示したが、SPFX では 4 倍高い値であり、この株の NB の MIC は 16 倍低い値であった。3F 株では 2B 由来の変異 (ParC; Ser85Ile) に加えて、GyrB の 406~408 番目の 3 個のアミノ酸 (LysGlyAla) の欠失変異が認められた。この変異は、キノロンおよび NB 耐性株で今まで知られていない新しい変異であった。

今回、*E. faecalis* のキノロン耐性機構について解析する過程で、新しい GyrB 変異を見出した。この変異株は、キノロンの種類によって感受性が異なることに加えて、クマリン系化合物である NB に高感受性を示すことを明らかにした。この変異は、キノロン (DNA の切断再結合の阻害) と作用様式の異なるクマリン系化合物 (GyrB の ATP 結合部位との競合阻害) の感受性に影響することが明らかになった。この変異が生じることにより、GyrB の ATP 結合部位の空間的变化が生じているものと考えられる。

クラリスロマイシン耐性 *Helicobacter pylori* が誘導する apoptosis へのランソプラゾールの影響に対する検討

聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院

小児科¹⁾、同 消化器内科²⁾

○箕原 豊¹⁾、加藤達夫¹⁾、菅 誠²⁾

ヘリコバクターピロリ、ランソプラゾール、アポトーシス

【目的】クラリスロマイシンは、*Helicobacter pylori* 治療のキードラッグとなるものである。その一方今日では、クラリスロマイシンに対する耐性遺伝子を持つ株が多く存在することが知られている。プロトンポンプ阻害薬のひとつであるランソプラゾールは、単独で

Helicobacter pylori に対する抗菌力を持つ。今回 *in vitro* における、クラリスロマイシン耐性 *Helicobacter pylori* 誘導するアポトーシスへのランソプラゾールの影響について検討を行った。

【方法】聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院において臨床分離され、培養および耐性遺伝子の検討でクラリスロマイシン耐性と判定された *H. pylori* を使用した。実験に使用した細胞は、Kato III を使用した。*H. pylori* をランソプラゾール存在下に Kato III と 48 時間混合培養を行った。混合培養後、細胞は Cell death detection kit 及び、gel electrophoresis でアポトーシスを確認した。

【結果】ランソプラゾール添加により Kato III 細胞のアポトーシスは抑制された。

【考察】クラリスロマイシン耐性 *H. pylori* に対してランソプラゾール投与は意義のあることと考えた。

MRSA 感染症患者におけるテイコプラニン薬物動態のNONMEM解析

北里大学医学部感染症学講座

○山口 禎夫、野々山勝人、高山陽子、砂川慶介

【key words】テイコプラニン、NONMEM 解析、アルブミン補正

【はじめに】テイコプラニン（以下 TEIC）は、投与直前の血漿トラフ濃度を 10~60 μg/ml に保つ様に推奨されている。薬物動態の特徴として、ほとんどが腎より排泄され、全身クリアランスは糸球体濾過率 (GFR) と直線の相関関係を示す。また、蛋白結合率が 90% と高く、アルブミン値の変動が血漿総薬物濃度を変化させることが推察される。我々は、非線形薬物動態解析プログラム NONMEM (Nonlinear Mixed Effects Model) を用い TEIC の母集団解析を行ったので報告する。

【方法】1. 対象；北里大学病院入院中に TEIC による治療が行われた患者 34 例を対象とし検討を行った。

2. 投与方法；原則として添付文書に基づいて投与した。

3. 採血；投与 3 日目の投与直前、点滴開始後 2 時間、6 時間、投与 4 日目の投与直前、投与 7~10 日目または投与量変更後 7~10 日目の投与直前の計 5 ポイントとした。

4. TEIC 体内動態の影響因子の解析；TEIC 体内動態の変動要因の解析は NONMEM プログラムを用いた。

【結果】点滴開始後 2 時間値の血中濃度は 8.2~47.8 μg/ml、トラフ濃度は 1.72~31.9 μg/ml であった。NONMEM 解析ではいずれの解析でも 1-コンパートメントモデルよりも 2-コンパートメントモデルに適合した。TEIC 体内動態に与える影響は、血中濃度をそのまま使用した場合有意な因子を認めず、アルブミン値および蛋白結合率で血中濃度を補正したところクレアチンクリアランスが TEIC クリアランス (CL_{TEIC}) の有意な固定効果を認めた。

【考察】血中濃度から算出した CL_{TEIC} は腎機能と相関せず、アルブミン値で補正された場合に良好な回帰式を得た。これはアルブミン値の変動に伴う遊離型分率の変動が TEIC の総クリアランスに影響したと推察される。

この場合遊離型血中濃度は変化を認めず、アルブミン値低下に伴い総血中濃度が低下しても効果は変わらないと考えられ、総血中濃度の変化は、アルブミン値が正常であった時の値に補正すべきである。今後、TEIC 血中濃度モニタリングは、腎機能ばかりでなく、アルブミン値も考慮することが重要と思われた。

研究協力者：北里大学病院薬剤部

木村利美、国分秀也、島田慈彦

Cockcroft 式と Moellering のノモグラムに基づく vancomycin 投与と血中濃度への肥満度の影響

虎の門病院薬剤部

○五十嵐正博, 林昌洋

虎の門病院呼吸器科

中谷龍王, 中田紘一郎

東京薬科大学薬学部臨床薬学教室

粕谷泰次

[Key words] バンコマイシン, Cockcroft 式, BMI

【目的】 Moellering のノモグラムは、临床上使用しやすく、我々の臨床研究からもその有用性が確認されている¹⁾。しかし、その後の治療の中で、Cockcroft 式を用いたノモグラムによる過量投与が原因となった腎障害を経験した。本研究では、初期投与設計にノモグラムを用いる場合に、過量投与を防止するための留意点を明らかにすることを目的に、ノモグラムに基づき投与した時の患者個々の血中濃度と C_{cr}、肥満度を示す Body Mass Index (BMI) との相関性について検討を行った。

【方法】 初期投与量は Moellering のノモグラムを基に設定した。投与開始時に TDM の依頼があった場合には、初回投与量を 15mg/kg とし、次回投与までに投与計画を立てた。投与開始 3~4 回目の投与直前と投与 2 時間後の血中濃度を測定した。

【結果】 1995 年 4 月から 2000 年 7 月までに 30 症例に投与した投与量は 160~2000 mg/day であった。定常状態では、トラフ濃度の 83%、ピーク濃度の 31% が有効域となり、前回の報告とほぼ同様であった¹⁾。しかし、BMI が 13.4 とやせていた 1 例のトラフ濃度が中毒域に達した (23.9 μg/mL)。そこで、患者個々の平均血中濃度と BMI との相関性を検討した結果 BMI と血中濃度には負の相関 ($Y = -0.57x + 25.1$, $n = 30$, $r = 0.4972$, $p < 0.05$) が認められた。さらに BMI 15 未満の患者の C_{cr} について Cockcroft 式と実測値の比較を行った結果、BMI が 14 未満では Cockcroft 式は、実測値より大きい値を算出した。

【考察】 BMI が小さい患者では、筋肉量が少ないために Cockcroft 式では過大な C_{cr} を算出すると考えられ、BMI が 14 kg/m² 未満の場合、C_{cr} の実測値を用いて初期投与設計を行うべきであると考えられた。BMI が 14 kg/m² 以上の場合には、Cockcroft 式とノモグラムを用いることで、VCM の初期投与設計が行えると考えられた。

引用文献 1) 日化療会誌, 48(7), 545-552, 2000.

歯周ポケットおよび唾液への azithromycin 移行濃度の検討

東海大学医学部機能再建学系口腔外科学¹⁾

あさひ銀行健康管理センター歯科診療所²⁾

足利赤十字病院口腔外科³⁾

三菱化学ビーシーエル化学療法室⁴⁾

○金子明寛¹⁾、山崎浩史¹⁾、佐々木次郎¹⁾、

河野誠之²⁾、山根伸夫³⁾

松崎 薫⁴⁾、小林寅詔⁴⁾

【Key words】 azithromycin、組織移行、歯周ポケット

【目的】 第47回東日本支部総会で私達は各種抗菌剤の歯周ポケット内浸出液および抜歯創貯留液への抗菌剤移行について報告した。歯周ポケット内浸出液は cefc apene pivoxil (CFPN-PI) ND-0.91, clarithromycin (CAM) 0.43-1.23, roxithromycin (RXM) ND-0.65, sparfloxacin (SPFX) 0.6-5.28 および levofloxacin (LVFX) 0.38-3.81 μg/mL であった。このようにニューキノロン薬の移行濃度が最も優れ、次いでマクロライド剤であった。今回 15 員環マクロライド剤である azithromycin (AZM) の歯周ポケット、唾液および抜歯創の移行濃度を検討した。

【対象および方法】 あさひ銀行健康管理センター歯科診療所を受診し、歯周ポケット内浸出液および抜歯創内濃度の測定の同意を得た患者を対象とした。あらかじめ AZM 500mg を内服し唾液を直径 6mm のペーパーディスクを用い、歯周ポケット内浸出液はペリオペーパー[®]を用いて採取した。また、抜歯後に貯留した抜歯創内貯留液をペーパーディスクに採取した。冷蔵 2 時間予備拡散後 35°C 18 時間培養し bioassay 法で測定した。

【結果】 内服後 60 分から 225 分の 14 症例で検討を行った。AZM 500mg 単回投与時の移行濃度は内服後 75 分以内の 3 症例では 1 例のみ測定可能で、抜歯創貯留液 0.12 μg/mL、唾液濃度 0.48 であった。内服後 100 分以後の平均濃度は抜歯創貯留液で、0.18、歯周ポケット内浸出液濃度 0.308、唾液濃度 0.239 であった。500mg 3 日間、内服後の 1 週間目の歯周ポケット内浸出液濃度 0.308、唾液濃度 0.101 であった。すなわち、内服終了後 5 日後でも歯周ポケット浸出液および唾液で AZM の測定が可能であった。

【結論】 今回の結果から AZM は歯周組織炎に対して重要な薬剤になると考えられた。

抗菌薬の腓液中移行と胆汁中移行について

名古屋市立大学第1外科

○長谷川正光, 竹山廣光, 真辺忠夫

【key words】抗菌薬, 腓液中移行, 胆汁中移行

【背景】消化器外科領域では対象を上部消化管, 下部消化管, 及び肝胆膵に分けて術後感染発症阻止の目的で抗菌薬が選択される場合が多い。肝胆膵領域において胆汁への薬剤移行は報告が多いが腓液への移行は不明な点が多い。

【目的】我々は膵頭十二指腸切除術後に各種抗菌薬を使用し, その腓液中移行を測定し, 文献的胆汁中移行との比較検討を加えた。

【薬剤及び測定方法】SBT/CPZ(0.5g/0.5g:n = 5:HPLC), CMZ (2g:n = 4:HPLC), CTM (1g:n = 8: bio assay), CZOP (1g:n = 4:HPLC), CFSL (2g:n = 2: bio assay)。

【結果】SBTはCmax 1.15 μ g/ml, Tmax 3h, AUC 4.23 μ gh/mlであった。CPZはCmax 0.58 μ g/ml, Tmax 3h, AUC 2.89 μ gh/mlであった。CMZはCmax 2.58 μ g/ml, Tmax 2h, AUC 16.1 μ gh/mlであった。CTMはCmax 1.27 μ g/ml, Tmax 2h, AUC 4.61 μ gh/mlであった。CZOPはCmax 2.45 μ g/ml, Tmax 4h, AUC 12.8 μ gh/mlであった。CFSLはCmax 7.52 μ g/ml, Tmax 6h, AUC 45.0 μ gh/mlであった。

【考察】文献による抗菌薬1g当りの胆汁中CmaxはSBTは14.5 μ g/ml, CPZは689.25 μ g/ml, CMZは95 μ g/ml, CTMは215.2 μ g/ml, CZOPは26 μ g/ml, CFSLは10 μ g/mlであった。すなわち胆汁中移行と腓液中移行とは関連がないと考えられた。

【結語】腓液中移行と胆汁中移行に関連がないことより, 術後感染発症阻止の目的で抗菌薬を選択する場合に, どの部位でどの菌種を対象にするのか原点に戻る必要があると考えられた。感染症治療薬として選択する場合, 使用期間も長くなることが想定されるので, 上記の原則に加え, 胆汁移行性の良いものは腸内細菌叢に影響を与えやすいことを十分に認識する必要があると考えられた。

Cefazolin の滲出液中移行に関する基礎的検討

帝京大学医学部第一外科、同中央検査部*

○戸枝弘之、花谷勇治、小平 進、川上小夜子*

【key words】セフェム系薬、組織移行、投与方法

【目的】セフェム系薬の効果は、time above MICにより規定されるといわれている。そのため血中濃度を長時間にわたり維持できる点滴静注法が推奨されている。しかし感染の場である組織での薬物動態が、血中の薬物動態と平行するとは限らない。そこでわれわれはラット皮下感染モデルを用い、抗菌薬投与後の滲出液中の細菌を定量培養し、bolus 静注投与と点滴静注投与における抗菌薬の効果について検討した。

【方法】ウイスター系雄ラット 6 週齢を用い、ラットの後頸部皮下に空気 5ml を注入し、皮下ポーチを作成した。翌日、*E. coli* ATCC25922 の CMC(carboxymethyl cellulose) 懸濁液 (3×10^6 /ml) を 3ml 注入した。CMC 懸濁液注入の 1 時間後に、cefazolin (CEZ) を尾静脈より bolus 静注投与 (IV 投与) または 1 時間での点滴静注投与 (DIV 投与) を行った。経時的にポーチ内液を採取し、滲出液中の細菌を定量培養した。

【結果】CEZ 投与による各治療群 (10mg/kg IV、20mg/kg IV、10mg/kg DIV、20mg/kg DIV) の経時的なポーチ内滲出液の細菌数は、CMC 注入後 2 時間 ($1.41 \pm 1.40 \times 10^5$, $6.67 \pm 1.82 \times 10^4$, $5.42 \pm 3.39 \times 10^6$, $9.07 \pm 6.60 \times 10^6$)、4 時間 ($2.58 \pm 2.47 \times 10^4$, $1.59 \pm 0.56 \times 10^4$, $3.26 \pm 3.34 \times 10^5$, $3.32 \pm 1.26 \times 10^5$)、8 時間 ($1.45 \pm 1.84 \times 10^4$, $5.63 \pm 1.94 \times 10^3$, $1.00 \pm 1.13 \times 10^6$, $2.16 \pm 1.02 \times 10^4$)、24 時間 ($7.53 \pm 10.8 \times 10^3$, $8.36 \pm 5.46 \times 10^2$, $2.34 \pm 3.63 \times 10^7$, $1.13 \pm 1.08 \times 10^4$) であった。10mg/kg IV 群と 10mg/kg DIV 群では 24 時間を除き、DIV 群で有意にポーチ内滲出液中の細菌数が多く、20mg/kg IV 群と 20mg/kg DIV 群では、すべての時間において、DIV 群で有意に細菌数が多かった。

【結語】抗菌薬の組織移行を考慮すると、DIV 投与よりも IV 投与のほうが優れた投与方法であることが示唆された。

Gatifloxacin 及び類薬のマウスにおける光毒性

杏林製薬株式会社 研究センター

○國西芳治、小林千絵、石川哲久、益本吉廣、
草嶋久生、今井 繁

gatifloxacin、光毒性、トキシコキネティクス

[目的] GFLX とニューキノロン類薬について光毒性の強さをマウスの耳介膨潤反応を指標として検討した。また、耳介における薬物の皮膚組織移行性及び光分解について検討した。

[方法] ①光毒性評価: BALB/c 雌マウスに GFLX、CPF、LVFX、SPFX 及び LFLX を単回強制経口投与 (0.3% CMC 懸濁液、10 mL/kg) した (GFLX、CPF、LVFX: 200 及び 800 mg/kg、SPFX、LFLX: 10 及び 50 mg/kg)。投与 30 分後より UVA (3.48 mW/cm²) を 2 時間照射 (25 J/cm²) し、照射終了後 0.5、24、48、72、96、120、144 及び 168 時間に耳介厚を測定した。②トキシコキネティクス (TK): 上記と同様に投与を行い、投与後 0.5、1.5 及び 2.5 時間後における血漿中及び耳介皮膚組織内の薬物濃度を HPLC にて測定した (UVA 非照射)。③皮膚中分解の測定: 上記と同様に投与を行い、投与 30 分後より UVA (3.48 mW/cm²) を 15 分間照射 (3.13 J/cm²) し、照射終了直後における血漿中及び耳介皮膚組織内の薬物濃度を UVA 非照射時と比較した。

[結果] SPFX 及び LFLX の 50 mg/kg では耳介厚の明らかな増加が認められた。CPF の 800 mg/kg では耳介厚の軽度な増加が認められた。GFLX 及び LVFX では 800 mg/kg においても光毒性は認められなかった。血漿中及び耳介組織内濃度は投与量に比例して増加し、組織中への移行性は各薬物ともにほぼ同等であった。SPFX 及び LFLX ではいずれの投与量においても組織中での光分解が認められた。他剤については現在検討中である。

[結論] GFLX による光毒性の発現の可能性は小さいと考えられた。光毒性発現の薬物差は組織分布の差よりも薬物自体の誘発能の違いによるものと考えられ、光毒性の発現は光分解に関連することが示唆された。

会員外共同研究者 松本千香江 岡村かおり

ガチフロキサシンと非ステロイド性抗炎症薬の
中枢神経系における相互作用

杏林製薬(株)研究センター

○正田 公也、小林 千絵、大家 毅、
山西 充洋、建入 徳栄、草嶋 久生

ガチフロキサシン、NSAIDs、相互作用

[目的] ガチフロキサシン (GFLX) と非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) の中枢神経系における相互作用について、エノキサシン (ENX) を対照薬として、以下の検討を行った。

[方法] 1. マウス脳 GABA 受容体への結合阻害: マウス脳から調製したシナプス膜への ³H-muscimol の特異的結合に対する GFLX と ENX の阻害作用並びにその NSAIDs 10⁻⁴ M 共存下における増強作用を検討した。2. マウス痙攣誘発実験: GFLX 又は ENX をフェンブフェン (FEB)、ジクロフェナク・Na (DIC) 及びロキソプロフェン・Na (LOX) と共に経口投与し、痙攣誘発の有無を観察した。3. ラット脳波に対する影響: GFLX 又は ENX を FEB、DIC 及び LOX と共に経口投与し、皮質脳波に対する影響を検討した。2 又は 3 の試験では、併せて血漿中薬物濃度を測定した。

[結果] 1. ENX と GFLX は共に、³H-muscimol の特異的結合を濃度依存的に阻害した。4-BPA の共存により、それらの IC₅₀ 値は ENX で約 5400 倍、GFLX で約 28 倍、低濃度側に移動した。2. DIC 及び LOX の共存は、ENX 及び GFLX の阻害作用に影響しなかった。ENX と FEB の併用により、用量依存的な痙攣誘発が認められた。一方、GFLX と FEB の併用では痙攣は発現しなかった。ENX 又は GFLX と DIC 又は LOX の併用では痙攣誘発は認められなかった。

3. GFLX は単独もしくは NSAIDs との併用時にもラット脳波に影響を与えなかった。ENX は FEB との併用により異常速波、棘波並びに発作波が観察された。2 又は 3 の試験における各薬物の血漿中濃度は、臨床用量における血漿中濃度に比べ明らかな高値を示した。

以上の結果から、臨床における用法用量で GFLX とこれら NSAIDs の間に相互作用の生じる可能性は少ないものと考えられた。

当院における高齢者へのグリコペプチド薬使用
状況と副作用調査 — 腎障害を中心として

東京都老人医療センター感染症科
○川田真幹, 鈴木里和, 増田義重, 稲松孝思

【key words】高齢者, グリコペプチド薬, 腎障害

【目的】グリコペプチドにも様々な副作用報告を認めるがなかでも腎障害は重要で, 腎機能低下患者では特に, その用法に注意する必要がある. 高齢者では生理的に腎機能が低下しているため, 若年成人に比し低用量にするのが一般的であるが, 重症感染例では効果不十分な場合もあり, 投薬量増量の可能性について検討した.

【方法】H12年6月からの半年間に当院でグリコペプチドを経静脈的投与された60歳以上の全症例を対象とし, その投薬量・期間, 副作用出現状況を調査した. また投薬前後でクレアチニンクリアランス, 尿中 β 2ミクログロブリン・NAG等を測定し腎機能を追跡し得た症例について, 投薬量(薬物血中濃度)と治療効果, 腎障害の関係を検討した.

【結果】①バンコマイシンを投与されたのは52例(男28例, 女24例, 64・93歳, 平均年齢77.6歳). 若年者と同等に1日2g投与されたのは3例(6%)に過ぎず, うち2例で薬物最低血中濃度が $40\mu\text{g/ml}$ を超えた. 副作用で投薬を中止したのは6例であった(2例:肝障害, 2例:皮疹, 1例:白血球減少, 1例:腎障害). ②テイコブランを投与されたのは17例(男9例, 女8例, 61・96歳, 平均年齢77.6例). 若年者と同等に1日400mg投与されたのは1例(6%)のみ. 副作用で投薬中止したのは皮疹による1例のみであった. ③グリコペプチドを低用量で1~2週投与された14例で, 尿中 β 2ミクログロブリン・NAGの上昇は顕著でなく, 逆に低下する例も多くみられた. ④脳室心房シャント術後MRSE髄膜炎・敗血症を合併した症例で, バンコマイシン最低血中濃度を $30\mu\text{g/ml}$ まで上昇させ初めて解熱. その後腎障害が進行し, テイコブランに変更. 最低血中濃度 $50\mu\text{g/ml}$ と高用量ながら腎障害は改善し, 最終的に感染コントロールも良好となった.

【考察】高齢者へのグリコペプチド投与では若年者に比し低用量にする必要があるが, 重症感染例では腎機能に留意しバンコマイシンとテイコブランを使い分けることにより, 従来より高い血中濃度で治療しうることが示唆された

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 — 薬物相互作用の弱い非ステ
ロイド薬は存在するか? —

東京慈恵会医科大学薬理学第1

○堀 誠治, 川村将弘

【key words】キノロン薬, 非ステロイド薬, 痙攣

【目的】キノロン薬が潜在的に痙攣誘発作用を有し, 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はよく知られている. その結果, キノロン薬と非ステロイド薬との併用は, 禁忌ないし注意となっているものが多い. 非ステロイド薬のキノロン薬との薬物相互作用(痙攣誘発作用の増強効果)の程度および相互作用の弱い非ステロイド薬の存在の可能性を明らかにするために, マウスにおける痙攣誘発作用を指標としてキノロン薬・非ステロイド薬の相互作用を検討した.

【方法】キノロン薬として, ノルフロキサシンおよびガチフロキサシンをそれぞれ単独または非ステロイド薬と同時にマウス側脳室内に投与し, 痙攣誘発の有無を観察した.

【結果および考察】ノルフロキサシン, ガチフロキサシンは投与量依存的に痙攣を誘発した. その痙攣誘発作用は, ガチフロキサシンの方が弱かった. ノルフロキサシンの痙攣誘発作用は, フルルビプロフェン, ビフェニル酢酸の同時投与により強く増強され, ケトプロフェン, インドメタシン, ロキソプロフェンでは中等度に増強されたが, イブプロフェン, テノキシカム, ナプロキセン, ジクロフェナック, アスピリン, メフェナム酸では増強効果は認められなかった. 一方, ガチフロキサシンの痙攣誘発作用は, インドメタシンで中等度増強されたが, 他の非ステロイド薬では増強作用は認められなかった.

以上の成績から, キノロン薬と非ステロイド薬の薬物相互作用は, 両系薬の組み合わせによりその程度に差のあることが明らかとなった. 非ステロイド薬では, メフェナム酸, アスピリン, テノキシカム, ジクロフェナックなどで薬物相互作用が殆ど認められないことが明らかとなった. また, ガチフロキサシンは, 非ステロイド薬との薬物相互作用を受けにくい薬物であることが示唆された.

トスフロキサシンのQT間隔に及ぼす影響に関する検討

川崎医科大学呼吸器内科

○吉田耕一郎、二木芳人、三村公洋、渡辺信介、宮下修行、中島正光、松島敏春

【Key words】トスフロキサシン、QT間隔、呼吸器感染症

【目的】トスフロキサシン(TFLX)はわが国で開発されたフルオロキノロン薬で、従来その弱点とされていた肺炎球菌に対しても優れた活性を有することから、日常診療では呼吸器感染症治療薬として用いられることも少なくない。欧米で臨床応用されている他の一部フルオロキノロン薬にはQT間隔を延長させる作用が認められることは既に報告がある。TFLXはわが国で頻用されている抗菌薬であるが、QT間隔に及ぼす影響に関する報告はないので、今回、TFLXがQT間隔に及ぼす影響に関して検討した。

【対象と方法】2000年5月から2001年1月までに川崎医科大学附属病院呼吸器内科外来で呼吸器感染症に対してTFLXを用いて治療した患者の内、治療前後に心電図検査を施行した13例を対象とした。症例毎にTFLX投与前後の心電図から修正QT間隔(QTc)を算出して比較した。

【結果】対象症例は男性8例、女性5例、年齢20歳-82歳(52.3±22.4歳)であった。基礎疾患の内訳は慢性呼吸器疾患5例、気管支喘息3例、肝血管腫1例、大腸癌(術後)1例であった。3例には基礎疾患を認めなかった。心疾患を基礎に有する症例はなかった。TFLX投与の対象疾患は下気道感染症12例、肺炎1例であった。TFLX投与前のQTcは0.391±0.23であり、投与後のQTcは0.403±0.01であった。検討症例には正常のQTcを上回ったものはなく、統計学的有意差も認めなかった。

【考察】TFLXはQT間隔に影響を及ぼさず、比較的安全に投与可能と考えられた。しかし、今回の検討は症例数が少ないため、今後さらに症例を蓄積して他剤との併用や、心疾患を基礎に有する患者での検討も必要である。

抗菌薬感受性検査の精度に関する国際調査

第2報

国際抗菌薬感受性精度管理研究会

群馬大学医学部保健学科

○佐竹幸子

【key words】抗菌薬感受性検査、精度保証、*Streptococcus pneumoniae*

【目的】抗菌薬感受性検査成績の質を向上させることは、抗菌薬感受性情報の質を保証する上でも重要である。世界保健機関(WHO)は未知菌株を用いた精度保証(外部精度管理)を米国疾病対策センター(CDC)と共同で開始した。本研究会はこの事業に1997年より参加し、現在に至っている。

【方法】CDCあるいはWHOより分与された菌株を参加施設に送付し、NCCLSの判定基準を採用している施設における*Streptococcus pneumoniae*の結果を解析した。

【結果】ペニシリン耐性肺炎球菌のスクリーニングテストにoxacillin(MPIPC)1μgディスクを使用する場合、阻止円直径が19mm以下の時はpenicillin(PCG)のMICから判定することが勧められている。

S. pneumoniae WHO4はPCGのMICが0.06μg/mlでペニシリン感受性である。しかし、MPIPCディスクの阻止円直径は15mmであり、ディスク法の結果のみで判定できない。本菌株を第1回、2回、5回調査時に配布したが、MPIPCディスクの結果から耐性と判定した施設は23施設、14施設、5施設と減少していった。一方、PCGのMICを測定する施設の割合は調査の度に増加し、3年間で41%から88%になった。

第3回調査時に配布した*S. pneumoniae* WHO7はPCGに高度耐性で、cefotaxime(CTX)にも耐性を示す株である。CTXの判定基準が設定されていないディスク法で実施した4施設は、全て誤った結果を報告していた。第3回調査時より事務局から参加施設に検査薬剤の選択に関するコメントを付けて報告した。その結果、*S. pneumoniae*に対してNCCLSの判定基準がないampicillin, cefazolin, cefaclorの検査を実施している施設が、それぞれ31施設、23施設、16施設から12施設、12施設、7施設に減少した。

【考察】本調査結果から検査薬剤選択の重要性や各検査法の限界などが再確認された。

臨床分離 *Helicobacter pylori* に対する寒天平板希釈法および Etest による MIC と breakpoint について

1)三菱化学ピーシーエル 化学療法研究室

2)大分医科大学第二内科

3)北里大学医学部微生物学教室

○小林寅詰¹⁾、村岡宏江¹⁾、長谷川美幸¹⁾、
内野卯津樹¹⁾、佐藤弓枝¹⁾、那須 勝²⁾、井上松久³⁾

H. pylori, Etest, breakpoint

昨年1月 NCCLS は、*H. pylori* に対する clarithromycin (CAM) の breakpoint を制定し、同ガイドライン M100-S10 に掲載した。その後、我が国においても本学会で CAM および amoxicillin (AMPC) の breakpoint の断案を示した。これらの breakpoint に対して MIC 値が 2~4 倍変動すると、その判定結果に大きく影響する可能性がある。また *H. pylori* に対する MIC 測定において培養環境によってその値は変動することが知られ、厳密な条件下で行う必要があると言われている。

一方、*H. pylori* の MIC 測定法には NCCLS が定める寒天平板法以外に Etest 等があり、欧米諸国からの報告も多く、我が国においても利用されている。

今回我々は臨床分離 *H. pylori* 多数株を用いて、本学会の寒天平板法および Etest によって MIC を測定し、比較検討を行い、得られた MIC 値より求めた breakpoint について検討した。

試験菌株として臨床分離 *H. pylori* 302 株を用い CAM および AMPC の MIC を前述 2 法で測定した。

その結果、寒天平板法による CAM の MIC_{50, 80, 90} は 0.06, 0.12, 0.25 μg/mL に対して Etest はそれぞれ 2 倍 (1 管) 低い値であった。AMPC も同様に Etest が 2 倍低い値となった。Breakpoint の比較では全般的に両法ともによく一致したが、寒天平板法に対する CAM の VME (偽感性) は 2 例、ME (偽耐性) は 1 例認められた。AMPC の breakpoint において寒天平板法による感性 (S) 率は 88% (265 株) に対して Etest では 98% (297 株) と差が見られた。

以上の結果から *H. pylori* に対する Etest による MIC 値は寒天平板法より低くなる傾向が認められ、breakpoint 濃度付近に感受性分布が集中する AMPC に影響が見られた。これらの要因について検討を加え報告する。

セフォゾプララン耐性 (第三世代経口セフェム薬耐性) 淋菌 (CZRNG) の検出法に関する検討

(株) キューリン¹⁾、産業医科大学泌尿器科²⁾

○小林とも子¹⁾、村谷哲郎²⁾、稲富久人²⁾、

山田陽司²⁾、高橋康一²⁾、松本哲朗²⁾

【Key words】 淋菌, 第三世代セフェム, 検出法

【目的】我々は経口セフェム (CFDN, CFTM, CFPN, CDTR) 無効症例を経験し、それらは耐性株であったことを報告した。この耐性株は、MIC を測定すれば検出可能であるが、淋菌の感受性測定まで行っている施設は少ない。そこで、これらの耐性菌を簡便に検出する方法について検討したので報告する。

【方法】北九州市および近隣地区より、1999 年以降に分離された淋菌 230 株を使用した。薬剤感受性の測定は NCCLS に準じて行った。

【結果】β-lactam 30 薬剤を用いて感受性を測定したところ CFDN と CZOP は明確な 2 峰性感受性分布を示し、特に CZOP は、0.5 μg/ml 以下と 8 μg/ml 以上に分かれた。この CZOP 耐性淋菌 (CZRNG) はすべて CFDN, CPDX などの第三世代経口セフェムと AZT に耐性を示し、CZOP 感受性株の中にはこれらの薬剤に耐性を示す株は存在しなかった。CZOP 感受性の株の中で最も MIC の高い 0.5 μg/ml を示した 10 株と CZRNG 10 株を用いて、ディスク拡散法にて検討したところ、GC agar では感受性株は 35mm 以上、CZRNG では 28mm 以下と明らかな差が認められた。

【考察】淋菌に使用する経口剤としては、ペニシリン第三世代セフェムおよびキノロンがあり、まれにミノサイクリンを使用するというのが現状と思われる。そこで我々はルーチンの淋菌感受性測定として、90mm シャーレに PCG, CZOP, LVFX, MINO のディスクを使用し、選択薬剤に関する情報を与えている。CZRNG については寒天平板希釈法による MIC 測定とディスク法の矛盾は現在のところ認められていない。阻止円の境界値についてはさらに検討株数の追加および複数の施設を含めた検討を要するが、実際に使用可能な数値である。また GC agar をルーチンで使用していない施設が大半であることを考慮し、チョコレート寒天培地でも同様な検討を行ったところ、阻止円は縮小するが、基準を明確にすれば使用可能であると考えられた。

Q熱呼吸器感染症のサーベイランスにより見いだされた急性Q症例の臨床像解析

東北大学加齢医学研究所呼吸器腫瘍研究分野
○高橋 洋、五味和紀、菊地 暢、藤村 茂、
小林隆夫、徳江 豊、渡辺 彰、貫和敏博
急性Q熱、臨床像、感染経路

(目的)

私達は宮城県内におけるQ熱呼吸器感染症のサーベイランスをすすめており、第一期、第二期における収集症例に関する基本的な解析結果は一昨年度および昨年度の日本化学療法学会総会でそれぞれ報告した。今回は各々の検討および症例の追跡調査から見いだされた急性Q熱症例計11例に関して、病型、臨床症状、各種検査所見、発症時の状況、推定感染経路、合併症や後遺症の有無などに着目して整理解析のうえ報告する。

(方法)

第一期および第二期、合計400症例に関して血清IFA抗体価およびPCR法により急性Q熱症例の検索を試みた。見いだされた確定症例および疑診症例に関しては可能な限り追跡調査、背景調査を施行して感染経路、後遺症の有無などの解析も試みた。

(結果)

急性Q熱11症例の内訳は肺炎6例(6/120=5.0%)、気管支炎3例(3/131=2.3%)、上気道炎2例(2/149=1.3%)であった。臨床像は高熱、全身倦怠感、一過性肝障害など欧米の報告と概ね合致していたが、都市部近郊における散発型の発症例が大多数を占めた点は特徴的であった。肺炎例の画像所見は多様であり、画像のみから急性Q熱を判別するのは比較的困難と考えられた。急性期合併症としては呼吸不全、DIC併発例が1例みられたものの最終的な予後は全例とも良好であり、慢性Q熱への移行例は見いだされなかった。発症前における動物との接触機会は全例において確認されたが、イヌおよびネコがそのうちの大部分を占めていた。

本邦においては急性Q熱はペット類を介しての都市部主体の散発型感染症としての広がりを示している可能性が強く示唆された。

タイ国北部地域におけるペニシリン耐性肺炎球菌の現状と血清型別についての検討

長崎大学熱帯医学研究所内科：○渡辺 浩、
渡辺貴和雄、大石和徳、永武 毅
杏林病院内科：小林 忍

【Key words】 ペニシリン耐性肺炎球菌、PRSP、タイ国北部地域

【目的】 タイ国北部地域におけるペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) の状況を明らかにする目的で以下の検討を行った。

【対象と方法】 チェンマイ大学医学部附属病院で喀痰、血液、鼻腔等種々の検体より分離された肺炎球菌93株についてMIC (寒天平板希釈法：NCCLSのガイドラインに準じて)を測定し、血清型についても検討した。

【結果】 肺炎球菌93株のうち29株はPCGのMICが0.06 $\mu\text{g/ml}$ 以下のペニシリン感受性菌 (PSSP)、24株は0.1~1.0 $\mu\text{g/ml}$ のペニシリン中等度耐性菌 (PISP)、40株は2.0 $\mu\text{g/ml}$ 以上のペニシリン耐性菌 (PRSP)であった。またABPCのMIC₅₀、MIC₉₀値 ($\mu\text{g/ml}$)は、それぞれ2, 8であり、CCLは64, >128、CTMは1, 4、CAZは8, 32、IPMは0.125, 0.25、MINOは4, 16、EMは0.5, >128、CLDMは0.063, >128、LVFXは1, 2、VCMは0.25, 0.5であった。血清型は、PSSPでは6A, 11Aが4株、19Aが3株、1, 3, 5, 13, 19Fが2株、4, 15A, 16F, 18B, 18C, 23B, 23F, 28Aがそれぞれ1株と多種多様であったが、PISPでは23Fが7株と多く、以下6Bが3株、14, 19A, non-typableが2株、3, 6A, 9L, 13, 16F, 19B, 19F, 35Aが1株だった。またPRSPでは19Fが17株、6Bが10株、23Fが9株、3, 9L, 29, non-typableが1株と偏りがみられた。

【結論】 タイ国北部地域でもPRSPは高頻度に認められ、カルバペネム系やグリコペプチド系等一部の薬剤を除いて多剤耐性傾向が確認された。今後今回のMIC成績を基にした治療の見直しや、AIDS症例などのハイリスク患者においては23価ワクチンの検討が望まれる。

(共同研究者) W.Kositsakulchai, K. Kunsuikmengrai, T. Sanchai, S. Kahintapong, T. Sirisanthana, B. Khantawa, P. Tharavichitkul

救急外来における市中肺炎治療に関する検討

杏林大学第一内科

○尾地 優、小林 治、中川 朋幸、
河合 伸、小林 宏行

【key words】救急外来、市中肺炎、抗菌化学療法

目的：近年市中肺炎治療ガイドラインの制定など肺炎に対する抗菌化学療法の適正使用が重要視されている。そこで今回、特に救急外来を受診した市中肺炎について、初期抗菌療法の実態とその妥当性について検討した。

方法：過去2年間に当院救急外来に受診した市中肺炎患者約200例について、患者背景、原因微生物、重症度および使用抗菌剤等について分析した。

結果：患者背景として男性56%、女性44%、平均年齢は72歳であった。また基礎疾患を有する症例は80%、基礎疾患を有しない症例は20%であり、基礎疾患保有例が多数を占めた。これら基礎疾患としては、糖尿病、腎不全、心不全などが多いのが特徴であった。重症度では、軽症10%、中等症45%、重症45%と中等症以上の症例が大多数であった。これら症例に対する初期抗菌療法は、軽症例ではペニシリン44%、第二世代セフェム22%、中等症では第二世代セフェム29%、ペニシリン23%、重症ではカルバペネム34%、ペニシリン25%であったが、これらにミノマイシンあるいはクリンダマイシンの併用例が多くみられた。

結論：1) 当院救急外来における市中肺炎の特徴として基礎疾患保有頻度が高かった。

2) また起炎菌としては、*S.aureus*、

H.influenzae、*M.pneumoniae*、*K.pneumoniae*の検出率が高く、*S.pneumoniae*は比較的低い検出率であった。また一部であるがMRSAが検出された症例がみられた。

3) 重症度は、中等症以上の重症例が多く、抗菌剤使用の分析では、おおむねガイドラインにそくした結果であった。

以上より救急外来では基礎疾患を有する中等症以上の肺炎が多く初期治療として*S.aureus*や

*K.pneumoniae*を考慮した抗菌療法が必要と考えられた。

埼玉医科大学付属病院における呼吸器分離菌の解析

埼玉医科大学中央検査部

○岸 悦子、橋北義一、河村 亨、高橋 俊、
板橋 明

埼玉医科大学第一内科

山口敏行、前崎繁文、山崎 勉、別所正美

【key words】MRSA、PISP/PRSP、MDRP

【目的】埼玉医科大学付属病院（ベッド数1483床）における呼吸器検体からの分離菌について、菌種、年次推移、および各種薬剤耐性菌について解析した。

【材料と方法】1997年から2000年の4年間に当院において呼吸器検体（喀痰、咽頭ぬぐい液など）から分離された菌を対象とした。微量液体希釈法にて薬剤感受性を測定し、ABK耐性MRSA、PISP/PRSP、ABPC耐性*H.influenzae*、多剤耐性*P.aeruginosa* (MDRP)などの検討も行った。

【結果と考察】呼吸器分離菌の総株数は1997年が3516株、1998年が4046株、1999年が3904株、2000年が3950株とほぼ一定していた。4年間においてグラム陽性菌で最も多く検出されたのはMRSAでグラム陽性菌の36.5%を占めた。次に*C.albicans* 15.9%、MSSA 15.5%、CNS 8.5%、*E.faecalis* 6.4%と続いた。グラム陰性菌では*P.aeruginosa* 28.4%、*H.influenzae* 10.0%、*K.pneumoniae* 8.7%、*S.maltophilia* 7.9%、*S.marcescens* 7.3%と続いた。耐性菌ではPRSPは分離されずPISPが*S.pneumoniae*の15.5%、ABPC耐性*H.influenzae*が*H.influenzae*の14.9%、MDRPが*P.aeruginosa*の6.0%、ABK耐性MRSAがMRSAの0.5%を占めた。4年間に大きな増減は認められなかった。各薬剤耐性菌に対する有効な抗菌薬についての検討も報告する予定である。

尿路感染症分離菌に対する抗菌薬の抗菌力比較

岡山大学 ○公文裕巳、門田晃一
 札幌医科大学 熊本悦明、塚本泰司
 北海道社会保険中央病院 広瀬崇興
 福島県立医科大学 荻原雅彦、石橋 啓
 茂田士郎、吉田 浩、今福裕司
 慶應義塾大学 村井 勝
 渡辺清明、小林芳夫、内田 博
 順天堂大学 藤目 真、藤田和彦
 猪狩 淳、小栗豊子
 江東病院 松田静治
 東邦大学 山口恵三、松本哲哉、榎谷総子
 京都第二赤十字病院 大江 宏、西川美年子
 国立大阪病院 岡 聖次、高野右嗣
 長崎大学 河野 茂、宮崎義継
 山口敏行、餅田親子

【key words】尿路感染症分離菌、抗菌薬、感受性

【目的】われわれは1979年以来全国の施設と共同で尿路感染症分離菌を収集し、それらの各種抗菌薬に対する感受性、患者背景を経年的に調査してきた。本年度も、それらの患者背景及び各種抗菌薬に対する感受性について調査した。

【方法】患者背景については尿路感染症を単純性尿路感染症、カテーテル非留置複雑性尿路感染症、カテーテル留置複雑性尿路感染症の三群に区分し、分離菌種と性別、年齢との関係などについて検討した。

また、感受性の経年的な推移についても検討を加えた。感受性測定薬剤はPCs 3剤、CEPs 18剤、AGs 4剤、NQs 3剤他計32剤で菌種に応じ薬剤を選択した。MICは日本化学療法学会標準法（微量液体希釈法）により順天堂大学臨床検査部において一括して測定した。

【結果】今回も2000年9月から12月迄の間に尿路感染症と診断された患者から488株が収集された。内訳は、グラム陰性菌が351株（71.9%）、グラム陽性菌が137株（28.1%）であった。

グラム陰性菌で*E. coli*が147株（30.1%）と最も多く、次いで*P. aeruginosa*が64株（13.1%）であった。

また、グラム陽性菌では*Enterococcus spp.*が65株（13.3%）と最も多く、次いで*S. aureus*が33株（6.8%）であった。これは99年度調査とほぼ同様な傾向を示した。

2000年の尿路感染症分離菌と薬剤感受性

鹿児島大学泌尿器科

○川原元司・常盤光弘・速見浩士・北川敏博
 江田晋一・後藤俊弘・中川昌之

【key words】尿路分離菌 菌種別頻度 薬剤感受性

【目的】尿路感染症分離菌の菌種別頻度と薬剤感受性を検討し、年次的な傾向を把握して抗菌薬の選択や院内感染対策の資料とする。

【方法】2000年1月から12月に当科で経験した尿路感染症131例から分離した 10^4 cfu/ml以上の株を対象とした。同一菌種の株が繰り返して分離された症例では原則として初回の株のみを採用した。薬剤感受性は微量液体希釈法を用いて、これまでに83株で検討した。

【結果】単純性尿路感染症は急性単純性膀胱炎7例で、*E. coli* 6株、*P. vulgaris* 1株であった。複雑性尿路感染症124例からは182株（入院53株、外来129株）が集計された。ブドウ球菌属23株（12.6%）では*S. aureus* 15株（8.2）が最も多く、MRSAは11株であった。腸球菌属は30株（16.5）で、*E. faecalis*が最も多く25株（13.7）であった。グラム陰性桿菌では*E. coli*が50株（27.5）で最も多く、*Enterobacter spp.* 15株（8.2）、*Serratia* 8株（4.4）、*Proteus* 8株（4.4）と続いた。*P. aeruginosa*は21株（11.5）、その他のGNF-GNRは16株（8.8）であった。薬剤耐性菌の中でIPM耐性（MIC：>8）のグラム陰性菌は4株で、*S. marcescens* 2株、*S. maltophilia*と*A. xylosoxidans*が各1株であった。

【結論】分離頻度の検討では*Serratia*と*Enterobacter*は増加の傾向にあった。当科ではメタロβ-ラクタマーゼ産生*S. marcescens*による院内感染を1999年に経験しており、継続的に監視していく必要がある。

（非学会員協力者：細菌検査室・宮之原弘晃）

女子急性単純性膀胱炎起炎菌の経口抗菌剤に対する感受性

岐阜大学泌尿器科

○石原 哲、安田 満、仲野正博、横井繁明、西野好則、江原英俊、高橋義人、出口 隆

「Key words」女子急性単純性膀胱炎、MIC、大腸菌

「目的」女子急性単純性膀胱炎(AUC)は治療によく反応するため起炎菌の薬剤感受性を測定することが少ない。我々は1992年より4年ごとにAUC由来株を集積し感受性を測定しているが、今回、2000年分の成績をまとめたので報告する。

「方法」2000年に当科および関連施設泌尿器科で分離されたAUC起炎菌196株の経口抗菌剤(開発中の薬剤を含む)に対する感受性を本学会標準法による寒天平板法によりMICとして測定した。測定対象はABPC、SBTPC、CCL、CFDN、CFPN、CDTR、NA、NFLX、LVFX、CPFX、GFLX、STFXの12薬剤である。このうち9薬剤については1992年、1996年分離株の感受性と比較した。

「結果」分離された菌種は頻度の高かった順に*E. coli* 145株、*S. saprophyticus* 9株、*S. epidermidis* 8株、*E. faecalis* 5株などであった。*E. coli*でのMIC₉₀はABPCから順に100以上、25、3.13、0.39、0.78、0.39、6.25、0.39、0.1、0.05、0.1、0.05 μg/mlであった。セフェム系薬剤ではCCLなどで少数の耐性株を認めたが、フルオロキノロン系薬剤では耐性株はほとんど見られなかった。*E. coli*の感受性では大きな経年変化はなかった。

「結論」ABPC耐性*E. coli*を除けば、2000年に分離されたAUC由来株に対しても繁用抗菌剤は概ね優れた抗菌力を示していた。

尿管留置ステント表面付着菌と尿中分離菌の比較検討

神戸大学医学部泌尿器科、同保健学科*

○吉行一馬、酒井 豊、長久裕史、川端 岳、片岡陳正*、荒川創一、守殿貞夫

【key words】尿管留置ステント、表面付着菌、尿中分離菌

【目的】尿管留置ステント表面にコロライズしている細菌と尿中分離菌との関係を検討するため長期尿管留置後のW-Jステントのカテテル先端(カテ先)と膀胱尿の培養結果を比較した。

【方法】2000年5月から10月まで当科にて尿管留置W-Jステントの交換を行った患者22名から採取回収した膀胱尿および24本のW-Jステントの上端と下端を培養(カテ先培養はsonication後の洗浄液を用いた)し、各々から分離された細菌の種類および菌数を同定した。

【結果】ステントの留置期間は≤4週が2例、4~8週が6例、8~12週が7例、>12週が7例であった。基礎疾患は尿管狭窄5例、尿管結石3例、水腎症2例、尿管腫瘍1例、他科疾患11例であった。

尿またはカテ先培養にて分離された菌種は、7種類で菌数が10⁴未満の群では*S. aureus* 7例、*S. haemolyticus* 2例、*E. coli*、*E. faecalis*、*P. aeruginosa*、*Staph. sciuri*が各1例、10⁴以上の群では、*E. coli*、*E. faecalis*が各3例、*S. aureus* 2例、*S. epidermidis* 1例であった。また、複数菌を検出したものが2例でどちらも*E. coli*と*S. aureus*の組み合わせであった。尿培養が陽性かつ少なくともどちらか一方のカテ先培養が陽性であった例で、異なった菌種が同定された例は認めなかった。なお、尿・両側カテ先培養ともに陰性であったものが2例であった。菌種別に見ると、*S. aureus*はコロライゼーション例が多く、*E. coli*、*E. faecalis*は尿路感染を併発する例が多い傾向にあった。これらステント留置例における抗菌薬予防投与についても考察を加えた。

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

岡山大学医学部泌尿器科

○二ノ宮祐子, 光畑律子, 石井亜矢乃, 門田晃一, 狩山玲子, 津川昌也, 公文裕巳

【key words】 β -lactamase, 単純性尿路感染症, 複雑性尿路感染症

【目的および対象・方法】1991年から2000年までの10年間に当科で分離同定された尿路感染症分離菌とその薬剤感受性, 及び β -lactamase産生能の年次推移を検討した。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, β -lactamase産生能はdisc法を用いて判定した。また, 当科病棟で使用された抗菌剤の使用量についても検討を加えた。

【結果および考察】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, グラム陽性菌が90年代前半には20~30%だったのに対して90年代後半には40%前後と増加傾向を認め, 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50~70%前後であったが, 94年から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。また, ペニシリンGdisc陽性率はほぼ横ばいであった。入院患者に対する抗菌薬使用量の年次推移では, 抗菌薬の総使用量は減少傾向にあり, 特に第3世代セフェム剤の減少が顕著であった。グラム陰性桿菌では, 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た。特にセフェム剤の使用量とセファゾリンdisc陽性率との間に相関を認め, その結果として, セファゾリンdisc陽性率の減少傾向を認めた。

福岡市における薬剤耐性淋菌の推移

九州大学 泌尿器科

○田中正利, 津江裕昭, 持田蔵, 内藤誠二

三菱化学ピーシーエル化学療法

小林寅吉吉, 雑賀威, 金山明子

【Key words】淋菌, 薬剤耐性, 推移

【目的】福岡市における1993年から1999年までの各種薬剤耐性淋菌分離状況について検討した。【材料・方法】1993~99年に福岡市で分離された748株の淋菌を対象とした。MIC測定はアメリカ法(NCCLS)に準じた寒天平板希釈法で行い, 接種菌量は 10^6 CFU/mlとした。 β -ラクタマーゼ産生能はアシドメトリー法またはニトロセフィン法で測定した。各種薬剤耐性淋菌の判定はKnappらの報告に準じて行った。【結果】キノロン耐性淋菌(CPFX MIC ≥ 1 μ g/ml)の分離頻度は, 1993~94年の6.6%から急増し, 1999年では22.8%であった。PPNG(β -ラクタマーゼ陽性)の分離頻度は, 1993~94年の7.9%から年々低下し, 1999年ではわずか1.2%であった。しかし, 染色体性ペニシリン耐性淋菌(PC MIC ≥ 2 μ g/ml, β -ラクタマーゼ陰性)の分離頻度は, 1993~94年で12.6%, 1999年でも15.0%と高かった。テトラサイクリン耐性淋菌(TC MIC ≥ 2 μ g/ml)の分離頻度は, 1993~94年の3.3%から1999年には8.1%に増加した。セフェム低感受性淋菌(CFIX MIC ≥ 0.5 μ g/ml)の分離頻度も, 1993~94年の0%から1999年には2.8%とやや増加した。また, 3系統以上の薬剤に耐性を示す多剤耐性淋菌が5株分離された。なお, スペクチノマイシン耐性淋菌(SPCM MIC ≥ 128 μ g/ml)は1株も分離されなかった。【考察】福岡市においては, PPNGの分離頻度は年々低下したものの, キノロン耐性淋菌の分離頻度が急増した。また, 染色体性ペニシリン耐性淋菌, テトラサイクリン耐性淋菌の分離頻度も増加傾向を示した。さらに, セフェム低感受性淋菌や多剤耐性淋菌の増加にも注意が必要と考えられた。なお, 2000年に分離された淋菌についても薬剤感受性を測定し, 報告する。

男子淋菌性尿道炎由来淋菌に対する各種抗菌薬の感受性—
1999年分離株と2000年分離株の比較—

JR 東京総合病院¹⁾、東京慈恵会医科大学附属病院²⁾

立正佼成会附属佼成病院³⁾、大井町医院⁴⁾、高橋クリニック⁵⁾

細部医院⁶⁾

遠藤勝久¹⁾、小野寺昭一²⁾、岸本幸一²⁾、清田 浩²⁾

後藤博一²⁾、鈴木博雄³⁾、中村憲司⁴⁾、高橋知宏⁵⁾、細部高英⁶⁾

N. gonorrhoeae、セフェム耐性、年次推移

【目的】わが国ではキノロン耐性淋菌が激増しているため、近年は、淋菌性尿道炎に対しセフェム薬が **first choice** として推奨されている。一方、セフェム薬に耐性を示す淋菌が検出されており、キノロン薬以外の耐性化状況が気になるところである。そこで、今回我々は 1999 年および 2000 年に分離された淋菌に対して、感受性を測定し、その推移を検討した。

【対象および方法】1999 年および 2000 年に慈恵会医科大学附属病院ならびに首都圏の関連病院を受診した男子淋菌性尿道炎由来の *Neisseria gonorrhoeae* (98 株) を対象とし、 β -lactamase 活性はニトロセフィン法を用いて測定し、CFIX、CFTM-PI、SPCM、LVFX、AZT、FMOX、CDZM に対する感受性を NCCLs(M100-S9)に準じて測定した。

【結果】 β -lactamase 産生菌は 1999 年分離に 1 株認められた。LVFX の感受性は、1999 年が MIC50 0.39 $\mu\text{g/ml}$ 、MIC90 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 、2000 年が MIC50 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 、MIC90 4 $\mu\text{g/ml}$ であった。感受性のピークは、1999 年が ≤ 0.025 、0.39、6.25 $\mu\text{g/ml}$ の 3 峰性、2000 年が 0.008、0.12、2 $\mu\text{g/ml}$ の 3 峰性であり変化は認められなかった。一方、CFIX の感受性は 1999 年が MIC50 ≤ 0.025 $\mu\text{g/ml}$ 、MIC90 ≤ 0.025 $\mu\text{g/ml}$ 、2000 年が MIC50 0.015 $\mu\text{g/ml}$ 、MIC90 0.5 $\mu\text{g/ml}$ であり、MIC90 が上昇した。感受性のピークは、1999 年が ≤ 0.025 $\mu\text{g/ml}$ の 1 峰性、2000 年が 0.008、0.03、0.25 $\mu\text{g/ml}$ の 3 峰性でありピーク MIC の上昇を認めた。

【結論】キノロン薬は 1999 年分離株に対し、2000 年分離株の耐性化の増加は認められなかった。一方、セフェム薬においては耐性化の傾向が認められた。キノロン薬とセフェム薬の相関関係は弱かったが、キノロン薬およびセフェム薬の両方の感受性が低下した株が認められ、DNA ジャイレース以外の耐性機序が示唆された。現在、機序の解明をしており、更なる基礎的研究の結果を加える予定である。

Mycoplasma genitalium 陽性非淋菌性尿道炎
に対するニューキノロン剤の臨床効果

岐阜大学泌尿器科、トヨタ記念病院泌尿器科*

○出口 隆、安田 満、仲野正博、横井繁明、

西野好則、江原英俊、高橋義人、石原 哲、

前田真一*

【key words】非淋菌性尿道炎、ニューキノロン剤、*Mycoplasma genitalium*

【目的】*Mycoplasma genitalium* (MG) は、非淋菌性尿道炎 (non-gonococcal urethritis, NGU) の新たな起炎菌として注目され、非クラミジア性 NGU の約 20% を占めると考えられている。今回、MG 陽性 NGU に対するニューキノロン剤の臨床学的および細菌学的効果を検討した。【方法】MG が検出された 13 例のクラミジア性 NGU と 22 例の非クラミジア性 NGU の合計 35 症例を対象とした。ニューキノロン剤として levofloxacin (LVFX、300 mg、分 3) あるいは tosufloxacin (TFLX、450 mg、分 3) を用いた。化学療法前後で自覚症状および尿道スミア中白血球 (WBC) の検討と尿道スワブあるいは初尿からの *Chlamydia trachomatis* および MG の検出を行った。【結果】7 日間投薬後に評価可能であった症例では、クラミジア性 NGU 4 例全例で WBC の正常化を認めたが、MG が消失したのは 2 例のみであった。非クラミジア性 NGU 9 例では、5 例で WBC の正常化がみられたが、MG が消失したのは 3 例であった。14 日間投薬後に評価可能であった症例では、クラミジア性 NGU 11 例中 7 例で WBC の正常化を認めたが、MG が消失したのは 6 例であった。非クラミジア性 NGU 11 例では、9 例で WBC の正常化がみられたが、MG が消失したのは 6 例であった。14 日間投薬後の LVFX および TFLX による MG の除菌率は、それぞれ 8/16 (50%) および 4/6 であった。【結論】ニューキノロン剤 (LVFX、TFLX) は、MG に対する細菌学的効果は低く、MG 陽性 NGU 治療に対する有用性については、さらなる検討が必要と思われた。

共同研究者：玉木正義、小島圭太郎 (トヨタ記念病院泌尿器科)、吉田隆史、石古博昭 (三菱化学ピーシーエル研究第一部)

クラミジア子宮頸管炎に罹患した女性における
服薬コンプライアンスの検討

岐阜大学医学部産科婦人科¹

岐阜総合病院産婦人科²

○三嶋廣繁¹、和泉孝治²、早崎容¹、安田香子¹、
玉舎輝彦¹

【key words】服薬コンプライアンス、クラミ
ジア子宮頸管炎、投与方法

【目的】処方された薬を患者が指示された通りに服薬しているかどうかは、治療上の重要な問題である。最近では、多種多様の抗菌薬が臨床応用され、服薬コンプライアンスの面からも薬剤剤の選択が可能になってきた。そこで、クラミジア子宮頸管炎に罹患した女性患者における服薬コンプライアンスについて検討した。

【方法】患者側の実態および希望を詳細に知る目的で、クラミジア子宮頸管炎に罹患した女性において7日間以上の服薬を必要とした患者60名を対象として、服薬開始8日目における服薬状況について、面接方式のアンケートによる調査を行った。患者60名の年齢構成は、22歳以下の学生群30名と23歳以上の社会人30名であった。治療には、分1、分2、分3投与の薬剤を選択した。

【結果】いずれの群でも、朝の飲み忘れが一番多く、理由としては「朝食をとらない」が多かった。また、学生群の患者では、1回のみ投与すれば効果がある薬を希望する者が多かった。

【結論】STDの場合には、抗菌薬の服用の成否が疾患の原因微生物の除去に影響を与えることが多いため、服薬コンプライアンスに対する配慮、適切な服薬指導が必要であると考えられた。

MRSA菌血症例の検討

日本大学医学部第三外科

○佐藤毅、加藤高明、大塚一秀、中川良英、潮るな、原田智紀、岩永仁美、岩井重富

【Key words】MRSA菌血症、他部位感染巣、IVH

【目的】MRSA菌血症を来した症例の病態や治療、予防を検討した。

【方法】1999年と2000年に駿河台日本大学病院入院患者の血液からMRSAを検出した症例の背景、他部位感染巣の有無と検出菌、炎症所見の度合い、IVHカテーテルの使用と検出菌を検討した。

【結果】2年間のMRSA菌血症は38例であったが、内科系入院患者は16例、外科は15例とほぼ同数で、残りは救命科からであった。内科系では循環器科が多かったが、最初に救命科に入院しその後一般病棟に移ってくる症例が多かった。初発感染巣は呼吸器系感染が多いが不明の症例も見られた。IVHカテーテル挿入は70%であったが、カテーテルからのMRSA検出は約1/3であった。菌検出当日のCRP値の平均は10.3と高値と示したが、白血球数では10000以上を越えた症例は約1/4であった。他部位感染巣からはMRSAを含め多種の菌が検出されていた。

【結論】MRSA菌血症は種々の感染の場から見られるが、最も多いものは呼吸器感染症からである。しかし他部位にはっきりした感染巣がなくても突如としてsepsisの状態が起きることがありIVHカテーテルが挿入されているような症例では抗菌薬の使用制限や早めの経腸栄養への変更などが考慮されるべきであろう。

泌尿器科領域での血液培養の臨床的意義

札幌医科大学医学部泌尿器科

○清水俊明、栗村雄一郎、国島康晴、高橋 聡、
堀田 裕、塚本泰司

【key words】菌血症、泌尿器科、clinical study

【目的】当科では38℃以上の発熱を認める場合、原則として血液培養を施行してきた。今回、これが治療にとって有意義であったか、今後も同様に施行すべきかについて、過去10年間の血液培養施行例の発症因子、治療経過などから検討を行った。

【対象】1991～2000年の10年間に当科入院症例3910例の中で38.0℃以上の発熱時に血液培養を施行した519例(男性：397例、女性：122例)を対象とした。

【方法】血液培養の結果は陽性が58例(11.2%)、陰性が461例(88.8%)であったが、今回、陽性例の中でも治療後3日以内に解熱しなかった37例(7.1%)を血液培養の有用症例とし、これらの症例と残りの482例を比較して有用症例の予測因子について重回帰分析を用い検討した。

【結果】重回帰分析の結果、年齢、性別、悪性疾患・尿路変向・尿路閉塞・先行感染・直前のcatheterization・抗癌化学療法それぞれの有無、血液培養施行時の体温の9項目の検討因子の中で、血液培養施行時の体温と先行感染の有無の2項目が有意な因子であった。仮に38.5℃以上の発熱で血液培養を施行したとすると有用症例は243例中32例(13.2%)、先行感染を認める症例(157例)では18例(11.5%)、また38.5℃以上の発熱があり先行感染を認める症例(85例)では16例(18.8%)とそれぞれ陽性率が上昇したが、一方で実際の陽性例を除外させる結果ともなった。

【結論】血液培養施行時の体温が38.5℃以上あるいは先行感染が存在する症例では血液培養を施行する意義があるが、今回の検討のみでは血液培養を施行する基準を見直すには十分ではなく、個々の症例の状況に応じ施行するべきと考えた。

感染性SIRSに対するセフォゾプランの効果

岐阜大学医学部産科婦人科

○三嶋廣繁、早崎容、安田香子、玉舎輝彦

【key words】SIRS、セフォゾプラン、サイトカイン

【目的】感染が原因のSIRSの発症機序の一つとして、細菌の侵入により菌体成分であるLPSまたはTSST-1などの外毒素によるマクロファージ活性化が起き、様々なメジエータを介した免疫系の異常活性化、高サイトカイン血症を経て、SIRSが惹起されると考えられる。特に、外科的侵襲によるSIRSに感染などの侵襲が加わった場合、MODSが発症する可能性が高くなると考えられている。感染性SIRSにおけるセフォゾプランの抗サイトカイン作用について検討した。

【方法】感染症によるSIRSと診断された症例に対して、セフォゾプランを投与し、血中炎症性サイトカインTNF α 、IL-1、IL-6を経時的に測定した。また、可能な症例では、感染局所における炎症性サイトカインTNF α 、IL-1、IL-6、IL-8の変動を検討した。

【結果】セフォゾプラン臨床的有効例では、血中および感染局所の炎症性サイトカイン値は経時的に著明に低下したが、臨床的無効例では低下しなかった。CRP値に比較して感度が優れていた。

【結論】セフォゾプランは、臨床的有効例では炎症性サイトカインの産生を低下させることが明らかになった。また、CRP値に比較して炎症性サイトカインは鋭敏に反応するため、抗菌治療終了の指標として役立つと考えられた。

当院における血液培養陽性菌の分離頻度についての検討および、腸球菌分離例の臨床的背景についての検討

東京女子医科大学感染対策科

○日台裕子、井戸田一郎、菊池賢、戸塚恭一

【Key words】血液培養、分離頻度、腸球菌、

【目的】血液培養に関しては、以前より、ブドウ球菌の頻度が高いことが知られているが、腸球菌の頻度も増えつつあると考えられている。東京女子医科大学本院の入院患者において、過去5年間における血液培養陽性検体の検出菌の頻度の変化を調べ、また、特に腸球菌による敗血症患者について、臨床的背景を検討した。

【方法および結果】1995年から1999年迄の5年間に、東京女子医科大学本院の入院患者から検出された血液培養陽性菌の頻度を検討した。年間の血液培養陽性検体数は、'95年696検体から、'99年911検体へと、増加傾向にあった。この5年間でのグラム陽性菌の頻度は57~64%、グラム陰性菌の頻度は30~35%、真菌の頻度は7~10%であった。最も検出頻度が高かった菌種は *Staphylococcus epidermidis* を含む Coagulase-negative Staphylococci (CNS) と MRSA であり、CNS は全体の約20~25%、MRSA は15~20%を占めていた。腸球菌については'95年には5.5%、'99年は7.0%であり、若干増加の傾向が見られた。'99年においては、腸球菌の血液培養陽性検体は64検体であった。48%が消化器系の基礎疾患の患者であり、特に手術後の患者が多く、中心静脈栄養を使用されている患者が多かった。外科系以外では血液悪性腫瘍患者が16%を占めていた。

【考察】1980年代以降から敗血症の原因菌はグラム陽性球菌がもっとも多いことが知られており、今回の'95年から'99年迄の検討においても、ブドウ球菌、特に CNS が多く、これ迄と同様の傾向が見られた。また、腸球菌に関しては血液培養からの検出頻度はやや増加しており、消化器系疾患は特に多かった。これらの臨床的背景については、更に検討を加える予定である。

埼玉医科大学付属病院における血液培養分離株の解析

埼玉医科大学中央検査部

○河村 亨、橋北義一、岸 悦子、高橋 俊、板橋 明

埼玉医科大学第一内科

山口敏行、前崎繁文、山崎 勉、別所正美

【key words】血液培養、MDRP、ABK 耐性 MRSA

【目的】埼玉医科大学付属病院（ベッド数1483床）における血液培養からの分離菌について、菌種、年次推移、および各種薬剤耐性菌について解析した。

【材料と方法】1998年から2000年の3年間に当院において血液培養から分離された菌を対象とした。微量液体希釈法にて薬剤感受性を測定し、ABK 耐性 MRSA、PISP/PRSP、ABPC 耐性 *H. influenzae*、多剤耐性 *P. aeruginosa* (MDRP) などの検討も行った。

【結果と考察】血液培養の総株数は1998年が698株、1999年が574株、2000年が577株とほぼ一定していた。最も多く分離されたのは CNS で次に MRSA、*E. coli*、NF-GNR、*E. faecalis*、MSSA、*P. aeruginosa*、*K. pneumoniae* などが続いた。耐性菌は PISP/PRSP は認められなかったが、MDRP が *P. aeruginosa* の15.1%、ABPC 耐性 *H. influenzae* が *H. influenzae* の14.3%、ABK 耐性 MRSA が MRSA の1.9%に認められた。また3年間に増加している傾向は認めなかった。血液培養からの薬剤耐性菌の検出は臨床的に大きな問題になりうると思われ、臨床的な背景や転帰についても報告する予定である。

腹腔鏡下手術における術後感染予防に関する臨床的検討

神戸大学泌尿器科学教室

○長久裕史、酒井 豊、吉行一馬、原 勲、
川端 岳、荒川創一、守殿貞夫

【Key words】腹腔鏡下手術、SBT/ABPC、術後感染予防

【目的】最近、泌尿器科領域においても腹腔鏡下の手術が広く行われるようになってきた。当科においても現在までに約70例の経験がある。一般に腹腔鏡手術は無菌手術と考えられるが、その術後感染予防についての報告は少ない。今回、腹腔鏡下手術後に術野の感染の有無を検索し、SBT/ABPC投与による術後感染予防に関して検討したので報告する。【方法】対象は2000年9月より2001年1月の間に腹腔鏡下手術を施行した12症例（前立腺全摘除9例、腎部分切除1例、副腎摘除2例）である。これら症例に対して術中の腹腔内の洗浄液（手術開始時と終了時）、術後のドレーン浸出液の培養を行ない、術中術後の細菌分離につき検討した。創部、熱型の経過と血中炎症反応を観察した。また、尿路感染の検討のため尿培養を術前後に行った。予防的抗菌薬として、SBT/ABPC1.5gを1日2回3日間点滴静注投与（術日は術直前と術直後、以後朝と夕）した。【結果】年齢は32~74歳（平均65.6歳）、手術時間は220~750分（平均451.4分）であった。術後感染の認められた症例は12例中2例（17%）であった。両者とも前立腺全摘除症例であり、MRSAが創部より検出され、熱発を認めたが、抗菌化学療法により軽快した。これら2例とも術中の細菌汚染は認められなかった。他の10例は術後創感染、発熱はなく、血中炎症反応も軽度上昇に留まっており、これら症例のドレーンの浸出液および尿培養は陰性であった。

【考察】腹腔鏡下手術は開腹手術と比較して、外因的な微生物の汚染機会は少ないと考えられる。今回のわれわれの調査では12例中10例で感染兆候を認めず、経過良好であり、全般にSBT/ABPC 3日間投与は感染予防投与として妥当と考えられるが、2例においてMRSA感染が発症しており、開腹手術同様の留意が必要と思われた。

脳神経外科術後感染予防に関するアンケート結果

名古屋市厚生院外科：○品川長夫、真下啓二、
日本大学第三外科：岩井重富、広島大学総合診療部：横山 隆、名古屋市立大学第一外科：竹山廣光

【key words】術後感染予防、脳神経外科、術野感染

【目的】脳神経外科領域における術後感染予防についての意識調査をアンケート形式により施行した。【対象】全国大学病院の各脳神経外科学教室において、感染症に関心の深い医師（1名）に回答を依頼した。【結果】回答率：54.9%（45/82名）、回答者の脳神経外科医歴：平均15.0±4.9年。術後感染予防の目的とする感染症は、70%がSurgical site infection (SSI)であると回答した。SSIに加え、術野外の感染も含むと回答したのは25%であった。感染予防薬の選択基準としては、①手術時に汚染すると予想される細菌（ブドウ球菌属など）に対して抗菌力を有する薬剤を選ぶ、②汚染菌の発育阻止可能な濃度が目的部位で達成される薬剤を選ぶ、③重篤な副作用が考えられる薬剤であってはならない、④代表的な感染予防薬は、ペニシリン薬や第1~2世代セフェム薬である。⑤無菌手術に対して第3世代セフェム薬の予防投与は一般的に不適切である、などの項目については合意率が高かった。また、感染予防薬の投与方法については、①点滴静注で投与する（合意率：91%）、②初回は手術開始30分前から開始後30分以内に投与開始すべきである（合意率：73%）、③手術中有効濃度を保つように長時間の手術では追加投与を行う（合意率：76%）、であった。予防薬としては、異物を埋め込みの如何にかかわらず無菌手術ではともにCEZの使用頻度が最も高く、次いでCTM、PIPCの順であった。薬剤投与期間は3~7日間が最も多かった。【結語】術後感染予防薬の選択原則および投与方法についてはほぼ合意は得られていたが、投与期間については検討の余地があると考えられた。会員外協力者：山田和雄（名古屋市立大学医学部脳神経外科）、児玉南海雄（福島県立医科大学脳神経外科）、寺本 明（日本医科大学脳神経外科）

経直腸的前立腺針生検における周術期感染阻止薬の投与方法に関する検討

岡山大学医学部泌尿器科

○門田晃一、二ノ宮祐子、石井亜矢乃、狩山玲子、津川昌也、公文裕巳

【key words】経直腸的前立腺針生検、周術期感染阻止薬、無作為割付け比較試験

【目的】近年、前立腺癌スクリーニング法としてのPSA（前立腺特異抗原）検査の普及に伴い、前立腺針生検術が増加傾向にある。今回我々は、経直腸的前立腺針生検における周術期の感染阻止を目的とした適正抗菌薬使用方法を検討するために無作為割付け比較試験を行なった。【対象・方法】1999年4月から2000年12月までの期間に経直腸的前立腺針生検を施行した77例を対象とし、2群（AおよびB群）に無作為割付けした。術前1ヶ月以内に感染症を合併していた症例は除外した。術後感染阻止薬としてfleroxacin（FLRX）を選択し、投与方法はA群ではFLRX 200mgを1日1回1日間、B群では1日1回3日間投与とした。投与開始時期は術当日の朝からとした。術後3ないし4日目のCBC、CRP、尿所見を比較し、さらに術後2週間以内の感染性合併症の有無を検討した。なお、経直腸的前立腺針生検は原則としてエコーガイド下に6カ所施行した。【結果・考察】評価可能症例はA群39例、B群38例であった。臨床的背景の比較では、年齢、前立腺容量、PSA値、IPSS値、癌陽性率のいずれにおいても両群で有意差を認めなかった。術後3ないし4日目の末梢白血球数あるいはCRPが異常変動を示した症例はA群7.8%（3/39）、B群5.3%（2/38）であった。膿尿（WBC 5個/HPF以上）の出現率はA群10.3%（4/39）、B群2.7%（1/38）であり、A群で膿尿の出現する割合が高値を示したが両群に有意差を認めなかった。術後2週間以内に発熱、排尿痛など症状を伴う感染性合併症を発症した割合は、A群では7.8%（39例中3例：前立腺炎2例、膀胱炎1例）であったのに対しB群では1例も認めなかった。有意な差ではないがB群ではA群に比べ術後感染症を発症する割合が低く、経直腸的前立腺針生検における術後感染阻止としてFLRX 200mg 1日1回3日間投与の有用性が示唆された。引き続き症例を重ね検討する予定である。

大腸手術の術前抗菌薬投与に関する基礎的検討

東邦大学医学部外科学第三講座

○吉田祐一、炭山嘉伸、草地信也、有馬陽一、田中英則、石橋弘成、中村陽一、桐林孝治

【Key words】大腸手術、腸管前処置、非吸収性経口抗菌薬

【目的】大腸手術の術前抗菌薬投与に関して基礎的検討を行った。【対象】Wistar系雄性ラット（体重300g）を1週間検収の上、全身麻酔下に無菌的に開腹し、肛門より3cmの部位でクレンメをかけ腸管切離した。切離腸管は7-0吸収糸で1層連続縫合をして端端吻合。この間の術野汚染生菌数を、腸管切離直後、吻合前、吻合後にそれぞれ腹腔内をくまなく洗浄して測定した。(1)術直前抗菌薬非投与群（それぞれn=5）、A群：術前処置は行わず、そのまま腸管吻合をした群。B群：術前日より絶食とし、翌日手術を行った群。C群：術前日に、ポリエチレングリコール（PEG）を経口投与し、翌日手術を行った群。D群：術前日に、PEGとkanamycin 100mg/kg、およびmetronidazole 25mg/kgを1回経口投与し、翌日手術を行った群。(2)術直前抗菌薬投与群（それぞれn=5）、手術の30分前にcefotiam 80mg/kgを投与の上、A-D群と同じように手術を行った。これを順に、E、F、G、H群とした。【結果】術前処置は行わず、そのまま腸管吻合をした群では、腸管切離直後に 10^{4-6} cfu/mlの生菌数（通性好気性菌主体）が検出されたが、術前日から絶食として手術をした群では腸管前処置の状態によらず 10^{2-3} cfu/mlの生菌数にとどまった。術直前30分前に抗菌薬を投与した群では、生菌数は検出限界以下だった。【まとめ】術野汚染菌は、腸管前処置を全く行わなかった場合、高頻度に検出された。腸管前処置を行わなかった場合、術直前に抗菌薬を投与すると、術野汚染菌は有意に減少した。腸管前処置として術前日の絶食は重要で、PEGを経口投与した場合には、術前抗菌薬を投与してもしなくても、術野汚染菌はほとんど検出されなかった。しかし、術前日経口抗菌薬の内服は必ずしも効果的でなかった。

長期抗菌薬療法により Vancomycin に耐性化した *Staphylococcus epidermidis* による菌血症の一例

天理よろづ相談所病院 血液内科¹⁾ 臨床病理部²⁾
○寺田邦彦¹⁾、中村文彦¹⁾、相原雅典²⁾

【Key word】CNS 感染症、VCM 耐性、難治感染症

【目的】われわれは最近当院において Vancomycin に耐性化を来した *Staphylococcus epidermidis* による難治性の菌血症例を経験したので報告する。

【症例】85才女性。1999年12月発症の再生不良性貧血に対しATG療法に続き免疫抑制療法を実施中5月上旬よりスパイク状発熱が出現。血液培養よりMethicillin耐性 *S.epidermidis* を検出したためG-CSFに加えVCM投与を開始したが、CRPは8mg/dlで推移し、血中から菌の検出は持続し、VCMのMIC値は一時16μg/mlまで上昇した。各種抗菌薬でも著効が得られず、10月上旬FIC indexで相乗効果のあったVCM+Imipenemの併用療法を実施。CRPは一時2mg/dlとなったが菌は消失せず大動脈弁尖に疣贅が出現。患者はその間脳梗塞を発症、11月下旬不顕性誤嚥による肺炎で死亡された。4月21日の血液培養で検出された *S.epidermidis* はAmoxicillin/clavulan酸、VCM、ST合剤およびClindamycin、には感性であったが他の抗菌薬にはすべて耐性であった。9月8日分離株のVCMのMICは最高32μg/mlに達した。

【考察】コアグラゼ陰性ブドウ球菌(CNS)は多剤耐性株が多い。今回長期にわたる断続的なVCM投与の余儀ない症例に遭遇し、一時的にVCMに耐性化を来したことは遺憾であった。今後多剤耐性CNS感染症に対する適切な治療法開発の必要性を訴え、他山の石としたい。

早期診断・早期治療にて治癒した劇症型A群連鎖球菌感染症(STSS)の1症例

聖路加国際病院 内科感染症科

○石崎 有澄美、山本 博之、古川 恵一

【Key words】劇症型A群連鎖球菌感染症、軟部組織感染、敗血症性ショック

【目的】STSSの早期診断及び早期外科的処置、ABPC大量とCLDMの併用により良好に経過した1症例を経験したので報告する。

【症例】81歳女性【既往歴】胆石、TIA

【現病歴】2000年10月12日より、感冒様症状出現。10月27日から38℃台の発熱、食欲低下あり。その後歩行困難、両上肢、特に右手背の疼痛が出現し、10月30日当科に入院。【入院時現症】体温：38.3℃、血圧：78/50mmHg、脈拍：119/分、呼吸数：28/分、咽頭：発赤あり、胸・腹部：異常なし、右手背から前腕、左上腕に発赤・腫張・圧痛あり、右前脛骨部・左膝蓋部に紫斑あり、左膝関節腫脹・圧痛あり。【検査所見】WBC44000/μl、Plt 21×10⁴/μl、Fib 873.8mg/dl、FDP 78.1μg/ml、CRP 52.7mg/dl、Cre 2.1mg/dl、BUN 43.8mg/dl、AST 262 IU/l、ALT 98 IU/l、LDH 19041 IU/l、CPK 9195 IU/l。【入院後経過】入院時、両上肢の軟部組織感染と左膝関節炎を伴う敗血症性ショック、多臓器不全と考えCTX 1g 6時間毎(4g/日)、CLDM 600mg 8時間毎(1800mg/日)、GM 120mg 1日1回(初日のみ)投与開始。第2病日に、入院時の血液培養より *Streptococcus*(後日 *St. pyogenes*と同定)が検出され、ABPC 2g 4時間毎(12g/日)、CLDMの2剤併用に変更した。また両上肢の熱感・腫張域が拡大、圧痛も増強し、上肢CTでは膿瘍・壊死を疑う所見を認めたため緊急切開術を施行。両上肢に筋膜炎、右手背の軟部組織に壊死を認め、切開排膿・減張及び壊死組織除去を行った。第3病日、咽頭と左上腕創部からも *St. pyogenes*を確認し、STSSと診断した。第13病日からABPC 8g/日、CLDM 1200mg/日に減量。薬剤アレルギーのために第17病日よりABPCからCEZ 3g/日に変更した。計4週間の抗菌薬投与を行い治癒した。

【考察】近年、STSSに対して、菌の蛋白と外毒素の合成を阻害し、静止期の菌及び菌量に無関係に作用するCLDMの有効性が示され、PCG(またはABPC)大量との併用が勧められている。本症例も先行する上気道炎症状と両上肢の疼痛を伴った敗血症性ショックから当初よりSTSSを念頭におき、早期よりABPC大量とCLDMの併用投与を行い、また早期に外科的処置を行うことにより、治癒することが出来たと考えられる。

Peptostreptococcus asaccharolyticus
による感染性心内膜炎の一治癒症例
聖路加国際病院 内科感染症科

○山本博之、北川諭、石崎有澄美、古川恵一

[key words] 感染性心内膜炎、*Peptostreptococcus*

【目的】我々は僧帽弁閉鎖不全症 (MR) のある患者に *Peptostreptococcus asaccharolyticus* (*P.as.*) による感染性心内膜炎 (I. E.) を合併し、内科的治療により治癒した症例を経験したので報告する。

【症例】29歳女性 [既往歴] 26歳心臓弁膜症を指摘。

【現病歴】H12年7月に歯科治療を受けた (抗菌薬使用なし)。10月上旬から37°C台発熱と全身倦怠感あり。11月上旬より38°C台発熱と乾性咳嗽、労作時呼吸困難も出現し当院受診。11月24日当科に入院。

【入院時所見】BT.38°C, BP.94/56mmHg, PR.112/分, RR.30/分, 心音: 心尖部汎収縮期雑音 (4/6度), Ⅲ音あり。眼底その他異常なし。検査所見: WBC 11800/ μ l (neut. 81%), Hb 11.7g/dl, Plt 32.1万/ μ l, CRP 6.7mg/dl, ESR 52mm/時間, 胸部単純X線写真: 肺野異常なし, CTR 56%であった。

【入院後経過】心エコー検査にて僧帽弁逸脱症に伴うMR (Ⅲ度)、僧帽弁前尖の疣贅 (11.3×8.6mm) を認めた。また血液培養 (4 set 全て) から *P.as.* が検出され、この菌によるI. E. と診断 (感受性結果はPCG, CMZ等に感受性良好)。治療としてPCG 1800万単位/日 (分6) 投与を開始。経過中うっ血性心不全を合併したが内科的治療で軽快した。計4週間のPCG投与によりI. E. は治癒した。

【考察】*Peptostreptococcus* は歯周ポケットや腔等に常在する嫌気性菌の一種で、時に呼吸器感染や子宮付属器感染等の起原菌となりうる。本菌によるI. E. の報告例は希であるが、亜急性I. E. の病像を呈し大部分は既存心疾患や弁置換術後の患者にみられている。PCG等のペニシリン系が第一選択薬であり、セファロスポリン系等も有効である。本症例は既存のMRに歯科治療が誘因となり口腔内の本菌によりI. E. を合併したと考えられる。リスクのある患者において歯科治療の際のI. E. 予防のための抗菌薬投与の重要性を認識すべきである。

ベンジルペニシリンカリウムが奏功した黄色ブドウ球菌性椎間板炎の一例

聖マリアンナ医科大学 1)総合診療内科、2)同 微生物学教室

○金 信浩¹⁾、米波 浩二¹⁾、馬杉 綾子¹⁾、
須永 達哉¹⁾、生坂 政臣¹⁾、亀谷 学¹⁾、
竹村 弘²⁾、嶋田 甚五郎²⁾

【key words】ベンジルペニシリンカリウム、黄色ブドウ球菌、化膿性椎間板炎

【症例】62歳女性。1999年9月より特発性眼窩筋炎にて、副腎皮質ステロイド薬を長期間内服中であった。2000年2月より微熱と腰痛が出現し、精査目的で入院した。腰椎MRIと血液培養から黄色ブドウ球菌性椎間板炎と診断した。薬剤感受性検査でbenzylpenicillin potassium (PCG) が最も感受性があり (MIC<0.03 μ g/mL)、これを選択し治療開始した。投与方法は、300万単位/日 (100万単位/回を8時間間隔) を経静脈的に投与した。治療開始後、臨床症状と検査所見の速やかな改善を認め完治した。

【考察】化膿性椎間板炎の抗菌薬投与期間は、一般に6~8週と長期間になるため菌交代現象が憂慮される。特に広域抗菌薬では、それが著しい。したがって、起原菌の感受性が確定された場合は、可及的狭域の抗菌薬治療を施行することの重要性を再確認し得た1例であった。

マクロライド抗生剤による鼻粘膜上皮の増殖、分化に及ぼす影響-Explant 培養法を用いて-

和歌山県立医科大学耳鼻咽喉科学教室

○藤原 啓次、酒井 章博、島田 純、保富 宗城
山中 昇

【Key words】 Roxithromycin、初代鼻粘膜上皮培養、
上皮の増殖分化

【目的】 マクロライドの少量長期投与は副鼻腔気管支症候群や慢性副鼻腔炎に対して広く用いられ、その臨床的有効性については多数報告されているが、作用機序については依然解明されていない点も多い。特に上皮に対しての直接の作用についてはほとんど検討されていないのが現状である。今回われわれは鼻粘膜上皮小片から周囲に伸び出す上皮(Outgrowth)を用いた Explant 培養法によりロキシシロマイシン(RXM)による鼻粘膜上皮の増殖度、分化度について検討した。

【方法】 手術時に採取した鼻粘膜、副鼻腔粘膜(10名)の繊毛細胞の多い部分を小片に細切し、4週間培養した。培養後3-4日目の培養上皮に培養液中のRXM濃度が 1.0×10^{-4} mol/L、 1.0×10^{-5} mol/L、 1.0×10^{-6} mol/L、 1.0×10^{-7} mol/Lとなる群と、何も加えない群で検討した。上皮の増殖部はOutgrowth部位の面積をRXM添加前の面積との差で算出した。上皮の分化はOutgrowth部位の繊毛細胞数をカウントし、RXM添加前の繊毛細胞数との差で算出した。

【結果】 上皮の伸び率は第1週から第4週にかけてRXM 1.0×10^{-5} mol/Lと 10^{-6} mol/L添加群ではなにも加えない群、 1.0×10^{-4} mol/Lと 1.0×10^{-7} mol/L添加群に比べて大きい増殖を認めた。繊毛細胞の出現率においては 1.0×10^{-5} mol/Lの濃度のRXMを加えた群で他の群に比べて多い傾向を認めた。

【考察】 今回の結果では低濃度のRXMにおいて、抗生剤本来の作用以外に直接上皮の増殖および分化を促す作用が示唆された。またこの結果はRXMによる副鼻腔炎に対する作用機序の一部であり、濃度特異性が認められたことは、少量投与の濃度を決定する上でも役立つものである。

ムコイド型緑膿菌気道感染におけるマクロライド作用の感染免疫学的検討

杏林大学第一内科

○小林 治、有賀晴之、尾地 優、中川朋幸、河合 伸、
小林宏行

【key words】 マクロライド、ムコイド型緑膿菌、慢性気道感染症

【目的】 びまん性汎細気管支炎や cystic fibrosis などにおいてはしばしばムコイド型緑膿菌がその気道に長期に定着し、生体側の免疫反応を修飾することが知られている。このような慢性気道感染症に対して、マクロライドの臨床的有効性が知られているが、いわゆるマクロライドのこのような sub MIC 下の作用は種々の検討がすすめられているものの未だに包括的な統一見解には至っていない。そこで、私どもは緑膿菌気道感染モデルを用いて主に感染免疫学的な立場から検討を行った。

【方法】 BALB/c マウス 32 匹に対してアルギン酸ナトリウムで包埋した緑膿菌 PAO-1 株を気道内に感染させ、10mg/kg の Azithromycin を 3 日間経口投与の後、第 7 日目に肺内生菌数および BALF/肺細胞培養浮遊液/末梢血中の各種サイトカインの変動を観察した。

また、基礎的検討としてヒトリンパ球を LPS 刺激し、培養上清中の炎症性/抗炎症性サイトカインの遊離に対する Azithromycin 作用を *in vitro* にて観察した。

【結果と考察】 Azithromycin 非投与群においては 9 検体中 8 検体から肺内生菌のムコイド形成が観察されたものの、投与群すべての肺内菌はムコイド形成が消失して観察された($p < 0.01$)。しかし、両群間の肺内生菌数には有意差は観察されなかった。肺細胞浮遊液中の IL-10 はマクロライド投与によって有意な上昇($p < 0.05$)が見られたが、TNF-alpha、MIP-2、などに有意な変動は観察されなかった。BALF および末梢血におけるこれらのサイトカインには有意な変動は無かった。基礎的な検討においては、*in vitro* においてマクロライドは LPS 刺激下でのヒトリンパ球からの TNF-alpha 遊離を抑制する一方で、IL-10 遊離を刺激することが判明した。また、私どもはすでに 14 および 15 員環マクロライドは緑膿菌の産生するムコイドの成分であるアルギン酸を直接的に分解し、さらに菌体内のアルギン酸生成酵素を抑制することを報告した。以上の結果から、慢性気道感染症においてマクロライドは、直接的に緑膿菌のムコイドを抑制する一方で、間接的に IL-10 依存性の modulation 作用によって好中球の oxydative burst を抑止し緑膿菌のムコイド産生に影響を及ぼすことが示唆された。

マクロライド系抗菌薬clarithromycinがルイス肺癌細胞に与える影響

奈良県立医大 第2内科¹, 総合医療・病態検査学², 中央検査部³, 細菌学⁴

○坂本正洋¹, 眞島利匡¹, 三笠桂一¹, 古西満¹, 前田光一², 善本英一郎¹, 村川幸市³, 高橋賢¹, 喜多英二⁴, 成田亘啓¹

【key word】マクロライド薬, 肺癌, インテグリン

【目的】我々は14員環マクロライド系抗菌薬がbiological response modifierとしての作用を有し, 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ことを報告してきた。基礎的研究ではルイス肺癌を用いたマウスモデルで14員環マクロライド薬erythromycin (EM), clarithromycin (CAM)が腫瘍増殖を抑制し, 実験的肺転移モデルでCAMが肺転移を抑制することを証明してきた。今回はCAMが直接腫瘍細胞に与える影響をmRNAレベルと蛋白レベル, 細胞表面分子レベルで検討した。

【方法】ルイス肺癌細胞 1×10^5 /mlをCAM $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 添加した α -MEM中で培養し, ルイス肺癌細胞のTGF- β をmRNAレベルと蛋白レベルで, インテグリン $\alpha 4$, $\alpha 6$, $\beta 1$ (CD49d, CD49f, CD29)をmRNAレベルと細胞表面分子レベルで測定した。

【結果】TGF- β はCAMによりmRNAレベル, 蛋白レベルでも産生が抑制されていた。インテグリンはmRNAレベルでは発現が抑制されていたが, フローサイトメトリーを用いた表面抗原の検索では $\beta 1$ (CD29)のみが抑制されていた。

【結語】CAMは宿主免疫に影響を与えるのみならず, 腫瘍細胞にも直接作用している可能性が示唆された。

抗菌薬のendotoxinショックマウスモデルにおける致死抑制効果

大分医科大学第二内科, 検査部*

○平田範夫, 大濱稔, 中野哲治, 岸建志, 時松一成, 一宮朋来, 山形英司, 山上由理子, 平松和史*, 犀川哲典*, 永井寛之, 那須勝

【key words】endotoxinショック, 抗菌薬, 炎症性サイトカイン

【目的】我々はこれまでに, D(+)-galactosamine (GalN)を用いたendotoxinショックマウスモデルにおけるclindamycin (CLDM)の致死率や炎症性サイトカイン遊離への直接的な効果について示してきた。今回, このマウスモデルにおけるerythromycin (EM), minomycin (MINO), ciprofloxacin (CPFX)の致死抑制効果について検討したので報告する。

【方法】EM(4~40mg/mouse), MINO(1~6mg/mouse), CPFX(0.5~18mg/mouse)または生理食塩水を腹腔内に前投与したC3H/HeNマウスに, GalNと大腸菌標準株O55:B5から精製したLPSを腹腔内投与し, 各抗菌薬のマウス生存率に対する効果について検討した。

【結果】生理食塩水を前投与したコントロール群では, GalN+LPS投与後6.5時間前後で全てのマウスが死亡した。各抗菌薬における各投与量の中で, 最もマウスの生存率が高かった投与量と生存率は, EM6mg/mouseが57%と最も高く, MINO4mg/mouseとCPFX10mg/mouseが29%であった。

【考察】EM, CPFXは, *in vitro*において単球系細胞からの炎症性サイトカイン放出抑制作用が報告されている。今回我々は, *in vivo*における各種抗菌薬のendotoxinショックマウスモデルでの致死抑制効果を検討した。検討した3薬剤の中でEMが最も高い致死抑制効果を示していた。今後更なる検討が必要であるが, EMによるendotoxinショック致死抑制の可能性が示唆された。なお, 現在マウスモデルにおける血清中サイトカイン濃度の測定を行っており, 合わせて発表する予定である。

ムコイド型緑膿菌のマウス気管粘膜付着に対する各種抗菌薬の影響—共焦点レーザー走査顕微鏡を使った付着菌数の解析—

大分医科大学第二内科、検査部*

○一宮朋来、中野哲治、平田範夫、大濱 稔

時松一成、平松和史*、山形英司、山上由理子

永井寛之、那須 勝

【key words】ムコイド型緑膿菌、抗菌薬、共焦点レーザー走査顕微鏡

【目的】ムコイド型緑膿菌の塩酸傷害マウス気管への付着性を検討するため、共焦点レーザー走査顕微鏡を用い画像解析を行った。また付着因子としてアルギン酸に着目し、各種抗菌薬の影響下でのアルギン酸産生性と気管粘膜への付着性を検討した。

【方法】各種抗生剤のsub-MIC濃度を含む普通寒天培地にムコイド型緑膿菌を接種し24時間培養後、菌懸濁液を作製した。懸濁液からアルギン酸を銅塩として析出させナフトレゾルシノール反応にて呈色させた後、酢酸ブチル抽出し、高速液体クロマトグラフ（島津製作所 C-R4A）にて定量した。また菌懸濁液の一部は 10^8 CFU/mlに調整し、塩酸傷害マウス気管に一時間接触させ、PBSで十分に洗浄した後、アクリジンオレンジにて染色し共焦点レーザー走査顕微鏡で観察を行った。共焦点レーザー走査顕微鏡にて得られた画像は画像解析ソフトウェアを用い、マウス気管に対する緑膿菌付着菌数測定を行った。

【結果】PIPC, CAZ, OFLX では薬剤無添加群との間にアルギン酸産生性の差は見られなかったが、CLDM, RKMでは、 $1/64$ MIC以上の濃度にて、EMでは $1/256$ MIC以上の濃度にて有意なアルギン酸産生抑制を認めた。また $1/4$ MICにおけるマウス気管粘膜への付着性は、PIPC, CAZ, OFLXでは有意差を認めず、CLDM, EM, RKMにて有意な付着菌数減少を認めた。

【考察】ムコイド型緑膿菌のアルギン酸産生性と共焦点レーザー走査顕微鏡により観察した気道粘膜付着性は正の相関関係を示し、緑膿菌はアルギン酸産生により非特異的付着性が亢進することが示唆された。

Moraxella (Branhamella) catarrhalis 呼吸器感染症における院内流行株と外来患者分離株の分子疫学的解析

長崎大学熱帯医学研究所内科¹

田上病院内科²

○麻生憲史¹、真崎宏則²、渡辺 浩¹、

山領 豪²、出川 聡²、

下釜誠司²、渡辺貴和雄¹、大石和徳¹、永武 毅¹

【Key words】

Moraxella catarrhalis, 院内流行, PFGE

【目的】気道由来 *Moraxella catarrhalis* の入院患者分離株と外来患者分離株間の分子疫学的関連性を明らかにする。

【材料及び方法】1999年8月から2000年9月までに田上病院一般病棟（2階：外科41床，3階：内科53床）および療養型病棟（4階：43床，5階：43床）において分離された気道由来 *Moraxella catarrhalis* 30株（喀痰29株，咽頭1株）と調査期間中に外来患者から分離された気道由来17株（喀痰15株，鼻腔1株，咽頭1株）について、パルスフィールド電気泳動を行い、DNAパターンを解析した。

【成績】

Moraxella catarrhalis の院内分離株は、1月の12株をピークとして、2月が4株、3月から5月までは各々3株であり、5カ月間で計25株（院内分離株の83.3%）が分離された。一般病棟の2名（患者1：95歳，女性 患者2：88歳，女性）は、*Moraxella catarrhalis* が複数回分離され、7株（患者1：慢性気管支炎急性増悪3回，患者2：慢性気管支炎急性増悪3回および肺炎1回）は、同一のDNAパターンを呈した。同様に院内分離株および外来由来株のDNAパターンを解析し、分子疫学的関連性について検討した。

【考案】

Moraxella catarrhalis は、冬期に院内流行し、患者間で院内伝播した可能性が示唆された。

分子生物学的手法による急性中耳炎における鼻咽腔細菌叢の変化と伝播の検討

1)和歌山県立医科大学耳鼻咽喉科学教室

2)横浜市立大学医学部小児科

○島田 純¹⁾、保富宗城¹⁾、酒井章博¹⁾、藤原啓次¹⁾、満田年宏²⁾、山中 昇¹⁾

【key word】パルスフィールドゲル電気泳動法、急性中耳炎、鼻咽腔細菌

【目的】近年、薬剤耐性菌の増加に伴い急性中耳炎が反復および遷延化する難治例が増加し問題となっている。急性中耳炎の反復においては、起炎菌が同一であるか（再燃）あるいは起炎菌が異なる（再発）かが問題となる。また、急性中耳炎が兄弟発症する例も多く存在する。これらのことより、急性中耳炎の難治化においては起炎菌が鼻咽腔においてどのように伝播し変化しているかの検討が重要と考える。

【方法】急性中耳炎反復例および兄弟発症例、反復性中耳炎例を対象に、急性中耳炎発症時の鼻咽腔細菌叢の検討を行うとともに、肺炎球菌検出例において、PCR法によるペニシリン結合蛋白遺伝子の変異の検討とパルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE法）による起炎菌の遺伝子学的な識別を行った。

【結果】血清型、耐性遺伝子検索、PFGE法のいずれにおいても88%の症例において急性中耳炎のエピソードごとに鼻咽腔から分離される肺炎球菌菌株が異なっている。このような肺炎球菌株の急性中耳炎エピソード毎における変化は、*pbp* 遺伝子が高頻度に変異したPRSP株においても認められた。反復性中耳炎患児においても中耳炎エピソードごとに肺炎球菌株が異なっていた。さらに、急性中耳炎を兄弟で発症したすべての症例で、PCR法およびPFGE法により同一の菌株であることが示された。

【結論】薬剤耐性肺炎球菌による急性中耳炎の難治化は、薬剤耐性菌が除菌されずに、鼻咽腔に長期存在し、繰り返し感染を起こすのみでなく、鼻咽腔に存在する起炎菌株が変化しながら急性中耳炎を引き起こすとともに、兄弟間で菌株の伝播がおこると考えられる。そのため、従来の経験的なセフェム剤を用いた治療により薬剤耐性株が選択されていき薬剤耐性株がさらに伝播する可能性があり、急性中耳炎の難治化および集団発症の一因となるといえる。

*H. influenzae*におけるβ-lactamase非産生ABPC耐性、経口cephem耐性のPBP3変異および分子疫学的解析

琉球大学第一内科¹⁾、琉大附属病院 検査部²⁾

○久保田徹¹⁾、山本夏男¹⁾、當山真人¹⁾、新里 敬¹⁾、健山正男¹⁾、斎藤 厚¹⁾、仲宗根 勇²⁾、山根誠久²⁾

【key words】*Haemophilus influenzae*, PBP, 耐性

【目的】近年、*H. influenzae*のβ-lactamase非産生のABPC耐性株(BLNAR)において経口セフェムに対して耐性を獲得した株が増加してきている。耐性に関わるとされるPBP3のアミノ酸変異カ所は選択・誘導する薬剤の使用状況の違いから地域差の存在も推察される。その検証のため、南九州耐性菌研究会より提供された株を用いて検討した。

【材料と方法】供試菌株：コントロール株としてATCC49766、ATCC49247 (BLNAR)、臨床分離株のBLNARを用いた。薬剤感受性試験：NCCLSの標準法に準じた微量液体希釈法。対象薬剤はABPCを含み経口セフェム薬をあわせて11薬剤。β-lactamase産生試験：ニトロセフィン法。遺伝子解析：PBP3のtranspeptidase領域をDNA sequencingにより遺伝子配列を決定し、アミノ酸配列にtranslationしたのち比較検討。

【結果】沖縄県分離株ではABPC耐性株ではアミノ酸番号526 Asn→Lys, 547 Val→Ile, 569 AsnSerが共通しており、経口セフェムの耐性を獲得した株では、さらに377 Met→Ile, 385 Ser→Thr, 389 Leu→Phe, 562 Val→Leuの変異が加わり共通していた。南九州分離株においても経口セフェムの耐性を獲得した、沖縄県分離株と同様なアミノ酸変異のパターンの株を認めた。また517 Arg→His, 547 Val→Ileの異なるハターンの変異を有する、ABPCのMICが1 μg/mlの株が存在していた。

【考察】PBP3 transpeptidase領域のアミノ酸変異のハターンから、ある特定のカ所の遺伝子変異が増すことで、BLNARはセフェム耐性を獲得しているものと考えられる。このような株において、フィンガープリンティング法によるクローンの違いについても今回あわせて検討する予定である。

ブドウ球菌属のVCM,TEIC,ABKに対する年次的薬剤感受性推移

- 1) 佐賀医科大学附属病院検査部 2) 同内科
3) 福岡大学医学部微生物学

○永沢善三^{1,3)}、草場耕二¹⁾、田島 裕¹⁾、
青木洋介²⁾、永山在明³⁾

【Key words】ブドウ球菌属、年次的感受性推移、
グリコペプチド系薬剤

【目的】近年、セフェム系薬剤のみならずニューキノロン系薬剤、カルバペネム系薬剤にまで耐性を示すブドウ球菌属（特にMRSA）が増加している。さらに、およびMRSA感染症治療の特効薬であると言われているvancomycin (VCM), teicoplanin (TEIC)についてブドウ球菌属に対する薬剤感受性の現状を調査することは、ブドウ球菌感染症治療において重要であると考え報告する。

【方法】当院で分離された1998、1999年度の臨床材料由来ブドウ球菌属を対象とした。薬剤感受性試験は日常検査で実施した成績（日本化学療法学会標準法に準じた微量液体希釈法）をもとに解析を実施した。なお、日常検査データ使用のため解析濃度は ≤ 0.5 、1、2、4、8、 $> 8 \mu\text{g/ml}$ の6段階にて実施した。

【結果】ABKではMIC： $> 8 \mu\text{g/ml}$ を示した菌株は1998年度3株、1999年度7株であり、その多くはMRSAで認められた。VCMについては1998、1999年度のブドウ球菌はすべて $\leq 4 \mu\text{g/ml}$ で発育阻止が認められた。TEICではMIC： $> 8 \mu\text{g/ml}$ を示した菌株は1998（12株）、1999（18株）年度ともにCNSで認められ、その大部分は*S.epidermidis*であった。なお、臨床材料からのブドウ球菌属の分離率は、1998,1999年度ともに約25%であり、また外来・入院患者由来の分離率においても両年度での差は見られなかった。さらに2000年度の成績も追加検討している。

【結論】ブドウ球菌属のうち、特に*S.epidermidis*においてTEIC耐性化傾向が認められた。なお、MRSAにおいてはVCM、TEICにおいて低感受性株が認められなかったが、この理由には接種菌量の問題がある可能性も諸家の報告より指摘されているため、さらに検討を加えている。

グリコペプチド系抗菌薬低感性 *Staphylococcus epidermidis* 検出の患者背景について

天理よろづ相談所病院 臨床病理部

○相原雅典、島川宏一、小松方、岩崎瑞穂、
長坂陽子

【Key word】 CNS 感染、グリコペプチド薬低感性、菌血症

【目的】Vancomycin 低感性Methicillin 耐性黄色ブドウ球菌（以下VISA）感染症の報告は内外で散見されている。当院においてもグリコペプチド系抗菌薬低感性コアグラウゼ陰性ブドウ球菌（以下VICNS）感染は少数あり、その患者背景について調査した。

【方法】1998年1月から2001年1月の間に菌血症例から分離されたコアグラウゼ陰性ブドウ球菌の中で、Teicoplanin (TEIC) に $16 \mu\text{g/ml}$ 以上のMIC (E-Test[®]: AB BIODISK[™]) を示した6症例を対象とし、カルテ検索により基礎疾患、経過中併発した感染症、投与された抗菌薬および治療期間等を調査した。

【結果】患者は0~84才（平均43才）、男2、女4であった。患者はすべて基礎疾患を有し、4名は血液造血器疾患、他は脳梗塞と急性心筋症であった。分離菌はすべて*S.epidermidis*で、TEICのMICは $16 \mu\text{g/ml}$ 3株、 $32 \mu\text{g/ml}$ 2株および $64 \mu\text{g/ml}$ 1株であった。*S.epidermidis*は4例の複数検体より分離され、うち1例は10回以上血液より検出された。また2例の患者はMRSA感染が先行し、1例は27病日、他は60病日断続的にグリコペプチド系抗菌薬投与がなされていた。3例はカテーテル感染があり、1例は敗血症起炎菌とされたが、2例は汚染菌と考えられた。

【考察】VICNS感染はコンプロマイズホストに好発し、その治療はMRSA感染症治療以上に難治となる可能性がある。今後本症は増加する可能性があり、厳重な監視が必要であると思われる。

臨床材料からの多剤耐性グラム陽性球菌の分離状況と 抗菌薬感受性について

順天堂大学附属病院 臨床検査部

○小栗豊子, 中村文子, 三澤成毅

同 医学部 臨床病理

猪狩 淳

【Key words】 Teicoplanin 耐性 *Staphylococcus*, penicillin 耐性 *Streptococcus pneumoniae*, linezolid

【目的】近年, *Staphylococcus* や *S. pneumoniae* などのグラム陽性球菌で多剤耐性菌の増加が注目されている。一方, 新経口セフェムや第4世代セフェムにつづき, linezolid など多剤耐性菌の治療を目的とした新しい抗菌薬の開発も進められている。そこで1994年から2000年の7年間における臨床材料からのこれらの耐性菌について出現頻度の動向を調査し, 最近の分離株を用いてこれらの薬剤の抗菌力を検討した。

【材料および方法】多剤耐性菌の頻度は1994年から2000年までに当検査室でMicroScan WalkAway(デイド・ベ어링)を用いて検査した細菌検査データを集計した。*S. pneumoniae* の同定はオプトヒン試験により行い, 血清型別にはデンマーク製の型別血清を用いた。MIC測定は*S. pneumoniae* のペニシリン耐性株, *Staphylococcus* のTEIC耐性株, VCM低感受性株, *Enterococcus* を対象とし, 本学会標準法である微量液体希釈法により行った。薬剤はPCG, MPIP, VCM, TEIC, linezolid, IPM, CTX, CPR, CFP, CZOP, CFSL, CDTR, CFPN, FRPM, ABKなどを用いた。

【結果】*Staphylococcus* のTEIC耐性株(中等度耐性株を含む)は7年間を通じ約1%に認められ, CNS, 特に*S. haemolyticus* で高く, *S. aureus* ではまれであった。これらの株はメチシリン耐性株であり, 種々の材料から検出されたが, 呼吸器系でやや多かった。VCM低感受性株はまれであった。ABK耐性株も1%未満と低く, これはMRSAでやや多かった。ペニシリン耐性(中等度耐性株を含む)*S. pneumoniae* は年度とともに増加しており, 最近では約50%を占めていた。第3, 第4世代セフェム耐性株は少なかった。多剤耐性株の薬剤感受性では*Staphylococcus* ではlinezolid, ABK, VCMの抗菌力が優れていた。linezolidでは全菌株が2μg/ml以下で発育が阻止された。ペニシリン耐性*S. pneumoniae* ではVCM, TEIC, linezolidが優れ, 次いでIPM, CTX, CPR, CFSL, CFPN, CDTRなども優れていた。

過去12年(1989年~2000年)の消化器外科領域における分離菌検出状況と薬剤感受性

日本大学医学部第三外科

○原田智紀, 加藤高明, 佐藤毅, 大塚一秀,

中川良英, 潮るな, 伊藤裕美子, 岩永仁美, 岩井重富

【key words】 消化器外科, 分離菌, 感受性

【目的】過去12年間に日本大学板橋病院消化器外科病棟より検出された分離菌の検出率の推移を調べ, さらに分離菌の薬剤感受性について検討を行った。【対象と方法】対象とした検体は1989年から2000年の12年間の膿汁, 胆汁, 痰である。調査分離菌種としてCoagulase negative Staphylococci(CNS), MRSA, *E. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, anae GNR(嫌気性グラム陰性桿菌), *S. marcescens*の8菌種を選択した。さらに中央検査室で測定された薬剤感受性についても検討を行なった。【結果】膿汁では1997年からanae GNRの検出率が高くなっていた。anae GNRの検出率は1981年に60%と高値を示した後は, 20%から40%であったが, 1998年から50%以上を示した。胆汁では*P. aeruginosa*の検出率が1996年から40%前後と高かった。また, *S. marcescens*の検出率が1997年に10%以下から31%まで増加した。痰では*P. aeruginosa*とMRSAの検出率が各20%以上と高かった。薬剤感受性については菌種毎に報告する(1999年)。CNS 20菌株, MRSA 119菌株の90%以上はAMK, ABK, VCMに感受性を示した。*E. faecalis* 68菌株の内, ABPC, IPM, NFLXに感受性を示した株はそれぞれ95%, 88%, 66%にみられた。*E. coli* 20菌株では, CEZに感受性を示した株が90%にみられたがNFLXでは85%, PIPCでは60%に留まった。*K. pneumoniae* 21菌株でも, CEZに95%が感受性を示しCAZ, NFLXと同様な結果であったのに対し, PIPCには85%と感受性株がやや少なかった。*P. aeruginosa* 173菌株ではIPMに対し61%しか感受性を示さず, CAZに対して84%, PIPCに対して86%が感受性を示した。anae GNR 38菌株では, IPMに対して97%の菌株が感受性を示したが, CLDM, CMZ, OFLXに対しては65%, 65%, 31%と少なかった。*S. marcescens* 40菌株では, PIPC, NFLXに感受性株が22%, 17.5%と少なかったが, IPM, CAZ, AMK, GM, MINOSTには92%以上であった。【考察】膿汁ではanae GNR, 胆汁では*P. aeruginosa*, *S. marcescens*, 痰では*P. aeruginosa*とMRSAの検出率が高いことが今後とも予想される。薬剤感受性については今後ともデータを集積し, 使用抗菌薬との関係を調査していく。

最近2年間における感染症と糖尿病合併例についての検討

神奈川県衛生看護専門学校附属病院
内科¹⁾、検査科²⁾、外科³⁾

○桜井 馨、中澤 靖、松本文夫¹⁾
高橋孝行、辻原佳人²⁾、岡部紀正³⁾

【key words】糖尿病、壊疽、糖尿病と尿路感染

【目的】糖尿病患者は感染症に罹患しやすく、また、感染症が重症化し易いといわれている。今回我々は最近2年間における糖尿病の感染症併発例についてその頻度、感染部位、分離菌、治療および予後などについて臨床的検討を行った。

【方法】1998年12月より2000年11月までの2年間に当院受診の糖尿病患者401例について、感染症発症の53例について血糖値、HbA1c値、患者背景、発症部位、分離菌、および抗菌薬療法を検索した。

【結果および考察】糖尿病患者感染症例53例(13.2%)の内訳は、男性が23例(平均年齢68.7±11.4歳)、女性が30例(平均年齢67.1±13.7歳)であった。感染症61件中肺炎24件(36.3%)、尿路感染11件(16.9%)、敗血症および皮膚軟部感染症各8件(12.3%)、気管支炎6件(9.2%)、胆道感染3件(4.6%)、肺結核および髄膜炎各々2件(3.1%)、腹膜炎1件(1.5%)であった。

分離菌株は計53株で、内訳は *S.aureus* が4株(7.5%)、*MRSA*6株(11.3%)、*E.faecalis*3株(5.7%) *E.coli*10株(18.9%)、*P.aeruginosa*3株(5.7%)、*H.influenzae* および *M.tuberculosis* 各々2株(3.8%)であった。

発症時の平均血糖値は212±108mg/dl、HbA1c値は8.2±2.2%であった。使用抗菌薬数は敗血症および皮膚軟部組織感染では各々平均約3剤、肺炎、尿路感染および髄膜炎では平均約2剤が使用されていた。

死亡例は6例中男性、女性各々3例であった。疾患は複数感染5例、単独感染1例で敗血症および皮膚軟部組織感染は各々3件、肺炎および尿路感染は各々2件、気管支炎、胆道感染、髄膜炎は各々1件であった。

以上の成績より糖尿病患者は呼吸器感染、尿路感染および皮膚軟部組織感染を発症し易く、急速に敗血症に進展し、重症化する結果、予後不良傾向になる。平素より血糖のコントロールを心がけ、さらに発症早期より適確な抗菌薬療法指針をたてていくべきと思われた。

再発および治療抵抗性非ホジキンリンパ腫に対する塩酸イリノテカン(CPT-11)の使用経験

癌研究会附属病院 化学療法科

○杉山 勝紀、橋本 大吾、中根 実、入江 哲也、相羽 恵介、堀越 昇

【key words】非ホジキンリンパ腫、塩酸イリノテカン、salvage療法

【目的】再発および治療抵抗性非ホジキンリンパ腫に対する、塩酸イリノテカン(CPT-11)の治療効果、副作用につき検討した。

【対象、方法】対象症例は、1995年12月から2000年1月までに当科でCPT-11の投与を受けた、再発および治療抵抗性非ホジキンリンパ腫48例で、組織分類(Working Formulation)ではlow grade 8例、intermediate grade 36例、high grade 1例、その他3例であった。再発例は30例、治療抵抗例は18例で、前化学療法のレジメン数は1:2例、2:21例、3:14例、4以上:11例であった。投与方法は、CPT-11 40mg/m²/day 3日間連日点滴静注を1週間毎に2~3回くり返し、その後2週間休薬を原則とし、これを反復施行した。

【結果】評価可能例は45例で、CR2例、PR15例、奏効率37.8%、奏効期間の中央値64.0日、time to tumor progression (TTP)の中央値77日、median survival time (MST)422日であった。主な副作用は骨髄抑制と下痢、悪心・嘔吐などの消化器毒性で、Grade3、4の白血球数減少を63.0%に、ヘモグロビン値低下を30.4%に、血小板数減少を6.5%に認め、またGrade3、4の下痢を30.4%に認め、下痢のため3例で投与を中止した。他の副作用は軽度であった。副作用のため投与量の減量、投与間隔の延長、連続投与日数の短縮など何らかの投与方法の変更を必要とした症例が約2/3あり、至適投与方法の再検討の必要性が示唆された。

【考察】CPT-11は再発および治療抵抗性非ホジキンリンパ腫に対するsalvage療法としてその有用性が示唆され、今後、至適投与方法の再検討およびCPT-11を含む併用療法の検討が期待される。

再発乳癌に対するweekly taxol 療法の抗腫瘍効果と分子薬理学的検討

広島大学原爆放射能医学研究所・腫瘍外科
○金 隆史, 大崎昭彦, 小島 純, 峠 哲哉

(key words) 再発乳癌、Weekly taxol、化学療法

【目的】アンスラサイクリン系前治療を含む再発乳癌に対して、weekly taxol療法の抗腫瘍効果とその分子薬理学的検討を行った。(対象および方法) 前治療が無効となった再発乳癌18例を対象とし、最大前治療数は5レジメンであった。タキソール投与量は40, 60, 80 mg/m²とし1時間点滴静注で行った。60 mg/m²以下は毎週投与を原則とし、80 mg/m²では3投1休の4週間を1サイクルとした。血中濃度は、投与終了直後、3時間、24時間で測定し、投与期間中の血中HER-2濃度と臨床効果との関連性を比較検討した。(結果および考察) 平均施行サイクルは5.1で、全奏効率は、44.4% (CR 2例, PR 6例)で、奏効までの期間および奏効期間は、それぞれ1.8ヶ月, 4.3ヶ月であった。転移巣別奏効率は、肺、軟部組織および肝で、それぞれ42.8% (3/7), 50.0% (6/12), 33.3% (1/3)、骨での奏効例はみられなかった。副作用は、脱毛(100%)、白血球減少(88.8%)、顔面紅潮(66.6%)、浮腫(61.1%)、末梢神経障害(55.5%)、筋肉痛(38.8%)で、1例のgrade3の好中球減少を除き、全てgrade2以下であった。奏効率とdose intensityの間に相関関係はみられず、60 mg/m²/w 以下でも4例にPRが認められた。最高血中濃度は0.1~1.0 μMで、Cmax, AUCの増加は用量依存性にみられなかった。血中HER-2濃度(Shed抗原)は奏効例に高い傾向が認められた。以上から、weekly taxolの抗腫瘍効果発現には、薬理学的因子以外に آپトシス誘導などの分子生物学的機序、およびその効果予測に血中高HER-2の関与が示唆された。

インフルエンザ菌における AcrAB 様排出ポンプの役割について

京都薬大・微生物
○西野武志, 大槻雅子, 後藤直正

排出ポンプ、多剤耐性、AcrAB システム

【目的】インフルエンザ菌(*Haemophilus influenzae*) の AcrAB 様排出タンパク質は大腸菌の排出タンパク質 AcrAB と同様にマクロライド剤やノビオシン、エチジウムプロマイド等を排出する。また、AcrAB 排出システムは RND ファミリーに属し、3つのコンポーネントで機能していると考えられる。今回、私共は AcrAB 様排出システムにおけるマクロライドの耐性について検討し、さらにまだ同定されていない外膜コンポーネントの探索を行った。

【材料および方法】*H. influenzae* ATCC10211 の *acrAB* 遺伝子を pUC18 にクローニングした後、そのベクターの *acrAB* 遺伝子中にカナマイシン(KM)耐性遺伝子を挿入した。次に、この領域を制限酵素により切断し、*H. influenzae* の細胞内に取り込ませて相動的組み替えにより *acrAB* 遺伝子欠損株の作製を行った。また、*H. influenzae* ゲノムデータベースより AcrAB 排出システムの外膜コンポーネントである *tolC* 遺伝子と相同性をもつ遺伝子の検索を行った。同様の方法で相同性の高い遺伝子内に KM 耐性遺伝子を挿入することにより、欠損株を得た。

【結果および考察】*acrAB* 遺伝子欠損株に対するマクロライドの感受性測定を行ったところ、使用した 14,15,16 員環マクロライドおよびケトライドに対していずれも 4~16 倍の感化が見られ、特に 16 員環マクロライドに対する基質特異性が高いことが分かった。

また、*tolC* 遺伝子と高い相同性を示した HI1462 遺伝子欠損株の MIC 測定を行ったところ、*acrAB* 遺伝子欠損株と同様の MIC を示した。これらの結果から、HI1462 は AcrAB 排出システムの外膜コンポーネントであると考えられる。

(会員外共同研究者：中奥 尚泰)

化膿性髄膜炎例から分離されたインフルエンザ菌のβ-ラクタム系薬の耐性化の解析

市中感染症研究会¹⁾、北里大学医学部感染症学講座²⁾、(財)微生物化学研究所³⁾

○柴崎 有美¹⁾、千葉 菜穂子¹⁾、長谷川 恵子¹⁾、野々山 勝人²⁾、砂川 慶介²⁾、生方 公子³⁾

【key words】化膿性髄膜炎、インフルエンザ菌、遺伝子解析

【目的】私達は呼吸器系感染症において急速に増加しているβ-ラクタマーゼ非産生 ABPC 耐性インフルエンザ菌 (BLNAR) の耐性機構を解析し、その耐性化には隔壁合成酵素である PBP3 をコードする遺伝子 (*ftsI*) 上に生じたいくつかの変異が重要であることを明らかにしてきた。

呼吸器系感染症からの BLNAR の増加と平行し、化膿性髄膜炎由来のインフルエンザ菌においても、耐性菌の増加が懸念されたことから、全国 180 施設の病院細菌検査室に参加を募り、昨年 11 月から「化膿性髄膜炎・全国サーベイランス」活動を開始した。収集株について、薬剤感受性の測定と同時に、*ftsI* 遺伝子解析、薬剤作用時の経時的殺菌効果について検討を行い、感性菌と BLNAR の違いを明らかにしたので報告する。

【方法】今までに各施設から送付を受けた髄膜炎由来のインフルエンザ菌は 91 株である。これらの菌株は PCR 法によって TEM 型 β-ラクタマーゼ産生性、*ftsI* 遺伝子上の 2 箇所の変異、および P6 蛋白遺伝子の検出を行った。薬剤感受性は注射薬 6 薬剤について寒天平板希釈法によって測定、さらに disk 法での識別についても ABPC, CCL, CFDN, CPDX 等の disk を用いて検討した。BLNAR と識別された菌株については、さらに *ftsI* 遺伝子を解析した。また、BLNAR については治療に使用される β-ラクタム系薬作用時の経時的殺菌効果についても検討した。

【結果と考察】検出菌の内訳は感性株が 31.8%、β-ラクタマーゼ産生株が 29.7%、軽度耐性 BLNAR (CTX の MIC: 0.031~0.125 μg/ml) が 26.4%、*ftsI* 遺伝子上に耐性に関わる 2 箇所の変異を有する BLNAR (CTX: 0.25 μg/ml 以上) が 4.3% 認められた。その他に β-ラクタマーゼ産生 + PBP3 遺伝子変異株が 6.5% 確認された。また、すべての株が血清型は type b であった。BLNAR に対しては PIPC, CTRX あるいは MEPM の抗菌力が比較的優れてはいたが、殺菌力は著しく低下していた。

インフルエンザ菌性髄膜炎の治療に際しては、今後 BLNAR の存在も考慮した薬剤の選択が必要である。

PCR 法による急性中耳炎におけるペニシリン耐性肺炎球菌および 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の検討

1) 和歌山県立医科大学耳鼻咽喉科学教室

2) 財団法人微生物化学研究所 3) 帝京大学名誉教授

○酒井章博¹⁾、保富宗城¹⁾、島田 純¹⁾、藤原啓次¹⁾、生方公子²⁾、紺野昌俊³⁾、山中 昇¹⁾

【key word】PCR 法、ペニシリン耐性肺炎球菌、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、急性中耳炎

【目的】急性中耳炎は小児期にもっとも頻繁に罹患する感染症である。インフルエンザ菌および肺炎球菌は起炎菌の一つとされ、ペニシリン系抗菌薬に良好な感受性を示したため、急性中耳炎の臨床経過は良好であり、抗菌薬により短期間に治癒していた。しかし、近年ペニシリン耐性肺炎球菌および 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) の出現に伴い急性中耳炎の難治化が問題となっている。

【方法】小児急性中耳炎患者 (1.5 歳~8 歳) の鼻咽腔から分離されたインフルエンザ菌および肺炎球菌を用いた。薬剤感受性は最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法にて行った。また、PCR 法によりインフルエンザ菌の外膜蛋白 p6 遺伝子、TEM 型 β-ラクタマーゼ遺伝子 (*bla* 遺伝子)、*pbp3* 遺伝子および肺炎球菌の自己溶解酵素遺伝子 (*lytA* 遺伝子)、*PBP* 遺伝子 (*pbp1a* 遺伝子、*pbp2x* 遺伝子、*pbp2b* 遺伝子) の検索を行った。

【結果】インフルエンザ菌においては、β-ラクタマーゼ産生株が 11.4% に、*pbp3* 遺伝子に変異株 (BLNAR) が 22.9% に検出された。一方、*bla* 遺伝子の発現を認めず *pbp3* 遺伝子変異を認めない感性菌は 65.7% に検出された。肺炎球菌に関しては、*pbp2x* 遺伝子のみの変異が 25.0% に認められ、*pbp1a* 遺伝子、*pbp2x* 遺伝子、*pbp2b* 遺伝子のすべてが変異した PRSP は 33.3% に認められた。

【結論】起炎菌の薬剤耐性化にともなう急性中耳炎の難治化においては、起炎菌の供給源である鼻咽腔における薬剤耐性菌の動向が注目される。今回、BLNAR は急性中耳炎患児の 23% にみとめられ 1 歳前後の乳幼児に多く分離された。一方、PRSP は 33% に認められ他の β-ラクタム剤に対しても交叉耐性を示した。そのため、今後低年齢における難治性中耳炎に注意を要するとともに、元来使用可能な経口抗菌薬の少ない小児においては、選択可能な薬剤が限定されるとともに耐性の頻度や感染の重症度に応じた治療法の選択が必要と考える。

小児の血液・髄液から分離された
*Haemophilus influenzae*の抗菌薬感受性

旭川厚生病院小児科
○坂田 宏

[key words] *Haemophilus influenzae*, 薬剤感受性, 髄膜炎

[対象および方法] 1999年から2000年までの2年間に旭川厚生病院ないし北海道内の小児科施設に入院した小児患者の血液・髄液から分離された*H. influenzae*10株を検討した。患者の年齢は生後26日から5歳であった。疾患は髄膜炎7名、肺炎2名、喉頭炎1名であった。感受性は微量液体希釈法で最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。 β -lactamaseはnitrocephin法で検討した。

[成績] β -lactamase産生株は4株であった。MIC₅₀は非経口製剤ではABPC 0.5 μ g/ml (0.125-32 < μ g/ml)、SBT/ABPC 1 μ g/ml (0.25-2 μ g/ml)、MEPM 0.06 μ g/ml (0.03-0.125 μ g/ml)、IPM 0.25 μ g/ml (0.25-1 μ g/ml)、CTX \leq 0.015 μ g/ml (\leq 0.015-0.06 μ g/ml)、CAZ 0.06 μ g/ml (0.03-0.125 μ g/ml)、CZOP 0.125 μ g/ml (0.06-0.25 μ g/ml)、FMOX 0.5 μ g/ml (0.25-4 μ g/ml)であり、経口製剤ではCDTR \leq 0.03 μ g/ml (\leq 0.03-0.06 μ g/ml)、CCL 4 μ g/ml (2-16 μ g/ml)、CFDN 0.5 μ g/ml (0.25-4 μ g/ml)、LVFX \leq 0.125 μ g/ml (\leq 0.125-0.125 μ g/ml)、CFPN \leq 0.03 μ g/ml (\leq 0.03-0.125 μ g/ml)、FRPM 0.25 μ g/ml (0.25-4 μ g/ml)であった。

髄膜炎7名の初期治療はCTX+ABPCで行われ、7名とも後遺症なく治癒した。呼吸器感染症の3名は第三世代cephem系抗菌薬で治癒した。

[考案] *H. influenzae*の重症感染症の治療にはCTX、MEPM、CAZが第一選択と考えられた。

研究協力施設

市立稚内病院小児科、市立士別病院小児科、名寄市立病院小児科、札幌徳州会病院小児科、遠軽厚生病院小児科、深川市立病院小児科

β -Lactamase negative ampicillin resistant
Haemophilus influenzae (BLNAR)に対する各種
抗菌薬のMICとpiperacillinの作用について

- 1)三菱化学ビーシーエル 化学療法研究室
 - 2)富山化学工業株式会社 総合研究所
 - 3)東北大学加齢医学研究所呼吸器腫瘍研究分野
 - 4)東北大学医学系研究科病態制御学講座分子診断学分野
- 雑賀威¹⁾、松崎薫¹⁾、長谷川美幸¹⁾、
小林寅詰¹⁾、高畑正裕²⁾、渡辺彰³⁾、賀来満夫⁴⁾

BLNAR, PBP, Piperacillin

【目的】近年、呼吸器感染症の主要起炎菌である*Haemophilus influenzae*において β -lactamase negative ampicillin (ABPC) resistant *H. influenzae* (BLNAR)の検出率の増加が臨床問題となっており、今後の更なる増加や治療への影響が懸念されている。今回我々は近年分離されたBLNARに対するpiperacillin (PIPC)の抗菌作用について詳細に検討を行った。

【方法】1998~2000年に全国の医療施設から送付された呼吸器感染症患者検体より分離したBLNAR 79株を用いた。MICの測定はNCCLSガイドラインM100-S9に準じた寒天平板希釈法にて実施した。また、MBCはNCCLSガイドラインM26-Aに従い測定した。BLNARのPBPと抗菌薬との結合親和性の解析は、Dargisらの方法に準じbiotin標識したABPCを用いて行った。

【結果および考察】BLNAR 79株に対するPIPCのMICは測定した β -lactam薬の中でもceftriaxone (CTRX)と同等で極めて強い抗菌活性を示した。すなわち、MIC₅₀およびMIC₉₀は0.12および0.5 μ g/mL、MIC rangeは \leq 0.06~1 μ g/mLであった。これらの中から10株を選定しPIPC、CTRXおよびABPCのMBCを測定した結果、各薬剤のNCCLSによるMICのcriteriaを代用してSと分類された株はPIPCで8株、CTRXで10株、ABPCでは全く存在しなかった。これらのBLNARの一部の株についてPBPの解析を行った結果、PBP3Aに対する結合親和性の低下が確認された。

以上の結果からPIPCはBLNARに対し注射用 β -lactam薬の中でもCTRXと同様強い抗菌活性ならびに殺菌作用を有し、その作用はPBPに対する高い結合親和性によるものと推測された。

BLNAR に対する PIPC の抗菌活性

富山化学工業株式会社総合研究所¹, 研究開発センター²

○水永真吾¹, 山田尚¹, 濱田朱美子¹, 満山順一¹,
南新三郎¹, 渡辺泰雄²
淀川キリスト教病院小児科
森川嘉郎

BLNAR, 小児化膿性髄膜炎, PIPC

【目的】BLNAR は, 近年 CTX に対する感受性が低下してきており, 本菌による小児化膿性髄膜炎治療に苦慮する場合が考えられる。そこで, インフルエンザ菌に対して良好な抗菌活性を有する PIPC の臨床分離の BLNAR に対する抗菌活性を測定し, BLNAR 性小児化膿性髄膜炎治療薬としての可能性について検討したので報告する。

【材料および方法】使用菌株として, 1995 年~2000 年に臨床より分離された BLNAR (ABPC : MIC \geq 2 μ g/mL, β チエック陰性)69 株に対する PIPC, CTX, CTRX の MIC を, NCCLS 標準法に準じ, HTM 培地を用いた微量液体希釈法で測定した。また, 一部の菌株については, PIPC と CTX との併用効果をチェッカーボード法で検討した。

【結果】BLNAR に対する PIPC の MIC₉₀ は 0.25 μ g/mL であり, CTRX と同等で, CTX (1 μ g/mL), ABPC (4 μ g/mL) より小さかった。また, PIPC, CTX, CTRX 及び ABPC の MIC の相関性を調べたところ, CTX-CTX では正の相関性が認められたが, PIPC-CTX, PIPC-CTX, PIPC-ABPC, ABPC-CTX 及び ABPC-CTX では明確な相関性が認められなかった。CTX の MIC が 0.5~2 μ g/mL の 32 株のうち, 27 株は PIPC の MIC が 0.125 μ g/mL 以下であった。また, PIPC と CTX の併用効果を検討した結果, 拮抗作用は認められなかった。

【考察】PIPC は, BLNAR に対し, 小児髄膜炎治療の選択薬である ABPC, CTX よりも強い抗菌力を示し, また両剤と耐性が交叉しない株が認められた。さらに, PIPC と CTX 併用時に拮抗作用も認められなかったことから, PIPC は, BLNAR 性小児髄膜炎に対する治療薬としての可能性が考えられた。

県立広島病院で分離されたインフルエンザ菌の薬剤感受性

県立広島病院臨床研究検査科¹, 同呼吸器内科²
県立安芸津病院臨床検査科³

○藤上良寛¹ 桑原正雄² 清水里美¹
粟屋幸一² 室木邦生³

【Key Words】インフルエンザ菌, β -ラクタマーゼ, BLNAR

【目的】県立広島病院におけるインフルエンザ菌の耐性状況を知る目的で薬剤感受性を検討した。

【対象および方法】1999 年 1 月から 12 月までに当院小児科由来のインフルエンザ菌 84 株を対象とした。薬剤感受性は ABPC, SBT/ABPC, CCL, CFDN, CPDX, CDTR, CFPN, FRPM, CLDM, MINO, EM, LVFX の 12 薬剤について本学会標準法に基づく微量液体希釈法により MIC を測定した。 β -ラクタマーゼ産生能はクロモジェニックセファロスポリン (ニトロセフィン) 法を用いた。

【結果】検討 84 株における β -ラクタマーゼ産生株は 10 株 (11.9%) で, その ABPC の MIC は 2~32 μ g/ml に分布していた。このうち 9 株は SBT/ABPC の MIC が \leq 4 μ g/ml で発育を阻止したが, 1 株は 8 μ g/ml にとどまった。一方, β -ラクタマーゼ非産生株は 74 株にみられ, この中で ABPC の MIC \geq 2 μ g/ml を示す株を BLNAR 株とした。その分離頻度は 74 株中 12 株 (16.2%) を占め, 全体 (84 株) では 14.3% であった。他の薬剤の BLNAR 株に対する抗菌力は, LVFX, CDTR, CFPN が良好な抗菌力を示した。しかし, β -ラクタム剤では感性株に比べ, BLNAR 株に対する MIC 分布は耐性側へシフトする傾向がみられた。

【結語】当院における小児由来の耐性インフルエンザ菌は β -ラクタマーゼ産生株, BLNAR 株をあわせると 3 割近くを占めていた。さらに, BLNAR 株は β -ラクタム剤に対しても耐性化の傾向がみられることから, 今後の動向に注意が必要と思われた。

現在, 20 年間の保存株について薬剤感受性の検討を行っており, この成績もあわせて報告する予定である。

Haemophilus influenzae に対する meropenem と比較β-ラクタム系抗菌薬の *in vitro*, *in vivo* 抗菌力
東邦大学医学部微生物学教室

○藤川利彦、宮崎修一、山口恵三

H. influenzae、注射薬、感染モデル

【目的】近年β-ラクタマーゼ産生および非産生アンピシリン耐性 (BLNAR) *H. influenzae* の増加が問題となっている。これらによる気管支肺炎において、重症化した患者や経口薬の服用が困難な患者では注射薬の投与が必要となる。そこで今回、最近分離された株に対し、meropenem(MEPM)をはじめとするカルバペネム系薬を中心にMIC測定および *H. influenzae* 感染モデルでの治療効果を比較検討した。

【方法】東邦大学医学部付属大森病院で臨床材料から分離された *H. influenzae* 株に対する *in vitro* 抗菌活性を日本化学療法学会標準法に従い測定した。また、CBO 法を用いた動物実験用には呼吸器感染症患者由来のアンピシリン感性株 TUM8 株と BLNAR TUH267 株を使用した。MEPM の対照抗菌薬として、imipenem、panipenem、biapenem、cefotaxime (CTX) および ampicillin を使用した。

【結果および考察】アンピシリン感性菌に対する MEPM の MIC₉₀ は 0.125 μg/ml であり、本剤の抗菌力は CTX の 8 分の 1 であるが、他の比較抗菌薬の 4 倍以上であった。また、β-ラクタマーゼ産生菌および BLNAR 菌に対する MEPM の抗菌力 (MIC₉₀:0.5 μg/ml) は共に、CTX と同等かやや強く、他のカルバペネム系薬およびアンピシリンの 16 倍以上であった。アンピシリン感性株および BLNAR 株感染モデルでの治療効果は、CTX が最も優れた治療効果を示した。次いで、MEPM が優れた治療効果を示し、特に BLNAR 感染モデルでは CTX 治療群と同等であった。今後、CTX 耐性 *H. influenzae* 菌の出現した場合や PRSP との複数菌感染症に対して、カルバペネム系薬中でも MEPM の有効性が期待される。

新潟県中越地区に於ける肺炎球菌、インフルエンザ菌、緑膿菌の薬剤感受性に関する検討
長岡中央総合病院¹、長岡赤十字病院²、立川総合病院³、新潟大学医学部第二内科学教室。

○村山直也¹、中嶋治彦¹、岩島明¹、高橋英雄¹、
佐藤和弘²、森迫隆弘³、山口美沙子³、塚田弘樹⁴

抗生物質、薬剤感受性、微量液体希釈法

(目的) 薬剤耐性が注目されている 3 種類の細菌につき、地域中核病院である長岡市の 3 病院において分離された臨床株に対し薬剤感受性を検討した。

(方法) 2000 年 3 月から 5 月に分離された肺炎球菌、インフルエンザ桿菌、緑膿菌の臨床分離株を対象とし、日本化学療法学会標準法に基づく微量液体希釈法により MIC 測定を行った。測定薬剤はカルバペネム系、セフェム系、ペニシリン系、キノロン系等 12 剤とした。

(結果) 肺炎球菌 (n=56) のペニシリン耐性率は、PISP 42.9%、

PRSP 7.1%、であった。

PISP、PRSP28 株に対する耐性率は、カルバペネム 3 剤は 0%、CZOP 3.6%、CFPM 3.6%、CAZ 92.3%、CAM 39.3% 等であった。

インフルエンザ桿菌 (n=76) の ABPC 耐性率は、β-ラクタマーゼ産生 ABPC 耐性菌 7.9%、β-ラクタマーゼ非産生 ABPC 低感受性菌 (BLNAR) 18.4% であった。

薬剤の MIC₉₀ (単位 μg/ml) は、MEPM 0.25、IPM 2、PAPM 2 であり、MEPM が優れた抗菌活性を有した。

緑膿菌の薬剤に対する耐性率 (NCCLS の判定基準) は、MEPM 3.0%、CZOP 5.2%、CFPM 7.4%、CAZ 7.4%、IPM 10.4%、TOB 11.9%、PAPM 20.0%、CPFX 26.7% であった。

(考察) 肺炎球菌に関しては他報告と比し PISP 比率が高く、PRSP 比率は低かった。耐性率は CAZ、CAM、CTM 等で高いが、他報告に比して LVFX が高い感受性を有した。

インフルエンザ桿菌の薬剤感受性は、MEPM、CTRX、LVFX、S/C が優れていた。BLNAR の検出率は 18.4% であった。

緑膿菌の耐性率は低率であり、薬剤感受性も良好であった。

インフルエンザ菌に於いては BLNAR 分離率には季節変動が見られる傾向もあり、継続的に検討を続けたい。

大阪における肺炎球菌とインフルエンザ菌の薬剤感受性についての検討

北摂総合病院 小児科、¹⁾ 大阪労災病院 小児科、²⁾ 株式会社エスアールエス

○杉田久美子、西村忠史、川村尚久¹⁾、
保知戸和憲²⁾、坂上伸哉²⁾

【key words】肺炎球菌、インフルエンザ菌、
薬剤耐性

【目的】肺炎球菌とインフルエンザ菌は呼吸器感染症の主要病原菌で、近年耐性菌の増加が指摘されている。今回、これら2細菌に対する抗菌薬の耐性化を把握するため、薬剤感受性を検討した。

【方法】2000年7月から12月の間、大阪府に位置する4施設で、呼吸器感染症患者より分離された肺炎球菌39株とインフルエンザ菌59株について化学療法学会に定められた方法に準じ微量液体希釈法にてMICを測定した。

【結果】肺炎球菌39株のPCGに対する感受性分布は $\leq 0.03 \mu\text{g/ml}$ から $4.0 \mu\text{g/ml}$ の範囲で0.06、 $1.0 \mu\text{g/ml}$ をピークとした2峰性であった。PSSPは16株(41.0%)、PISPは17株(43.6%)、PRSPは6株(15.4%)であった。PISP, PRSPの耐性肺炎球菌は23株で、全体の59%であった。PAPM, FRPM, VCMの感受性分布はそれぞれ $\leq 0.03 \mu\text{g/ml}$ から $0.5 \mu\text{g/ml}$ 、 $\leq 0.03 \mu\text{g/ml}$ から $1.0 \mu\text{g/ml}$ 、 $0.25 \mu\text{g/ml}$ から $1.0 \mu\text{g/ml}$ で、今回検討した抗菌薬の中で最も良い抗菌力を示した。またCDTR, LVFXのMIC₉₀は $1.0 \mu\text{g/ml}$ 、ABPC, CTX, CZOPのMIC₉₀は $2.0 \mu\text{g/ml}$ 、そしてCCL, EMのMIC₉₀は $128 \mu\text{g/ml}$ であった。インフルエンザ菌59株のABPCに対する感受性分布は $0.12 \mu\text{g/ml}$ から $128 \mu\text{g/ml}$ で、 $0.25 \mu\text{g/ml}$ と $1.0 \mu\text{g/ml}$ にピークを認めた。59株中47株(79.7%)がABPCに対し感受性を、6株(10.2%)が中等度耐性、6株(10.2%)が耐性であった。MIC₉₀で他の抗菌薬感受性をみると、CDTRが $0.12 \mu\text{g/ml}$ で最も抗菌力が良く、次いでCTM($0.5 \mu\text{g/ml}$)、AZTとPAPM($1.0 \mu\text{g/ml}$)、SBT/ABPC($2.0 \mu\text{g/ml}$)で、CCLは $64 \mu\text{g/ml}$ であった。

【まとめ】1998年度の肺炎球菌の耐性率は74.3%であり、今回の結果では耐性率は低下していた。その理由を考えるには患者背景、使用抗菌薬や血清型についての検討が必要と思われる。インフルエンザに菌については β -lactamase産生も検討し、報告する。

化膿性髄膜炎例から検出された肺炎球菌の細菌学的解析

北里大学医学部・感染症学講座¹⁾、市中感染症研究会¹⁾、(財)微生物化学研究所³⁾

○野々山 勝人¹⁾、長谷川 恵子¹⁾、千葉 菜穂子²⁾、
生方 公子³⁾、砂川 慶介¹⁾

【Key Words】化膿性髄膜炎、肺炎球菌、遺伝子解析

【目的】近年、市中感染症例からのPRSPの検出が増加しているが、化膿性髄膜炎例から分離される肺炎球菌においても耐性菌の検出される割合が高くなっている。そのようなことから、私達は昨年11月に「化膿性髄膜炎・全国サーベイランス」活動を開始し、菌株の収集を行いその疫学調査を始めた。今までに送付を受けた菌株は57株であるが、これらについて細菌学的解析を行なった結果と、発症時の臨床所見について担当医より提供していただいた成績の一部について報告する。

【方法】57株についてはPCRによるPBP遺伝子の解析、血清型別、注射用 β -ラクタム系薬に対する感受性測定を実施した。

【結果と考察】57株の内訳は、遺伝子上変異のないPSSPが11株、PISPが23株(*pbp2x*変異:12, *pbp1a*変異:2, *pbp2b*変異:2, *pbp1a+pbp2x*変異:4, *pbp2x+pbp2b*変異:3)、PRSPが23株(*pbp1a+pbp2x+pbp2b*)となっており、感性菌による髄膜炎例はほとんどみられなくなってきた。年齢分布をみると、3歳以下が33例(57.9%)、4~15歳が9例(15.8%)、15歳以上が15例(26.3%)で、小児のみならず成人例の多いことも注目された。PRSPは小児例で明らかに多く検出され、成人例ではPISPやPSSPが多かった。成人例においては劇症型と思われる症例が散見された。

小児から分離された菌の血清型は6型が最も多く、次いで23型、19型の順となっていたが、成人例からの菌では様々なタイプがみられ、23型、22型、ムコイド型の3型の他に、6, 8, 9, 10型が認められた。

PRSPに対する注射用 β -ラクタム系薬の抗菌力は、PAPMのMICが0.031-0.125, MEPMは0.125-1, CTXは0.5-4, ABPC, PIPC, CTMは1-8 $\mu\text{g/ml}$ であった。肺炎球菌による化膿性髄膜炎では、耐性菌である可能性と、薬剤の髄液中移行濃度も考慮した初期治療薬の選択が以前にも増して重要であることが示唆された。

肺炎球菌と同時に検出される
viridans streptococciの薬剤耐性

東京女子医科大学 感染対策科
○菊池 賢、井戸田一朗、日台裕子、
戸塚恭一、内山竹彦

Key words) ペニシリン耐性肺炎球菌、viridans streptococci

目的) 近年、世界中でペニシリン耐性肺炎球菌が大きな問題となってきた。肺炎球菌のペニシリン耐性遺伝子はペニシリン結合タンパクの変異であり、その起源としてviridans streptococciと想定されている。また、肺炎球菌に見られるマクロライド、テトラサイクリン、キノロン、クロラムフェニコール耐性などはviridans streptococciからも見出されている。肺炎球菌の耐性が急速に進んだ背景にはこうしたviridans streptococciの耐性化が影響していると思われる。そこで、肺炎球菌が検出される上気道検体につき、同時に検出されるviridans streptococciについて、各種抗菌薬に対する耐性を調査した。

方法) 2000年12月から2001年1月の1ヶ月間に東京女子医科大学中央検査部に提出された上気道検体のうち、肺炎球菌が認められた71件から同時に検出されたviridans streptococci 95株。ペニシリン耐性のスクリーニングはオキサシリン1 μ g diskによった。同定は主にrapid ID32 Strepを、感受性はEtestを用いた。

結果) 78株 (82.1%) にスクリーニングでペニシリン耐性が認められた。肺炎球菌では71株中67株 (94.5%) が耐性であった。viridans streptococciの菌種は*S.oralis/S.mitis*が41%と最も多く、次いで*S.parasanguinis* (20%), *S.sanguinis* (12%)であった。EtestによるMIC rangeはPCG 0.01-48 (MIC90: 8), CTRX 0.01-24 (MIC90: 6), CP 1-24 (MIC90: 6), EM \leq 0.01- >256 (MIC90: >256), TC 0.02-128 (MIC90: 64), VCM 0.125 -1.5 (MIC90: 1), TEIC 0.01-1 (MIC90: 0.38)であった。ペニシリン耐性 (MIC \geq 4)と判断された株は21株あり、12株 (57%) が*S.oralis/S.mitis*であった。

考察) 肺炎球菌と同時に検出される viridans streptococciについても肺炎球菌同様、耐性化が進んでいることが明らかになった。viridans streptococciと肺炎球菌との間の耐性機構の共有、耐性伝達について現在検討中である。

肺炎球菌に対する vancomycin の殺菌作用について

塩野義製薬株式会社 創薬研究所

○吉田 勇、木村 美司、地主 豊、東山 伊佐夫、
三和 秀明

【key words】 PRSP, MBC, VCM

〔目的〕我々は、肺炎球菌に対する vancomycin(VCM)の *in vitro* 抗菌力を評価する目的でペニシリン感性肺炎球菌 (PSSP)、ペニシリン低感受性肺炎球菌(PISP)ならびにペニシリン耐性肺炎球菌(PRSP)を用いて、VCMの殺菌作用などを検討したので報告する。

〔材料と方法〕1996年および1998年度に臨床分離された PSSP、PISPならびにPRSPの各々10株について、VCM、ampicillin(ABPC)、cefotiam(CTM)およびpanipenem(PAPM)のMIC(μ g/mL)とMBC(μ g/mL)を測定した。MICは、日本化学療法学会の微量液体希釈法に準じて測定した。MBCは、接種菌量の1/1000以下に殺菌した最小薬剤濃度をMBCとした。

〔結果と考察〕PSSP、PISPならびにPRSPに対するVCMの平均MBCは、それぞれ0.42、0.39、0.39となり、penicillin Gの感受性に拘らず一定した強い殺菌作用を示した。PRSPに対するABPC、CTM、PAPMの平均MBCは、それぞれ2.54、6.70、0.085であり試験した抗菌薬の中でPAPMが最も強い殺菌作用を示した。各薬剤におけるPRSPに対する平均MBCとPSSPに対する平均MBCの比は、ABPCでは51倍、CTM: 24倍、PAPM: 18倍と、VCMとは異なり大きく上昇していた。MICとMBCの関係と比較した場合、VCMでは乖離はほとんど見られず、PRSPを含めた全菌株に対するMBC/MIC比の平均値は1.03を示し、ほぼ一致していた。一方、ABPCにおける同比の平均値は1.87を示し、CTMでは1.41、PAPMでは1.23であり、VCMに比べ乖離の見られる株数が多かった。

以上、VCMは、PRSPを含む肺炎球菌に対して安定した強い殺菌効果を示し、またMICとMBCとの乖離がほとんど見られず、PRSP感染症に対する有効性が示唆された。

保育園児の上咽頭保菌状況とその対策

金沢大学医学部耳鼻咽喉科学教室

○伊藤真人

【Key words】ペニシリン耐性肺炎球菌、上咽頭細菌叢、保育園児、

【目的】近年、ペニシリン耐性肺炎球菌（PRSP）や、β-ラクタマーゼ非産生アンピシリン軽度耐性インフルエンザ菌（BLNAR）による遷延する小児気道感染症や反復する急性中耳炎の増加が臨床問題となっている。このような難治性急性中耳炎のリスク・ファクターとして集団保育、特に0歳児を扱う低年齢児保育が注目されている。しかし、保育園児の全てが難治性感染症になるわけではなく、保育園児におけるPRSPの保菌率と実際の臨床症状の発現との関係を知る必要がある。

【方法】今回我々は、同一保育園における鼻咽腔細菌検査を1年間にわたって合計3回施行し、これら耐性菌の感染経路や、乳幼児鼻咽腔の常在菌としての自然経過を検討した。対象は金沢市内にある、0歳児保育を行っているT保育園の園児約30名である。

【結果】3歳未満の保育園児の75～95%からPRSPが検出されるのに対し、職員からは肺炎球菌そのものが全く検出されなかった。入園後間もない0歳の乳児達からも、全例から耐性肺炎球菌が検出されておりこれら0歳児が集団保育の現場に入ると速やかに耐性肺炎球菌の感染の洗礼を受けるわけである。さらに同時に複数のタイプの肺炎球菌が保育園内に蔓延しており、特に顕著な感染症の流行がなくとも各園児間でそれらが次々と感染を繰り返していることが示された。

また、肺炎球菌の検出菌量と検鏡での白血球の浸潤像を比較すると、肺炎球菌が大量に検出されても白血球の浸潤像は著明ではなかった。しかし鼻・副鼻腔症状（膿性鼻漏）は高率にみられ、さらに既往歴からは肺炎や反復する急性中耳炎に罹患している園児が7～9%に上っていた。

この上咽頭のPRSPは経口抗菌剤単独では除菌は困難であることが多く、除菌を目的とする場合には、その他の併用治療法などの開発が望まれる。

抗菌薬使用時の上咽頭由来細菌の消長

1)東北労災病院小児科、2)耳鼻咽喉科
 の遠藤廣子¹⁾、高柳玲子¹⁾、
 末武光子²⁾、入間田美保子²⁾
 (財)微生物化学研究所
 生方公子

上咽頭細菌叢、PRSP、CDTR

【目的】乳幼児の気道感染症が遷延・重症化しており薬剤耐性菌の関与が大きい。臨床の場では投与薬の有効性の判断やsecond choiceの薬剤の決定に迷うことも多い。抗菌薬投与時の細菌叢の変化を検討した。

【方法】急性細菌性気道感染症の乳幼児13症例を対象とし、上咽頭ぬぐい液の細菌検査を施行した。CDTR投与前、投与中、投与終了時、中止1～2週間後に検体を採取し、(財)微化研にて検鏡、細菌分離培養、薬剤感受性の測定を行い、*S.pneumoniae*については耐性遺伝子の有無と血清型、*H.influenzae*については耐性遺伝子とβ-ラクタマーゼ産生能を調べ、それらから分離菌の同一性を調べた。臨床経過と菌の消長についても検討を行った。

【結果】①感性菌はCDTR投与により3～4日以内に消失・減少し臨床症状も軽快した。②抗菌薬投与による菌交代も同時に始まっていた。③PISP、PRSP12株のCDTRに対するMICは0.125～0.5 μg/mlであったが、CDTR投与終了時に除菌されていたのは4株のみであった。④CDTR投与中に出現した*S.pneumoniae*は3株（PRSP：2、ムコイド型PISP：1）で、CDTRに対するMICは0.063～1.0 μg/mlだった。⑤*H.influenzae*7株のうち4株は消失、3株は投与終了時も残存。1～2週間後には3例で再度出現していた。⑥除菌されなくても臨床症状が軽快する症例があった。遷延・重症化例では、菌量が減らないか、さらに高いMIC値を示す菌に交代していた。⑦上咽頭細菌叢構成菌は、抗菌薬投与前後で一見差がなかった。しかし詳細に追跡すると、分離菌はめまぐるしく変化しており、最終的に投与前から存在していた菌は36%にすぎなかった。

【考察】投与した抗菌薬の有効性の評価は3日目で行い、無効な症例については細菌検査が必須と考える。

呼吸器感染症や急性中耳炎例における上咽頭拭い液を用いた細菌検査時の検鏡所見の必要性

(財)微生物化学研究所¹⁾ 市中感染症研究会¹⁾,

○生方 公子^{1,2)}, 千葉 菜穂子¹⁾, 長谷川 恵子¹⁾,
柴崎 有美¹⁾, 紺野 昌俊¹⁾

〔Key Words〕上咽頭拭い液, population 解析, 検鏡所見
〔目的〕近年, 小児科, 耳鼻咽喉科領域の市中感染症例において, 遷延・反復する症例が増加している。これらの症例に対する細菌検査には, 咽頭拭い液, 耳漏, 鼓膜切開液などが使用されるが, 常在細菌が混入しやすく, しかも菌検出率が低いため, 起炎菌を特定し難いということがある。私どもはその補助的方法として, 上咽頭の細菌検査を勧めてきたが, 上咽頭は carrier focus となりやすい一面もあり, 菌の検出率は極めて高くなる反面, 検出されたからといって起炎菌と即断することはできない。そのようなことから, 上咽頭については菌検索を行なうと同時に, その拭い液から顕微鏡標本を作成し, 検鏡所見を実施することによって, 臨床経過と菌の消長との関係を解析したので報告する。

〔方法〕CDTR の市販後調査において, 小児科, 耳鼻咽喉科の外来を受診した上気道感染症例と急性中耳炎例を対象とし, 初診時と再診時に 2 回以上の細菌検査が施行された 161 例が解析された。送付を受けた上咽頭拭い液は, 2ml の broth に混釈後, 3,000rpm, 5 分間の遠心操作を行い, 上清を捨て去った後, 10 μ l の沈査をプレパラートを作成して検鏡に供した。上咽頭の検鏡については喀痰のように定まった方法がある訳ではなく, 種々の検討結果から, 多核白血球の浸潤像(-), (+), (++) , (+++) の 4 段階に区別することとした。また, フィブリンの析出が多くみられた場合も炎症所見ありと判定した。

〔結果と考察〕抗菌薬投与後の臨床所見と検鏡所見の経日的観察, および肺炎球菌, インフルエンザ菌の経日的推移との関係を population 解析すると, 臨床効果がみられる際には, 菌は持続して検出されていても, 多核白血球の浸潤像は消失していく傾向がみられた。臨床所見の改善しない例では多核白血球浸潤像は(++)程度と残存し, 菌量も不変であった。菌の側からみると, 肺炎球菌では PSSP や pbp2x 単独変異株,あるいはインフルエンザ菌では, 菌数は薬剤投与後 1-3 日間明らかに減少したが, 1 週間後位から再び増加する例もみられた。上咽頭, 咽頭のような気道の流通経路部位における細菌検査においては, 炎症所見の検討を含めた複数回以上の菌検査が必要である。

小児における遷延性、反復性上気道炎の実態について
—小児科医と患児の保護者を対象としたアンケート調査を中心にして—
一名鉄病院小児科

○中村はるひ、岩井直一

PRSP、遷延性、反復性上気道炎

〔目的・方法〕近年、小児科領域では PRSP が関与する感染症の増加が大きな問題となっている。現在のところ、重症の肺炎や化膿性髄膜炎等の重篤な症例が急増しているとの印象はないが、膿性鼻汁や湿性咳嗽が続いたり、一旦改善したかに思えても短時日のうちに反復する上気道炎については著しく増えている感じがある。そこで今回は、このような上気道炎の真の実態を把握するために、小児科医と患児の保護者を対象にして遷延性、反復性上気道炎に関するアンケート調査を実施したもので、その結果について報告する。〔結果〕①小児科医(439名)を対象としたアンケート調査によると、遷延性、反復性上気道炎の増加については、非常に増加が0.2%、かなり増加が11.8%、若干増加が47.4%で、全体の56.1%が増加しているとの回答であった。また、年齢的には1~3才児に多いとする者が圧倒的に多く、また遷延、反復する症状としては鼻汁、咳嗽をあげる者が多く、次いで発熱が多かった。さらに下気道感染への進展については、それほど多くないが大部分を占めていた。また、どのような基礎疾患を持つ小児に多いかの質問に対しては、気道過敏性やアレルギー体質をあげる者が最も多く、次いで、副鼻腔炎、扁桃・アデノイド肥大、虚弱、中耳炎等が多かった。②乳幼児の保護者(2488名)を対象としたアンケート調査によると、1~3才児では実に29.0~26.2%の者が膿性鼻汁の遷延、8.2%~6.7%の者が反復を経験しており、また咳嗽の遷延、反復についてはそれぞれ28.2~35.3%、8.4~9.6%との回答がえられた。なお、現在、気道過敏性、アレルギー性鼻炎、副鼻腔炎、保育園・幼稚園への通園、兄弟、中耳炎等の有無との関連について解析中であるので、この結果についても報告する予定である。〔結語〕小児の遷延性、反復性上気道炎は、小児科医を対象としたアンケート調査、患児の保護者を対象としたアンケート調査のいずれからみても非常に増えており、それへの対応が早急に考慮されなければならない状況にあると考えられる。

遷延性、反復性上気道炎の現況と治療について

名鉄病院小児科

○岩井直一、中村はるひ

PRSP、遷延性、反復性上気道炎

【目的・方法】近年、小児科領域ではPRSPが関与する感染症の増加が大きい問題となっている。現在のところ、重症の肺炎や化膿性髄膜炎等の重篤な症例が急増しているとの印象はないが、上咽頭炎や中耳炎、副鼻腔炎等の上気道炎では、膿性鼻汁や湿性咳嗽が続いたり、一旦改善したかに思えても短時日のうちに反復してくる症例が著しく増えているように思われる。そこで、当小児科における遷延性、反復性上気道炎の増加の実態について調査するとともに、1998年に経験した症例を中心にその背景、治療等について検討したので、その結果を報告する。【結果】①遷延例、反復例は、年令的には1～3才児(60.7%)に多く、喘息性気管支炎、気管支喘息等の気道過敏性や副鼻腔炎を基礎にもつ者に多かった。原因菌としては肺炎球菌が圧倒的に多く(症例の72.9%に関与)、しかもその95.1%がPRSPであった。②1991年と1998年の外来患者に占める割合を比較すると、遷延例は12.1%から26.2%に、また反復例は2.4%から11.4%に増加し、いずれも著しく増加していた。③下気道感染症入院患者の中で、上気道炎の遷延が原因で発症したと考えられた症例は1998年では40.9%で、1991年の16.7%に比べてかなり増加していた。しかし、大部分が中等症例で、重症例の増加はなかった。④PRSP関与例に対するCDTRの治療効果を検討した結果は、CDTR単独よりも臨床的にはAMPC、RKM、FOMの併用、細菌学的にはAMPCの併用の方が優れていた。【結語】小児での遷延性、反復性の上気道炎の著増が確認された。また、その原因としては、PRSPをはじめとする耐性菌の増加に加えて、気道過敏性等の基礎疾患を有する小児の増加も一因となっているのではないかと考えられた。さらに、治療については、まずはCDTRをはじめとする有効薬剤を効果をみながら色々変更するといった方法をとって、それがダメなら併用療法を試みたり、入院の上注射剤で対応するしかないのではないかと考えている。

テイコプラニンのネブライザー噴霧

共立薬科大学臨床薬学教室

○吉山友二

【key words】テイコプラニン、超音波ネブライザー、吸入療法

【目的】ネブライザー療法は、病変部位に薬剤が直接到達して効果を発現する局所療法という観点で理想的であり、各科領域において繁用されている。MRSA感染症に対するネブライザー療法にバンコマイシンが使用されてきた。本研究では、テイコプラニンのネブライザー療法を目的として、各種ネブライザー使用時における薬剤安定性、薬剤噴霧効率を比較検討した。

【方法】従来型超音波式ネブライザー(NE-U12:オムロン)、新規に開発された超音波ネブライザー(NE-U14:オムロン)およびコンプレッサー式ネブライザーNE-C13:オムロン)の3種吸入器でテイコプラニン試験液を噴霧し、薬剤安定性および薬剤噴霧効率を検討した。また、薬剤噴霧効率に影響を及ぼすと考えられるテイコプラニン試験液の粘度、表面張力と霧化量についても併せて検討した。

【結果】テイコプラニン試験液は、従来型の超音波式ネブライザーで噴霧が出来ず、高濃度ほど表面張力は減少した。新型の超音波ネブライザーにより薬剤噴霧効率97%で噴霧され、薬剤安定性も保持された。一方、コンプレッサー式ネブライザーでは噴霧されるものの、噴霧効率70%以下で、薬液層に残存薬を多く認めた。

【考察】テイコプラニンはMRSA感染対策に有用な薬剤であるが、噴霧不可能という未検証の情報の為、ネブライザー吸入療法は行われていない。従来からの超音波式ネブライザーで噴霧困難な原因として、表面張力が影響することが示唆された。新規に開発された超音波ネブライザーでは、高周波振動が可能となり、テイコプラニンを噴霧することを可能とした。また、噴霧効率も格段に向上していることが併せて明らかとなり、テイコプラニン吸入療法を実践する可能性が示唆された。抗生物質の吸入療法を漫然と実施することなく、吸入療法が必要とされる患者に新たな選択肢として活用することの意義は大きいことを強調したい。

(会員外共同研究:山本恵子、矢崎知子、菅家甫子)

抜歯など歯科観血処置時の感染予防について

東海大学医学部機能再建学系口腔外科¹⁾

三菱化学ビーシーエル化学療法室²⁾

○佐々木次郎¹⁾、金子明寛¹⁾、荒井育子¹⁾、
森 裕介¹⁾、大鶴光信¹⁾、
松崎 薫²⁾、小林寅詔²⁾

【Key words】 予防投与方法、抜歯時の一過性菌血症、体内動態

【目的】 抜歯など歯科観血処置時の抗菌剤予防投与方法でも血中から菌は検出される。経口抗菌剤でどの程度まで血液中から菌検出率が低下するか、これまで私達は検討し報告してきた。内服抗菌剤 amoxicillin (AMPC), lenampicillin (LAPC), faropenem (FRPM) および cefteterum pivoxil (CFTM-PI) を内服し、抜歯を行った際の静脈血からの検出率は AMPC 23.3%, LAPC 38.5%, FRPM 42.4% および CFTM 71.4% であった。血液からの検出菌は好気性菌が 56% を占め、そのうち Oral Streptococci が好気性菌の 55%、全検出菌の 31% であった。検討を行った内服抗菌剤では AMPC が最も優れていたが、更に菌検出率を低下させるためには、Cmax を上げる方法すなわち 1 回投与量の増量を検討する必要があると考えられた。そこで、AMPC 750mg 投与時の体内動態を検討するとともに、AMPC 750mg 予防投与時の抜歯時の血液培養陽性率について検討した。

【方法】 ①体内動態の検討: ボランティア 4 名に AMPC 750mg を単回投与し、15、30、45、60、90、120、240 および 300 分に血液を採取し血清中の薬剤濃度を測定し薬動学的解析を行った。②承諾を得た抜歯予定患者に予め AMPC 750mg の予防投与を行い、小外科手術中に静脈血を採取し BD 社の BACTEC PLUS AEROBIC/F[®]、ANAEROBIC/F[®] を用いて菌血症の発現率を検討した。

【結果】 ①体内動態: 4 名の TMAX は 1~2h, Cmax は 5.3~10.9 μg/mL, 平均のパラメーターは Tmax 1.6h, Cmax 8.02 μg/mL であった。②①の結果より内服後 90 分前後を中心に採取し、菌陽性率は 15% と AMPC 500mg の 23% より優れた成績であった。

【結論】 AMPC 750mg 単回投与は、消化器症状などの副作用も認めず、有用な予防投与方法と考えられた。

当院における抗菌薬使用量と薬剤感受性の推移
東京慈恵会医科大学付属病院感染制御チーム¹⁾、
同内科学講座²⁾

○吉川晃司^{1) 2)}、小野寺昭一¹⁾、柏木秀幸¹⁾、町田勝彦¹⁾、北村正樹¹⁾、堀野哲也²⁾、吉田正樹²⁾、柴孝也²⁾、細谷龍男²⁾

【key word】 薬剤感受性、MRSA、緑膿菌

【目的】 当院では H10 年 12 月に感染制御チーム (ICT) が発足し、院内感染に関する実践的な活動を行っている。耐性菌については、サーベイランスとして感染症発生患者数、菌検出数、薬剤感受性及び抗菌薬使用状況を調査している。今回、MRSA と緑膿菌に焦点を絞り、H10 年 7 月から H12 年 12 月までの 2 年 6 か月間における抗菌薬使用量と薬剤感受性の推移について検討したので報告する。

【対象・方法】 H10 年 7 月から H12 年 12 月までの 2 年 6 か月間を 6 か月間ごと 5 期に分け、I~V 期の推移を調べた。抗菌薬使用量は、使用ユニットすなわち各薬剤の総使用量 (力価) を 1 日の常用量の上限值で除した値で評価し、抗 MRSA 薬は ABK、VCM、TEIC の 3 剤、抗緑膿菌薬は PIPC、CAZ、CPR、CZOP、TOB、AMK、LVFX、IPM、PAPM、MEPM の 10 剤について検討した。MRSA、緑膿菌の薬剤感受性検査は当院細菌検査室にて WalkAway[®] にて MicroScan[®] Combo panel を用いて測定した。薬剤感受性の判定基準は NCCLS に準拠し、感受性 (S: susceptible) を示した株数の割合 (%) を算定した。

【結果】 抗 MRSA 薬使用量は、薬剤によって多少程度に差はあるが概ね減少傾向が認められた。抗緑膿菌薬ではカルバペネム薬が他の薬剤に比し増加傾向がみられた。薬剤感受性検査は、MRSA では VCM が 100%、ABK が 98~99% で調査期間中で変化は認められなかった。緑膿菌では PIPC: 87~91%、CAZ: 80~88%、CPR: 69~82%、CZOP: 86~90%、TOB、AMK 共に: 90~94%、LVFX: 76~84%、IPM: 64~76% で、調査期間中上記抗菌薬の中では IPM の感受性が最も低かった。なお ABK、CPR、CZOP、LVFX は IV、V 期のみの調査で、TEIC、PAPM、MEPM は調査期間中 Combo panel になく未検である。

【結語】 調査期間中に適正使用を促したことにより、抗 MRSA 薬は使用量の減少傾向が認められた。しかし緑膿菌においてカルバペネム薬の使用量の増加がみられ、他の薬剤に比して IPM の薬剤感受性の低下がみられた。今後、さらに抗菌薬使用と薬剤感受性の監視を推進していく必要があると考えられた。

(会員外共同研究者: 兼本園美、奈良京子、加藤 健)

埼玉医科大学付属病院におけるインфекション
コントロールの試み

埼玉医科大学 第一内科

○前崎 繁文、山口 敏行、山崎 勉、別所 正美

【key words】 インフェクションコントロール、ICD、ICT

【目的】近年、院内感染制御のためのインフェクションコントロールは多くの患者を有する大病院において極めて重要な課題である。埼玉医科大学付属病院も有床数1500余り、年間入院患者約55,000人の大病院であり、様々な疾患を有する患者における院内感染制御は重要となる。

【方法】平成11年10月より、埼玉医科大学付属病院ではインフェクションコントロールチーム（ICT）と感染制御リンクナースを主体としたインフェクションコントロールを行っている。具体的には毎日、中央検査部にてMRSAや多剤耐性緑膿菌などの薬剤耐性菌が分離された患者、また薬剤部ではバンコマイシンが投与された患者のリストを作成し、Infection Control Doctor (ICD)はリストアップされた患者の病棟に足を運び、各病棟の感染制御リンクナースや主治医とともに実際の院内感染対策を指示する。さらにICDはその指示をレポートを作成し、直ちに報告する。

【結果】平成11年10月～平成12年1月までにICDが病棟ラウンドした症例の集計は299例で、1ヶ月平均70例ほどの症例が対象となった。内訳はMRSA新規分離患者170例、セラチア分離例21例、多剤耐性緑膿菌15例、VRE分離例2例、バンコマイシン投与例80例、その他（結核菌排菌例など）11例であった。

【考察】大病院における入院患者はさまざまな基礎疾患を有しており、一度薬剤耐性菌が分離されれば、多くの患者に感染する危険性を有している。また、それぞれの患者は重症例が多く、マニュアルに従って院内感染対策を行えないことが現状である。そのためにもICDは個々の症例に対して、その現場に赴き、速やかに、かつ適切な院内感染対策を指導することが最も重要である。我々はこのような考えのもとにインフェクションコントロールを実践し、最終的には病院内における院内感染制御に貢献することを目指している。

MRSAに対するpanipenemとcephem系抗菌薬の
in vitro 併用効果

富士重工業健康保険組合総合太田病院小児科¹⁾

国立病院東京医療センター小児科²⁾

聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院小児科³⁾

北里大学医学部感染症学⁴⁾

○佐藤吉壮¹⁾、大石智洋²⁾、岩田 敏²⁾、

秋田博伸³⁾、山口禎夫⁴⁾、砂川慶介⁴⁾

【key word】 panipenem、MRSA、combination therapy
新生児領域のMRSA感染症は依然として問題であり、抗菌薬の選択には種々の方法が用いられている。今回、panipenem (PAPM)とβ-ラクタム系抗菌薬の併用効果について検討したので報告する。

使用菌株は各種臨床材料から分離されたMRSA10株を使用し、PAPMとcefotiam (CTM)、ceftazidime (CMZ)、cefotaxime (CTX)、ceftiofime (CPR)、ceftriaxone (CTRX)、cefazopran (CZOP)、flomoxef (FMOX)、sulbactam/ampicillin (SBT/ABPC)のβ-ラクタム系抗菌薬8剤を用いて単独でのMICおよび併用効果をチェッカーボード法により検討した。求められたFIC indexのうち、 ≤ 0.5 を相乗、 $0.5 < \leq 1.0$ を相加、 $1.0 < \sim \leq 2.0$ を不変、 $2.0 <$ を拮抗作用と判定した。

PAPMと各β-ラクタム系抗菌薬のFIC indexは、CTMでは、0.0781以下から0.531で平均0.223以下、CTRXでは0.188から0.563以下で平均0.407以下、CZOPでは0.258以下から0.75で平均0.481以下、CTXでは0.313から0.75で平均0.489以下、CPRでは0.375から1.0で平均0.546以下、SBT/ABPCでは0.313から1.0で平均0.615以下、CMZでは0.25から1.0で平均0.666、FMOXでは0.50から1.0で平均0.725の結果であった。FIC index平均値と相乗効果率 (synergism rate)の結果はほぼ一致していた。また、いずれの抗菌薬においてもFIC indexは不変、拮抗作用を示すものは認められなかった。

今回検討を行った8薬剤の中では、CTMが一番良好な成績を示した。臨床的にもPAPMとCTMの併用により良好な結果が得られることがしばしば認められ、本併用療法は有効と考えられる。

抗MRSA活性を有する抗菌薬の2000年臨床分離
Staphylococcus 属に対する抗菌力
 塩野義製薬株式会社創薬研究所

○木村 美司、吉田 勇、東山 伊佐夫
 三和 秀明

【key words】MRSA、MRSE、*S. haemolyticus*

【目的および方法】2000年に全国で各種臨床材料から分離された *Staphylococcus* 属 3 菌種 228 株について、抗MRSA活性を有するVCM、TEIC、ABK、STと日本では非発売品のquinupristin-dalfopristin合剤(QD)とlinezolidの6剤を用いて寒天平板希釈法で薬剤感受性を検討したので報告する。

【結果】*S. aureus* 128株の中でMRSA(MPIP MIC: $\geq 6.25 \mu\text{g/ml}$)の占める割合は78株(60.9%)であった。MRSAに対する測定薬剤の抗菌力は強く、MIC₉₀($\mu\text{g/ml}$)はVCM(1.56)、TEIC(1.56)、ABK(0.78)、ST(1.56)、QD(0.78)、Linezolid(3.13)であった。Linezolid低感受性株が2株認められたが、VCMをはじめとする他剤では、低感受性株を含め耐性株は認められなかった。

S. epidermidis 76株の中でMRSE(MPIP MIC: $\geq 0.39 \mu\text{g/ml}$)の占める割合は60株(78.9%)であった。MRSEに対するMIC₉₀は、VCM(1.56)、TEIC(12.5)、ABK(1.56)、ST(>100)、QD(0.39)、Linezolid(3.13)であった。低感受性株を含む耐性株が、TEICで8株(13.3%)、STでは29株(48.3%)認められたが、他剤では認められなかった。

S. haemolyticus 24株に対するMIC₉₀は、VCM(1.56)、TEIC(25)、ABK(0.78)、ST(>100)、QD(0.39)、Linezolid(1.56)であった。低感受性株を含む耐性株が、TEICで6株(25%)、STで5株(20.8%)、QDで1株(4.2%)認められたが、VCM、ABK、Linezolidでは認められなかった。

【考察】2000年臨床分離 *Staphylococcus* 属においても、前回までのサーベイランスと同様に、菌種により各薬剤の感受性に差があることが示されたが、いずれの菌種においてもVCM耐性株は見出されなかった。

VREに対する薬剤感受性成績と遺伝子学的関連性

1) 福岡徳州会病院臨床検査科、2) 福岡大学医学部微生物学、3) 九州耐性菌検査ネットワーク
 ○一世靖子^{1)、3)}、永沢善三^{2)、3)}、永山在明^{2)、3)}

【Key words】VRE、グリコペプチド系薬剤、リネゾリド

【目的】本邦でVRE感染例は少ないが、検出例は散見される。われわれは北部九州地区で収集されたVRE及び保存菌株を対象に薬剤感受性試験の検討及び遺伝子学的関連性について解析を試みた。

【方法】対象菌株は九州耐性菌検査ネットワークでの収集菌株、保存菌株及び標準菌株で、内訳は *E. faecalis* 11株、*E. faecium* 5株、*E. gallinarum* 8株、*E. casseliflavus* 5株、*E. avium* 1株の合計31株である。測定は微量液体希釈法を用いVCM、TEIC、RFP、ABPC、Linezolid(LZD)の5薬剤について薬剤感受性試験を行った。なお、希釈濃度は0.125~256 $\mu\text{g/ml}$ の12段階で、測定法は日本化学療法学会標準法に準じ実施した。耐性遺伝子の検出には、PCR-MPH法を使用した。

【結果】感受性成績では、vanA保有菌7株はVCM(256~ $>256 \mu\text{g/ml}$;以下単位省略)、TEIC(32~ >256)、の耐性を示した。ABPC(1~256)は感受性・耐性が混在し、RFP($<0.125\sim 4$)・LZD(1~2)では感受性を示した。vanB保有菌10株ではVCM耐性、TEIC感受性を示したが、VCM耐性度はvanA保有菌株に比べ低い(16~ >256)値を示した。ABPC、RFPではほとんどが感受性を示し、LZDではすべてが感受性を示した(1~2)。vanC保有菌13株では、RFPではばらつきが認められたが、その他の薬剤ではすべて感受性を示した。これらより、VCM、TEICの薬剤感受性成績については耐性遺伝子を推察する諸家の報告と同様であった。また、LZDはvanA,B,C保有菌すべての菌株で2 $\mu\text{g/ml}$ 以下でありVRE感染症において非常に有用であることが示唆された。なお、VREにおける臨床症例も併せて報告する予定である。

VREを含むグラム陽性臨床分離細菌に対する
Linezolidの in vitro 抗菌活性に関する検討

産業医科大学泌尿器科

○村谷哲郎, 高橋康一, 山田陽司, 松本哲朗

【Key words】VRE, Linezolid, MRSA

【目的】Linezolid (LZD)は抗菌薬としては新規なオキサゾリジノン系に属する合成抗菌薬であり、既存の抗菌剤と交叉耐性を示さない。LZDはグラム陽性菌に対して幅広い抗菌スペクトルを有しており、既にUSAでは臨床使用されている。今回LZDの抗菌力を測定する機会を得たので、MRSA, VRE, PRSPなどの多剤耐性菌を含むグラム陽性菌に対する抗菌力を他剤と比較検討したので報告する。

【方法】1998年1月以降に分離された菌株を使用した。産業医科大学病院の尿検体より分離されたMRSA 42株, *S. epidermidis* 41株, *E. faecalis* 53株, *E. faecium* 30株, *S. agalactiae* 24株および北九州市内の施設より分離された *vanA* 保有19株, *vanB* 保有2株, *vanC* 保有12株の enterococci および福岡県内の施設より分離された *S. pneumoniae* 53株を使用した。薬剤感受性は寒天平板希釈法にて、LZD, vancomycin, teicoplanin, arbekacinの他にβ-lactams, ciprofloxacin, levofloxacin, gentamicin, minocycline, erythromycin, clindamycinについて測定した。

【結果】LZDはすべての菌種の株を0.25~4μg/mlで阻止し、そのMIC₉₀は*S. pneumoniae*が1、その他の菌種はすべて2μg/mlであった。VancomycinはVREを除く菌種では、0.0625~4μg/mlで阻止したが、VREに対するMICは8~>256μg/mlであった。Teicoplaninは*S. epidermidis*では、8および16μg/mlを示す低感受性株が存在し、*vanA*保有株に対しては32μg/ml以上を示した他は、0.0313~4μg/mlに分布していた。

【考察】今回検討したVRE33株のうち約80%はpenicillin系薬剤に、約半数がキノロン系薬剤に、約30%がerythromycinおよびminocyclineに感受性を示したが、15%はLZD以外の薬剤には耐性を示した。LZDは作用機序が既存の抗菌剤と異なるため、臨床使用されていない現段階では耐性菌は存在しなかった。本薬剤は経口でも静注でも使用可能であり、増加する多剤耐性グラム陽性菌、特にVREに対して有用な薬剤であると考えられた。

各種抗菌薬の“*Streptococcus milleri group*”に対する薬剤感受性と殺菌効果の検討

琉球大学医学部第一内科

○山本夏男, 新里 敬, 久保田徹, 當山真人,
比嘉 太, 健山正男, 斎藤 厚

同 附属病院検査部

仲宗根勇, 山根誠久

Streptococcus milleri group、薬剤感受性、殺菌効果

【目的】当院における一般細菌に対する薬剤感受性成績は、一部の菌で数年前と比較して低下傾向にある。そこで、“*Streptococcus milleri group*”について、臨床分離株の薬剤感受性成績とその年次推移の検討を行った。また、各種抗菌薬の殺菌効果についても検討した。

【方法】供試菌株は、琉球大学附属病院検査部で1994~1996年に分離された“*S. milleri group*” (SMG)114株と1999~2000年に分離された70株。薬剤感受性試験は本学会標準法(微量液体希釈法)を用いて測定した。対象薬剤はPCG, PIPC, IPM, CCL, CTM, CTX, EM, AZM, CLDM, MINO, LVFX, SPFX, TFLX, Du6859aの14薬剤。殺菌効果の検討は、4MIC濃度の抗菌薬の入った液体培地に10⁶cfu/mlのSMGを接種し、経時的に菌量を測定した。

【結果】PCGに対する中等度耐性株(MIC 0.25~2.0μg/ml)は1994~1996年までの114株中4株(3%)だったが、1999~2000年分離株では13株(18%)認められた。CCL, CTMのMIC₉₀はいずれも2.0μg/mlであった。IPMのMIC₉₀は0.06と良好で、β-ラクタム薬中最も優れた抗菌活性と殺菌効果を示した。EM, CLDMのMIC₉₀はそれぞれ0.5, 0.25と比較的良好な成績だったが、耐性株がそれぞれ7株(10%), 5株(7%)認められた。AZMのMIC₉₀は0.06と優れていた。フルオロキノロン(FQs)系薬に対する耐性株は認めなかったが、1994~1996年分離株よりも感受性は低下していた。開発中のDu-6859aはMIC₉₀が0.03と極めて優れた抗菌活性と殺菌効果を示した。

【考察】最近、海外ではペニシリンおよびマクロライド耐性を有するSMG株が増加傾向にあると報告されている。我々の検討では、ペニシリン耐性株はセフェム系薬にも耐性傾向を示し、共通した耐性化の機序が示唆された。FQsに対する耐性株は認められなかったものの、感受性が低下傾向にあった。

セフジニールを含む各種経口抗菌薬に対する
2000年臨床分離菌の感受性

株式会社ビー・エム・エル総合研究所

○星野和夫、小川美保、江田孝志、監物正視
瀬戸 勇

[key words] 経口抗菌薬、臨床分離株、感受性

[目的] 適切な治療薬を選択する上で必要な情報提供を目的として、2000年に分離された主要臨床分離菌の各種経口抗菌薬に対する感受性を比較検討した。

[方法] 2000年8~12月の5ヶ月間に分離した主要菌について日本化学療法学会標準法に従いマイクロブロス法でMICを測定した。対象薬剤はCFDN、CFIX、CFPN、CDTR、CFTM、CPDX、CCL、FRPM、AMPC、CAM、AZM、NFLX、MINOの13薬剤で、それぞれ力価の明らかなものを使用した。

[結果] MSSA(100株)に対しMIC₈₀が $\leq 1 \mu\text{g/mL}$ の薬剤はCFDN、CFPN、CDTR、FRPM、AMPC、CAM、NFLX、AZM、MINOの9剤であった。PSSP(50株)に対してはCFDN、CFPN、CDTR、CFTM、CPDX、CCL、FRPM、AMPCの8剤であったが、PRSP(50株)にはCFPN、CDTR、CFTM、FRPM、AMPCの5剤であった。*H. influenzae*(49株)に対してはCFIX、CPDX、CFTM、CDTR、CFPN、AZM、NFLX、MINOの8剤であった。*N. gonorrhoeae*に対してはNFLXのMIC₈₀が $16 \mu\text{g/mL}$ とキノロン耐性株の増加が顕著であった(MIC $\geq 0.5 \mu\text{g/mL}$: 88%)。*E. coli*(100株)および*K. pneumoniae*(50株)に対してCFDN、CFIX、CPDX、CFTM、CDTR、FRPM、NFLXが優れた抗菌力を示した他、*P. mirabilis*(50株)に対してもほぼ同様の抗菌力を示した。

[結論] MSSAを含むグラム陽性菌群に対しCFDNをはじめとする経口セフェム系薬は総じて優れた抗菌力を示し、PRSPにおいても昨年に比較して耐性レベルの上昇傾向を認めなかった。今回の検討でキノロン耐性*N. gonorrhoeae*の増加が目立ったが、セフェム系薬には感受性を維持していた。*E. coli*において高度耐性株が散見されたが、セフェム系経口抗菌薬の感受性分布は昨年の分離株と比較して著しい変化は認められなかった。

2000年臨床分離菌に対する cefoselis を含む各種
注射用 β -lactam 薬の抗菌力

株式会社ビー・エム・エル総合研究所

○小川美保、星野和夫、江田孝志、監物正視
瀬戸 勇

[key words] 注射用 β -lactam 薬、臨床分離株、感受性

[目的] 2000年に分離された主要臨床分離菌に対する各種注射用 β -lactam 薬の抗菌力を比較検討した。

[方法] 2000年8~12月の5ヶ月間に分離した主要菌について日本化学療法学会標準法に従いマイクロブロス法でMICを測定した。対象薬剤はCFSL、CPR、CZOP、CFPM、FMOX、CAZ、CTM、CEZ、IPM、PAPM、MEPM、SBT/CPZ、SBT/ABPCの13薬剤を用いた。*S. aureus*、*S. pneumoniae* および *H. influenzae* の耐性区分はNCCLSの基準に従った。

[結果] MSSA(100株)に対するMIC₉₀が $\leq 1 \mu\text{g/mL}$ の薬剤はCFSL、CPR、CZOP、FMOX、CTM、CEZ、IPM、PAPM、MEPMの9剤であったが、MRSAに対しては全ての薬剤の抗菌力が低下した。しかし、中等度抗菌力ではあるがCFSL、MEPM、SBT/ABPCが $32 \mu\text{g/mL}$ と最も優れていた。PRSP(50株)にMIC₉₀が $\leq 1 \mu\text{g/mL}$ を示す薬剤はCFSL、CPR、CFPM、IPM、PAPM、MEPMの6剤で、*H. influenzae*(50株)に対してはCFSL、CPR、CFPM、CAZ、PAPM、MEPM、SBT/CPZの7剤であった。*P. aeruginosa*(100株、MIC₉₀)にはCZOP:8、CAZ:16、IPM:16、MEPM:8 $\mu\text{g/mL}$ が良好な抗菌力を示した。*E. coli*、*K. pneumoniae* および *P. mirabilis* の中に第4世代セフェム系薬にも耐性を示し、ESBLの産生が推定される株が数株検出された。

[結論] 各種注射用 β -lactam 薬に対する臨床分離株の感受性は昨年の成績に比較して大きな変化はなく、第4世代セフェム系薬およびカルバペネム系薬の優れた抗菌力が確認された。

主要臨床分離菌種に対する硫酸セフピロムの抗菌力

慶応義塾大学中央臨床検査部

○小林芳夫、浦山俊巳、上遠野保裕、清水加代子、
内田 博

[Key words] cefpirome, MIC, surveillance

【目的】各種β-ラクタム系抗生物質が市販されている現在 cefpirome (CPR) の臨床的位置付けを明らかにする目的で経年的に分離された各施設における臨床分離株に対する CPR の抗菌力を測定して、他のセフェム系抗生物質と比較検討をした。

【材料と方法】1996年から1999年までの4年間に本邦における主要6医療施設の入院患者の臨床材料から分離された、主要分離菌種に対する最小発育阻止濃度(MIC)を慶応義塾大学病院中央臨床検査部において一括して測定した。MICの測定は日本化学療法学会の微量液体希釈法に準じて施行した。比較対照薬剤には cefotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ), ceftazopran (CZOP), cefpim (CFEP), sulbactam/cefperazon (SBT/CPZ), flomoxef (FMOX), piperacillin (PIPC) を用いた。主要菌株としては E. coli, K. pneumoniae, E. cloacae, P. aeruginosa, MRSA, MSSA を選択した。

【結果】各年次における検討において、CPRは他の比較対照薬剤に比較し最も抗菌力が優れていた。1999年分離の P. aeruginosa に対する CPR の MIC は 0.06-128 μg/ml に分布し MIC50 は 4 μg/ml MIC80, 90 はともに 128 μg/ml、であったが、1999年分離の E. coli に対する CPR の MIC は 0.06-128 μg/ml に分布し MIC50 は 0.125 μg/ml、MIC80 は 0.5 μg/ml、MIC90 も 8 μg/ml であった。1999年分離の K. pneumoniae に対する CPR の MIC は 0.06-16 μg/ml に分布し、MIC50 は 0.06 μg/ml、MIC80 は 0.25 μg/ml、MIC90 は 0.5 μg/ml であった。1999年分離の MSSA に対する CPR の MIC は 0.06-64 μg/ml に分布し MIC50 は 1 μg/ml、MIC80 は 2 μg/ml、MIC90 は 8 μg/ml であった。1999年分離の MRSA に対する CPR の MIC は 0.06-128 μg/ml に分布し MIC50 は 64 μg/ml、MIC80, 90 いずれも 128 μg/ml であった。

Serratia marcescens に対する各種抗菌薬の感受性
-2000年臨床分離株を対象に-

1) 東京大学医学部附属病院検査部

2) 同感染制御学, 感染症内科

○日暮芳己¹⁾、岩井友美¹⁾、奥住捷子¹⁾、米山彰子¹⁾、
中原一彦¹⁾、木村哲²⁾

Serratia marcescens, 最小発育阻止濃度(MIC), 多剤耐性菌

＜目的＞*Serratia marcescens* は日和見感染菌の一つで、各種感染症の起炎菌と成り得る。また、近年多剤耐性菌も報告され、治療困難となる場合もある。我々は当院における分離状況を中心に調査を行った。

＜方法および対象＞2000年4月より11月までの期間に分離同定された *S. marcescens* 205株を対象とした。薬剤感受性試験は日本化学療法学会標準法に従い MINO, ABPC, LVFX, CPFX, IPM/CS, MEPM, CAZ, AZT の最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。

＜結果＞

1) MIC

	範囲	MIC ⁹⁰
MINO	<1~> 64 (μg/ml)	16 (μg/ml)
ABPC	8~> 128 (μg/ml)	128 (μg/ml)
LVFX	<1~>64 (μg/ml)	8 (μg/ml)
CPFEX	<1~>64 (μg/ml)	4 (μg/ml)
IPM/CS	<0.5~> 32 (μg/ml)	1 (μg/ml)
MEPM	<1~> 64 (μg/ml)	<1 (μg/ml)
CAZ	<1~> 64 (μg/ml)	8 (μg/ml)
AZT	<1~> 64 (μg/ml)	16 (μg/ml)

2) MEPM >16 (μg/ml) の菌株分離患者

特定の診療科からの分離が多く、同じ患者からの反復分離が多く、ドレーン排液からの分離であった。

＜まとめ＞各抗菌薬に感受性傾向を示すが、耐性菌は特定の診療科に限られる傾向にあった。今後、血清型をはじめとした疫学的調査を行い、当院における *S. marcescens* の分離状況の解析を行う予定である。

Burkholderia pseudomallei に対する各種抗菌薬の
薬剤感受性成績と細胞内抗菌活性

琉球大学医学部第一内科

○新里 敬, 比嘉 太, 宮城 啓, 當山真人,
健山正男, 斎藤 厚

【key wods】*Burkholderia pseudomallei*, 薬剤感受性,
細胞内抗菌活性

【目的】*Burkholderia pseudomallei* によるメリオイドーシスは主に東南アジアで認められ、様々な感染症を引き起こし、敗血症での致死率は80%以上にのぼる。本疾患に対する抗菌化学療法は十分に確立されていない。今回、各種抗菌薬の本菌に対する薬剤感受性成績、および細胞内感染時の抗菌活性を比較検討し、メリオイドーシス治療における治療薬の選択について考察した。

【対象と方法】タイ国チェンマイ大学から分与された *B. pseudomallei* 24株について、本学会標準法（微量液体希釈法）にて各種抗菌薬に対する薬剤感受性成績を調べた。細胞内抗菌活性については、murine macrophage-like cell line (J774.1 cells) 7×10^5 cells/ml に *B. pseudomallei* H1354 5×10^6 cfu/ml を接種し、RPMI 1640, 10 mM Hepes および 10% FCS で 1 時間インキュベート (37°C, 5% CO₂) 後、その混合液に 1 MIC および 4 MIC の CAZ, MEPM, MINO, LVFX を加え、96穴プレートで 37°C, 5% CO₂ 下でインキュベート。6, 12, 24 時間後の菌数を測定した。【結果】各種薬剤に対する MIC₉₀ (μ g/ml) は、ABPC 32, PIPC 1, CVA/AMPC 4, CEZ >128, CTM >128, CZX 8, CAZ 2, CPR 16, CZOP 32, CFPM 16, IPM 0.5, PAPM 2, MEPM 1, AZT 64, GM 64, EM 128, AZM 64, TC 2, MINO 2, CP 16, RFP 32, LVFX 2, CPFX 2, TFLX 1, SPFX 2, Du6859a 0.5, ST 合剤 32 であった。細胞内抗菌活性では、1 MIC および 4 MIC の CAZ, MEPM はともに 12 時間後より菌の増殖が認められたが、MINO, LVFX は良好な抗菌活性を示し、LVFX は MINO よりも有意な菌数の低下が認められた。

【考察】*B. pseudomallei* に対して良好な抗菌活性を示したのは、一部のペニシリン系やセフェム系、カルバペネム系、テトラサイクリン系、ニューキノロン系抗菌薬であった。細胞内に感染した *B. pseudomallei* に対しては、LVFX の殺菌効果が MINO や細胞内移行性の低い β -ラクタム薬よりも有意に優れていた。以上の結果より、*B. pseudomallei* 感染症に対する治療としては、本菌が細胞内寄生菌でもある点も考慮して、LVFX をはじめとするニューキノロン系抗菌薬が適当であると考えられた。

バクテロイデス属に対する ciprofloxacin の抗菌作用と、flomoxef または clindamycin との併用効果
日本大学医学部第三外科

○加藤高明, 佐藤 毅, 大塚一秀, 中川良英
原田智紀, 潮 るな, 岩永仁美, 伊藤裕美子
岩井重富

【Key words】バクテロイデス感染症、ciprofloxacin、併用投与

【目的】消化器外科領域において、大腸術後感染の発症率は高く、感染巣からの検出菌としてバクテロイデス属が多い。そこで、バクテロイデス感染症の静注用治療薬として ciprofloxacin (CPFX) と flomoxef (FMOX)、clindamycin (CLDM) を選択し、*in vitro* における併用効果を検討する。

【方法】術後分離株 *Bacteroides fragilis* 14 株を用いて Checkerboard Method に従い、CPFX と FMOX、または CPFX と CLDM の単独および併用時の各抗菌薬の MIC 値を測定した。これより FIC index を求め、FIC index が ≤ 0.5 を相乗効果、 $> 0.5 \sim \leq 1.0$ を相加効果、 $> 1.0 \sim \leq 2.0$ を無関係、 > 2.0 を拮抗作用とした。なお、両群における併用効果の比較は χ^2 独立性の検定法にて解析した。

【結果】CPFX と FMOX の併用では、相加効果 11 菌株 (78.6%)、無関係 3 菌株 (21.4%) であった。FIC index が 0.50~0.63 と明らかな相加効果を示した株は 6 株 (42.9%) であった。一方、CPFX と CLDM の併用では相加効果 6 菌株 (42.9%)、無関係 7 菌株 (50.0%)、拮抗作用が 1 株 (7.1%) で、FIC index が 0.7 以下を示す株は認められなかった。

【結論】*Bacteroides fragilis* に対して CPFX と FMOX の併用では相加効果が 79% に認められたが、CPFX と CLDM の併用では 43% のみであり、両者に相違が認められた ($p < 0.05$)。また併用時の CLDM 耐性株は 43% にみられ、MIC $\geq 64 \mu$ g/mL を示した。これに比較して、FMOX では 21% (MIC = 32μ g/mL) と低かった。以上、CPFX と FMOX との併用投与の臨床効果は期待ができ、CPFX と CLDM との併用投与と同等、もしくは優れている可能性が示唆された。

その他のバクテロイデス属の菌株についても FIC index を測定し、報告する。

近年分離された *Fusobacterium* spp. の薬剤感受性

岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設

○田中香お里、加藤直樹、渡邊邦友

青森県立中央病院検査部

川村千鶴子、中村敏彦、貝森光大

【key words】嫌気性菌、*Fusobacterium* spp.、薬剤感受性

【目的】嫌気性グラム陰性桿菌である *Fusobacterium* spp. は、酸素に対する感受性と栄養要求生が高いことなどから、検査室でよく用いられる微量液体希釈法では、薬剤感受性測定が困難な菌群である。しかしながらこれらの菌種は、横隔膜より上の嫌気性菌感染症から比較的良好に分離される菌群でもある。従って一般的な感受性動向を把握しておくことは有用と考えられ、今回、近年分離された *Fusobacterium* spp. の薬剤感受性を測定した。

【材料と方法】1995年以降に青森県立中央病院で分離された *Fusobacterium* spp. を被験株とし、ABPC、PIPC、SBT/ABPC、CCL、CTX、CFX、TC、CLDM、EM、OFLX に対する感受性を NCCLS に準拠した寒天平板希釈法および Etest により測定した。測定培地は何れもプルセラ HK 血液寒天培地とした。

【成績】Etest については、*Fusobacterium nucleatum* はおおむね β -ラクタム薬に対して高い感受性を示したが、一部に試験した全ての β -ラクタム薬に耐性を示すポピュレーションを含む株がみられた。EM に関しては *Fusobacterium* は一般に低感受性あるいは耐性であり、今回の成績もこの傾向に変わりはなかったが、わずかながら MIC 値が $1 \mu\text{g/ml}$ 以下の感受性を示す株が存在した。一方、CLDM、TC に対しては、全株が $0.125 \mu\text{g/ml}$ 以下の高い感受性を示した。

東海大学における歯科・口腔外科感染症からの嫌気性菌の検出とその薬剤感受性

東海大学医学部機能再建系・口腔外科¹⁾、中検細菌²⁾

○坂本春生¹⁾、佐藤智明²⁾、藤田和美²⁾、関谷 亮¹⁾

青木隆幸¹⁾、金子明寛¹⁾、佐々木次郎¹⁾

【Key word】嫌気性菌、薬剤感受性、閉塞膿瘍

【目的】東海大学病院中央検査センターで細菌培養を行った口腔外科検体由来の嫌気性菌について検討したので報告する。

【方法】1998年から2000年までの3年間に口腔外科から中央検査センターへ提出された閉塞膿瘍由来の検体を対象とした。同期間に細菌培養に供されたのは279検体であり、内訳は入院85検体、外来194検体であった。このうち菌検出が可能であった検体は、入院患者由来90.8%、外来患者由来84.0%であった。微量液体希釈法によるMIC測定が可能であった *Peptostreptococcus* 70株、*Prevotella* 62株、*Fusobacterium* 14株および *Streptococcus* 228株を含めた計422株の薬剤感受性について報告する。

【結果】全検出菌における嫌気性菌の占める割合は40%であった。主な検出菌とその薬剤感受性(%)の結果は下表の如くであった。

菌	株数	PCG	ABPC	PIPC	IPM	LMOX	CMZ
①	70	100	97.7	100	100	97.7	100
②	62	82.1	82.1	100	100	87.2	97.4
③	14	100	100	100	100	100	100
④	48	90.0	90.0	96.7	96.7	93.3	93.3
⑤	228	85.3	87.4	-	100	-	-
菌	CZX	MINO	EM	CLDM	OFLX	NFLX	
①	100	95.5	81.8	90.9	79.5	-	
②	97.4	94.9	84.6	94.9	97.4	-	
③	100	100	55.6	88.9	77.8	-	
④	96.7	90.9	56.7	80.0	66.7	-	
⑤	-	86.7	86.0	89.5	-	35.7	

【考察】口腔外科由来の感染症は嫌気性菌主体であるが、使用する選択培地の枚数や検体の取り扱い方によって検出菌に差がある。今回の結果では、やや検出率が低かった。薬剤感受性試験の結果からは、*Prevotella* にペニシリンに対する低感受性株が見られた

セフォセリスの臨床分離嫌気性菌への抗菌力
—1995～1999—

岐阜大学医学部産科婦人科

○三嶋廣繁、早崎容、安田香子、玉舎輝彦

【key words】セフォセリス、嫌気性菌、薬剤感受性

【目的】セフォセリスはいわゆる第4世代のセファロスポリン系抗菌薬として発売されたが、発売後に嫌気性菌に対する抗菌力という点から評価した報告は少ない。産婦人科領域細菌感染症は、嫌気性菌の臨床的意義が高く、抗菌薬を評価するにあたって嫌気性菌に対する抗菌力の測定は不可欠である。

【方法】1995年～1999年の5年間に産婦人科領域感染症から分離された嫌気性菌 *Peptostreptococcus anaerobius*、*Peptostreptococcus magnus*、*Peptostreptococcus species*、*Bacteroides fragilis*、*Bacteroides fragilis group*、*Prevotella bivia*、*Prevotella species* に対するセフォセリスの薬剤感受性を日本化学療法学会標準法を用いて測定し、同時に経年変化を調べることにより耐性化傾向についても検討した。

【結果】セフォセリスは *Peptostreptococcus* 属に対しては臨床的に満足できる薬剤感受性を示したが、*Bacteroides* 属、*Prevotella* 属に対しては臨床的に満足できる薬剤感受性を示さなかった。また、経年変化では耐性化傾向は認められなかった。

【結論】セフォセリスは発売直後に高齢者の腎機能に与える影響が報告されてその使用量が減少していることもあるためか嫌気性菌に対しては耐性化傾向は認められなかった。

Amoxicillin に無効の小児副鼻腔炎に対する
cefixime と amoxicillin の併用療法の検討
杉田耳鼻咽喉科 他 7 施設

杉田麟也、藤巻豊、小松信行

清水浩二

【Key words】小児副鼻腔炎、併用療法、CFIX+AMPC

【目的】小児副鼻腔炎は複数菌感染による反復感染が多く、amoxicillin (AMPC) の単独投与で完治する症例が少ない。近年、難治する症例に対して注射による治療が推奨されるが日常診療ではやはり経口薬が望まれている。そこで、AMPC 無効例を対象に AMPC と cefixime (CFIX) の併用療法を実施し、臨床効果を検討した。

【方法】小児副鼻腔炎に AMPC (40mg/kg/day) の投与で無効であった症例を対象に AMPC (40mg/kg/day) と CFIX (8mg/kg/day) の併用療法を行った。臨床効果は他覚所見 (鼻汁・後鼻漏の量・性状、鼻閉の有無、咳・痰の有無、中耳分泌物の量) の総合改善点数から評価基準に従って求めた。細菌学的効果は菌の消失の有無によって判定した。

【結果】AMPC を単独投与した 177 例中、無効と診断された 54 例に対して併用療法を実施し、うち 51 例を有効性解析対象とした。解析対象の平均年齢は 4 歳 0 ヶ月、体重 15.4 ± 3.9 kg、併用投与日数 6.5 ± 3.2 日であった。副鼻腔炎の主要所見である鼻汁・後鼻漏の量の改善率 (消失+改善) は 70.2% で、他覚所見の総合改善点数は併用投与開始時: 3.2 ± 1.0 から併用投与終了時: 1.2 へと推移し、臨床有効率は 47.9% (著効 41.7%) であった。しかし、「やや有効」を含めると臨床有効率は 72.9% であった。また、中鼻道内容物中の起炎菌消失率は *S.pneumoniae*: 46.2%、*H.influenzae*: 69.2%、*M.catarrhalis*: 77.8% であった。なお、AMPC 単独投与直前の起炎菌分離頻度は中鼻道内容物および上咽頭とも複数菌の分離率がそれぞれ 57% および 33% を占めた。

【考察】AMPC 単独投与無効例に対する CFIX と AMPC の併用療法の有効率は低率であったが、その殆んどは著効であった。CFIX は *H.influenzae* に対し、AMPC は *S.pneumoniae* に対しそれぞれ優れた抗菌力を有することから本来複数菌感染の多い副鼻腔炎に対して併用療法は相互に有利に作用すると考えられる。また、本報は AMPC 無効例を対象としたが初期治療時に実施すればより高い有効率が期待できる可能性が示唆され、ひとつの治療手段として推奨したい。

Amoxicillinに無効の小児急性中耳炎に対する
cefдинirとamoxicillinの併用療法の検討
杉田耳鼻咽喉科 他7施設

杉田麟也、藤巻豊、小松信行
清水浩二

【Key words】小児急性中耳炎、併用療法、CFDN+AMPC
【目的】急性中耳炎に対して amoxicillin(AMPC)の単独投与が一般に実施されるが、無効あるいは難治する症例が増加傾向にある。その一因として *S.pneumoniae* および *H.influenzae* の耐性菌の増加が関与していると思われる。そこで AMPC の投与により治癒しなかった症例を対象に AMPC と cefдинir(CFDN)の併用療法を実施し、臨床効果を検討した。

【方法】急性中耳炎の小児に AMPC(40mg/kg/day)の投与で無効であった症例を対象に AMPC(40mg/kg/day)と CFDN(10mg/kg/day)の併用療法を行った。臨床効果は他覚所見(中耳分泌物量・性状、鼓膜(鼓室粘膜炎)発赤、鼓膜腫脹、鼻汁・後鼻漏の量・性状)の総合改善点数から評価基準に従って臨床効果を求めた。細菌学的効果は菌の消失の有無によって判定した。

【結果】AMPCを単独投与された189例中、無効と診断された52例に対して併用療法を実施し、うち39例を有効性解析対象とした。解析対象の平均年齢は1歳10ヶ月、体重 11.6 ± 3.5 kg、併用投与日数 6.9 ± 3.4 日であった。急性中耳炎の主要所見である中耳分泌物量の改善率(消失+改善)は96.95%で、他覚所見の総合改善点数は併用投与開始時: 4.4 ± 1.9 から併用投与終了時: 1.0 へと推移し、臨床効果は82.1%であった。また、中耳分泌物中の起炎菌消失率は *S.pneumoniae* 100%、*H.influenzae* 100%であった。AMPC 初期投与直前の起炎菌分離頻度は中耳分泌物では *S.pneumoniae* と *H.influenzae* がそれぞれ単独で44%と45%を占め、複数菌はわずか5.7%であったが、上咽頭ではそれぞれ31%と36%で複数菌が31%を占めていた。

【考察】AMPC 単独投与による無効症例を対象に CFDM+AMPC の併用療法を実施した結果、高い有効率が得られた。この理由として併用による両剤の抗菌力の増強が臨床効果に反映したと考える。しかし、一般に中耳炎が繰り返し発症する原因としては、上咽頭に複数菌が存在する比率が高く除菌を困難にしている結果が繰り返し感染の温床となっていることが考えられる。

急性中耳炎の治療におけるモラキセラ・カタラーリスの影響

長崎大学医学部耳鼻咽喉科¹⁾
北里大学医学部微生物学²⁾

○矢野寿一¹⁾、海江田哲¹⁾²⁾、岡本一²⁾、
小林俊光¹⁾、井上松久²⁾

【key word】モラキセラ・カタラーリス、β-ラクタマーゼ、indirect pathogenicity

【目的】近年、ペニシリン耐性肺炎球菌などの耐性菌の出現で、治療に抵抗性で再発を繰り返す反復性中耳炎症例や、入院の上、抗菌薬の点滴静注を必要とする重症例が増加してきている。今回我々は、肺炎球菌と混合感染を起こした場合のモラキセラ・カタラーリスの役割について検討した。

【方法】急性中耳炎患者の上咽頭より分離された肺炎球菌及びペニシリン耐性産生モラキセラ・カタラーリスを用いた。モラキセラ・カタラーリスの産生する酵素を部分精製し、得られた酵素はUV法にてABPCを基質として酵素活性を測定した。次に、肺炎球菌のMICを測定する際、前培養した肺炎球菌を薬剤寒天平板上にspotする直前に、部分精製した酵素を薬剤平板に接種する菌液の中に各種濃度で混入した。その菌液を薬剤寒天平板上にspot後、最小発育阻止濃度を測定した。

【結果】臨床的に認められる菌数内のモラキセラ・カタラーリスの酵素量で、肺炎球菌のペニシリン系薬・セフェム系薬に対するMICの上昇を認め、特にペニシリン系薬に対するMICが10管以上上昇する場合もあった。一方、カルバペネム系薬に対するMICの上昇は認められなかった。また、β-ラクタマーゼ阻害剤であるCVAの添加によりペニシリン系薬に対するMICの上昇がおさえられた。

【考察】近年、ほぼすべての臨床分離モラキセラ・カタラーリスはβ-ラクタマーゼ産生株で、このβ-ラクタマーゼは、ペニシリン系薬のみならず、セファロスポリン系薬をも加水分解する基質特異性の広い酵素であり、今回の検討結果もそれを反映するものであった。したがって、混合感染時の急性中耳炎の治療にβ-ラクタム薬を用いた場合、モラキセラ・カタラーリスの産生するβ-ラクタマーゼが、indirect pathogenicityとして、投与されたβ-ラクタム薬を加水分解している可能性があり、治療に注意を要すると考えられた。

【参考文献】

1)Yokota E et al: Purification and properties of a β-lactamase produced by *Branhamella catarrhalis*. Antimicrob. Agents Chemother. 29: 696-698, 1986

急性中耳炎における起炎菌検出とその治療

『肺炎球菌等による市中感染症』研究会

○鈴木賢二, 馬場駿吉, 生方公子, 紺野昌俊

[Key words] 急性中耳炎, 上咽頭・中耳検出菌一致率, 耐性肺炎球菌治療

[はじめに] 急性中耳炎の起炎菌として肺炎球菌, インフルエンザ菌, モラクセラ菌が重要であり, それらの内, 特に肺炎球菌の耐性化が問題となっている。『肺炎球菌等による市中感染症』研究会では, これまでPRSP, BLNARの増加傾向や, 医師・検査科スタッフのPRSP, BLNARに対する認識の低さ等に付き啓蒙を進めてきた。今回本研究と名古屋市立大学およびその関連施設において, 急性中耳炎患者由来検体の検出精度に付き検討し, さらに上咽頭と中耳貯留液・耳漏との菌検出の一致率に付き検討した。また薬剤投与量および外科的処置の有無による治療率の差の有無に付いても検討した。

[対象と方法] 名古屋市立大学耳鼻咽喉科学教室およびその関連施設を受診した無治療の急性中耳炎25症例を対象として, 耳漏・中耳貯留液および上咽頭よりの検出菌種とその一致率を各施設ならびに研究会での集中測定において検討した。またCDTR-PIの常用量投与と増量投与での有効性の比較および鼓膜切開の有無による治療率の差に付いても検討した。これらの詳細に付き報告する。

急性中耳炎

-2000年の動向について-

1) 東北労災病院耳鼻咽喉科

2) 同 小児科

○末武光子¹⁾, 人間田美保子¹⁾, 遠藤広子²⁾

[key words] 急性中耳炎, PRSP, BLNAR

【目的】急性中耳炎の起炎菌は肺炎球菌, インフルエンザ菌が多くを占めるが, 90年代なかばより肺炎球菌におけるPRSPの急増が急性中耳炎の重症化を引き起こしている。私どもはこれまで急性中耳炎の起炎菌を調べ, PRSPは主として2歳以下の低年齢児に多いこと, 成人ではセフェム耐性を獲得したムコイド型肺炎球菌によるムコース中耳炎が増加しつつあることを報告してきた。今回は2000年の重症例における起炎菌の動向と問題点を検討した。

【対象および方法】2000年1月から12月までに急性中耳炎の重症化により入院加療を行った症例の起炎菌, 臨床所見を, 1999年と比較検討した。

【結果と考察】小児入院症例(5歳以下)は266人で前年(163人)より103人増加した。主な起炎菌はPISP, PRSP 110例(1999年89例), ムコイド型肺炎球菌11例(1999年2例), BLNAR 48例(1999年11例)であった。PRSPに加え, BLNARの急増が大きな特徴で, ムコイド型肺炎球菌の成人を含めた家族内感染も多発した。またPRSPを起炎菌とする症例のなかに, PAPMの点滴静注を行っていたにもかかわらず内耳炎を併発し, 緊急に乳突削開術を行った症例がみられるなど, PRSPのPAPM耐性進行による影響が出はじめていることがわかった。また2000年4月以後に分離されたBLNAR158株のうち126株がCTXのMIC0.5 μ g/ml以上であった。PRSP, BLNARいずれにおいても耐性化は悪化の一途をたどっており, きわめて深刻な事態になりつつあると言わざるを得ない。

多剤耐性肺炎球菌による成人の急性化膿性中耳炎症例

杉田耳鼻咽喉科¹⁾、藤巻耳鼻科²⁾、
東京総合臨床検査センター研究部³⁾
○杉田麟也¹⁾、藤巻 豊²⁾、鈴木由美子³⁾

【key words】多剤耐性肺炎球菌、成人急性化膿性中耳炎、オグメンチン

【目的】多剤耐性肺炎球菌感染症は乳幼児の急性中耳炎や副鼻腔炎での重要性は良く認識されている。しかし、成人（特に青壮年）については重要性の報告は極めて少なく、我々が急性副鼻腔炎について報告したにすぎない。このたび、成人の急性化膿性中耳炎症例から多剤耐性肺炎球菌を検出したので報告する。

【症例】平○了○、35歳、男性

【基礎疾患】アレルギー性鼻炎、左慢性副鼻腔炎、左鼻茸

【既往歴】左鼻茸切除術＋鼻内篩骨洞手術（H12年12月1日）

【病歴】H12年12月4日夜から激しい左耳痛が出現し、12月5日当科受診。

【鼓膜所見】左鼓膜の発赤・腫脹が著明

【検査結果】白血球数 10,600/ μ l、CRP++、中耳検出菌 PISP++

【治療】初診時に左鼓膜切開排膿、CVA/AMPC 375mg×4Tab/日×7日間

【考察】30歳代の父母から多剤耐性肺炎球菌が検出されやすく、その人たちの子供（多くは4歳以下）たちもPISP、PRSP感染症に罹患しており、家庭内交叉感染の可能性を報告した。本例は子供のいない人であり普段も子供と接触することは無い症例である。感染経路は不明だが、副鼻腔炎手術後に小院通院中に待合室での感染も疑われた。

耳鼻咽喉科領域における術後感染予防対策

—全国アンケート調査結果—

藤田保健衛生大学第二病院耳鼻咽喉科¹⁾、

名古屋市厚生院外科²⁾

○鈴木賢二¹⁾、西村忠郎¹⁾、品川長夫²⁾

【Key words】耳鼻咽喉科領域、術後感染予防、全国アンケート調査

【はじめに】耳鼻咽喉科領域における手術はその清潔度において多岐に渡っており、無菌手術として頸部郭清術を含む種々の頸部手術・唾液腺手術・甲状腺手術等が挙げられ、準無菌手術としては中耳手術が挙げられ、さらに汚染手術として鼻副鼻腔手術・口腔咽喉頭手術・感染中耳の手術等が挙げらる。よって我々は、それぞれの症例すなわちその清潔度により術前、術中、術後における抗菌剤使用を勘案し、術後感染症の発症を最小限に食い止めるべく努力をしている。今回我々は、品川らとともに行った全国大学耳鼻咽喉科学教室への術後感染予防についてのアンケートの調査結果の詳細を検討した。

【対象と方法】全国84大学耳鼻咽喉科学教室の特に感染症に興味を持つ医師1名に術後感染予防についてのアンケートを依頼し、52名(61.9%)の回答を得た。耳鼻咽喉科経験年数は平均15.2±6.5年であった。アンケートは、術後感染予防に関する認識、用語、使用抗菌薬とその使用法・使用期間、想定起炎菌等で広汎に及んでおり、それぞれの施設の耳鼻咽喉科領域感染症の専門家の意見が垣間見られ、興味深いものとなった。

これらの詳細につき報告し、感染症に比較的造詣の深い耳鼻咽喉科専門医の術後感染についての考え方、抗菌薬使用についての考え方に関して考察も加え、現時点における耳鼻咽喉科領域の術後感染予防についてのスタンスを示し、先生方の御批判を仰ぎたい。

急性中耳炎の難治化のリスク・ファクターと治療ガイドライン

和歌山県立医科大学耳鼻咽喉科学教室

○保富宗城、島田 純、酒井章博、藤原啓次、山中 昇

【key word】急性中耳炎、スコアー・リングシステム、リスクファクター

【目的】急性中耳炎は従来まで、抗菌薬にて良好な経過をとってきた。しかし、近年ペニシリン耐性肺炎球菌をはじめとする薬剤耐性菌の増加に伴い、難治化する例が増加している。そのため、急性中耳炎治療においては、難治化のリスクファクターを正確に把握し、急性中耳炎の臨床重症度にあわせた治療の選択が望ましく、急性中耳炎の臨床経過を客観的に評価することが必要である。

【方法】207例の急性中耳炎例を対象に、鼻咽腔細菌叢の検討と臨床所見（耳痛、発熱、啼泣）、鼓膜所見（発赤、光錐減弱、膨隆）よりなるスコアーリングシステムにより臨床経過の評価を行った。

【結果】鼻咽腔より菌が分離されない場合やモラキセラ・カタラーリスが検出される場合は、急性中耳炎の臨床経過は良好であった。一方、インフルエンザ菌が肺炎球菌検出例では、鼓膜所見の改善は不良であった。さらに、PSSP株の場合は急性中耳炎の経過は良好であるのに対し、PISP株、PRSP株においては鼓膜所見の改善は不良であり急性中耳炎は難治であった。また、難治化には低年齢および肺炎球菌検出がリスクファクターと考えられ、アモキシシリン単独での治療効果が不十分であった。

【結論】急性中耳炎の臨床経過の評価にスコアーリング・システムを用いることが有効であり、鼻咽腔細菌叢の検索とあわせることで急性中耳炎の予後評価を含めた臨床経過の検討が可能と考える。また、治療においては、難治化のリスクファクターを考慮し、軽症例においては抗菌薬を使用せず、重症例においては、アモキシシリンを第一選択薬とした治療をおこない、難治化する場合は鼓膜切開などの処置を行うことが望ましいと考える。

呼吸器及び耳鼻科領域検体由来の分離菌の動向と感受性

聖マリアンナ医科大学微生物学教室

○寺久保繁美、竹村 弘、岡村二如、金光敬二、原田志津子、山本啓之、嶋田甚五郎

【key words】薬剤感受性、分離菌の動向、PRSP

【目的】肺炎、中耳炎等の呼吸器・耳鼻科領域感染症において *Streptococcus pneumoniae*、*Haemophilus influenzae* などが主要な起炎菌となっている。これらの菌は PBP に対する親和性の低下等により耐性化する傾向にあり、臨床問題となっている。市井感染におけるこれらの領域の感染症患者から検出した菌の分離頻度を求めた。また、主要な 3 菌種における感受性を検討した。

【方法】一次医療機関の初診患者を対象に呼吸器及び耳鼻科領域の感染症患者からの検出菌について、疾患名別に分離頻度を求めた。また、それらのうち *S. pneumoniae* 44 株、*H. influenzae* 59 株、*H. parainfluenzae* 40 株について β -ラクタム薬を中心に薬剤感受性を比較検討した。MIC の測定は、NCCLS の微量液体希釈法に準じた。

【結果】期間中に得られた検体より 3378 株を分離した。肺炎患者からは *H. influenzae* が 26.3% で最も多く分離された。中耳炎・副鼻腔炎患者からは *S. pneumoniae*、*H. influenzae* が多く分離された。近年問題とされている *S. pneumoniae* において、ペニシリン耐性菌の分離率は 1998 年には 27.3%、1999 年には 41% であったが、今回の検討（2000 年）では 45.7% とさらに増加していた。*H. influenzae* は、第 3 セフェム薬、カルバペム薬ではメロペネムが高い感受性を示した。

【考察】 β -ラクタム薬耐性菌が増加傾向にある近年において、市井感染症の起炎菌の分離頻度ならびに耐性化の現況をふまえたうえで適切な抗菌薬を選択していくことが肝要であると思われる。

高齢者における口腔常在菌の動向について

信州大学医学部歯科口腔外科○田中廣一
上條記念病院内科 上條節子

【keywords】 高齢者、口腔常在菌、肺炎球菌

近年高齢化にともない、高齢者の保健的観点から口腔内の Care と Cure 対策の1つとして、高齢者の口腔常在菌の動向について検討している。

老健施設(ローズガーデン)入所中の高齢者 100 名を対象に口腔内常在菌と上咽頭菌の分布状況を把握し、これを若年者の口腔常在菌分布と比較し高齢者の感染対策の1つとし、また肺炎球菌による市中感染症研究会のテーマである肺炎球菌、インフルエンザ菌、モラキセラ・カタラーリス等の保菌状況を微生物化学研究所の生方先生の協力の下で行った。

(結果)

高齢者の口腔内常在菌ではレンサ球菌(87%)、カンジダ(66%)、ナイセリア(28%)に対し上咽頭の分離菌では黄色ブドウ球菌が最も多く、モラキセラ・カタラーリス(8.2%)、PISP(4.1%)、PSSP(2%)等と起炎菌になりうる菌が散見された。

若年者の口腔常在菌検査では、レンサ球菌が多い点が高齢者と変らなかったがカンジダ菌が少ないのが特徴的であった。

施設内での高齢者における肺炎球菌保有状態をみると、施設内での移動はほとんどなく、幼児の肺炎球菌保有率に比べて、非常に低いことが判明した。これは幼児は開放された環境下にあるのに対し、高齢者は感染対策の整った環境下で外部との接触も少ないことによると思われた。高齢者において感染源となる肺炎球菌の対策は重要であり、今後開放された環境下にあるデイサービスの高齢者についても監視が必要であると思われた。

タイ国北部地域において分離されたインフルエンザ菌の各種薬剤感受性成績

長崎大学熱帯医学研究所内科：○渡辺貴和雄、
渡辺 浩、大石和徳、永武 毅
杏林病院内科：小林 忍

【Key words】 インフルエンザ菌、BLNAR、タイ国北部地域

【目的】 タイ国北部地域におけるインフルエンザ菌の薬剤耐性状況を明らかにする目的で以下の検討を行った。

【材料及び方法】 チェンマイ大学医学部附属病院で種々の検体より分離されたインフルエンザ菌49株について、ABPCを始めとする各種薬剤に対するMIC (寒天平板希釈法：NCCLSに準拠)を測定し、 β -lactamase産生試験はニトロセフィン法にて行った。

【成績】 ABPCに対するMICは0.032~32 μ g/mlに分布し、MIC₅₀、MIC₉₀値 (μ g/ml) はそれぞれ0.5, 16であった。 β -lactamase産生株は19株(38.8%)に認められ、また β -lactamase非産生菌のうちABPCのMICが2 μ g/ml以上をBLNARとしたが、BLNARは1株(2%)のみで、そのMIC値は2 μ g/mlであった。その他AMPCのMIC₅₀、MIC₉₀値 (μ g/ml) は、それぞれ0.5, 8であり、CCLは2,4、CFDNは0.25, 0.5、CTMは0.5, 1、CAZIは0.063, 0.063、IPMは0.125, 0.5、MEPMは0.032, 0.032、LVFXは0.016, 0.032、CAMは4, 8、CPIは0.25, 8であった。

【考察】 タイ国北部地域では β -lactamase産生株が日本と比べてやや多く、 β -lactamase産生による耐性化が一部の薬剤で認められたが、 β -lactamaseに対し安定な薬剤では良好な感受性を維持していた。また、現時点ではBLNARの頻度はそれ程高いものではなかった。今後も同地域では β -lactamase産生とBLNARについての継続した監視が必要と思われた。

(共同研究者) W.Kositsakulchai, K. Kunsuikmengrai,
T. Sanchai, S. Kahintapong, T. Sirisanthana, B. Khantawa,
P. Tharavichitkul

急性気道感染症ならびに急性中耳炎等から分離された肺炎球菌の疫学的解析
—市中感染症研究会・3年間のまとめ—

市中感染症研究会¹⁾, (財)微生物化学研究所²⁾
○長谷川 恵子¹⁾, 千葉 菜穂子¹⁾, 柴崎 有美¹⁾,
生方 公子²⁾, 紺野 昌俊¹⁾

〔key words〕肺炎球菌, PBP変異, マクロライド耐性

〔目的〕市中感染症研究会が3年間にわたって扱った呼吸器感染症, 急性中耳炎例などから採取された検査材料から分離された肺炎球菌について解析した疫学的成績について報告する。

〔方法〕送付を受けた検体は上咽頭が約半数を占め, その他には耳漏, 鼓膜切開液, 咽頭が多かった。検体受付時に記載されていた疾患名は急性上気道炎と急性中耳炎が最も多く, 次いで急性気管支炎と肺炎であった。重複例と繰り返し同一菌が検出されたものを除くと, 解析対象株は1998年が591株, 1999年が746株, 2000年が516株となった。PSSP, PISP, およびPRSPの識別はPCRによる遺伝子変異の解析結果に基づいた。

〔結果と考察〕遺伝子変異を有しないPSSPは減少傾向にあり, 既に全体の1割程度に過ぎなかった。セフェム系薬に対する感受性を低下させる *pbp2x* 遺伝子変異の関わるPISPでは, *pbp2x* 単独変異株は3年間を通じて不変, *pbp1a+pbp2x* 変異のPISP株は増加傾向にあった。 *pbp1a+pbp2x+pbp2b* の変異したPRSPの検出率は47%から49%とほぼ横ばい状態であったが, 基準薬のPCGに対する感受性分布を見ると, そのピークは2 μ g/mlと確実に耐性側へシフトしていた。どの薬剤においてもPRSPのピークから外れ, 一段と感受性の低下した菌株が出現しつつあることが注目されたが, 特に *pbp2x* において変異が進み, 注射セフェムの代表薬であるCTXに8.16 μ g/ml, 経口セフェムに対しては, CFDNとCPDX16.32 μ g/ml, CDTR2 μ g/ml, CFPN2.4 μ g/mlのMICを示す菌株が散見され始めた。

一方, PRSPはマクロライド系薬(Mac)に対する耐性菌も多く, 14員環MacとAZMに軽度耐性を与える *mefA* 遺伝子保持株が51%, *ermB* 保持株が40%で, Mac感性菌は10%以下にすぎなかった。

血清型別では, PRSPは19型, 6型, 23型, 14型が検出されているが, 11型のPRSPも認められ始め, PISPにおいても7型, 9型, 10型菌が検出され, 次第に血清型の異なる菌株へ耐性が広まっていることが示唆された。

肺炎球菌については今後とも全国規模の疫学的な解析が必要である。

気道感染症ならびに急性中耳炎等から分離されたインフルエンザ菌の疫学的解析
—市中感染症研究会・3年間のまとめ—

市中感染症研究会¹⁾, (財)微生物化学研究所²⁾
○千葉 菜穂子¹⁾, 長谷川 恵子¹⁾, 柴崎 有美¹⁾,
生方 公子¹⁾, 紺野 昌俊¹⁾

〔key words〕インフルエンザ菌, BLNAR, PBP3 変異

〔目的〕市中感染症研究会(小児科, 耳鼻咽喉科, 内科参加; 検体受理施設数=169)は, 1998年~2000年までの3年間に, 各施設の外来を受診した呼吸器系感染症ならびに急性中耳炎例などを対象にして, 細菌学的検索を行なった。この間, 6,458検体について菌検索が実施され, その中の主に肺炎球菌とインフルエンザ菌について遺伝子レベルでの解析がなされた。ここでは, インフルエンザ菌において急速に増加している β -ラクタマーゼ非産生 ABPC 耐性インフルエンザ菌 (BLNAR) の動向と薬剤感受性の特徴について報告する。

〔方法〕対象とした検査材料は上咽頭が最も多く, 次いで耳漏, 鼓膜切開液, 咽頭の順であった。血清型, 耐性型ともに同じ菌が同一症例から検出された際は, 1菌株のみを集計の対象とした。年次の内訳は, 1998年が411株, 1999年が559株, 2000年が438株であった。チョコレート寒天培地上に発育したインフルエンザ菌と思われるコロニーは, 通常の検査と同時に, PCR法によって4種類の遺伝子を検索した。すなわち, (i)菌種同定のためのP6蛋白遺伝子, (ii)TEM型 β -ラクタマーゼ遺伝子, (iii) *ftsI* 遺伝子上の1箇所の変異領域, (iv) *ftsI* 遺伝子上の2箇所の変異領域, を検出した。薬剤感受性は ABPC, AMPC, PIPC, CTX, CTRX, CDTR, MEPM, CCL, CFDN, CPDX, CFPN, FRPM, およびLVFXの13薬剤について測定した。測定方法はミューラーヒントン培地を基礎培地とした寒天平板希釈法で, 接種菌量は10⁷/mlの10 μ とした。

〔結果と考察〕 *ftsI* 遺伝子上に変異が2ヶ所のインフルエンザ菌は, ABPCに $\geq 2\mu$ g/ml, CTXには $\geq 0.25\mu$ g/mlのMICを示し, 明らかな耐性菌群を形成し始めていることが注目された。これらの耐性菌(BLNAR)の年次の分離率は2.9%, 6.6%, 13.7%と急増しており, しかもペニシリン系のみならず, セフェム系薬に対する感受性が一段と低下していることが注目された。変異が1ヶ所の菌株はLow-BLNARとして区別したが, その割合は25%前後で年次的変動は認められなかった。TEM型 β -ラクタマーゼ産生株は年々減少傾向にあり, 昨年は5%台の分離率であった。経口セフェム系薬が繁用されている現状をから, BLNARは今後益々増加することが懸念される。

Prevotella nigrescens TO167 carbapenemase 遺伝子と *Prevotella* における検索

大阪歯科大学¹口腔外科第1講座・²細菌学講座
○¹山口智子,²尾上孝利,¹白数力也

Carbapenemase *Prevotella* 口腔

(目的) β -Lactam 薬は菌性感染症を始めとする多くの感染症の治療に頻繁に使用されている。これにともなって β -lactamase 産生株が出現し、感染症の治療を困難にしている。 β -Lactamase に安定な carbapenem は、 β -lactamase 産生株による感染症の治療に使用される頻度が増加している。演者らは、嫌気性グラム陰性桿菌の *Prevotella nigrescens* TO167(TO167)から carbapenemase(CBP)が検出されたことを、昨年の本学会西日本支部総会で報告した。本研究ではこの CBP 遺伝子をクローニングし、口腔閉鎖性膿瘍から分離された β -lactamase 産生 *Prevotella* におけるこの遺伝子の分布を検索した。

(方法) 供試菌株は、菌性感染症から分離した CBP 産生株 *Prevotella nigrescens* TO167 を用いた。 *E. coli* でクローニングして得た TO167 β -lactamase 遺伝子よりプライマー(TO167 プライマー)を作製した。本プライマーと 14 種グラム陰性桿菌由来 β -lactamase プライマーを用いて β -lactamase 産生 *Prevotella* 7 種 17 株(カルバペネム感受性 12 株、耐性 5 株)の DNA を鋳型に PCR を行い分布を調べた。

(結果) TO167CBP 遺伝子のクローニングの結果、blaIMP の塩基配列とは異なっていた。この塩基配列をもとに作製した TO167 プライマーにて CBP 遺伝子の検索を行ったところ、カルバペネム感受性 β -lactamase 産生 *Prevotella* 7 種 12 株とカルバペネム耐性 β -lactamase 産生 *Prevotella* 3 種 5 株では、ともに同じ位置にバンドは検出されなかった。他の 14 種プライマーでも同じ結果であった。

(考察) この結果より TO167CBP 遺伝子は blaIPM プライマーでクローニング出来たが、その塩基配列は、異なっていた。供試 *Prevotella* で、TO167 プライマーによる DNA 産物が検出されなかった事から、TO167CBP は、供試菌種に分布していないことが示唆される。また、14 種プライマーにおいても DNA 産物が見られなかったことより、これら *Prevotella* の β -lactamase 遺伝子は、既知のものとは異なるかと推測される。

当施設で検出されたメタロー β -ラクタマーゼ産生性(IMP-1 および IMP-2) *Acinetobacter* spp. について

滋賀県立成人病センター 検査部¹⁾ 国立感染症研究所²⁾
○西尾 久明¹⁾、柴田 尚宏²⁾、土井 洋平²⁾、荒川 宜親²⁾

【key word】メタロー β -ラクタマーゼ, *Acinetobacter* spp. IMP-1 および IMP-2

【はじめに】*Acinetobacter* spp. は、日和見感染症として重要な細菌であり、最近では耐性菌の問題が出始めている。当施設においても今回、メタロー β -ラクタマーゼ産生性 *Acinetobacter* spp. を検出したので報告する。

【対象および方法】対象は、2000 年 1 月から 12 月までに検出された *Acinetobacter* spp. の薬剤感受性を実施した 55 症例 57 株とした。メタロー β -ラクタマーゼの確認方法は、DADE 社の Neg Combo panel 5J のパネルを用いて測定した CAZ の MIC 値が $32 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の株を対象に 2-メルカプトプロピオン酸を用いたディスク拡散法 (2-MPA 法) にてスクリーニングを行った。2-MPA 法で阻止帯の認めたものについて、メタロー β -ラクタマーゼ耐性遺伝子の検出を PCR 法によって確認した。

【結果および考察】CAZ $32 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の株は、57 株中 6 株 (10.5%) であり、その内訳は *A. baumannii* 50 株中 4 株、*A. lwoffii* 6 株中 1 株、未同定株 (同定中) 1 株中 1 株であった。2-MPA 法は、*A. baumannii* の 1 株を除く 5 株 (4 症例) が陽性であった。耐性遺伝子は、IMP-1 型が 1 株 (未同定株)、IMP-2 型が 4 株 (*A. baumannii* 3 株、*A. lwoffii* 1 株) であった。薬剤感受性パターンは、CAZ, CTX, IPM/CS が耐性、AZT, SBT/CPZ, MINO, LVFX が感受性であった。AMK は、IMP-1 型が耐性、IMP-2 型が感受性であった。分離検出材料は、喀痰 2 株、尿 1 株、膿汁 2 株で、膿汁 2 株は、*A. baumannii* および *A. lwoffii* を同一検査材料から分離した。これらの分離された患者 4 症例は、すべて入院患者で外科 2 例、循環器内科 2 例であった。外科 2 例は、同一病棟のほぼ同一時期から検出されたことから交差感染が疑われた。患者背景およびグラム染色塗抹標本の成績から 3 症例 (喀痰 1 例、尿 1 例、膿汁 1 例) は感染、1 症例 (喀痰 1 例) は定着と考えられた。今後、*Acinetobacter* spp. についても耐性菌の増加が予想されるため、引き続き警戒していく必要があると考えられた。

TEM-1 β -lactamase 過剰産生 *Enterobacter cloacae* の penam 感受性について

昭和大学藤が丘病院臨床病理科
○丸茂健治, 中村良子

【key words】 plasmid, TEM-1 β -lactamase, penam

【目的】 当院での患者由来 *Enterobacter cloacae* の内, 日常検査で piperacillin 耐性を示し, 等電点電気泳動法で TEM-1 β -lactamase 過剰産生株を分離した。この菌株は約 50kb (large, L) と 12kb (small, S) plasmid を保有し, 両 plasmid から TEM-1 遺伝子が検出された。後者の S-plasmid は可動化により *E. coli* に伝達されたので, これによる penam 感受性の変化を調べた。

【方法】 TEM-1 β -lactamase 過剰産生 *E. cloacae* FHMR16 株, *E. coli* χ 1037 への transconjugants, TC11 (L-plasmid のみ) と TC48 (L- と S-plasmid) 株, 同株への transformant, TF1 (S-plasmid のみ) 株の計 4 株を使用した。MIC 測定は寒天平板希釈法で行い, penam (ampicillin, ticarcillin, piperacillin) 単剤と各々の Li-clavulanate との合剤の抗菌力を比較した。

【成績】 被検菌 4 株に対する penam 単剤の MIC の内, TC11 株に対する piperacillin の MIC のみが $128 \mu\text{g/ml}$ で, 他 penam の MIC は $1024 \mu\text{g/ml}$ 以上の高値を示した。各 penam と Li-clavulanate ($2 \mu\text{g/ml}$) の合剤の MIC は単剤より減少し, piperacillin の MIC は FHMR16 株で $1024 \mu\text{g/ml}$, TC48 株で $8 \mu\text{g/ml}$, TC11 株で $2 \mu\text{g/ml}$, TF1 株で $8 \mu\text{g/ml}$ であった。L-plasmid のみ保有の TC11 株に対する piperacillin/Li-clavulanate 合剤の MIC に比べ, S-plasmid 保有の TC48 株と TF1 株に対する MIC は共に 4 倍増加し, 元株 FHMR16 株に対する MIC は 512 倍増加した。

【まとめ】 *E. cloacae* FHMR16 株は可動化 plasmid を保有することで penam 耐性を一層強化しており, 病院内耐性菌として重要である。

(会員外共同研究者: 同・中検細菌 富樫真弓)

Cefcapene はクラス C β -ラクタマーゼを不活化する

東邦大学医学部微生物学教室
○石井良和, 山口恵三

β -lactamase, Drug resistance, β -lactams

目的: クラス C に属する β -ラクタマーゼはセファロスポリン系抗菌薬を効率良く分解することが知られている。1980 年代以降に発売されたセフェム系抗菌薬は, クラス C β -ラクタマーゼに対して安定性であることから本酵素を産生する菌株に抗菌力を発揮する薬剤である。私たちは, 酵素学的見地から, 各種 β -ラクタマーゼと各種 β -ラクタム系抗菌薬の反応様式を観察してきたが, その中で Cefcapene (CFPN) が AmpC を失活させることが確認されたので報告する。

材料および方法: クラス A β -ラクタマーゼとして TEM-1, TEM-18, SHV-1, Toho-1, Toho-3, NMC-A, クラス D 酵素として OXA-1, OXA-10, クラス B 酵素として L-1, IMP-1, CphA, CcrA, クラス C 酵素として *E. cloacae* 908, *E. coli* K12, *P. aeruginosa*, *C. freundii* が産生する AmpC の精製した標品を用い, CFPN および Cefpodoxime (CPDX) を対象薬剤とした。 β -ラクタマーゼ活性の測定は UV 法で測定し, そのデータを Liege 大学理学部タンパク質工学研究センターにて開発されたソフトを用いて解析した。

結果および考察: CFPN および CPDX は TEM-1, TEM-18 および SHV-1 に対する Km 値は 0.5mM から 27mM と極めて大きな値を示し, 極めて低い親和性を有していることが明らかとなった。一方, Toho-1 に対する Km 値は 25 から $46 \mu\text{M}$ であり, TEM-型および SHV-型 β -ラクタマーゼと比較して高い親和性を有することが明らかとなった。クラス C β -ラクタマーゼに対するそれぞれのパラメータを見てみると, CPDX の Km 値は 0.09 から $2.7 \mu\text{M}$, k_{cat} は 0.3 から 1.3s^{-1} であったが, CFPN に対して明らかな Inactivation パターンを示した。すなわち Km および k_{cat} 値を算出することができなかったが, Inactivation パターンを示す酵素と基質に特有のパラメータが算出された。それぞれの値は, k_{+3} が 0.002 から 0.2s^{-1} , k_{+2}/K が 8.7×10^5 から $7.0 \times 10^6\text{M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ であった。今回の検討から, セフェム系抗菌薬であっても, クラス C β -ラクタマーゼを失活させる化合物をデザインすること可能であると思われる。

当院におけるメロβラクタマーゼ産生 *S. marcescens* の分離状況
と IMP-1 型と IMP-2 型が同時検出された 1 症例

関西医科大学附属病院 中央検査部¹⁾、高度救命救急センター²⁾
国立感染症研究所 細菌・血液製剤部³⁾

○中村 竜也¹⁾、柴田 尚宏³⁾、土井 洋平³⁾、松尾 信昭²⁾
荒川 宜親³⁾

【Key Words】 *Serratia marcescens*、IMP-1、IMP-2

【はじめに】近年、グラム陰性菌に関して様々な耐性菌が報告されている。その中でも ESBL をはじめとするβラクタマーゼに関する耐性菌の報告が増加している。そこで当院におけるメロβラクタマーゼ産生 *Serratia marcescens* (*S. marcescens*) の検出状況及び細菌学的、遺伝子学的について解析し検討を行ったので報告する。

【対象及び方法】1990～1999 年の 10 年間に血液培養から検出された *S. marcescens* について解析を行なった。検討内容は検出率および薬剤感受性について調査をし、Ceftazidime (CAZ) 耐性菌 (≥32 μg/ml) について IMP-1 遺伝子保有の有無を検討した。また、IMP-1 型メロβラクタマーゼ遺伝子保有株に対しては IMP-2、VIM-2 及び *aac(6)* についても検索を行った。

【結果】血液培養からの *S. marcescens* の検出率は増加傾向にあった。CAZ 耐性株は 42 株中 13 株 (31%) 認められ、IMP-1 遺伝子の保有は 4 株で検出された。この 4 株中、VIM-2 及び *aac(6)* については検出されなかったが、IMP-2 が 1 株検出された。以下に IMP-1 及び IMP-2 検出症例について報告する。

【症例】66 歳、女性。基礎疾患は肝硬変、真性多血症。海外渡航歴はなし。平成 8 年 9 月 17 日、食道静脈瘤破裂により他院受診するも吐血が続いたため、当院高度救命救急センター入院となった。入院時は食道潰瘍からの出血、低タンパク血症、肺水腫、難治性腹水を認めた。保存療法が施行される中、9/24 に発熱及び CRP の増加を認めた。CFPM (2g/day) が投与されていたにもかかわらず、血液培養より *S. marcescens* が検出された。以後、CFPM にて治療を行なうが 9/30 にも *S. marcescens* が検出され、感受性検査結果より AZT (2g/day) に変更された。以後、発熱、CRP ともに減少し 10/7 の血液培養では *S. marcescens* は陰性化した。検出された *S. marcescens* の AZT の MIC 値は 8 μg/ml であった。

【考察】今回の調査において 4 例でメロβラクタマーゼ産生菌の存在が確認された。その中で IMP-1 及び IMP-2 型を同時に獲得した *S. marcescens* が検出され世界的にもはじめての症例であった。本邦では欧米に比較してメロβラクタマーゼ産生菌の検出が多く、カバペムによる治療に難渋するケースの増加が懸念されているため、今後一層の注意が必要であると考えられる。

我が国における IMP-1 型、IMP-2 型、VIM-2 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の検出状況
国立感染症研究所 細菌・血液製剤部¹⁾、関西医大²⁾、
滋賀県立成人病センター³⁾、保健科学研究所⁴⁾

○柴田尚宏¹⁾、土井洋平¹⁾、柴山恵吾¹⁾、中村竜也²⁾、
西尾久明³⁾、黒川博史⁴⁾、荒川宜親¹⁾

IMP-1、-2 型メタロ-β-ラクタマーゼ、VIM-2 型

メタロ-β-ラクタマーゼ、インテグロン

（目的）カルバペネムグラム陰性桿菌において、メタロ-β-ラクタマーゼを産生するものが増加しつつある。なかでも IMP-1 型は、我が国では主流を占め、その variant の報告はあるものの、それ以外のメタロ-β-ラクタマーゼ産生株の分離状況は不明な点が多かった。しかし、昨年はじめて我々は国内分離菌濃菌より VIM-2 型を報告した。今回、全国から検査依頼のあった臨床分離株を用い、IMP-1 型とそれ以外のメタロ-β-ラクタマーゼ産生の検出状況を調べたので報告する。（方法）1993 年から現在までの CAZ 耐性、S/C 耐性かつ IPM 感受性以外としてスクリーニングされ、当研究所に検査依頼のあった臨床分離グラム陰性桿菌を対象とした。メタロ-β-ラクタマーゼ産生株のスクリーニング法として、メルカプト酢酸ナトリウムを用いたディスク拡散法を行った。さらにこの方法で陽性と出た菌株については、IMP-1、-2 型、VIM-1、-2 型特異的プライマーにて PCR 法を行った。（結果）今回の解析により、国内で初めて IMP-2 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生株が 3 施設から発見された。また、1997 年の保存株より国内 2 例目の VIM-2 型が 1 株検出された。IMP-2 型は *Acinetobacter baumannii* 2 株、*A. lowii* 1 株、*Serratia marcescens* 1 株であった。VIM-2 型は細菌濃菌であった。VIM-2 型 2 例と IMP-2 型の一部についてはクローニングを行い、クラス 1 型インテグロン構造にこの遺伝子が担われていることが明らかになった。（考察）今回、我々は国内初の IMP-2 型の存在を明らかにするとともに VIM-2 型も 2 例目を検出した。これらの遺伝子はすべてインテグロン構造に担われており、グラム陰性桿菌の中で IMP-2 型、VIM-2 型などについても伝達性プラスミドを介する遺伝子の拡散を警戒する必要があるだろう。

臨床材料分離 *Pseudomonas aeruginosa* の薬剤感受性
および多剤耐性株についての細菌学的検討

順天堂大学附属病院 臨床検査部

○三澤成毅, 中村文子, 小栗豊子

同 医学部 臨床病理

猪狩 淳

【Key words】*Pseudomonas aeruginosa*, 多剤耐性, メタロ-β-
ラクタマーゼ

【目的】*Pseudomonas aeruginosa* は臨床材料からの分離頻度が高く, 日和見感染症の原因菌として最も重要な細菌である。近年ではメタロ-β-ラクタマーゼ等による多剤耐性菌の出現が問題となってきた。多剤耐性菌の検出頻度は現在のところ低いものと思われるが, 今後問題となる可能性がある。

そこで, 今回私共は本菌の薬剤感受性を調査し, 特に多剤耐性菌については細菌学的検討を行った。

【材料および方法】使用菌株は2000年1年間に各種臨床材料より分離された *P. aeruginosa* 合計約540株。血清型別には緑膿菌群別用免疫血清(デンカ生研)を用いた。薬剤感受性測定は本学会標準法である MIC-2000 system (DYNATECH) を用いる微量液体希釈法によった。培地は2価イオン調整 Mueller-Hinton broth (DIFCO) を用いた。被験抗菌薬は PIPC, CPZ/SBT, CAZ, CPR, CFPM, CZOP, IPM, MEPM, AZT, GM, TOB, AMK, LVFX, CFX, GFLX の15剤。また, IPM 耐性を含む多剤耐性株については2-メルカプトプロピオン酸(2-MP)による阻害効果とPCR法による *bla*_{IMP} 遺伝子の検出を行った。

【結果】*P. aeruginosa* の薬剤感受性は, 主要4剤(CAZ, IPM, GM, LVFX)の耐性(中間および耐性の合計)パターンを比較した。1剤耐性ではIPM単独耐性が最も多かったが, 2剤耐性ではCAZ-IPM耐性が過去に優位であったIPM-OFLX耐性を上回っており, CAZ-IPM耐性株がやや増加傾向であった。1剤および2剤耐性におけるIPMの耐性度は, ほとんどが中間~中等度耐性(8~32μg/ml)に分布しており, 高度耐性株は認められなかった。3剤以上の耐性株は材料別には尿由来株に, 菌型別にはE群, C群, I群で多かった。2-MPによる阻害効果と *bla*_{IMP} 遺伝子の検出は現在検討中であるが, 少数株の検討では膿瘍由来E群と尿由来型別不能株各1株で認められ, それぞれ4剤および3剤(CAZ-IPM-LVFX)耐性を有するIPM高度耐性株であった。

近畿地区における *Escherichia coli* および *Klebsiella* spp. 以外の腸内細菌からのESBL産生菌の分離調査

1) 天理よろづ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) 滋賀県成人病センター検査部, 5) 国立循環器病センター臨床検査部, 6) 近畿大学医学部附属病院中央臨床検査部

○小松 方¹⁾, 島川宏一¹⁾, 相原雅典¹⁾, 山崎勝利²⁾, 木下承皓³⁾, 西尾久明⁴⁾, 浦 敏郎⁵⁾, 佐藤かおり⁶⁾

【key words】ESBL, 腸内細菌, 疫学調査

【目的】NCCLS法を用いた extended spectrum β-lactamases (ESBLs) 産生菌検出法の普及により, ESBL産生 *E. coli* および *Klebsiella* spp. の検出の実態が判明しつつある。しかし, それら以外の腸内細菌科菌のESBL検出法は確立されておらず, またその実態も明かでない。今回 *E. coli* および *Klebsiella* spp. 以外のESBL産生性腸内細菌科菌の分離調査を行い, 併せて検出法の検討を行った。

【対象および方法】近畿地区6府県の6病院で2000年1月から6月の間に患者材料から分離された *E. coli*, *Klebsiella* spp. 以外の腸内細菌科菌903株中, CTXあるいはCAZに16μg/ml以上のMICを示した88株(9.7%)を対象として, CAZ, CTXおよびCFPMを用いたダブルディスク法を実施しESBL産生性を確認した。またPCR法でCTX-M-1/M-3, CTX-M-2/Toho-1, CTX-M-9/Toho-2, SHVおよびTEM型の計5種のESBLを型別した。

【結果および考察】CTXあるいはCAZに16μg/ml以上を示した88株中, ダブルディスク法陽性は10株(1.1%)あった。クラバン酸による阻害効果でCFPM単独の阻害が3株に認められ, AmpC過剰産生により阻害効果が低下していたと考えられた。PCR法による型別ではCTX-M-1/M-3型が8株(*C. freundii* 3, *E. cloacae* 4 および *S. marcescens* 1), CTX-M-2/Toho-1型が2株(*C. freundii* 1 および *P. mirabilis* 1)であった。病院別のESBL産生菌分離率は0~2.9%で, 特定の施設で多く検出される傾向が認められた。

各種ESBL産生菌の薬剤耐性とそのタイピングの検討

¹⁾保健科学研究所 耐性菌研究室²⁾国立感染症研究所 細菌・血液製剤部○黒川博史^{1,2)}、山田大輔¹⁾、山田光男¹⁾、柴田尚宏²⁾、
土井洋平²⁾、柴山恵吾²⁾、荒川宜親²⁾【Key Word】ESBL産生菌、Twin Test、
β-ラクタマーゼタイピング

近年、本邦においてもCTX-M-タイプβ-ラクタマーゼやTEM-, SHV-型ESBL産生菌などの分離が報告され、さまざまなタイプのβ-ラクタマーゼ産生菌が臨床現場で確認されるようになった。

我々は、1999年にβ-ラクタマーゼタイプ予測法の手段としてTwin Testを提案した。今回、Twin Testの再検討も含め、ESBL産生菌に対して、薬剤感受性試験をはじめとしたさまざまな分析を行い、ESBLの耐性パターンに基づいたタイピング法を検討したので報告する。

【材料・方法】我々が保管する、臨床分離TEM-, SHV-型ESBL産生菌42株およびCTX-M-タイプβ-ラクタマーゼ産生菌49株を対象とした。

日本化学療法学会標準法に基づき、CAZやCPRなどのセフェム薬のMICを測定した。さらに、ダブルディスク法(CAZとCVA/AMPC、CAZとSBT/ABPC、CTXとCVA/AMPC、CTXとSBT/ABPC)によるディスク間阻害帯の形状と、微量液体希釈法によるMICの低下度(単剤に対して、SBTやCVAを添加してMICを測定する。添加はすべて4 μg/ml)の比較などを行った。

【結果・考察】CTX-M-タイプβ-ラクタマーゼはTEM-, SHV-型ESBLに比べ、SBTによる阻害作用を受けにくく、CPRやCZOPに対する耐性パターンが異なり判別に利用可能と思われた。

我が国においては、多種のCTX-M-タイプβ-ラクタマーゼ産生菌をはじめ、TEM-, SHV-型ESBLなど、さまざまなタイプの拡張型β-ラクタマーゼ産生菌が報告されている。よって、適切な抗菌薬を選択する上で、臨床分離されるさまざまな耐性菌について、その検出/判定法の精度向上のため、薬剤感受性試験を含めた総合的な解釈を行い、少なくとも、産生される拡張型β-ラクタマーゼが、クラスA、B、C、Dのどのグループに属するのか、さらにクラスAの場合、CTX-M-タイプかTEM-, SHV-型ESBLなのかを、日常検査レベルでも予測することが必要となろう。

北九州市内で分離された
ESBL産生 *Citrobacter koseri* に関する検討産業医科大学泌尿器科¹⁾、(株)キューリン²⁾○小武家 洋¹⁾、村谷哲郎¹⁾、小林とも子²⁾、
高橋康一¹⁾、松本哲朗¹⁾【Key words】*Citrobacter koseri*, ESBL, 多剤耐性

【目的】*Citrobacter koseri* は染色体上に Form I と呼ばれ Clavulanic acid により阻害を受ける Class A に属する β-lactamase を有しており、またそれに加えて ESBL を産生する株についても報告されている。我々は北九州市内の施設より 1999 年 11 月にカルバペネムを除く β-lactam に高度耐性を示す *C. koseri* を分離した。それ以後、類似の薬剤感受性パターンを示す株が複数分離されたので、これらの株について検討を行った。

【方法】2000 年 12 月までに 6 施設より分離された CPR 8 μg/ml 以上を示す 10 株の *C. koseri* を用いた。MIC の測定は寒天平板希釈法で行った。耐性の伝達試験として、*E. coli* を用い接合伝達試験と抽出したプラスミドを用いた形質導入試験を行った。またプラスミド上の β-lactamase 遺伝子の塩基配列を決定した。

【結果】CPR の MIC は 6 株が 8-32 μg/ml、4 株は ≥256 μg/ml であり、CVA の併用により、全株 0.25-1 μg/ml まで低下した。CTX, CAZ, CPDX, AZT の MIC はいずれも 32->256 μg/ml であった。セフエマイシン系の CMZ は 32->256 μg/ml、LMOX は 8-64 μg/ml を示した。カルバペネム 3 剤は 1 μg/ml 未満で全ての株の発育を阻止した。他系統薬剤では LVFX が 16-128 μg/ml、MINO が 4-32 μg/ml を示した。アミノ配糖体系の GM は 5 株が 0.25-2 μg/ml、残り 5 株は 128->256 μg/ml を示した。CPR 高度耐性の 4 株は、transconjugant および transformant が得られ、それらの株に対する CPR の MIC は元株より 512 倍上昇した。プラスミド上に存在する β-lactamase の塩基配列は、CTX-M-2 と 100% 一致した。

【考察】*C. koseri* の分離頻度は高くないが、今回分離された多剤耐性株は治療に難渋する場合があり、敗血症に至った症例もあった。また 2 施設では複数の患者からの分離が認められており、院内感染や地域内伝播の可能性があり、菌株の類似性を検討する必要がある。

ESBL 産生菌に関する院内感染の報告は多く、分離されたときの対処法などを含めて認識する必要がある。

セフェム耐性 *Klebsiella pneumoniae*
に関する検討

筑豊労災病院検査科¹⁾
産業医科大学泌尿器科²⁾、(株)キューリン³⁾
○重高正行¹⁾、村谷哲郎²⁾、小林とも子³⁾、
高橋康一²⁾、松本哲朗²⁾

【Key words】 *K. pneumoniae*, ESBL, β -lactamase

【目的】 *Klebsiella pneumoniae* は染色体上に penicillin を好基質とする β -lactamase を有しており、産生量の多い株では第一世代セフェムにも耐性を示すが、第二世代以降のセフェム系やセフェマイシン系、モノバクタム系薬剤である aztreonam には耐性とはならない。しかし、近年欧米ではプラスミド性の ESBL 産生菌が問題となっており、日本においても報告されている。我々は北部福岡地区において、第二世代以降のセフェム系薬剤に低感受性を示す *K. pneumoniae* を分離したので、その薬剤感受性パターンに関する検討を行った。

【方法】1998年以降に北部福岡地区において分離された *K. pneumoniae* について、ESBL スクリーニングの NCCLS の基準である CPDX, CTX, CAZ, AZT のいずれかの薬剤の MIC が $2\mu\text{g/ml}$ を超える株または CMZ $8\mu\text{g/ml}$ をこえる菌株を選択した。MIC の測定は寒天平板希釈法で行い、 β -lactamase 阻害剤である CVA の併用効果についても検討した。

【結果】上記いずれかの基準を満たした菌株は 14 株あった。CPDX に $2\mu\text{g/ml}$ 以上を示した株は 12/14 株で、残りの 2 株のうち 1 株は CAZ $4\mu\text{g/ml}$ 、もう 1 株は CMZ $>256\mu\text{g/ml}$ を示した。いずれの株とも β -lactamase 産生株であった。CMZ $4\mu\text{g/ml}$ 以下の 4 株はいずれも CVA の添加により、CAZ の MIC は 8~128 倍低下した。CMZ $8\mu\text{g/ml}$ 以上を示した株のうち 2/10 株については CVA の併用効果が認められたが 7/10 株については全く MIC の低下は認められず、そのうち 1 株は CVA の添加により、CPDX の MIC は 32 倍上昇した。

【考察】北部福岡地区で分離される *K. pneumoniae* の多くはセフェム系やキノロン系薬剤に感受性を示す株であり、薬剤耐性により、臨床問題となることはほとんどない。しかし今回、ESBL を産生すると考えられる株や誘導型の ClassC を産生すると考えられる株も分離された。これらの解析を進めるとともに今後の動向に注目したい。

埼玉医科大学附属病院におけるセフトジジム耐性
グラム陰性桿菌の解析

埼玉医科大学第一内科
○山口敏行、前崎繁文、山崎 勉、別所正美
埼玉医科大学中央検査部
橋北義一、岸 悦子、河村 亨、高橋 俊、
板橋 明

【key words】 CAZ, *bla*_{IMP}, ESBL

【目的】セフトジジム (CAZ) は第三世代セフェム系抗菌剤であり、グラム陰性菌に強い抗菌スペクトルを示すことが知られている。近年 CAZ に耐性を示す菌種として、カルバペネム耐性遺伝子 *bla*_{IMP} 保有緑膿菌、ESBL 産生肺炎桿菌および大腸菌が問題となっている。今回我々は当院における CAZ 耐性グラム陰性桿菌の解析を行ったので報告する。

【方法】2000年1月から12月の一年間に埼玉医科大学附属病院(ベッド数1483床)中央検査部に提出された全検体の中から、緑膿菌、肺炎桿菌、大腸菌を選択し、各株の MIC 値から NCCLS の基準に従い CAZ 耐性株を抽出した。さらに耐性株の遺伝子学的検討を行った。

【結果と考察】一年間の分離状況は、緑膿菌が 1187 株、肺炎桿菌が 373 株、大腸菌が 577 株だった。このうち CAZ の MIC が $32\mu\text{g/ml}$ 以上のものが緑膿菌 287 株(23.4%)、肺炎桿菌 15 株(4%)、大腸菌 2 株(0.3%)だった。これらの株から、緑膿菌ではカルバペネム耐性遺伝子 *bla*_{IMP} を、肺炎桿菌および大腸菌では TEM 型および SHV 型 ESBL を解析し報告する。

アスペルギルス症の合併と考えられ白血病 2 例

順天堂大学医学部内科(血液学)

森 健、松村万喜子、高橋まゆみ

【Key words】白血病, 診断 治療, アスペルギルス症】

【目的】白血病の治療経過中に、アスペルギルス感染を疑って治療した 2 例の診断・治療法を検討する。

【対象】急性骨髄性白血病(AML)の 1 例および急性リンパ性白血病 1 例(51 歳、女性)の 2 例。

【結果】症例 1: 38 歳、女性。AML と診断され、2 回目の入院時に Allo-PBSCT を行い寛解状態であったが、再発し入院した。抗白血病療法に伴う白血球減少と共に発熱を認め、ITCZ 療法を開始した。当時(1→3)・β-D-グルカンは陰性であったが、Pastorex® *Aspergillus* が陽性で、アスペルギルス感染が強く疑われた。その後血清学的補助診断法は陰性で一時的に解熱傾向を示し、ZFLCZ に変更したが、再度発熱を認め ITCZ・G-CSF を投与後、解熱し抗真菌剤療法を中止した。再度化学療法施行後、発熱を認め抗生剤を変更すると共にアスペルギルス症を疑い、AMPH の点滴静注を行い軽快した。この間胸部 X 線像は左上肺野の浸潤影は空洞様陰影に変化し解熱したため退院した。その後入院し病巣部を切除後、骨髄移植を行い経過良好である。

症例 2: 51 歳、男性。22 歳時に大動脈閉鎖不全のため大動脈弁置換術を受けている。平成 11 年 3 月末梢血に骨髄芽球を認めたため入院した。精査の結果 ALL(L2) と診断し、骨髄移植を施行、一時急性 GVHD を認めたが、軽快退院した。約 5 カ月後に皮膚色素沈着・角化傾向、肝障害などより、慢性 GVHD と診断し、PSL・CyA の内服により軽快した。胸部 X 線結節状陰影を認め、著明な変化は見られず退院した。外来通院中に咳喀痰を認め、胸部 X 線で両側中肺野に陰影を認め即時入院した。(1→3)・β-D-グルカンは入院時のみ陽性で、それ以降は陰性であった。しかし入院 19 日目以降に喀痰培養で *A. fumigatus* を繰り返し検出した。そこで AMPH を後に ITCZ に変更し、胸部 X 線像は囊胞様陰影に変化した。退院後も ITCZ 内服を続けている。

【考案】白血病にアスペルギルス症を合併した場合、予後不良な事が多い。予後を良くするには早期に診断し、治療を強力に行なう必要がある。

ELISA 法による血清中 *Candida albicans* のマンナン抗原と抗カンジダ抗体検出の有用性
天理よろづ相談所病院臨床病理部

○長坂陽子、島川宏一、岩崎瑞穂、小松 方、相原雅典

【key words】*Candida* 症, ELISA 法, マンナン抗原

【目的】易感染患者における感染症の原因として重要なカンジダ症は、今なお診断困難な疾患である。この度、ELISA 法を用いた血清中 *C. albicans* マンナン抗原および抗カンジダ抗体の各々の検出キットを検討する機会を得たので報告する。

【対象および方法】当院で病理解剖にて診断されたカンジダ症 34 例とカンジダ症以外の真菌症 44 例(アスペルギルス症 30, ムコール症 11, クリプトコッカス症 3)から得られた血清 78 検体と、健常人血清 50 検体の総計 128 検体を対象とした。マンナン抗原検出 ELISA 法は PLATELIA® CANDIDA Ag (以下 PLAg 法; サノフィ)を、抗カンジダ抗体検出 ELISA 法は PLATELIA® CANDIDA Ab (以下 PLAb 法; サノフィ)を用いた。なお現行法として同一社製のラテックス凝集反応法の PASTOREX® CANDIDA (以下 PA 法)を使用し、比較した。

【結果】カンジダ症 34 例の PLAg 法陽性は 14 例(41.2%), PA 法陽性は 10 例(29.4%), PLAb 法抗体陽性は 12 例(35.3%)であった。カンジダ症以外の真菌症 44 例の PLAg 法陽性は 1 例(2.3%), PA 法陽性は無く、PLAb 法陽性は 7 例(15.9%)であった。健常人 50 例は 3 法ともすべて陰性であった。PLAg 法と PLAb 法のそれぞれの感度は 41.2%, 35.3%, 特異度は 97.7%, 84.1% であり、両法を合わせると感度 61.8%, 特異度 84.1% であった。

【考察】カンジダ症の血清学的診断法としては、D-アラビニトール測定、カンジテック®(持田製薬)および PA 法が用いられているが、何れの方法も一長一短があり満足すべき状況ではない。今回検討した PLAg 法と PLAb 法は、それぞれ単独でも PA 法(29.4%)の 1.2~1.4 倍、2 法を合わせると約 2 倍の感度があり、従来法に比べカンジダ症の診断を高感度に行い得ると思われた。

マウス *in vivo* passage による *Trichosporon asahii* の薬剤感受性の変化に関する検討

大分医科大学第二内科

○辛島礼子、時松一成、山形英司、平松和史、
山上由理子、永井寛之、中野哲治、大濱 稔、
平田範夫、一宮朋来、那須 勝

【key words】 *Trichosporon asahii*, MIC, microevolution

【目的】我々は、トリコスポロン株における形態やGXM抗原価が環境分離株・深在性感染症株により異なることや、*in vivo* passage による環境分離株の形態変化やGXM抗原価の上昇などを報告してきた。

一方、カンジダやクリプトコックスも *in vivo* passage によりその表現型を変化させることが知られており、特に *C. neoformans* は環境分離株をマウスに継代感染させる動物実験で、抗真菌薬に対する感受性が変化することが報告されている。

しかし、*Trichosporon asahii* の環境分離株については、これに関する報告はない。そこで *in vivo* passage model において、*T. asahii* の抗真菌薬に対する感受性の変化を検討したので報告する。

【方法】*T. asahii* の環境分離株3株と深在性感染症株14株の抗真菌薬に対する最小発育阻止濃度(MIC)を、測定キットである酵母様真菌D P(栄研)を用いて比較検討した。さらに、環境分離株をマウスに3回継代感染させ、passage 前後のMICの比較を行った。

【結果】環境分離株と深在性感染症株の比較ではAMPH, 5-FC, ITZ, MCZ に対するMICは明らかな差を認めないが、FLCZ に対するMICは深在性感染症株が有意に高かった。マウスpassage 前後の環境分離株の比較では、passage 後の株のMICは全ての薬剤で上昇傾向を認めた。

【考察】*T. asahii* の薬剤感受性の変化は、*in vivo* passage model における、形態変化やGXM抗原価の上昇と同様に、*T. asahii* のmicroevolution によるものと思われた。環境分離株と深在性感染症株のFLCZ に対するMICの差は、*in vivo* passage の結果であることが、可能性として考えられた。

外科領域におけるカンジダ症治療 colonization を基準にしたearly presumptive therapyの試み

広島大学医学部第一外科

○今村祐司、竹末芳生、赤木真治、大毛宏喜、
同 総合診療部
横山 隆

【key words】カンジダ症, colonization, early presumptive therapy

【目的】真菌感染の対応として早期推定治療early presumptive therapy (以下、EPTと略記)の重要性が指摘されている。当教室では外科感染症に対する化学療法経過中に合併する深在性真菌症、特に頻度の高いカンジダ症を対象にしたEPTプロトコルを作製し、多施設共同研究を行ってきた。今回はこれまでの登録症例をまとめ、外科におけるカンジダ症の現状とEPTの実地臨床における問題点について検討した。

【方法】対象：平成11年1月から平成12年10月までにrisk factorを有し周術期に抗菌薬不応性発熱を呈して深在性カンジダ症を疑い、抗真菌剤の投与が行われた症例94例がエントリーされた。このうち、カンジダ血症の確定診断例(8例)、IVH敗血症(10例)、監視培養にてcolonization陰性例(25例)を除き、実質的にcolonization陽性でEPTが施行された51例を今回の研究の対象とした。検討項目：深在性真菌症が疑われた背景因子としてcolonizationの検出菌種と検出部位、colonization部位数(C数)とcolonization Index(C数/監視培養箇所、以下C I)、同時に施行された血清学的診断法の結果とEPTの有効性について解析した。

【結果】1.検出菌種：51例のべ61株で *C. albicans*(27) *C. glabrata*(14) *C. tropicalis* 2, *C. parapsilosis*(2), *C. cruzei*(1) 2. C数, C I からみたEPT有効率：C 1 (26例, C I 0.39±0.1, 有効率30.7%) C 2 (14例, C I 0.63±0.1, 有効率50%) C 3 (8例, C I 0.69±0.2, 有効率62.5%) C 4 (3例, C I 0.93±0.1, 有効率100%) 3.血清診断とそのEPT有効率： β -D-glucan陽性例におけるEPT有効率は13/24 (54.2%)、陰性例では4/9 (44.4%)、C 1 + β -D-glucan陽性例における有効率は3/10 (30%)であった。4. C I の意義：C I < 0.6でEPT有効例は10/30 (33.3%)、C I ≥ 0.6でのEPT有効例は14/21 (66.6%)であった。【まとめ】外科領域における真菌症early presumptive therapyの対象基準として監視培養でcolonization ≥ 2カ所、C I ≥ 0.6が示唆される。

Cryptococcus neoformans のフルコナゾール耐性機序に関する遺伝学的解析

(長崎大・医学部・第2内科)

○中村久助、宮崎泰司、岩川純、掛屋弘、宮崎治子、柳原克紀、東山康仁、宮崎義継、平瀧洋一、朝野和典、田代隆良、河野茂

[keywords] *Cryptococcus neoformans*, fluconazole resistance, cytochrome P450 14 α -demethylase

[目的] *ERG11* 遺伝子によってコードされている cytochrome P450 14 α -demethylase (14DM) は真菌のエルゴステロール合成酵素で、fluconazole (FLCZ) の作用標的である。*ERG11* のアミノ酸変異による FLCZ 親和性の低下は菌側の耐性機構として重要である。*Candida albicans* において 132 番目のアミノ酸 tyrosin の histidine への置換 (Y132H) は、14DM の基質認識部位に位置する為に高度耐性化に関与している事が報告されている。そこで、今回、我々は *C. neoformans* において同部位に相当するアミノ酸変位 (Y145H) と FLCZ 感受性との関連性について解析を行ったので報告する。

[方法] *C. neoformans* の wild type *ERG11* 遺伝子および、PCR (polymerase chain reaction) mutagenesis 法にて、その 145 番目のアミノ酸 tyrosin を histidine に置換した *ERG11* (Y145H) 遺伝子を Gal 1, 10 promoter を持つ Yep351G vector へそれぞれ挿入した。これらの vector を酢酸リチウム法にて FLCZ 感受性 *Saccharomyces cerevisiae* DKY1 (Δ ura3, Δ his, Δ lys, Δ trp, Δ pdr5) へ形質転換し発現させた。これらの *S. cerevisiae* 変位株の FLCZ に対する薬剤感受性を Etest を用いて測定し、アミノ酸変位 Y145H が *C. neoformans* の FLCZ 感受性に与える影響について検討した。

[結果] 我々はすでにアゾール耐性 *Cryptococcus neoformans* 1148 株においてアミノ酸変位 G484S を同定し、この変位が薬剤耐性に関与していることを報告している。今回はさらに、アミノ酸変異 Y145H が *C. neoformans* の fluconazole 耐性化に与える影響について検討した。

[結語] PCR mutagenesis 法も用いた *ERG11* 遺伝子のアミノ酸変位 (Y145H) と FLCZ 感受性について報告した。

ムピロシン中等度耐性 MRSA の耐性機構について
宮城大学看護学部微生物学¹⁾、東北大学加齢医学研究所
呼吸器腫瘍研究分野²⁾

○藤村茂^{1,2)}、渡辺彰²⁾、徳江豊²⁾、高橋洋²⁾、
貫和敏博²⁾

[Key words] mupirocin、ムピロシン中等度耐性、*mupA* 遺伝子

【目的】1987 年以降、欧米を中心にムピロシン耐性の *S. aureus* が多数報告されているが、最近、本邦においてもムピロシンに中等度耐性を示す MRSA が報告されてきている。中等度耐性の耐性機構については、染色体上のムピロシン耐性遺伝子 *mupA* との関係を指摘した一報を除いて、ほとんど明らかとされていない。そこで今回我々は、MRSA におけるムピロシン中等度耐性と *mupA* 遺伝子との関係を検討した。

【方法】使用菌株は、1999 年東北地方より臨床分離された MRSA300 株の中からムピロシンに中等度耐性を示す 2 株と英国の King's College Hospital で臨床分離された中等度耐性 MRSA2 株を使用した。ムピロシンの MIC は E-test で測定した。菌株に *mupA* 遺伝子が存在するか否か PCR により確認した。また *in vitro* 耐性獲得試験でムピロシンの耐性誘導を行った。

【結果】今回使用した 4 株のうち東北地方で臨床分離された 1 株が *mupA* 遺伝子を保有していた。*in vitro* 耐性獲得試験では *mupA* 遺伝子保有の中等度耐性株と非保有株間に MIC の上昇に差が確認されなかった。

【考察】今回の検討から、ムピロシン中等度耐性株には、*mupA* 遺伝子を保有しているものが確認されたが、ムピロシン中等度耐性と *mupA* 遺伝子は関係ないと考えられた。

会員外共同研究者：楳ふみ、大崎静香、柴田裕実、渡邊純子
(宮城大学)

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌の消毒薬に対する感受性の検討

東京薬大・病原微生物¹⁾、順天堂大・細菌²⁾

○野口雅久¹⁾、笹津備規¹⁾

伊藤輝代²⁾、平松啓一²⁾

【key words】メチシリン耐性黄色ブドウ球菌、消毒薬、薬剤感受性

【目的】メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は院内感染の代表的な原因菌である。現在、MRSA の院内感染予防のため多種多様な消毒薬が使用されている。MRSA の消毒薬耐性は薬剤の排出であり、化学構造の異なった様々な消毒薬に耐性を示す。最近、消毒薬耐性 MRSA が多く分離されている。そこで、我が国の複数の医療施設から分離された MRSA について各種消毒薬の感受性を測定した。

【材料と方法】九州から東北までの 14 医療施設より分離された MRSA 約 420 株を使用した。消毒薬は色素系のアクリフラビン (AF) とアクリノール (AN)、四級アンモニウム系の塩化ベンゼトニウム (BT) と塩化ベンザルコニウム (BK)、他にグルコン酸クロルヘキシジンとアルキルポリアミノエチルグリシン (AP) を、さらにフルオロキノロン剤のノルフロキサシン (NLFX) とスパロフロキサシン (SPFX) を用いた。最小発育阻止濃度は NCCLS に準じた寒天平板希釈法により決定した。

【結果及び考察】今回の調査においても、特定の消毒薬のみに耐性を示す MRSA は存在せず、消毒薬に多剤耐性を示した。また、NFLX 耐性遺伝子 *norA* は消毒薬にも耐性を示す。そこで、フルオロキノロンと消毒薬の感受性を調べたところ、フルオロキノロン感受性株は消毒薬に感受性もしくは低度耐性であった。また、SPFX と消毒薬に高度耐性を示す株は非常に少なかった。色素系の AF に対する感受性により消毒薬耐性 MRSA の分布を調べると、全体の約 65% が AF 耐性株であった。さらに、地域あるいは施設による消毒薬耐性株の分布に著しい差は認められなかった。今回の結果は消毒薬耐性 MRSA が医療現場で広く伝播・分布していることを示していた。

MRSA の ABK 耐性化はなぜ進行しないか：耐性因子 *aac* (6')/*aph* (2'') の MSSA へのクローン化による検討

国立感染症研究所生物活性物質部

○石野敬子、堀田国元

MRSA, ABK 耐性, *aac* (6')/*aph* (2'')

【目的】抗 MRSA 剤アルベカシン (ABK) に対する MRSA の耐性化は遅々として進んでいない。その原因を解明する目的で、ABK 耐性因子である二機能酵素 *AAC* (6')/*APH* (2'') の遺伝子を MSSA に導入し、ABK に対する耐性発現と修飾能 (アセチル化とリン酸化) について検討した。

【方法】ABK 耐性の MRSA より PCR 増幅した二機能酵素遺伝子 *aac* (6')/*aph* (2'') を含む DNA 断片をプラスミド pAW8 につなぎ、エレクトロポレーションにより MSSA に導入した (pAW8 および MSSA 菌株は感染研細菌部和田昭仁博士のご厚意)。 *aac* (6')/*aph* (2'') をクローン化した MSSA 菌株のアミノグリコシド (AG) 耐性は、ミューラーヒントン培地を用いて寒天希釈法で試験した。また、AG 修飾はアセチル CoA (アセチル化) と ATP (リン酸化) 存在下で Cell Free Extract とインキュベートし、TLC によりモニターした。

【結果】 *aac* (6')/*aph* (2'') をクローン化した MSSA 菌株は、KM, DKB, GM, SISO に対して高度耐性 (>256 µg/ml) を示したが、これらの誘導体で 1 位に特異な側鎖をもつ AMK, ABK, ISP, NTL に対しては比較的低レベルの耐性 (<64 µg/ml) で、中でも ABK 耐性に対しては 4 mcg/ml と著しく低い耐性に留まった。修飾に関しては、高度耐性を示した AG ではアセチル化とリン酸化が容易に進行したが、ABK ではアセチル化が比較的速く進んだものの、リン酸化の進行は遅かった。また、アセチル化が完全に進んでも抗菌活性が元の 15% 程残っていた (既報の結果と合致¹⁾)。

【考察】 以上のように MSSA は、*aac* (6')/*aph* (2'') を多コピープラスミドにつないで形質転換すると高度 AG 多剤耐性となるが、ABK 耐性に関しては特異的に低レベルに留まることが明らかになった。その理由として ABK はこの酵素による修飾反応を受けにくく、さらに、アセチル化物は抗菌活性を維持することが有力と考えられた。

1) Hotta K. et al: J. Antibiot. 53: 1168 (2000).

研究協力者： 和田昭仁、石川淳、荒川宜親 (国立感染症研)

MRSAの薬剤耐性遺伝子プロファイルとコアグラエゼ
遺伝子多型のコロニーPCRによる解析

国立感染症研究所 生物活性物質・*細菌血液製剤

○堀田国元、土崎尚史、*荒川宜親

MRSA、耐性遺伝子プロファイル、コロニーPCR

【目的】 MRSA菌株のアミノグリコシド(AG)修飾酵素遺伝子 [*aac(6')*/*aph(2'')*], *aad(1, 4')* および *aph(3')*-III] の存否とコアグラエゼ遺伝子(*coa*)の多型について調べ、AG耐性との関連性を検討した。

【方法】 Multiplex コロニーPCR法¹⁾を用いて90年代末に全国各地で臨床分離されたMRSA菌株を対象に*mecA*, *aac(6')*/*aph(2'')*, *aad(1, 4')*および*aph(3')*-IIIを検索した。用いたプライマーは各遺伝子識別のためPCR産物に100~150bpの差がでるように設計した。*coa*の遺伝子多型は、3'側のDirect repeat領域を標的としてコロニーPCRを行い、増幅産物のサイズと*AluI*切断パターンにより調べた。MRSAのAG耐性は、KM系およびGM系のAGについてミューラーヒントン培地を用いて寒天希釈法により調べた。

【結果】 1. AG修飾酵素遺伝子: *mecA*と*coa*の両方が+と出た菌株(81株)の92%(77株)が*aad+*であった。そのうち40株(53%)は*aac/aph+*も+で、残り37株は*aad*単独+であった。*aph+*株は1株検出され、*aac/aph+* *aad-*であった。*aac/aph*単独+株は2株認められた。

2. *coa*: *aad+*の77株のうち67株(87%)が同じ*AluI*切断パターン(L21と呼称)を示した。*aac*単独+の菌株に限ると37株中35株(95%)がL21型であった。*aac/aph+*の43菌株では、32株(74%)がL21型であった。

3. AG耐性: *aad*と*aac/aph*両方+の菌株に限られ、40株中16株が3.13~25ug/mlの耐性を示した。*aac/aph*単独+株はABK感受性であった。また、*aad*単独+株はKMやISPなどI⁻OHをもつAGに特異的に耐性を示した。

【考察】 *aac(6')*/*aph(2'')*は唯一の既知ABK耐性因子で、それを保持するMRSAは多いにも関わらず、そのごく一部の菌株しかABK耐性を示さないことが明らかになった。すなわち、ABK耐性は*aac/aph*と*aad*の両方をもつ菌株のごく限られたものにしか認められなかった。このことは、*aac/aph*を*aad-*のMSSAにクローン化してもABK耐性を付与しないことと相関した。

一方、コアグラエゼ遺伝子のPCR増幅産物の*AluI*切断パターンの中で最も多かったL21型は、コアグラエゼII型の遺伝子に対応することが強く示唆された。

1)土崎尚史ら: Jpn. J. Antibiot. 53: 422 (2000).

研究協力者: 斎藤文子、石川淳(国立感染症研究所)

MRSAにおける arbekacin の感受性とアミノ
グリコシド耐性遺伝子の関連性の検討

明治製菓(株)薬品総合研究所

○田端麻紀子、荒明美奈子、小川 弘

【key words】 MRSA, arbekacin, *aac(6')*/*aph(2'')*

【目的】 アミノグリコシド系薬剤(AGs)耐性の要因は主に修飾酵素による不活化であるが、arbekacin(ABK)は酵素学的耐性機構の研究とそれに基づく化学変換の研究によって合成され、多くのAGs修飾酵素に安定である。ABKに対するMRSAの感受性も発売以来ほとんど変化がみられず耐性菌も数%前後で推移しているが、このABK耐性はAAC(6')/APH(2'')によるものであることが報告されている。今回、AAC(6')/APH(2'')産生遺伝子である*aac(6')*/*aph(2'')*保有の有無が、ABK耐性とどの程度の関係があるかを検討した。

【方法】当研究所保存の臨床分離MRSAを用いた。ABKおよびgentamicin(GM)の感受性は化学療法学会法に準拠した寒天平板希釈法にて測定した。AGs耐性遺伝子の検出は土崎らの方法によるコロニーPCR法により行った。

【結果および考察】様々なABKの感受性を示すMRSAを選択し、これらの株の*aac(6')*/*aph(2'')*の検出を行ったところ、*aac(6')*/*aph(2'')*を保有していない株のABKのMICは0.125~0.5μg/ml、*aac(6')*/*aph(2'')*保有株は0.25~64μg/mlであった。また、GMのMICとの関係をみたところ、*aac(6')*/*aph(2'')*を保有しない株はGMのMICとABKのMICはほぼ同じ値を示したが、*aac(6')*/*aph(2'')*を保有する株のGMのMICは、1株を除きABKの約64から128倍の値を示し、GM高度耐性(MIC:>1024μg/ml)株はABK耐性株(MIC:≥16)であった。これらより、*aac(6')*/*aph(2'')*を保有していない株はABK感受性株であると考えられるが、また、*aac(6')*/*aph(2'')*保有株の多くもABK感受性株であることが確認された。

新規 1 位置換基を持つニューキノロン系抗菌
化合物の抗 MRSA 活性

湧永製薬(株)創薬研究所

○大下嘉弘

【key words】ニューキノロン薬、抗 MRSA 活性、
構造活性相関

【目的】独自の 1 位置換基 5-アミノ-2,4-ジフルオロ
フェニル基を持つキノロン系化合物は、グラム陽性及
び陰性菌に対して優れた抗菌活性を有していることを
報告してきた¹⁾²⁾³⁾。今回、7 位置換基の構造活性相
関から見出した WQ2942(7 位アミノ基)と WQ2944
(7 位メチルアミノ基)の臨床分離 MRSA に対する
抗菌力を測定し、WQ 化合物の構造活性相関を検討し
た。

【方法】CPF_X に対する薬剤感受性を基に感受性群
(CPF_X<8 μg/ml)と耐性群(CPF_X>16 μg/ml)に群
分けした各 27 株に対する薬剤感受性を寒天平板希釈
法で測定した。対照化合物として CPF_X、LVF_X と
TVF_Xを用いた。

【結果】感受性群に対する抗菌力は WQ2942 =
WQ2944 > TVF_X > LVF_X > CPF_X の順に低下し、WQ
化合物は同等の活性を示した。一方、耐性群に対する
抗菌力は WQ2944 > WQ2942 = TVF_X = LVF_X > CPF_X
の順に低下し、WQ2944 が最も強かった。また、
WQ2942 は明かな 2 峰性を示した。さらに、WQ2944
と 1 位フェニル基上にアミノ基を持たない WQ3100
(7 位メチルアミノ基)の抗菌力を比較したところ、
WQ2944 の抗菌力が 10~50 倍強いことが示された。

【結論】キノロン耐性 MRSA に対して優れた抗菌力
を持つ WQ2944 を見出した。この場合、新規 1 位
置換基のアミノ基が抗菌力の増強には必要であった。

なお、現在解析を進めているジャイレースおよびト
ポイソメラーゼ IV の変異との関係を併せて考察する予
定である。

¹⁾ 36th ICAAC Abstract F-051 (1996)

²⁾ 39th ICAAC Abstract 557 (1999)

³⁾ 40th ICAAC Abstract F-1504 (2000)

会員外共同研究者；倉本康弘、岡孝紀、矢崎明

ガチフロキサシン 8 位メトキシ基の影響

-抗菌力、殺菌力-

杏林製薬(株) 中央研究所

○岸井 粒太, 門脇 葉子, 武井 雅也,

福田 秀行, 保坂 雅喜

ガチフロキサシン、置換基効果、in vitro 活性

【目的】ガチフロキサシン(GFLX)は 8 位にメトキシ
基(8-OMe)及び 7-ピペラジニル基の 3'位にメチル基
(3'-Me)を持つ新規キノロン系抗菌剤である。今回
我々は GFLX の種々のキノロン感受性及び耐性菌に
対する抗菌力を測定し、さらに黄色ブドウ球菌に対
する殺菌力を測定することにより、その抗菌力・殺菌力
に及ぼす置換基効果を検討した。

【方法】抗菌力の測定は寒天平板を用いる化療標準法
に準じた。殺菌力は、薬剤を含むミューラーヒントン
液体培地もしくは PBS 中で菌株を培養し、一定時間
後の生菌数を調べるにより評価した。対照薬剤に
は AM-1121(GFLX の 8-H 体), AM-1147(GFLX の 3'-H
体), シプロフロキサシン(CPF_X)を用いた。

【結果】8-OMe を有する GFLX 及び AM-1147 はそれ
らの 8-H 体である AM-1121 及び CPF_X に比べて、キ
ノロン耐性菌を含むグラム陽性菌及び嫌気性菌に対
して同等~32 倍優れた抗菌力を示した。更にキノ
ロン感受性及び耐性の黄色ブドウ球菌に対する殺菌力
を測定したところ、GFLX は AM-1121 及び CPF_X に比
べて顕著に優れた殺菌効果を示した。これに対し、
3'-Me 体(GFLX, AM-1147)はその 3'-H 体(AM-1121,
CPF_X)に比べて大きな差は見られなかった。よってキ
ノロン耐性を含むグラム陽性菌に対する GFLX の抗
菌力及び殺菌力には特に 8-メトキシ基が重要な役割
を担っていることが示唆された。

【結論】GFLX は 8 位メトキシ基の導入によりグラム
陽性菌及び嫌気性菌に対して強い抗菌力を示し、また
キノロン耐性株を含む黄色ブドウ球菌に対して優れた
殺菌効果を示すことが明らかになった。

ガチフロキサシン 8 位メトキシ基の影響
-耐性頻度、標的酵素阻害-
杏林製薬(株) 中央研究所

○武井雅也、岸井粒太、門脇葉子、福田秀行、
保坂雅喜

ガチフロキサシン、置換基効果、酵素阻害

【目的】キノロン骨格の 8 位にメトキシ基(8-Ome)を有するガチフロキサシン(GFLX)はグラム陽性菌に対し優れた抗菌活性を示すとともにキノロン耐性株を選択し難いことが報告されている。そこで、耐性株の選択に対する 8-Ome の影響について検討した。

【方法】使用薬剤：GFLX(8-Ome, 7-ピペラジニル-3'-メチル基(3'-Me))、AM-1147(8-Ome, 3'-H)、AM-1121(8-H, 3'-Me)、シプロフロキサシン(CPFX;8-H, 3'-H)ならびに類剤を用いた。耐性変異株の選択：*S. aureus* MS5935(SA)ならびに *S. pneumoniae* IID553 (SP)を 2, 4, 8, 16 x MIC 濃度の薬剤を含む寒天培地上に接種し、各薬剤濃度における耐性変異株の出現頻度を測定した。標的酵素阻害活性の測定：SA の Gyrase および TopoIV 阻害活性をスーパーコイリング活性(Gyrase)およびデカテネーション活性(TopoIV)を指標に測定した。

【結果】GFLX は類剤に比べ SA および SP において耐性株を選択し難かった。耐性株選択に対する 8-Ome の影響を検討したところ、8-Ome を有する GFLX, AM-1147 は SA, SP いずれにおいても耐性株を選択しなかった。これに対し 8-H 体である CPFX, AM-1121 は SA, SP からそれぞれ 4 x および 2 x MIC 濃度で耐性株を選択した。標的酵素阻害活性を比較すると、8-Ome 体(GFLX, AM-1147)は 8-H 体(CPFX, AM-1121)に比べ TopoIV 阻害活性は同等であるのに対し、Gyrase 阻害活性が約 6 倍増強されていることが明らかとなった。

【結論】8-Ome の導入により耐性株が選択され難くなることが明らかとなった。GFLX は 8-Ome 導入により Gyrase に対する阻害活性が増強され、菌体内で TopoIV および Gyrase を近いレベルで阻害している可能性が示唆された。

キノロン系抗菌薬の抗菌作用に及ぼす非抗菌性
薬剤の影響

天理よろづ相談所病院薬剤部

○山本育由、佐野雅俊

【key words】ニューキノロン剤、黄色ブドウ球菌、ニカルジピン

【目的】臨床において耐性菌の増加は大きな問題である。抗菌薬の併用による耐性菌の治療が試みられているが、今回我々は臨床分離黄色ブドウ球菌を用いて非抗菌薬が抗菌薬に及ぼす影響を及ぼすかの検討を試みた。

【材料・方法】菌株：当院にて分離された norA gene 陽性の黄色ブドウ球菌(SA) 3 株(SA-359, SA-361, SA-367) 薬剤：ニューキノロン(NQ)剤：norfloxacin(NFLX), ciprofloxacin(CPFX), enoxacin(ENX), ofloxacin(OFLX), sparfloxacin(SPFX), 非抗菌剤：diltiazem(DIL), verapamil(VER), ketotifen(KET), flunarizine(FLUN), trifluoperazine(TFOP), nifedipine(NICA), 併用効果評価系：MICの変動、killing curve法によって検討。MICの測定は、日本化学療法学会標準法に準じて行った。

【結果・考察】各種NQ剤のMIC値に与えるNICA(25 μM)の影響は、水溶性の高いNQ剤CPFXおよびNFLXが最も影響を受けやすく、次いでENXで、またOFLXはほとんど影響を受けず、SPFXは全く影響を受けなかった。NFLXにおいて併用によりSA-359では6.25 μgより0.78 μgへ、SA-361は12.5 μgより6.25 μgへ、SA-367は50 μgより6.25 μgへそれぞれ低下した。p-glycoprotein(p-G)に影響するとされるDILおよびVERでは、NFLXの抗菌活性に全く影響与えず、FLUN, TFOPおよびNICAについて1/2~1/8の低下効果が観察された。またkilling curve法を用いてNFLXの1/4MICであるsub-MICにて3株のtime-kill curveを見たところ、8時間後のNFLX単独とNICA併用と比較した場合、2.2~3.9 log₁₀CFUの差で抗菌力の増大を見た。これは、NICAがnorA蛋白を阻害した結果抗菌力の増大を見たものと思われる。またヒトにおいてp-Gの阻害剤として作用するDILおよびVERの影響はSAにおいては全く見られず、ジヒドロピリジン系カルシウム拮抗剤のNICAが最も強くNFLXの抗菌活性の増大を見たことは、ヒトのMDRとSAのnorAとにおいて耐性の発現した膜の疎水性と関連するものと思われる。

HIV-1 吸着阻害作用をもつ合成ペプチド T134 耐性ウイルスの遺伝子変化と生物学的特徴

鹿児島大学歯学部口腔細菌学教室
○中島秀喜

【キーワード】 T134, CXCR4 アンタゴニスト、薬剤耐性 HIV

【目的】合成ペプチド T134 は、CXCR4 アンタゴニストとして作用することで X4 HIV-1 に特異的な抗ウイルス活性を示す。今回、T134 薬剤耐性ウイルスを作成し、種々の抗 HIV 物質に対する交差耐性の検討を行った。また、T134 薬剤耐性ウイルスの *env* 領域の遺伝子変化を調べたのでこれを報告する。

【方法】MT-4 細胞に HIV-1NL4-3 を感染させ、MTT assay で求められた EC₅₀ の濃度から始めて、順次 T134 の濃度を上げながら処理して 145 回継代したときのウイルスを回収した。これは、T134 に対する EC₅₀ 値が 15 倍高い値を示す耐性ウイルスとなっていた。このウイルスに対する他の抗 HIV 物質である T140、ALX40-4C、AMD3100、TAK-779 や CXCR4 または CCR5 のリガンドである SDF-1、MIP-1 α 、RANTES および vMIP II の交差耐性の有無を、MAGI-CCR5 細胞を用いて検討した。同様に、AMD3100 薬剤耐性ウイルスに対する種々の CXCR4 アンタゴニストの交差耐性の有無も検討した。T134 薬剤耐性ウイルス DNA の *env* 領域を感染細胞からクローニングした後シーケンスを行い、そこにみられる変異と、SDF-1 や AMD3100 耐性ウイルスにみられる変異とを比較検討した。

【結果】AMD3100 薬剤耐性ウイルスは、SDF-1 のみに交差耐性を示したが、T134 耐性ウイルスは試験した全ての CXCR4 アンタゴニストや SDF-1、vMIP II に対しても抵抗性となっていた。T134 薬剤耐性ウイルスの *env* 領域の遺伝子を調べたところ、AMD3100 薬剤耐性ウイルスでみられた変異よりも明らかに多数の変異が認められた。T134 薬剤耐性ウイルスは、*env* 領域に多数の遺伝子変化が認められたが、その coreceptor usage は CXCR4 のままであり、CCR5 のみ発現した細胞への感染性はみられなかった。

【考察】AMD3100 耐性よりも T134 耐性ウイルスの方が広く交差耐性がみられたことは、薬剤耐性ウイルスの *env* 領域の遺伝子変化の量と相関があると考えられた。この T134 耐性ウイルスには、coreceptor usage を決定づける *env* 領域に多数の遺伝子変化がみられたにもかかわらず、野生株 X4 HIV-1 と同様に CXCR4 を coreceptor としおり、T134 に対する耐性獲得の機序として coreceptor usage の変化は関係ないことが予想された。

臨床分離 *Serratia marcescens* 由来新規ホスホマイシン不活化酵素の精製とクローニング

東京理科大学薬学部微生物薬品化学¹
国立国際医療センター感染熱帯病研究部²
○中村昭夫^{1,2}、切替照雄²、小原康治¹

【Key words】*Serratia marcescens*、ホスホマイシン、ホスホマイシン-グルタチオン付加酵素

【目的】ホスホマイシン (FOM) はエポキシ環を含む特異的な構造を持つ抗生剤であり、細胞壁合成を阻害することで抗菌力を示す。日本では、FOM 耐性菌の分離頻度は欧州にくらべて低いと考えられている。日本で分離される FOM 耐性菌は、欧州と同様 FOM-グルタチオン付加酵素 (FOM:GST) 非産生株が多いが、*Pseudomonas aeruginosa* や *Klebsiella pneumoniae*、*Rahnella aquatilis* で FOM:GST が見いだされている。我々は、臨床分離 *S. marcescens* から FOM 高度耐性株を見出し、その薬剤不活化物の構造が FOM-GSH 付加物であることや、既知遺伝子 *fosA* とハイブリダイズしないことをすでに明らかとした。今回はこの新規 FOM:GST の精製とクローニングを行った結果を報告する。

【方法】FOM:GST 精製: 菌体を超音波破碎した後の遠心上清を DEAE-Sephadex A50 カラム、及び Sephadex G75 superfine カラムにより精製した。酵素活性分画検出は、GSH 共存下の FOM 力価の生物検定により行った。クローニング: Total DNA を CTAB 法により調製し、*Hind*III による部分消化後、pBR322 の *Hind*III サイトに挿入した。宿主は *E. coli* HB101 を用いた。

【結果・考察】粗酵素による検討の結果、本酵素は pI5.5 から 6.0 であったことから、DEAE-Sephadex A50 カラムにかけた後、Sephadex G-75 superfine に適用し、精製 FOM:GST を得た。ゲル濾過の結果から、FOM:GST は 14 kDa であった。既知の FOM:GST (*fosA* 由来、分子量 32kDa) とは異なることから新規酵素と結論した。続いて新規 FOM 耐性遺伝子 *fosX* の cloning を行った。FOM 耐性は非伝達性を示し、プラスミドも検出されなかったことから、全菌体 DNA を用いて行った。その結果、pBR322 に約 6.0 kb の *fosX* insert を持つプラスミド pCJ001 が得られ、同プラスミドが *E. coli* においても耐性を与えることが示された。(会員外共同研究者: 千葉大薬 陳 佳)

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

琉球大学第一内科¹⁾、琉大附属病院 検査部²⁾

○當山真人¹⁾、山本夏男¹⁾、田場秀樹¹⁾、久保田徹¹⁾、
新里 敬¹⁾、健山正男¹⁾、斎藤 厚¹⁾

仲宗根 勇²⁾、山根誠久²⁾

【key words】キノロン耐性肺炎球菌, *gyrA*, *parC*

【目的】近年、臨床材料より分離されるペニシリン耐性肺炎球菌はペニシリン・セフェム系抗菌薬以外の抗菌薬に対しても耐性傾向にある。ニューキノロン系抗菌薬

(NQs) は PC 耐性肺炎球菌に対する治療薬剤としての有用性が検討されているが、臨床分離株のなかには既に本薬剤に対して耐性化した株が少なからず存在している。今回、我々は NQs に対する肺炎球菌の薬剤感受性、および NQs の標的部位である DNA gyrase および DNA topoisomerase IV を支配する *gyrA* および *parC* 遺伝子の変異について検討したので報告する。

【材料と方法】1989年から2000年の間に当院検査部にて各種臨床材料より分離された *S. pneumoniae* を対象とした。薬剤感受性試験は日本化学療法学会標準法に基づき、微量液体希釈法にて行った。検討薬剤は PCG, CPF, SPFX, LVFX とした。また、NQs 耐性株の *gyrA* および *parC* 遺伝子の変異の検索は、polymerase chain reaction (PCR) 法を用いて目的塩基配列を増幅し、得られた PCR 産物の塩基配列を sequencer により解析・比較することにより行った。

【結果および考察】CPF, LVFX に高度の耐性 (64 μg/ml) を示していた株では *gyrA* (85 Glu→Lys) と *parC* (79Ser→Tyr and 137Lys→Asn) に変異がみられ、*gyrA* 単独 (81Ser→Tyr) の変異株より *gyrA* + *parC* の変異株の方が高度の耐性を示していた。*parE* 単独 (460Ile→Val) の変異株では軽度のキノロン耐性がみられた。キノロン耐性肺炎球菌は分離数は少ないが高度耐性を示す株もあり、今後ともその動向に注意深く観察していく必要があると考えられた。

九大第一内科入院患者由来のニューキノロン高度耐性腸球菌の耐性機構の検討

九州大学大学院医学系研究科病態修復内科学¹⁾、

新小倉病院²⁾、大日本製薬(株)創薬研究所³⁾

○山方昭弘¹⁾、岡田薫¹⁾、詫間隆博¹⁾、澤江義郎²⁾

小山田義博³⁾、山岸純一³⁾

腸球菌、ニューキノロン耐性、DNA ジャイレース、DNA トポイソメラーゼIV、薬剤排出ポンプ

【目的】近年、腸球菌感染症の重要性が高まっているため、臨床分離株について感受性成績の検討とともに、ニューキノロン耐性機構について検討を加えた。

【方法】1993年から1999年11月末まで、九州大学医学部附属病院第一内科入院患者由来の *E. faecalis* 217株について、ABPC、CAZ、IPM、GM、CAM、TEIC、VCM、TFLX に対する感受性を日本化学療法学会標準法(寒天平板希釈法)に準じて測定した。そのうち、166株については、SPFX、CPF、NFLX についても感受性を測定した。その結果をもとにニューキノロン高度耐性株について、標的酵素の点変異と薬剤排出ポンプ亢進の可能性について調べた。

【結果】TFLXの薬剤感受性は2相性になっており、MICが50 μg/ml以上の株が217株中93株あり、そのうち、SPFX、CPF、NFLXに対するMICが100 μg/ml以上の株が39株あった。ニューキノロン高度耐性の6株は、*GyrA*、*GyrB*、*ParC*にアミノ酸の変異があったが、*ParE*については変異はなかった。NFLXとSPFXに対する薬剤排出ポンプ亢進の可能性について検討したが、明白な結果を得る事が出来なかった。

【考察】ニューキノロン系の薬剤感受性は約30%は好感受性を示し、残り70%は耐性の2相性のパターンであった。今後とも、ニューキノロン高度耐性臨床分離株については監視培養や耐性機構の検討が重要であり、必要であると思われた。