

*Candida albicans*におけるdelta-5,6-desaturaseの機能解析

長崎大学医学部第二内科

○宮崎泰可、小林 奨、今村圭文、金子幸弘、黒木美鈴、掛屋 弘、柳原克紀、宮崎義継、平潟洋一、朝野和典、田代隆良、河野 茂

【研究の背景および目的】 *ERG3* 遺伝子によってコードされている delta-5,6-desaturase は、エルゴステロール生合成に関与する酵素の一つである。 *Saccharomyces cerevisiae* において、アゾール系抗真菌薬に耐性を示す株は、表現型に delta-5,6-desaturase の変異が認められた。このため、delta-5,6-desaturase はアゾール耐性に何らかの影響を及ぼすと考えられているが、これが耐性の原因となるのか否かの分子生物学的な証明がなされていない。今回、病原性真菌である *Candida albicans* において delta-5,6-desaturase (*ERG3*) の disruption mutant を作製し、薬剤感受性や病原性との関連を検討したので報告する。

【方法】 *ERG3* の Open Reading Frame (1161bp) のうち 468bp を、selection marker である *hisG-URA3-hisG* cassette で置き換えた deletion construct を作製した。この construct を用いて *ura3* 欠損株である *Candida albicans* CA14 株 (FLCZ MIC: 0.5 μg/ml) に electroporation による形質転換を行った。*ERG3* 欠損株の確認にはサザンブロット解析を用いた。

【結果と今後の展望】 2つの対立遺伝子のうち、各々1つを knock out した (*ERG3/erg3Δ::hisG*, *erg3Δ::hisG/ERG3*) 株は、いずれもアゾール系抗真菌薬に対する感受性に変化はなかった。しかし、両方の対立遺伝子を knock out した deletion mutant (*erg3Δ::hisG/erg3Δ::hisG*) は、高度のアゾール耐性株となった。現在、病原性への関与等について解析を行っている。

ラット腎由来リソゾームの膜流動性に及ぼす Fosfomycin、Arbekacin の影響

明治製菓(株)薬品総合研究所開発薬理研究所

○三國谷 雄、松下直子、小川 弘、小宮 泉

千葉大学大学院薬学研究院

堀江利治

【目的】 Fosfomycin (FOM) がアミノ配糖体等により惹起される腎毒性を軽減することは、基礎、臨床の場で数多く報告されており、その作用機序の一つは FOM の腎リソゾームの膜安定化作用であることが確認されている。今回、FOM の腎毒性軽減作用メカニズム解明を目的とし、Arbekacin (ABK) 存在下におけるリソゾームの膜流動性に及ぼす FOM の影響を検討した。

【方法】 ラット腎よりシヨ糖連続密度勾配比重遠心法を用いてリソゾームを分離し、FOM、ABK、蛍光標識プローブ(終濃度: 1 μM) 存在下で 25°C、30 分 incubation した。リソゾームの膜流動性は、プローブの蛍光偏光解消を偏光付属装置付蛍光強度計で測定し (Ex367nm/Em450nm)、異方性を算出し求めた。群間比較は Tukey 型多重比較 (Steel-Dwass; 両側検定) で行った。

【結果】 蛍光プローブ 2-(9-anthroyloxy)-stearic acid (2AS) を用いてリソゾームの膜表層部の流動性を検討したところ、1~100 μM FOM 単独では有意な流動性の変化は認められなかった。10 μM ABK は単独で膜流動性を有意に低下させたが、100 μM FOM が共存することにより、リソゾーム膜は control と同程度の流動性を示した。FOM の併用効果は 1、10 μM では認められなかった。膜中央部 (プローブ: 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene, DPH)、膜深層部 (同: 16-(9-anthroyloxy) palmitic acid, 16AP) の流動性に対しては、本実験条件下での明らかな薬剤の影響は認められなかった。

【考察】 本検討で、HBK は膜表層部の流動性に影響することが示された。膜流動性の変化は生体膜の生理的機能を大きく変動させることから、FOM 存在下における膜流動性の回復は腎毒性軽減作用の一つと考えられた。会員外協力者: 浜 朋子

多チャンネル電極式溶存酸素測定装置を用いた薬剤感受性測定 of 検討

1) 長崎大学医学部附属病院薬剤部

2) 長崎大学医学部附属病院検査部

○北原 隆志¹⁾、松田 淳一²⁾、平潟 洋一²⁾、
中嶋 幹郎¹⁾、佐々木 均¹⁾

(目的) 溶存酸素電極法を用いた細菌薬剤感受性試験法を確立することを目的に、多チャンネル電極式溶存酸素測定装置(DOX-96)を用いて細菌の薬剤感受性試験を行った。さらに溶存酸素電極法の有用性を明らかにするため、懸濁溶液中での感受性試験について検討した。また抗生物質の併用効果についても DOX-96 を用いて調べた。

(方法) 使用菌株は 20 菌種を用い、使用薬剤は 12 種を用いた。感受性実験は電極プレート上に抗生物質の 2 倍希釈系列を作成し、菌液を最終濃度が 10^5 cfu/ml になるように添加して、36.5°C の恒温室中で測定した。得られた薬剤感受性濃度を従来の希釈法による MIC と比較した。また懸濁溶液は培地(MH-b)に脂肪乳剤を添加し調製し、感受性実験を同様に行った。併用効果についての実験では菌種に *S. aureus* (MRSA) を用いた。バンコマイシン、テイコプラニン、アルベカシンと他の抗生物質を電極プレートに同時に添加し、測定を行い、併用させた場合の効果を調べた。

(結果・考察) DOX-96 を用いた溶存酸素測定法による MIC 値は、当施設においても従来法である希釈法による MIC 値とほぼ一致することが示された。また懸濁溶液で感受性試験を行ったところ MH-b のみで行った場合と同じ結果であった。これより溶存酸素測定法は、濁度を利用した希釈法と異なり、試料が濁っていても菌の薬剤感受性測定が可能であることが明らかとなった。従って、本法の有用性はさらに広がることが期待される。さらに併用効果を調べる実験において抗生物質により差が認められた。本法では菌の酸素消費を経時的に容易に観察でき、このことを活用することにより、今回認められた併用効果の違いを明らかに出来る可能性も示唆された。この点は今後抗生物質の効果を調べるにあたり非常に有用と考えられた。

RT-PCR 法を用いた *Chlamydia pneumoniae* の増殖および代謝活性の検討

琉球大学医学部第一内科 原永修作、齋藤 厚

University of South Florida College of Medicine

Hideaki Ikejima, Hiroyuki Yamaguchi,

Herman Friedman, Yoshimasa Yamamoto

目的: *Chlamydia pneumoniae* は偏性細胞内寄生性細菌で、感染細胞内で基本小体 (elementary body ; EB) と網様体 (reticular body ; RB) といった 2 つの異なる形態を有するユニークな増殖環を示す。EB は感染性を持っているものの、代謝、増殖能がなく、一方、RB は感染能はないが代謝活性が高く増殖能を示す。従って、これまで用いられてきた培養を基本とした測定方法は、EB のみを検出したものであり、*Chlamydia* の発育全体を観察するには限界がある。そこで我々は、RT-PCR 法を用いて *Chlamydia* の増殖能および代謝活性の検討を行いその有用性を見出したので報告する。方法: *C. pneumoniae* (TW-183 株) を感染させた HEP-2 細胞から RNA を抽出し、*Chlamydia* 特異的 16S rRNA, hsp60, omcB を標的遺伝子とする RT-PCR 法により時間経過毎の遺伝子発現の検討を行った。また、各遺伝子発現に及ぼす薬剤の影響を検討する目的でステロイド剤 hydrocortizone ならびに抗菌剤 minocycline 処理実験も合わせ行った。結果: 16S rRNA および hsp60 は感染直後からその発現が増加し始め、感染末期まで続いたのに対し、omcB は、感染直後に発現の低下が認められ感染後期に至るまでその増加は認められなかった。Hydrocortizone 処理では検討した全ての *Chlamydia* 遺伝子発現の増加が認められたのに対し、minocycline 処理実験では、omcB 遺伝子の発現が他 2 者の遺伝子に比し優位に抑制されることが判明した。考察: RT-PCR 法を用いた *Chlamydia* 遺伝子の発現測定は *Chlamydia* 増殖における EB および RB 形成を反映しているものと考えられる。この手法は、ステロイドや抗生物質といった薬剤の *Chlamydia* 増殖における影響を詳細に検討する上で有用な方法と考えられる。

LPS刺激マウス腹腔マクロファージのTNF- α 産生に対するclindamycinによる抑制機序
大分医科大学第二内科、同検査部*

○中野哲治、大濱稔、平田範夫、時松一成、
山上由理子、一宮朋来、平松和史*、
永井寛之、門田淳一、那須勝

(目的)我々はこれまでに、in vitroにおいてLPS刺激THP-1細胞培養上清中のTNF- α 濃度に対するclindamycin(CLDM)の抑制効果や、in vivoにおいてエンドトキシンショックマウスモデルにおけるCLDMの血清中TNF- α 濃度に対する抑制効果や致死抑制効果について報告してきた。今回in vitroでのLPS刺激マウス腹腔マクロファージのTNF- α 産生におけるCLDMによる抑制機序について検討したので報告する。

(方法)マウス腹腔マクロファージは腹腔洗浄液をプラスチックプレートに静置培養することにより分離し、CLDM非含有あるいはCLDM含有(5,25,100 μ g/ml)培養液にて前培養後、大腸菌の精製LPS(100ng/ml)を用いて刺激した。ELISA法にて培養上清中のTNF- α 濃度を測定し、RT-PCR法にてマクロファージ内のTNF- α のmRNA量を、さらにフローサイトメトリー法にて細胞内TNF- α 陽性マクロファージの割合を比較検討した。

(結果)培養上清中のTNF- α 濃度はLPS2時間刺激にてCLDM非作用群 1080 ± 106.7 pg/ml、CLDM5 μ g/ml作用群 962 ± 104.0 pg/ml、CLDM100 μ g/ml作用群 675 ± 75.4 pg/mlとCLDMの濃度依存的に減少していた。マクロファージ内のTNF- α のmRNA量はLPS刺激群ではLPS非刺激群に比べて増加していたが、CLDM作用群、非作用群の間に差は認められなかった。一方、フローサイトメトリー法を用いた細胞内TNF- α 陽性のマクロファージの割合は、CLDMの濃度依存的に減少していた。

(結語)LPS刺激マウス腹腔マクロファージのTNF- α 産生に対するCLDMの抑制効果は、mRNAから蛋白合成を行うtranslationのレベルで抑制していることが示唆された。

MRSAのTSST-1凝集価と薬剤感受性の変化

市立藤井寺市民病院外科

○藤本幹夫、井上直、塚本泰彦

当院では1991年よりMRSAのコアグララーゼ型、エンテロトキシン型と共にTSST-1凝集価を測定している。コアグララーゼ型は1997年以降殆どが2型となっている。エンテロトキシン型はA型からBC、C型に変化がみられる。TSST-1凝集価は徐々に高値を示すものが増え、1999年から2048倍を示すものが認められた。

そこで、TSST-1凝集価と薬剤感受性との関係を調べてみた。その結果、TSST-1凝集価の低いものに感受性の良好なものが認められたが、凝集価と相関は認められなかった。また、VCM、ABKにはすべて同じ感受性であった。エンテロトキシン型との組み合わせでみるとBC、C型にTSST-1凝集価の高いものが増えており、薬剤の感受性も不良で、VCMとABK以外には感受性を示さなかった。また、これらを検体別にみると喀痰、膿、鼻咽喉から分離されたMRSAにTSST-1凝集価の高いものが多く、薬剤感受性も低下していた。しかし、VCM、ABKに対する感受性は差を認めなかった。

最近、乳癌術後症例でトキシックショックシンドローム(TSS)を経験した。術創部から分離されたMRSAはTSST-1凝集価が2048倍を示した。この例では抗TSST-1抗体価の高い免疫グロブリン製剤を投与することにより、ショックから離脱できた。薬剤感受性はVCM、ABKには良好であったが、治療には難渋した。

以上、TSST-1凝集価の高い症例の治療には薬剤のみならず、免疫グロブリン剤の併用が必要と考えられた。

臨床分離 MRSA の phenotype の変化

広島大学第1外科¹⁾、同総合診療部²⁾、同検査部³⁾

○沖井一哉¹⁾、竹末芳生¹⁾、横山隆²⁾、檜山英三³⁾、末田泰二郎¹⁾、板羽秀之³⁾

【目的】MRSA腸炎が問題となった1990年代初頭及び、MRSA感染の症状が比較的軽い最近の分離菌株について、phenotype（表現型）の変化を比較検討した。 【方法】前期（1991年～1993年）、後期（1998年～2000年）各々の当科臨床分離MRSAについて、以下の項目を比較検討した。1）MRSA分離症例数の変化 2）菌株のコアグララーゼ型、Staphylococcal enterotoxin（エンテロトキシン）産生性、toxic shock syndrome toxin-1（TSST-1）の力価測定 3）phenotypeに基づく抗菌薬耐性の検討 【結果】1）MRSA分離症例数は、前期 137例（45.6例/年）、後期 91例（30.3例/年）だった。年別に見ると、1992年の50例をピークとして以降減少し、1999年に19例であったが、2000年には43例と増加していた。 2）前期・後期とも、コアグララーゼ型はII型が最多であった。（前期 137例中 126例 91.9%、後期 91例中 85例 93.4%）II型はエンテロトキシン産生性によりさらに分類され、前期はエンテロトキシンAC型産生株（以下 AC型）が115例（83.9%）、エンテロトキシンC型産生株（以下 C型）が3例（2.1%）であったが、後期はAC型が1例（1.1%）と激減、C型は77例（84.6%）と著明に増加していた。これらII型株の殆どが、TSST-1を産生していた。 3）コアグララーゼII型以外では、III型が前期1例から後期3例と微増、VII型が前期7例から後期3例へと微減していた。 4）前期のAC型は、minocycline（MINO）に耐性であったが、後期はMINO感受性だった。C型は前後期ともMINO感受性、VII型は前後期とも arbekacin 耐性だった。vancomycin 耐性株はなかった。 【考察】前・後期でphenotypeの変化を認め、MRSA腸炎の頻度との関連が考えられた。将来再びphenotypeの変化が生じうる可能性も否定できず、今後も監視が必要と考えた。

病院型 MRSA と由来を異にする MRSA の市中での蔓延

順天堂大学 細菌学

○山本 宗孝、大熊 慶湖、伊藤 輝代、平松 啓一

【目的】

1999年にアメリカで Community-acquired MRSA 感染症による小児死亡症例が報告された。前後して、各国でも同様の MRSA が分離され、その由来が問題となっている。当教室ではこれらの株のほとんどが、病院型と異なる Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) を有することを見出し、これを type-IV SCC*mec* と命名した。今回、日本の状況を知るため、東北地方の幼児施設での MRSA の分離、解析を行った。

【方法】

東北地方のある都市の、3つの保育園と1つの幼稚園の園児 348人および職員 39人を対象とし、鼻腔より採取した検体から分離されたブドウ球菌について、薬剤耐性、菌種、SCC*mec* の typing を行なった。

【結果】

35%の被検者が、黄色ブドウ球菌を保菌しており、そのうち20%(27株)がMRSAであった。これらのMRSAは、すべて *mecA* を所有していた。MRSAのSCC*mec*のタイプは、type IIが18株(66%)、type IVが7株(15%)、non-typableが2株(11%)だった。type II SCC*mec* 保有株は、病院由来の type-II に特徴的な Kdp operon primer と反応せず、また、その coagulase type も I型であった。

【考察】

日本でも type-IV SCC*mec* 保有 MRSA 株が病院外に見出された。また、type II SCC*mec* 保有株の多くも、従来の coagulase 2型の病院獲得型のMRSAと異なった遺伝背景を有する可能性が強い。すなわち、今回の解析は、日本でも、院内MRSAと由来を異にするMRSAが市中に蔓延していることを強く示唆するものである。

MRSA および VISA 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⁾

○金子幸弘¹⁾、柳原克紀¹⁾、今村圭文¹⁾、
大津喜子¹⁾、黒木美鈴¹⁾、宮崎義継¹⁾

平潟洋一²⁾、朝野和典¹⁾、田代隆良³⁾、河野 茂¹⁾

【目的】Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)感染症は、院内感染として重要な感染症である。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 Vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA)が報告されている。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 などに対する効果が期待されている。今回、Linezolid の MRSA および VISA に対する効果を解析するため、agar beads 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)および VISA (Mu50 株、順天堂大学平松先生より分与)を用いた。寒天培地にて 24 時間培養後、生理食塩水に浮遊させ 10^6 cfu/ml に調製し、その菌浮遊生理食塩水と、4% Agar noble (DIFCO)とを混合した。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 20 または 100mg/kg/day で、Vancomycin(VCM)、Teicoplanin(TEIC)、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。また、サイクロホスファミドにて前処置を行い、同様に治療を行い、生存率を比較した。

【結果】Linezolid 投与群は、無治療群および VCM、TEIC 投与群と比較して有意に生菌数を減少させた。サイクロホスファミド前投与群では、Linezolid 投与群は他群と比較して有意に生存率を上昇させた。

【考察】MRSA および VISA 感染症において、Linezolid は明らかに菌数を減少させ、また、免疫抑制モデルにおいては生存率を上昇させ、その有効性が示された。

複雑性尿路感染症に対するファロペネムとレボフロキサシンの臨床効果に関する比較試験

産業医科大学泌尿器科

○飯原清隆、村谷哲郎、稲富久人、山田陽司、
高橋康一、松本哲朗

【目的】複雑性尿路感染症における外来治療薬としては、第三世代経口セフェムやフルオロキノロンが汎用されている。FRPM は、唯一のペネム系抗生物質であり、*P. aeruginosa* には活性を有していないが、*E. faecalis* に対しても強い活性を有する薬剤である。この FRPM の臨床効果を検討する目的で、臨床での使用頻度が高い LVFX と比較検討した。

【対象と方法】試験開始時の濃尿 ≥ 10 コ/μl、尿中細菌数 $\geq 10^4$ CFU/ml (女性中間尿: $\geq 10^5$ CFU/ml)を満し、尿路基礎疾患として、前立腺肥大症または神経因性膀胱を有するカテーテル非留置の 16 才以上の外来患者を対象とした。抗菌薬は、FRPM300mgx3 または、LVFX100mgx3 を 7 日間連続投与とした。投与開始時および投与 7 日後に尿中白血球数および細菌数の測定を必須検査項目とした。UTI 薬効評価基準第4版に従い、早期薬効判定を行った。

【結果】エントリー 88 (FRPM55, LVFX33) 例中、臨床効果判定可能症例は 63 (FRPM35, LVFX28) 例であった。脱落症例は、投与開始時の尿中細菌数または濃尿不足 21 例、検査日に来院せず 4 例であった。総合臨床効果は有効率(著効+有効)FRPM 群 91.4% (著効 45.7%、有効 45.7%)、LVFX 群 85.7% (著効 57.1%、有効 28.6%)であり、有効率は FRPM 群が高く、著効率は LVFX 群が高かったが、いずれも有意差は認められなかった。細菌陰性化率および濃尿の正常化率は FRPM 群 71.4% および 57.1%、LVFX 群 67.9% および 71.4% であり、有意差は認められなかった。

【考察】FRPM は、泌尿器科領域での使用頻度は高くない薬剤であるが、治験時の複雑性尿路感染症に対する有効率は 82.0% と良好な成績を有しており、今回は、91.4% という成績が得られた。FRPM 無効 3 例は、MRSA の単独感染、MRSA と *P. aeruginosa* または FRPM 耐性 *E. avium* への菌交代であった。LVFX 無効 4 例は、キノロン耐性 *E. coli* または、*P. aeruginosa* の単独感染、キノロン耐性 CNS または *E. faecalis* への菌交代例であった。*Enterococcus* 属にも抗菌活性を有している FRPM も複雑性尿路感染症の有用な治療薬のひとつとなりうると考えられた。

血液疾患のfebrile neutropenia に対するCFPM 対 PAM/BPの有効性の比較検討

福井医科大学病理学二 ○池ヶ谷論史

同輸血部 岩崎博道

同第一内科 木下圭一、周藤英将、高木和貴
浦崎芳正、吉田 明、今村 信
津谷 寛、上田孝典

【目的】血液疾患の白血球減少時の発熱の原因は感染症であることが多く、また急速に重篤化するため培養の結果を待たずに直ちに抗菌スペクトルの広い抗菌剤を投与することが多い。各抗菌剤の有効性についてはこれまでに報告例があるが、未だ十分な結論が得られていない。そこで今回我々は有効性の高い抗菌剤を選択し2群間での有効性を比較検討した。

【対象と方法】対象は37.5℃以上の感染性の発熱を来した好中球1,000/μl以下の血液疾患患者で、2001年2月1日から2001年7月31日までの連続する30例である。該当患者をrandomにA群とB群に分け、それぞれCFPM 4g/日、PAM/BP 2g/日を投与した。48～72時間後に高久らの診断基準に準じ効果を判定した。患者の基礎疾患は急性骨髄性白血病12例、悪性リンパ腫11例、骨髄異形成症候群2例、多発性骨髄腫4例、再生不良性貧血1例であった。

【結果と考察】感染症の診断としては起因菌の同定されない敗血症の疑いが最も多く23例(77%)、咽頭炎が3例(10%)、肺炎が2例(7%)、腸炎が1例(3%)、敗血症(*S.mitis*)が1例(3%)であった。A群(16例)の効果は著効10例(62.5%)、有効2例(12.5%)、やや有効2例(12.5%)、無効2例(12.5%)であった。B群(14例)では著効6例(43%)、有効4例(29%)、やや有効2例(14%)、無効2例(14%)で両群間で有意差は認めなかった。有熱期間はA群4.9日、B群6.1日(N.S.)、抗菌剤の追加または変更を要した症例はA群4例(25%)、B群8例(57%)であった。副作用はA群で皮疹が1例、B群で肝機能障害が1例でいずれも薬剤中止により速やかに軽快した。両群間で効果及び副作用に有意差は認めず、有用性は同等であることが示唆された。

慢性副鼻腔炎に対する randomized controlled study

-エアロゾル療法(ベストロン+ステロイド)
vs 経口消炎剤投与-

藤田保健衛生大学坂文種報徳会病院耳鼻咽喉科

○村山誠、藤沢利行、鈴木賢二、西村忠郎

【目的】鼻ネブライザー療法は、我々耳鼻咽喉科医が繁用しているにもかかわらず、その有用性に関するevidenceがなく、このままでは耳鼻咽喉科の処置・治療としての鼻ネブライザー療法は保険医療から削除されかねない。これに対するため、鼻ネブライザーの有用性に関するevidenceを求める研究は急務である。今回、我々は関連病院と関連医院の協力を得て、ベストロンネブライザーと経口消炎酵素剤での多施設共同無作為比較試験を行った。

【対象と方法】16歳以上の未治療、あるいは1週間以上無治療の慢性副鼻腔炎(含急性憎悪症)または軽度の急性副鼻腔炎症例に対し、封筒法で治療法を無作為に選択。治療法はエアロゾル群(3回/1週)、経口群(常用量投与)。症状消失まで、あるいは症状憎悪し無効と判定されるまで、または最長8週間まで投薬とした。

【結果】総投与例は、エアロゾル群は19例、消炎酵素経口群16例。脱落症例は各1例づつで、解析症例は18例と15例。いずれの群でも副作用は認められなかった。薬効評価で有効率はエアロゾル群で77.8%、経口消炎酵素群で26.7%。

【まとめ】エアロゾル療法は消炎酵素剤投与と比較し、統計学的に極めて有意に有効性が高いと判断された。いずれの群も副作用は認められなかった。

周術期感染予防における Azithromycin(AZM:po)と
Cefotiam (CTM:iv) との無作為比較試験

中津川市民病院

○藤澤利行、川勝健司

藤田保健衛生大学病院第2教育病院

鈴木賢二、村山 誠、西村忠郎

耳鼻咽喉科領域の手術は、多岐に渡っており、周術期感染予防のための抗生剤の使用に関しては手術の汚染度により抗生剤の種類、投与期間につき、菌の耐性化防止を考慮しつつ、最小限の使用で最大限の効果が得られるよう勘案しなければならない。今回我々は、準無菌手術と汚染手術において、経口薬 Azithromycin と静注用 Cefotiam の周術期予防に対する有用性についての無作為比較試験を施行したので報告する。

対象は中耳手術などの準無菌手術5症例、鼻腔、咽頭、口腔手術などの汚染手術31例、年齢は4歳から58歳であった。Azithromycin 群が15例、Cefotiam 群が21例であった。両群には年齢、性差、手術部位等の背景因子には統計学的に有意差はなかった。両群症例の体温と脈拍の術後の変動については統計学的に有意差は認められず、両群の治療法による効果は同等であると結論した。

皮膚科領域における抗菌薬の臨床効果判定基準
—日本化学療法学会委員会報告—(第一報)

日本化学療法学会臨床評価委員会(皮膚科)

○荒田次郎、古江増隆、宮地良樹、渡辺晋一、秋山尚範、鍛冶伸幸、矢野裕二、歌田直人、伊藤敏秀
(目的)皮膚科領域細菌感染症に対する抗菌薬臨床効果判定基準を国際化の流れに沿って作成したので報告する。(疾患分類)抗菌薬のみで治療できる疾患を単純性皮膚感染症(USI)と抗菌薬以外の治療を必要とする疾患を複雑性皮膚・軟部組織感染症(CSSTI)として大別した。USI I. 浅在性皮膚感染症: ① 付属器関連性感染症(毛包炎、化膿性汗孔周囲炎、浅在性爪周囲炎) ② びまん性感染症(伝染性膿痂疹、手部(足部)水疱性膿皮症、尋常性膿瘡)。II. 深在性皮膚感染症: ③ 付属器関連性感染症: 癬、癬腫症、癬、尋常性毛瘡、乳児多発性汗腺膿瘍、急性化膿性爪周囲炎・瘰癧 ④ びまん性感染症: 丹毒、蜂巣炎、リンパ管炎・節炎。III. 二次感染: ⑤ 浅在性感染症: 浅達性II度熱傷の二次感染、術創感染症、外傷の二次感染 ⑥ 深在性感染症: 深達性II度熱傷の二次感染、術創感染症、外傷の二次感染。CSSTI I. 膿瘍性疾患: 化膿性汗腺炎、毛巣癭、慢性膿皮症、深部膿瘍。II. 潰瘍の二次感染: 皮膚潰瘍・褥瘡、深部術創感染症、深部外傷の二次感染。III. 関連組織感染症の皮膚への波及。観察項目: なし(0)、軽度(1)、中等度(2)、高度(3)、4(悪化)で記載し、経過を消失(R)、改善(I)、やや改善(S)、不変または増悪(U)とする。発赤については色調、局所熱感、範囲を総合して同様に判定する。残存発赤は0と判定する。観察日と全般改善度 USIでは、4日後および7日後に、治癒(C)、改善(I)、やや改善(S)、不変または増悪(U)、判定不能と判定する。CSSTIでは、7日後および14日後に同様に判定する。臨床効果 USIでは、7日までに全般改善度がCを著効、Uを有効とし、SまたはU、発疹新生、やむなく外科的処置の場合を無効。CSSTIでは14日までにCを著効、Iを有効、SまたはUを無効。副作用と臨床検査 日本化学療法学会の基準による。

PAPM/BP の血中および髄液濃度を経時的測定し得た肺炎球菌性髄膜炎の一例

琉球大学医学部第一内科

○當山真人, 伊志嶺朝彦, 當山雅樹, 宮良高維,
新里 敬, 比嘉 太, 健山正男, 斎藤 厚

ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) による髄膜炎では、従来の抗菌薬療法では治療に難渋する例が増えてきており、その治療薬として PAPM/BP の有用性が報告されている。今回、PRSP 髄膜炎症例で PAPM/BP による治療を施行し、薬剤の血中濃度と髄液濃度を経時的に測定できたので報告する。

【症例】50歳、男性。高熱と意識混濁のため近医入院。肺炎球菌性髄膜炎と診断され、CTX 12g/日で治療開始。分離株が PRSP であったため、CTX 8g/日 + VCM 1g/日の14日間施行し、症状は軽快した。しかし、1週間後に再発性髄膜炎を認めたため、精査加療目的で当科紹介入院となった。入院後より PAPM/BP 1g x 4回/日の点滴静注を開始した。抗菌薬施行後6日目の PAPM/BP 血中濃度は点滴前には測定限界値以下で1時間後は 11.3 μ g/ml、髄液濃度は前値が測定限界値以下で1時間後は 2.6 μ g/ml であった。その後髄液の細胞数や炎症反応などの結果を参考にしながら、治療を1ヶ月間継続した。治療期間中の薬剤濃度は、点滴1時間後の血中濃度が 13.3~17.7 μ g/ml、髄液濃度は 2.2~2.7 μ g/ml と良好な濃度が保たれていた。分離株の PAPM/BP に対する MIC が 0.125 μ g/ml であったことを考慮すると、十分治療域に達していたと考えられた。また、投与期間中に副作用は認められなかった。

【考察】PAPM/BP 1g x 4回/日の点滴静注は有効な髄液濃度が保たれており、PRSP 髄膜炎の治療薬として有用であるといえる。

じん肺症に合併した肺非結核性抗酸菌症の4例

旭労災病院内科

○森田博紀, 宇佐美郁治, 鳥居正芳, 五藤雅博

症例1はガス溶断に19年、ずい道工事に5年従事した62歳の男性。M. avium 症。症例2は造船所に29年従事した72歳の男性。M. fortuitum 症。症例3は炭鉱に30年、窯業に14年従事した88歳の男性。M. intracellulare 症。症例4は鋳物業に25年従事した58歳の男性。M. scrofulaceum 症。

症例1はINH, RFP, EB, CAMの投与により菌陰性化が得られた。約30ヶ月間再排菌は認められていない。症例2は肺結核に対するINHの予防投与を継続しているが、徐々に悪化傾向を示しており、現在治療法について検討している。症例3はINH, RFP, SPFX, CAMの投与により軽快傾向を示したが、治療開始から約20ヶ月後に他疾患で死亡した。症例4はINH, RFP, CPFX, SPFXを投与したが軽快せず、治療開始から約7年で呼吸不全により死亡した。

1997年、American Thoracic Society (ATS) は、従来の肺非結核性抗酸菌症の治療法を見直し、CAMを含む新しい方法を提唱した。ATSの勧告以前に診断し、治療を行った症例4では、十分な効果が得られず死亡した。CAMを含む治療を行った症例1では、現在のところ経過は良好である。

肺非結核性抗酸菌症は、菌陰性化後の再排菌の可能性があり、それが真の悪化と判断することが困難な場合がある。また、じん肺症に合併した場合、臨床症状や画像所見は多彩であり、治療効果を判定することが難しい場合もある。従って、じん肺症に合併した肺非結核性抗酸菌症は、長期的に注意深く経過観察を続ける必要があると思われる。

当院で経験した膿胸症例の臨床的検討

春日井市民病院呼吸器科

○山腰雅宏, 加藤宗博, 加藤研, 林嘉光

【目的】膿胸は、抗菌化学療法が進歩した今日でも難治化、重症化することがあり、重要な呼吸器感染症の一つである。今回我々は当院で経験した膿胸について、その臨床像を明らかにする目的で検討した。

【対象と方法】1999年4月から2001年9月までに当院で経験し、原因菌を確定した膿胸症例10例を対象に臨床的検討を行った。膿胸の定義は、胸水が明らかに膿性であるか、または胸水中において多核白血球が優位で、25,000/mlを越えるものとして検討を行った。

【結果】年齢は29～86歳（平均65.3歳）、性別は男性7例、女性3例で、9例に基礎疾患を認め、糖尿病3例、肺癌2例の順で多くみられた。胸水からの検出菌は *Streptococcus intermedius* が4例で最も多く、その他には *Streptococcus mitis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Peptostreptococcus micros* 等を認めた。また2症例において複数菌感染がみられた。治療はβラクタム剤、AGs, TCs, MLs, quinolonesなどの抗菌薬を単剤または併用で使用した。胸腔ドレナージは7例で施行され、死亡例は3例にみられた。

【考察】今回の検討では、*Streptococcus milleri* groupの一つである *Streptococcus intermedius* が最も多く検出され、起炎菌としての重要性が確認された。

βラクタマーゼ非産生のアンピシリン耐性 (BLNAR) インフルエンザ菌による呼吸器感染症の2例

長崎大学第二内科

○大野順子、宮崎泰可、小林 奨、今村圭文、大津喜子、金子幸弘、掛屋 弘、柳原克紀、宮崎義継、平潟洋一、朝野和典、田代隆良、河野 茂

(目的) β-ラクタマーゼ非産生のアンピシリン耐性 (BLNAR) インフルエンザ菌の頻度が徐々に増加傾向にあることが指摘されている。しかし、BLNAR インフルエンザ菌による感染症の臨床像についての検討は少ない。今回われわれは、2例のBLNAR インフルエンザ菌感染症を経験したので報告する。

(症例1) 23歳女性。幼少時と19歳時、肺炎に罹患し肺嚢胞を指摘されていた。2週間前より発熱し、近医において経口抗菌薬による治療を受けたが症状悪化するため当院受診し、胸部エックス線エニボーを認めたため感染性嚢胞の疑いで入院となった。39℃以上の発熱、湿性咳嗽と炎症反応の亢進を認め、肺吸引液のグラム染色でグラム陰性桿菌を認め、培養で *Hemophilus influenzae* が分離され、血液培養でも同菌が分離された。カルバペネム系抗菌薬により症状軽快した。その後、多発性の肺嚢胞に対して左下葉切除術を行った。

(症例2) 29歳女性。妊娠中であつたが妊娠35週の頃、上気道炎症状を自覚した。症状が持続するため、マクロライド系抗菌薬を投与されていたが症状が徐々に増悪するため当科を受診し、胸部エックス線浸潤影を認め入院となった。喀痰のグラム染色でグラム陰性桿菌の好中球貪食像を認めたためインフルエンザ菌による肺炎を疑い治療を行った。

(まとめ) 当院において分離されるインフルエンザ菌のうちBLNAR は1997年までは殆どみられなかったが、2000年には約30%を占めるに至った。今回経験した症例は何れも若い女性であつたが、肺嚢胞あるいは妊娠にともなう市中感染症であつた。治療には速やかに反応したが、分離菌の一つでは第2世代セフェムに対する感受性が低下しており、抗菌薬の選択次第では遷延化した可能性があり、BLNAR インフエンザ菌の存在を意識した肺感染症の治療が必要であると思われた。

Streptococcus milleri groupによる胸膜炎の臨床的検討

川崎医科大学附属川崎病院呼吸器内科

○沖本二郎, 本多宣裕, 浅岡直子, 藤田和恵,
大場秀夫, 中村淳一

川崎医療福祉大学 副島林造

(目的)

Streptococcus milleri group胸膜炎の病態および治療について、臨床的検討を行った。

(対象および方法)

1.対象 平成3年から13年4月までに教室で経験した12例の*S.milleri* group胸膜炎(胸水培養にて*S.milleri* groupが検出されたもの、膿胸7例を含む)を対象にした。

2.方法 これら症例の背景因子, 治療, 転帰などについてretrospectiveに検討した。

(結果)

1.*S. milleri* group胸膜炎は, 市中発症が多く, 喫煙歴および飲酒歴と肝機能障害を有する高齢男性や, 重篤な基礎疾患を有する高齢女性に好発した。

2.治療としては, カルバペネムとクリンダマイシンが主として投与され, 両者の併用も7例行われた。さらに6例には, 胸腔ドレナージも併用され, 胸膜炎は全例治癒した。

(結論)

S. milleri group胸膜炎は, 比較的重篤な基礎疾患を有する高齢者に市中発症するが, 強力な抗菌薬の投与と, 胸腔ドレナージの併用により, 予後は良好である。

A I D S 関連カリニ肺炎における S T 合剤少量治療の有効性

奈良県立医科大学第2内科, 同附属病院中央臨床検査部*, 同総合医療・病態検査学**
○古西 満, 善本英一郎, 高橋 賢, 笠原敬, 村川幸市*, 坂本正洋, 前田光一**, 三笠桂一, 成田亘啓

【目的】A I D S 関連カリニ肺炎の第一選択薬である S T 合剤 (sulfamethoxazole : SMX / trimethoprim : TMP) の投与量は 0.25 錠 (SMX100mg/TMP20mg)/kg/日 が一般的である。しかし我々はこれまで A I D S 関連カリニ肺炎を少量の S T 合剤で治療しているのので, その治療経過を検討するとともに, 今回 1 症例で S T 合剤の血中濃度を測定したので報告する。

【対象・方法】従来の投与量未満の S T 合剤で治療した A I D S 関連カリニ肺炎症例 12 例 (平均年齢 36.1 歳, 男性 11 例・女性 1 例) でその治療経過を解析した。発症時の C D 4 陽性リンパ球数は平均 $33.6/\mu l$, カリニ肺炎の重症度は軽症 3 例・中等症 8 例・重症 1 例であった。また 1 症例で S T 合剤の血中濃度を H P L C 法で測定した。

【成績】① S T 合剤の平均投与量は 0.12 錠 (SMX:48mg / TMP:9.6mg)/kg/日であった。

②解熱までの日数は平均 4.6 日, 症状消失までの日数は平均 13.3 日, L D H 正常化までの日数は平均 15.9 日であった。胸部画像所見は全例で改善もしくは正常化した。

③ 8 例で何らかの副作用を認めたため 6 例で治療を変更した。

④ 48 歳・男性症例 (体重 62kg) にて S T 合剤 6 錠/日を 2 分割で投与し, 14 日目にトラフおよび服用 4 時間後の血中濃度を測定したところ, それぞれ S M X $93.9\mu g/ml$, $138.0\mu g/ml$, T M P $3.07\mu g/ml$, $4.24\mu g/ml$ であった。

【結論】少数例の検討ではあるが, A I D S 関連カリニ肺炎では S T 合剤は従来の推奨投与量よりも少量で治療が可能であることが示唆された。

タイ国北部地域におけるHIV陽性患者に合併した
市中呼吸器感染症の臨床的検討

○麻生憲史¹、渡辺 浩¹、小林 忍¹、渡辺貴和雄¹、
大石和徳¹、水武 毅¹
長崎大・熱研・感染症予防治療（内科）¹、

〔背景と目的〕タイは近年AIDS症例の発生数がようやく減少傾向に
転じたものの、いまだ世界の中ではAIDS患者が非常に多い地域であ
る。我々は平成9年度より『タイ国におけるAIDSに合併した呼吸器
感染症治療法と予防対策の研究』というテーマでタイ国チェンマイ
大学医学部、ナコンピン病院との間で共同研究を行っているが、今
回タイ国北部地域におけるHIV陽性患者に合併した市中呼吸器感染
症の病態を明らかにする目的で以下の検討を行った。

〔対象と方法〕1996年12月より2001年6月の間に、発熱、咳嗽、喀痰
呼吸困難などの呼吸器症状を有し、かつ胸部Xp写真上なんかの異常
陰影（浸潤影、びまん性間質性陰影、空洞性病変など）の出現を認
めたためチェンマイのナコンピン病院において入院治療を行った
HIV感染者に合併した呼吸器感染症176症例（男性123例、女性53例
、平均年齢33.1歳）177エピソードについて喀痰検査（一般細菌、
抗酸菌等の塗抹、培養）、血液培養、血液生化学検査、末梢血リン
パ球サブセット等を施行し、臨床経過を観察した。

〔結果〕病型は肺炎85例、（カリニー肺炎様）間質性肺炎41例、肺
抗酸菌症30例、肺化膿症10例、肺ノカルジア症8例、胸膜炎2例、膿
胸1例であった。CD4、CD4/CD8の平均値はそれぞれ67.2/mm³、0.10
で喀痰分離菌は*Hemophilus influenzae* 37例、*Pseudomonas aeruginosa*
11例、*Streptococcus pneumoniae* 9例、*Staphylococcus aureus* 9例、
Rhodococcus equi 7例の順に多かった。合併症では*Penicillium*
*mameffe*感染症 18例、敗血症 14例、髄膜炎 5例（クリプトコッカス
性3例、結核性2例）が起こり、21例（11.9%）は死亡したが、この
うち肺ノカルジア症が8例中3例、*R. equi* による呼吸器感染症が6例
中3例死亡と予後不良であった。

〔考察〕今回検討したHIV陽性患者は病態、末梢血CD4値などより
その大部分がAIDS症例と考えられた。合併した呼吸器感染症は病
原体が様々で合併症も多く、また複数菌感染も比較的多いことよ
り、今回の結果をふまえたうえで早期診断、早期治療が重要と
考えられる。

共同研究者：

W. Kositsakulchai², T. Sanchai², K. Kunsuikmengrai²,
S. Kahintapong², B. Khantawa³, P. Tharavichitkul³,
T. Sirisanthana³,
ナコンピン病院²、チェンマイ大学医学部³

小児悪性腫瘍患者のHickmann-Broviacカテー
テル関連感染症の検討

広島大学医学部総合診療部、第一外科¹、小児科
^{**}、広島赤十字原爆病院小児科^{***}

○檜山英三、横山隆、山岡裕明^{*}、上田晴雄^{**}、
浜本和子^{***}

【目的】小児悪性腫瘍患者において中心静脈カテー
テル法は、広く普及した手技となっている。Hickmann-
Broviacカテーテルはシリコン製で皮膚への固着と感
染防御を目的としたフェルトカフがあり、中心静脈栄
養、化学療法剤の投与、採血など多くの目的に順応し、
我々はこれを第一選択にしている。そこで、このカテ
ーテルを使用した患児のカテーテル関連感染症につい
て検討した。

【対象・方法】1998年以降広島大学病院および広島赤
十字原爆病院で施行した小児のHickmann-Broviacカテ
ーテル挿入例92例延べ98本を対象とし、これらのカテ
ーテル関連感染症について検討した。対象は、血液疾
患50例、固形腫瘍42例で、挿入時年齢0ヶ月～17才、
挿入期間は1～38ヶ月（平均9.2ヶ月）であった。

【結果】経過中、カテーテル関連感染症による発熱が
強く疑われた症例は24例で、このうち、菌が検出さ
れたかあるいは血中Endotoxinが高値の明らかな感染
症例は17例であった。13例は血液培養あるいは
Endotoxin陽性の敗血症例で、残りの4例はカテーテル
挿入部位の感染症であった。起炎菌は、血液培養陽性
例ではMRSAが3株、グラム陰性杆菌が7株、*Candida*
*paraosilosis*が2株で、MRSAを検出した3例中2例は
免疫不全を認め、他の1例はカテーテル損傷による感
染であった。カテーテル挿入部位感染の4例はすべて
*Staphylococcus epidermidis*が検出された。

【考察】以上から、Hickmann-Broviacカテーテルでは
カテーテル挿入部感染でみられた*S. epidermidis*が血
中から検出されなかったことから、この経路の感染防
御にカフは有効に働いていると考えられた。これに対
し、血中分離菌にグラム陰性杆菌が多いことは、感染
経路として内因性感染、特に腸管からの
translocationが強く示唆され、こうしたimmuno-
compromised hostのカテーテル関連感染症ではこれら
を念頭に置いた治療を行うべきと考えられた。

救命しえた *Vibrio vulnificus* 感染症の一例

泉川病院

○佐々木英祐、早川友一郎、泉川公一、泉川欣一、
原 耕平

長崎大学第二内科

河野 茂

症 例：65歳、男性

主 訴：発熱、嘔吐、下痢

既往歴：アルコール性肝障害

現病歴：平成13年4～6月にかけてアサリ貝、マテ貝を摂取していた。平成13年6月27日午前4時頃より嘔吐、水様性下痢が出現した。16時30分にふらふら感と気分不良にて当院に来院し、入院となった。

現 症：意識レベル JCS 2、体温 39℃、血圧 80 触診、心音、呼吸音異常なく、腹部所見にて腸蠕動音亢進、皮膚所見にて右手関節から手背にかけて著明な発赤、腫脹、皮膚剥離、右大腿内側から下腿内側に膨隆傾向のある硬い発赤疹あり。神経学的所見なし。

入院後経過：既往歴、魚介類摂取歴および診察所見より、*Vibrio vulnificus* 感染による敗血症を疑い、PIPC 6g /日、CLDM 1200mg /日を開始した。入院時右大腿内側の腫脹部位を切開し培養を施行したところ *Vibrio vulnificus* を認めた。薬剤感受性の結果から PIPC 4g /日と MINO 200mg /日に変更した。しかし、全身状態は改善したものの下腿の発赤疹および腫脹の増悪を認め PIPC 4g /日と CPFX 600mg /日に変更した。5日間投与後、中止としたが右足関節及び大腿の腫脹が残存したため、IPM 1.0g /日を開始し、徐々に腫脹は改善し、抗菌薬中止後も増悪を認めることはなかった。

考 察：*Vibrio vulnificus* 感染症は急激な発症の後、診断の遅れから 死の転帰をとることが多く、依然として確立された治療法がない。本症例はショック状態を呈し、皮疹が多発しており、予後不良と考えられたが、治療が著効し、救命しえた。今回本症例をもとに若干の考察を加え報告する。

体腔鏡下手術における術後感染の検討

九州大学大学院医学系研究院泌尿器科学

○津江裕昭、田中正利、江頭稔久、内藤誠二

【目的】術後感染の予防は患者の周術期管理の上で重要であり、適切な抗生剤の種類、およびその投与方法はevidennceに基づいたものであることが必要であると思われる。我々は当科で施行した体腔鏡下手術についての術後感染の検討を行ったので報告する。【対象】1995年1月から2000年6月の間に当科で施行した体腔鏡下手術症例。男性31例、女性40例。患者年齢は平均48歳（1歳～79歳）であった。疾患別にみると副腎腫瘍39例、腎腫瘍15例、腎膿瘍2例、水腎症2例、腎盂腫瘍3例、腎盂尿管移行部狭窄3例、前立腺癌4例であった。【方法】術後の感染予防投与を1日投与群、3日投与群、5日投与群の3群に分け、術後感染の検討を行なった。投与薬剤は第1～2世代セフェム系抗生剤、ペニシリン系抗生剤とした。【結果】手術法別にみると腹腔鏡下副腎摘出術31例中2例、後腹腔鏡下副腎摘出術3例中2例、後腹腔鏡下前立腺摘出術3例中1例、後腹腔鏡下尿管摘出術1例中1例に感染を認めた。予防投与方法別には1日投与群には術後感染例はなく、3日投与群に38例中2例、5日投与群に20例中3例の感染を認めた。【結論】体腔鏡下手術について術後感染の検討を主に抗生剤の投与方法別に検討を行ったところ1日投与群、3日投与群、5日投与群において術後感染の発症率に有意な差はなく、予防投与は1日でよいと思われた。

急性肺炎に使用される抗生物質・抗真菌剤

名古屋市立大学第1外科

○長谷川正光, 竹山廣光, 真辺忠夫

目的：現在日本で肺炎の治療に使用される抗生物質・抗真菌剤につき概要を求めた。

対象：重症急性肺炎の救命率を改善するための研究班で作成された急性肺炎調査票に回答された1240例, 男性818例, 女性420例, 不明(未記入)2例。

方法：調査票より項目を引き出し, 薬剤使用の有無, 種類, 重症度との関係等について検討した。

結果：抗生物質は1090例に対して使用されており, 持続動注経路と経静脈併用73例, 前者のみ14例, 後者のみ1003例であった。静注経路使用の内訳は SBT/CPZ218例, CTM158例, FMOX116例, IPM/CS106例, CEZ99例, CMZ91例, PIPC74例, CPZ41例, FOM30例, CPR26例, CZOP24例, その他97例, 不明22例であった(初回に使用された抗生物質)。10剤で146日投与された症例の一方で1剤を147日投与された症例もみられた。治療開始時の重症度を3つに区分すると軽症696例, 中等症204例, 重症335例, 不明5例であり, 重症ではIPM/CSの頻度が高かった。動注は重症度別に3例, 12例, 72例に行われていた。男女で成因に明らかな違いがあるのにも関わらず, 使用された抗生物質には差がみられなかった。抗真菌剤は49例に対して使用され, 全例経静脈投与であった。その内訳は FLCZ39例, AMPH-B5例, MCZ3例, 不明2例であった(初回使用の抗真菌剤)。重症度別では4例, 6例, 39例に使用されていた。両者の使用開始時を比較すると, 同時または抗真菌剤がより早く使用されたものが5例に対して, 抗生物質が先行したものが43例, 時期不明1例であった。まとめ：肺炎治療の抗生物質・抗真菌剤の概要を報告した。成因や重症度に応じた選択基準の必要性が考えられた。

謝辞：この研究には厚生省特定疾患対策研究事業「重症急性肺炎の救命率を改善するための研究班」のデータを使用させていただいた。

乳幼児の上咽頭薬剤耐性菌の実態とその対策

金沢大学大学院感覚運動病態学(耳鼻咽喉科)

○伊藤真人

(目的) 近年、ペニシリン耐性肺炎球菌(DRSP)や、軽度耐性インフルエンザ菌(BLNAR)などの蔓延が問題となっている。これらの細菌は乳幼児においては、常在菌としての側面も持ち合わせており、正常な免疫能の獲得のためには一度は感作されなければならないものともいえるが、未熟な乳幼児期に多量のこれら耐性細菌に暴露されることは、急性中耳炎や気道感染症などの難治化の原因となり、特に経口抗菌薬を用いて乳幼児の急性中耳炎などの感染症を外来で治療する際に、臨床的に大きな問題となっている。いわゆる反復性中耳炎は集団保育児に多くみられ、特に集団保育の低年齢化が深く関与していると考えられている。近年の統計をみると、過去10年間に2歳未満に限って保育園児数がほぼ倍増しているが、これらの免疫学的に未熟な低年齢層において難治性感染症が問題となっており、事に1歳未満に急性中耳炎を発症した症例で、反復する傾向が高いことが知られている。つまり近年の集団保育の低年齢化に伴い、耐性細菌感染に曝される園児の年齢が若年化していることが問題である。

我々はこれまで幼少児、特に保育園児の上咽頭からDRSPが極めて高率に検出されることを報告してきたが、今回はBLNARの動向について検討した。

(方法) 対象は0～3歳までの保育園児、12歳以下の急性中耳炎罹患児、1歳6か月児健康審査を受診した健常児で、鼻腔経由で上咽頭細菌検体を採取し、微生物化学研究所・生方先生のご協力にてPCR法にて検討した。

(結果) 保育園児において、インフルエンザ菌全体の検出率が高率で、特に1歳児においてBLNARが高率に検出された。これらの結果をふまえて、保育園においてすでに広く蔓延している耐性菌に対し、今我々に何ができるか考察したい。

Cefteram pivoxil 細粒（新製剤）の服用性の検討
—アンケート調査を中心にして—
名鉄病院小児科

○中村はるひ、岩井直一

〔目的〕 Cefteram pivoxil 細粒は、平成 13 年 2 月に服用性の改善を意図して味の変更を行った。その新製剤の服用性を今回アンケート調査した。小児では、投与する薬剤の服用性が薬効をうる上で最も大切な条件となる。Cefteram pivoxil 細粒は、平成 3 年に発売し、平成 9 年に処方変更によって味を改良している。以前の製剤についてもアンケート調査を行っているので、今回の製剤の服用性と比較検討した。

〔方法〕 2001 年 3 月から 8 月までに 14 施設の小児科を受診し、新製剤の投与を受けた 378 名の患児の保護者にアンケート調査を実施し、その服用性、問題点について聞くとともに、服薬困難、拒否例における改善方法等についても調査した。

〔結果〕 新製剤の処方形態としては、散剤処方 が 339 名(89.7%)と圧倒的に多かったが、水剤処方 も 39 名に認められた。散剤処方での服用性は、339 名全体では「喜んで服用」104 名(27.5%)、「問題なく服用」187 名(49.5%)、「嫌がったが服用(服薬困難)」74 名(19.6%)、「嫌がり服用できず(服薬拒否)」13(3.4%)であった。また、年齢的には、服薬困難は 0 才で 25.7%、1~3 才で 20.4%、4 才以上では 17.2%であったが、服薬拒否については 1~3 才のみ 5.7%でみられた。さらに新製剤の問題点としては、苦み、ざらつき、溶けにくいことがあげられていた。また服用性の改善は、特にアイスクリームに混ぜることで認められた。なお、最も問題となる服薬拒否率は発売時 9%に対し、平成 9 年時 4.9%、今回は 3.4%と製剤の改善にともない低下した。

〔考察〕 以上の結果より、新製剤は乳幼児にも服薬性の高い改善がなされた製剤であると考えられた。なお、現在もアンケート調査を続けており、最終結果は学会にて発表する予定である。

病棟および付属の保育所で発生した Norwalk virus による急性胃腸炎集団感染の検討
名古屋市立大学病院院内感染対策委員会¹
名古屋市立大学第 1 内科²

○山田保夫¹、中村敦²、杵名健雄²、丹羽俊朗²、藤田幸子¹、長谷川正光¹、溝上雅史¹、伊藤誠¹

＜目的＞当院小児外科病棟で入院患者、家族、職員の急性胃腸炎集団感染が発生し、続いて付属の保育所へ拡大した事例を経験した。原因微生物、伝播ルートについて検討する。

＜方法＞胃腸炎患者の症状を聞き取り、一部は診察した。胃腸炎患者と、無症状の職員・入院患者の糞便を採取し細菌学的検査と、PCR 法により Rotavirus、Norwalk virus を検索した。また、Norwalk virus の排出持続期間も検討した。

＜結果＞2000 年 12 月、小児外科病棟入院患者を発端者として、入院患者 22 名、付き添い 21 名、看護婦 10 名計 53 名が次々と嘔吐、下痢、発熱などを発症した。いずれも 3 日以内に症状は軽快した。病棟新規入院停止、手洗い、手袋使用の徹底により 10 日間で収束した。胃腸炎患者 29 名の糞便を採取し細菌学的検査を行なったが下痢原性細菌は検出できなかった。PCR 法により Rotavirus、Norwalk virus を検索したところ、29 名中 24 名に Norwalk virus を検出した。無症状者 21 名の検索では 4 名に検出された。いずれも Rotavirus は検出されなかった。

発端者発症 9 日後から付属の保育所でも同様の症状で、母親(看護婦)11 名、園児 13 名、職員 4 名、計 28 名発症し、手洗い、手袋使用の徹底などにより 10 日間で収束した。胃腸炎患者 12 名の糞便中 11 名から Norwalk virus を検出した。両部門で総計 81 名発症し、18 日間で収束した。糞便からの Norwalk virus (PCR 法)は、最短で発症翌日から、最長で 27 日後まで検出した。

＜考察＞ Norwalk virus は伝播力が強く、小児、若年者を中心として短期間に病棟内で感染拡大し、診察を介助した看護婦を介して保育所へも拡大した。糞便からの Norwalk virus 検出は、最長で症状消失後 25 日後まで続き、慎重な対応が必要と考えられる。

尿中分離菌の年次的変遷と薬剤感受性について

神戸大学大学院腎泌尿器科学分野
同附属病院中央検査部*

○吉行一馬、彦坂玲子、田中一志、川端一岳、
荒川創一、守殿貞夫、木下承皓*

【目的】神戸大学医学部附属病院における泌尿器科外来、入院ならびに他科入院別の1996～2000年の各菌種分離頻度および薬剤感受性率を集計し、その推移を検討した。

【対象と方法】対象は当院において尿中より 10^4 cfu/ml以上の菌数で分離された菌で、各感染エピソードでの同一菌種の重複は避けて集計した。薬剤感受性試験はKirby-Bauer法を用いた。

【結果】2000年は、全体で709菌株が尿中から分離された(GPC33.7%、GNR57.4%、その他8.9%、以下も同順)。泌尿器科外来276株(36.6%、62.0%、1.4%)では1) *E. faecalis* 18.8% ② *E. coli* 15.2%

3) *P. aeruginosa* 8.3%、泌尿器科入院58株(36.2%、44.8%、19.0%)では① *P. aeruginosa* 22.4% ② *E. faecalis* 15.5% ③ *E. faecium* 10.3%、他科入院375株(GPC31.2%、GNR56.0%、その他12.8%)では

1) *P. aeruginosa* 15.7% ② *E. faecalis* 14.4% ③ *S. marcescens* 12.0%の順であった。2000年で感受性の高い薬剤は各菌種毎にそれぞれ

a) *E. coli*: AMK, IPM, CAZ, SCPZ, b) *E. faecalis*: IPM, PCG, MINO,

c) *P. aeruginosa*: CAZ, AMK, IPM, d) *S. marcescens*: GM, IPM, MINO,

e) *S. aureus*: MINO, ABK, VCMであった。

【考察】泌尿器科外来では *E. coli* の分離頻度が漸減しており、2000年には *E. faecalis* が最も多く分離された。泌尿器科入院でも *E. faecalis* の分離頻度が増加しており、*P. aeruginosa* に次いで多かった。他科入院においては分離菌頻度に著変はなかった。薬剤感受性率に関しては、感受性の著明な低下を示した菌はなく、また *S. aureus* におけるMRSAの比率は97年には89.5%と増加していたが、2000年は例年と同程度(68.2%)で、VCMに対する耐性株は認めなかった。

外来患者における尿路感染症分離菌の検討

—1997年～2000年の臨床統計—

広島大学医学部泌尿器科学教室

○茶幡伸、繁田正信、碓井亞

広島大学医学部附属病院泌尿器科外来患者における1997年～2000年の尿路感染症分離菌を集計し、臨床的に検討した。外来尿路感染症患者男性115例、女性167例、計167例より329株が分離された。年齢は8ヶ月～89歳、平均59歳であった。病態別では単純性感染症は74例(26%)75株(23%)、複雑性209例(74%)254株(77%)で、尿路カテーテル留置は15例(5%)であった。複雑性感染症の基礎疾患は、神経因性膀胱109例(40%)、次いで前立腺肥大症29例(10%)であった。菌種別検出頻度は、単純性感染症では、*E. coli* 50株(67%)が最も多く、ついで *Enterococcus faecalis* 7株(9%)、複雑性は *E. coli* 79株(31%)、*Enterococcus faecalis* 48株(19%)、*Pseudomonas aeruginosa* 16株(6%)の順であった。

1999年および2000年の外来、入院患者における
UTI分離菌の検討
九州大学大学院医学系研究科泌尿器科学

○江頭 稔久、田中正利、津江裕昭、内藤誠二

(目的) 尿路感染症の治療においては起因菌の動向や薬剤感受性の傾向を把握しておくことが有用である。とくに複雑性尿路感染症では抗菌剤の多用による薬剤耐性菌の出現頻度が増加しており、その傾向は各施設単位で異なることとされており、年次変遷も予想される。今回我々は1999年および2000年の外来、入院患者における尿路感染症分離菌を集計し、その分離率の動向、各種抗菌薬に対する感受性の傾向を検討した。(対照と方法) 1999年1月から2000年12月までの2年間に九州大学医学部付属病院泌尿器科において加療した患者から分離された株の菌を同定し、菌種別の分離率及び各種抗菌薬に対する耐性率を算出し検討した。(結果) この2年間における九州大学医学部付属病院泌尿器科でのおもな菌種別の分離率は *Escherichia coli* 24.3%、*Enterococcus faecalis* 12.7%、*Enterobacter cloacae* 10.4%、*Klebsiella pneumoniae* 5.0%、*Pseudomonas aeruginosa* 10.0%、*Serratia marcescens* 1.8%であり、グラム陰性桿菌優位であった。大学付属病院という施設の性格上、症例の95%が複雑性尿路感染症例であった。各種抗菌薬に対する耐性率、年次変遷についても報告を予定している。

複雑性尿路感染症由来 4722 株の gentamicin に対する感受性について
岐阜大学医学部泌尿器科

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

(目的) アミノ配糖体系薬剤は優れた抗菌活性を有するものの泌尿器科領域での使用頻度は必ずしも高くはない。我々は1988年以来、複雑性尿路感染症由来株の主要抗菌剤に対する感受性を測定してきたが、今回、gentamicin(GM)に対する結果をまとめた。(方法) 1988年から13年間に当院及び関連施設泌尿器科の複雑性尿路感染症患者から分離された約4,722株を対象として、GMに対する感受性を本学会標準法による平板希釈法でMICとして測定した。(結果) 20株以上が分離された20菌種のうち、MIC90が12.5μg/ml未満であったのは13菌種であった。MICが12.5μg/ml以上であった頻度は、*S. aureus* 39.2%、*S. epidermidis* 51.0%、*E. faecalis* 92.4%、*E. faecium* 75.9%、*E. coli* 2.3%、*K. pneumoniae* 1.6%、*K. oxytoca* 1.2%、*C. freundii* 3.3%、*E. cloacae* 9.4%、*S. marcescens* 7.2%、*P. mirabilis* 6.2%、*M. morganii* 1.5%、*P. aeruginosa* 22.0%であった。通年してまとめた株数が得られた菌種の内、*P. aeruginosa*では耐性率の変動が大きかった。(結語) グラム陰性桿菌での本剤に対する感受性が確認されたが、比較的アミノ配糖体の使用頻度が低いにもかかわらず、*P. aeruginosa*での耐性率の変動が大きかったことは、院内感染を含めた環境からの感染を示唆するとともに、今後も耐性状況をモニターする必要があるものと思われる。

尿路感染症の原因菌推定における塗抹染色の意義
神戸大学大学院医学系研究科器官治療医学講座腎
泌尿器科学分野¹⁾ 同附属病院中央検査部²⁾

○彦坂玲子¹⁾，吉行一馬¹⁾，田中一志¹⁾，川端
岳¹⁾，荒川創一¹⁾，木下承皓²⁾，守殿貞夫¹⁾

【目的】尿中細菌の検出及び原因菌推定における塗抹染色の意義の検討（背景）尿の培養結果が出るまでには概ね2日かかるが、塗抹染色は数時間で結果が得られるにもかかわらず、実際の診療ではあまり活用されていない傾向にある。培養検査提出時に多くは塗抹染色もセットでオーダーされており、検査の手間と費用がかかっていることを考えると、それが有効に活用できるか否かを見直す必要が有るとと思われる。今回、2001年1月から7月までの神戸大学病院中央検査部細菌検査室に提出された尿培養検体において、塗抹染色と培養の結果を比較し、尿塗抹染色の意義について検討した。（方法及び結果）対象は476検体、そのうち泌尿器科から提出されたものは176検体であった。泌尿器科提出検体において、塗抹染色で菌を検出できたものは115検体、そのうち培養結果でも同様に菌発育が見られたものは67検体発育が見られなかったものは19検体であった。塗抹染色で菌が検出されず、培養にて菌発育を見たものは63検体であった。また塗抹染色で菌を認めてもcontaminantsと判断されたものは6検体であった。塗抹染色の菌検出率は64.6%であり、尿塗抹染色陽性のもののうち尿培養も陽性であったものは、58.3%であった。（考察）検体の塗抹標本における意義は、呼吸器系感染症の喀痰，尿道炎の分泌物では以前より確立しているが、尿検体におけるそれは実際にはルーチンに行われ、数が多いにも関わらず顧みられてこなかった。尿中菌として高浸透圧等の特殊環境下という問題等もあり、その形態学的判断の意義付けには慎重を要するが、適切なエンピリック療法のために原因菌の迅速な推定における役割を再評価すべき検査法と考えられる。尿検体の採取法・採取時間・尿道カテーテル留置などの問題も含め検討するとともに、グラム陽・陰性菌別にみた培養成績との一致性など詳細に検討し、報告する予定である。

メタロ-β-lactamase 保有 *Providencia rettgeri*
に関する検討

株式会社キューリン¹⁾，産業医科大学泌尿器科²⁾
飯塚病院³⁾，北九州総合病院⁴⁾

○小林とも子¹⁾，村谷哲郎²⁾，長崎雅春³⁾，
有馬純徳⁴⁾，相本秀臣⁴⁾，高橋康一²⁾，松本哲朗²⁾

【目的】プロテウスグループ (*Proteus*, *Providencia*, *Morganella*) は、複雑性尿路感染症の起炎菌として、5~10%程度をしめており、結石形成の原因になるなど尿路病原性においても問題となる菌種である。これらの菌種の薬剤感受性および耐性機序を検討する目的で、北九州近隣地区において、菌株の収集および細菌学的検討を行った。本報告では、*Providencia rettgeri* に関して報告する。

【方法】調査は1999年8月から1年間とした。薬剤感受性測定は、寒天平板希釈法で、測定薬剤は、penicillins, cepheems, carbapenems, AZT, LVFX, MINO, GMとした。メタロβ-lactamase の検出には、Goto らが報告している2-mercaptopropionic acid (MPA) を用い、CAZ との併用効果を検討した。また、PCR にて IMP-1 の検出を行った。

【結果】期間中に19施設49人の患者より分離された。薬剤感受性測定の結果、AZT が最も優れた感受性を示し、2株を除いて、0.25 μg/ml ですべての株の発育を阻止した。CAZ は、32~128 μg/ml の耐性株が6株存在した。CAZ 耐性株についてメタロβ-lactamase の検出を行ったところ、3株がディスク法にて MPA との相乗作用が認められ、MPA 128 μg/ml を添加した寒天平板希釈法では、CAZ の MIC が0.25~1 μg/ml まで低下した。これら3株について IMP-1 の primer にて PCR を行ったところ陽性となった。これら3株に対して AZT は ≤0.0156 μg/ml で発育を阻止した。

【考察】分離された IMP-1 産生3株はいずれも同一施設の入院患者から分離されていた。また、本調査期間の後2株が分離されており、院内感染の可能性が考えられた。メタロβ-lactamase 産生株は院内感染を起こしやすいため、早期に検出し報告する必要がある。MPA を用いたディスク法は簡便で、PCR の結果とも一致したため有用な方法であった。また CAZ 耐性かつ AZT 感受性という薬剤感受性パターンからも推定可能であり、他のβ-lactamase も産生している株では必ずしも当てはまらないが、特殊検査が実施できない施設においては、有用な方法であると考えられる。

Enterobacter cloacae におけるβラクタム薬耐性機序に関する検討

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⁾
○中村 竜也¹⁾、松尾 信昭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。中でもESBLをはじめとするβラクタム耐性菌の報告が増加している。NCCLSにおいても*E.coli*や*K.pneumoniae*については基準があるものの他の腸内細菌については明確に基準があるわけではなく、現状を把握しきれていないと考えられる。そこで当院で検出された*Enterobacter cloacae* (*E.cloacae*)のβラクタム耐性機序について調査し、解析を行なったので報告する。

【対象及び方法】2000年1月から12月までの1年間に検出された*E.cloacae* 165株を用い、材料別に検出率、耐性率を見た。薬剤耐性機序の解析はCeftazidime (CAZ)、Cefpirome (CPR) およびimipenem (IPM)の耐性率を調査し、CAZ耐性菌に関して微量液体希釈法にてMICを測定した。また、Double Disk Synergy Test (DDST) および2-MPプロベロ酸法 (2-MP) を行い、ESBLおよびβラクタム耐性産生の有無を見た。陽性株については耐性遺伝子(TEM, SHV, CTXM1/3, CTXM2, CTXM9, IMP-1)の検出を試みた。

【結果および考察】CAZ耐性株の検出率が最も高かったのは血液由来で6株中5株(83.3%)であった。全体では165株中52株(31.5%)であった。また、CPRは27株(16.4%)が耐性であった。CAZ耐性52株中、DDSTで陽性となった株は14株(8.5%)、2-MP陽性株は1株(0.6%)であった。ESBL産生遺伝子を獲得せずAmpC過剰によりCPRが耐性となった株が12株(7.2%)存在した結果となった。微量液体希釈法でのクララム酸とCPRとの組み合わせによるMIC値の低下を見たが2管低下するに留まった菌株が多く、AmpCの過剰産生により阻害がわからなかったと考えられた。PCR法による耐性遺伝子はDDST陽性14株が全てCTXM1/3型となった。また、IPM耐性株が2株(1.2%)存在したが2-MP陰性でIMP-1に関しても検出されなかった。現在精査中である。ESBL+AmpC産生株に対して最も効果が期待できるβラクタム薬はカバペピム系薬と考えられる。そこで、IPM、PAPM、MEPMのMIC値を比較したところMEN-1+AmpC産生14株において最もMIC値を低く示したのはMEPMであった。IPMやPAPMはこの種のβラクタム薬に影響を受けている可能性のあることが示唆された。患者背景および疫学調査については現在検討中である。

*Bacteroides fragilis*が産生するメタロ-β-ラクタメースの構造遺伝子*cfiA*の直上流に発見された新insertion sequence elementとその分布

岐阜大・医・嫌気性菌実験施設
○加藤直樹

【目的】*Bacteroides fragilis*のイミペネム耐性に関与しているメタロ-β-ラクタメースは、*cfiA* (*ccrA*) 遺伝子によりコードされているが、この遺伝子の発現には*cfiA*の直上流にinsertion sequence (IS) であるIS1186などが存在することが必要であることが報告されている。

演者が我が国で分離されたイミペネム耐性*B. fragilis*株を調べた所、新しいIS elementが発見された。今回は、5種類の新IS elementの特徴とともに、*B. fragilis*臨床分離株におけるこれらのIS elementの分布状況を報告する。

【材料と方法】*B. fragilis*は当施設保有の臨床分離株138株を用いた。IS elementの塩基配列は、PCR産物をABI Prism 310 Genetic Analyzerを用いて解析し、決定した。

【結果】*cfiA*の直上流のIS elementは、6株の耐性株から5種類みつき、塩基配列から、新しいものであることが判明した。新IS elementは、塩基数、target site duplicationおよびterminal inverted repeatsの塩基数および相同性の検討から、4種類 (IS612~IS615) は同じグループに属し、今まで*B. fragilis*からの分離が報告されているIS1170とIS942に相同性を認めた。しかし、残りの1種類 (IS616) はこれらのものとは相同性がなかった。

新IS elementの分布をPCR法を用いて検討したところ、イミペネム低度耐性株 (MIC、16 μg/ml) から検出されたIS616が最も高頻度に検出され (30株、21.7%)、次いでイミペネム低度耐性株 (MIC、32 μg/ml) から検出されたIS615が19株 (13.8%)、イミペネム高度耐性株 (MIC、256 μg/ml) から検出されたIS612が10株 (7.2%) であった。IS613とIS614は1株ずつで、まれなISであると思われた。

【考察】今回の検討で、今までに*B. fragilis*も含めた細菌からは全く検出されていない新種のIS elementが発見された。この内、IS616は*B. fragilis*の中で比較的高頻度に分布していることが分かった。これらのISは*cfiA*にプロモーターを提供しているものと思われるが、耐性度の違いに関係しているか否かは、今回の検討からだけでは明らかではなかった。

非学会員共同研究者：山添喜久雄 (朝日大学附属村上記念病院・薬剤部)、森 浩禎 (奈良先端技術大学院大学・遺伝子教育研究センター)、大坪栄 (東京大学分子細胞生物学研究所)

Metallo- β -lactamase IMP-1産生

緑膿菌の病原性についての検討

長崎大学医学部臨床検査医学¹⁾、同 第二内科²⁾、
京都薬科大学微生物学³⁾○青木志保^{1,2)}、平瀉洋一^{1,2)}、後藤直正³⁾、
柳原克紀²⁾、宮崎義継²⁾、朝野和典²⁾、田代隆良²⁾、
河野 茂²⁾

【目的】カルバペネム耐性遺伝子 bla_{IMP} の存在下にMetallo- β -lactamase IMP-1を産生する緑膿菌が、国内の多くの医療施設より分離されている。本耐性菌はカルバペネムを含むほとんどの抗菌薬に対して耐性を示すが、その病原性についての検討は行われていない。そこで、 bla_{IMP} 遺伝子保有菌株について非保有菌株との病原性の比較検討を行った。

【方法】菌株はPAO1株 (WT)とベクターコントロールのpMS360保有のPAO1(pMS360)、pMS360に bla_{IMP} を挿入したpMS363保有のPAO1(pMS363)の3株を用いた。LB培地に接種後、静置培養にて増殖性を比較した。その後、ddYマウスにそれぞれ $1.5 \times 10^6 \sim 3 \times 10^8$ CFU/mouseずつ腹腔内へ注入し、その死亡率を比較した。

【結果と考察】12時間の静置培養においては、3株の増殖性に差異は認めなかった。また、ddYマウスの死亡率は菌株間で差は認められず、 4×10^7 CFU/mouse前後で全てのマウスが死亡した。3株の病原性は同程度であると推察され、今後さらに、MDCK細胞モノレイヤーへの侵入性および内因性敗血症マウスモデルを用いて病原性の比較を行い、その結果も報告する予定である。

BLNAR に対する PIPC の抗菌活性 (第2報)

— 殺菌作用と形態変化について —

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⁾、淀川キリスト教病院小児科³⁾○水永真吾¹⁾、満山順一¹⁾、南新三郎¹⁾、
渡辺泰雄²⁾、森川嘉郎³⁾

【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想定される。前回、我々は、PIPC が BLNAR に対し、ABPC、CTX よりも強い抗菌力を示し、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ることを報告した。今回 BLNAR に対する PIPC、CTX、CTX の殺菌作用及び作用時の形態変化を調べたので報告する。

【材料および方法】使用菌株として、ABPC 感受性の ATCC 33391 及び臨床分離の BLNAR (MIC; ABPC: $8 \mu\text{g/mL}$, CTX: $2 \mu\text{g/mL}$, CTRX: $0.25 \mu\text{g/mL}$, PIPC: $0.0625 \mu\text{g/mL}$) を用いた。HTM 液体培地中の BLNAR に 2-16MIC の上記薬剤を作用させ、経時的に生菌数を測定した。また、HTM 液体培地中で各薬剤を作用させた時の形態変化を位相差顕微鏡により観察した。

【結果】ABPC 感受性株の ATCC33391 に対する各薬剤の殺菌作用に差異は認められなかったが、BLNAR に対しては、PIPC が CTX、CTX より強い殺菌作用を示した。各薬剤を作用させた時の BLNAR の形態変化を観察したところ、CTX、CTX では、PIPC に比べ、巨大な球形の spheroplast 様細胞が多く認められた。しかし、ATCC33391 に各薬剤を作用させた時には、この細胞がみられなかった。

シプロフロキサシン (CPF_X) 耐性緑膿菌に対する
CPF_X およびホスホマイシンの併用作用に関する
超微形態学的解析

川崎医大・微生物
○山田作夫、大内正信

【目的】緑膿菌に対し CPF_X と各種抗菌剤との併用が有効で、特に CPF_X とホスホマイシン(FOM)の間に強い相乗・相加効果のあることが知られている。今回、CPF_X ならびに FOM の各々単独では耐性を示す緑膿菌に対する両剤の併用作用について超微形態学的に検討した。

【材料・方法】CPF_X の MIC 値が 4 μg/ml 以上の緑膿菌計 74 株について微量液体希釈法に基づいたチェッカーボード法により FIC index を測定し、相乗効果の認められた Y100 株を対象として、対数増殖培養菌に CPF_X と FOM を同時添加 5 時間後に得られる処理菌体の超微形態を常法に従って透過型電子顕微鏡にて観察した。

【結果・考察】緑膿菌 74 菌株に対する CPF_X と FOM の併用効果は、得られた FIC index 値より相乗 (27.0%)、相加 (71.6%) および不関 (1.4%) であった。相乗効果のあった Y100 株を FOM (1/2 MIC: 16 μg/ml) 単独処理後、形態変化を観察したところ、表層には突起様構造 (breb) が出現し、菌体内には細胞質分離が認められた。溶菌像はほとんど観察されなかった。一方、CPF_X (1/2 MIC: 16 μg/ml) 処理菌では、菌体周辺の外膜に切断部位が次々に生じ、それら断片化された外膜が球状化するという特徴ある像が観察でき、CPF_X が外膜にも影響を及ぼしていることが示唆された。さらに CPF_X および FOM の併用処理菌体の観察では、菌体が膨化し内部が希薄化して溶菌する像が高頻度に出現し、かつ CPF_X 単独処理菌で観察された切断外膜由来の球状化小胞も認められた。これらの結果から、CPF_X と FOM との併用は溶菌に至るような顕著な形態変化を緑膿菌に惹起することを強く示唆している。

黄色ブドウ球菌のキノロン耐性に及ぼす
トランスポゾン IS256 の関与

大日本製薬・薬理研・微生物¹⁾、
広島大・歯・応用口腔医学²⁾、北里大・医・微生物³⁾
○小山田義博¹⁾、藤本孝一¹⁾、仁賀俊幸¹⁾、小島毅¹⁾、
山岸純一^{1,3)}、菅井基行²⁾、井上松久³⁾

【目的】キノロン高度耐性株 KMP9 のキノロン耐性機構を解析中、排出ポンプ遺伝子 *norA* のプロモーター領域にトランスポゾン IS256 が挿入した変異 *norA* 遺伝子 (IS-*norA*) を見出した。今回、IS-*norA* 遺伝子の発現レベルならびに塩基配列を解析すると共に、臨床分離株中での IS-*norA* 変異株の出現頻度を調べたので報告する。

【方法および結果】KMP9 より IS-*norA* 遺伝子をクローン化した形質転換株の抗菌力は、RN4220 (野生株) に比べ NFXL に 64 倍、Rhodamine 6G (RD)、Ethidium bromide (EB)、Acriflavine (AF) に 8~16 倍耐性化していた。このことより、NorA ポンプの亢進が生じている可能性が考えられた。そこで、northern blotting および RT-PCR により *norA* mRNA の転写量を調べた結果、KMP9 は RN4220 に比べ *norA* mRNA の転写活性化が起こっていることが判明した。また、*xylE* reporter gene を用い IS-*norA* のプロモーター活性を調べた結果、RN4220 に比べ約 20 倍強い活性を示した。これらのことより、KMP9 の NorA ポンプは、IS256 挿入により亢進していることが明らかになった。次に、IS256 挿入部位の塩基配列を解析したところ、*norA* プロモーター領域の -35 配列の直後に IS256 が挿入していた。この結果、*norA* の -10 配列と挿入された IS256 の C 末端配列 (-35 様配列) により、プロモーターが再生していた。さらに、IS256 の C 末端に強力なプロモーターが存在することより、KMP9 は 2 連のプロモーターにより *norA* 遺伝子の転写活性化が生じると推定した。また、IS-*norA* 変異株の出現頻度を臨床分離株 40 株を用い PCR 法により調べたところ、7 株に IS256 の挿入が認められた。これら 7 株のうち 5 株 (12.5%) は RD、EB、AF に耐性を示すことから、IS256 挿入により NorA ポンプの亢進が起こっていると考えられる。

黄色ブドウ球菌の NorA ポンプの亢進メカニズムとして、これまでに *norA* プロモーター領域の点変異が報告されているが、今回、プロモーター領域への IS256 挿入変異に基づくことが明らかになった。

緑膿菌の抗菌薬抵抗性における定常期ストレスの影響

徳島大学歯学部口腔細菌学講座、医療短大・衛生技術*

○村上圭史、谷口和子、根本 謙、弘田克彦、小野恒子*、三宅洋一郎

〔目的〕バイオフィーム感染症などの慢性の難治性感染症において、MIC を基準にした適切な抗菌薬を選択したにも関わらず、十分な効果が得られないことも少なくない。その原因として、殺菌的抗菌薬を用いても、薬剤に対する抵抗性が上昇しているために、殺菌的効果が得られていない可能性が考えられる。例えば定常期の細菌は、対数増殖期のそれよりも抗菌薬に対して、抵抗性を示すことが明らかになっている。そこで今回、定常期転写開始因子である σ^S の抗菌薬抵抗性への関与について、*rpoS* 変異株を作成し検討した。

〔材料と方法〕菌株として緑膿菌 PAO1 株由来の、Sm^r 変異株 SM7 株および SM21 株、また相同組み換えにより作成した、染色体上の *rpoS* :: Ω Gm^r 変異株である KMS1 株、Tn 挿入変異株 KM50 株を使用した。抗菌薬として biapenem、cefepime、piperacillin、ofloxacin を使用した。

〔結果および考察〕*rpoS* 変異株 KMS1 株において、biapenem、cefepime、piperacillin、ofloxacin などの抗菌薬に対し MIC は、親株との間に差は認められなかった。しかし、浮遊菌において、抗菌薬をそれぞれ添加後、経時的に CFU を計測したところ、biapenem、ofloxacin については、定常期細菌での初期の抵抗性は親株に比べ低下した。また、Tn 挿入変異株 KM50 株についても、定常期細菌での抵抗性は親株に比べ低下した。この抵抗性変異を bta 遺伝子と命名した。遺伝子解析により、Tn は 1068bp の ORF 内部に挿入されていた。以上の結果から緑膿菌における定常期細菌での、抗菌薬抵抗性において、初期の段階では *rpoS* 遺伝子が何らかの関与をしており、さらに bta 遺伝子やその他の遺伝子が関与していることが示唆された。

緑膿菌におけるカルバペネム抵抗性変異株についての研究

徳島大・歯・口腔細菌、医療短大・衛生技術*

○谷口和子、村上圭史、小野恒子*、弘田克彦、根本謙、三宅洋一郎

〔目的〕緑膿菌は感染局所に固着し種々の抗菌薬に対する抵抗性を獲得する。今回はこの抗菌薬抵抗性のメカニズムを明らかにする目的の一環としてカルバペネム抵抗性の上昇した Tn 挿入変異株を作成しその性状を検討した。

〔方法〕*P.aeruginosa* PAO1 由来 SM7 株を recipient、Tn1737KH を保有する *E.coli* CT726 を donor として接合伝達を行った。得られた transconjugant の BIPM 感受性を検討し、MIC は親株と変わらないが MBC は高値を示す変異株を得た。Tn 挿入部位の決定は、inverse PCR 法にて行った。変異遺伝子(*tcp gene*)の同定は knock out 変異株の作成と相補性試験により行った。また PAPM、MEPM、IPM 添加後の CFU を経時的に測定し変異株の他のカルバペネム系抗菌薬に対する感受性を検討した。さらに変異株の BIPM に対する MIC^{AD}、MBC^{AD} を判定した。

〔結果〕Tn 挿入 BIPM 抵抗性変異株 KMX7803 が得られた。SM7 の MIC、MBC はいずれも 1 μ g/ml であり差はなかったが、KMX7803 では MIC は SM7 と変わらないが MBC は 16 倍の高い値を示した。また BIPM 32 μ g/ml 添加後の CFU を経時的に測定した結果、変異株では 3 時間後、親株に比して約 1000 倍の高い生菌数を示した。Tn 挿入部位は PAO1 ゲノムデータベース解析により約 1150bp の ORF 内に存在していることが分かったが、この領域には相同性の高い既知の遺伝子は検出されなかった。*tcp* knock out 変異株では BIPM 抵抗性は KMX7803 と同様に上昇し、KMX7803 に *tcp gene* を導入すると BIPM 抵抗性は親株の SM21 株の低いレベルに復帰した。また変異株の PAPM、MEPM、IPM に対する抵抗性は BIPM と同様に上昇した。このことより *tcp* 遺伝子が発現するとカルバペネム系抗菌薬に対し、感受性を示し、*tcp* 遺伝子変異株では抵抗性を示すことが示唆された。また付着菌での MIC^{AD}、MBC^{AD} を判定した結果、変異株では親株に比し 8 倍の高い MBC を示し、付着菌における抵抗性には何らかの *tcp* 遺伝子の発現調節が行われている可能性が示唆された。

緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)の多剤排出システムによるカルバペネム系抗菌薬排出の特異性

京都薬大・微生物

○後藤直正、岡本清美、西野武志

【目的】緑膿菌の染色体性マルチコンポーネント型多剤排出システム群は多種の抗菌薬を細胞外へ排出し、緑膿菌の多剤耐性の一因として機能している。その排出システムのひとつである MexAB-OprM を指標にカルバペネムが側鎖の陽電荷の強さにより二つのグループに分けられることがすでに報告されている。私どもは MexAB-OprM (AB-M) のホモログ MexCD-OprJ (CD-J) および MexXY/OprM (XY/M) を加えて、3種の排出システムによるカルバペネムの排出を感受性の変動から調べた。

【実験材料および方法】*P. aeruginosa* PAO1 の排出システムおよび染色体性 AmpC β -lactamase の欠損株シリーズのカルバペネム感受性を寒天平板希釈法により測定した。カルバペネムとして imipenem, panipenem, biapenem, meropenem, BO2727, S4661, DU6681a を用いた。

【結果および考察】染色体性 AmpC を保持した変異株シリーズではそれぞれの排出システムの欠損および発現による感受性の変化は明瞭には見られなかったが、AmpC の欠損をベースにした変異株シリーズの感受性変化から(1) DU6681a は AB-M, CD-J および XY/M のすべてによって排出されること; (2) meropenem および S4661 は AB-M および CD-J により排出されること; (3) panipenem は AB-M および XY/M により排出されること; (4) BO2727 は XY/M により排出されることが分かった。一方、imipenem および biapenem は調べたいずれの排出システムの基質にはならないことが示された。これらの排出システムに対する挙動からカルバペネムは少なくとも 5 つのグループに特徴付けることができると考えられる。

リン菌の排出ポンプによるキノロン薬の耐性について

京都薬大・微生物

○大槻雅子、村田健、後藤直正、西野武志

【目的】リン菌感染症に対するキノロン薬の使用量の増加に伴い、本菌のニューキノロン薬に対する耐性化が進んできている。大腸菌や緑膿菌などでは薬剤の排出システムによる多剤耐性が知られており、リン菌でもエリスロマイシンやアミノ配糖体抗生物質を排出するタンパク質が報告されているが、キノロン薬との関わりはまだ知られていない。今回、リン菌の MtrCDE システムとキノロン薬との関わりについて検討したので報告する。

【方法】MtrCDE システムの外膜コンポーネントである MtrE タンパク質はマウス MtrE ポリクロナール抗体を使用し、ウエスタンブロットにより検出した。mtrCDE 遺伝子の転写抑制遺伝子である mtrR プロモーター領域の解析はこれらの領域の DNA 塩基配列を決定することで行った。mtrCDE 遺伝子の破壊株はそれぞれの遺伝子中に Ω Cm^r カセットを挿入し作製した。

【結果・考察】感受性標準株 ATCC19424 から SPFX を用いて *in vitro* で選択した 2 代目耐性株 SP23-4 は一代目耐性株 SP23 と同じ標的部位にしか変異を有しないにも関わらず、キノロン薬に耐性化している株であり、この株は MtrE タンパク質を過剰産生していた。この株の mtrR 解析の結果、mtrR をコードする領域には変異を認めなかったが、プロモーター領域に 1 塩基欠失の変異が見いだされた。この mtrR プロモーター領域の変異が MtrE タンパク質の過剰産生を引き起こしていると考えられる。ATCC19424 株から STFX で選択した標的部位に変異を持たないキノロン低度耐性の DU12 の mtrD 欠失株 NG001 では MtrE タンパク質の産生は抑制され EM, CAM や RFP に 4 倍高感受性化し、疎水性の高いキノロン薬である SPFX や NDFX にも 2 倍良好な感受性を示した。MtrCDE システムはこれまで報告されている疎水性物質の他に疎水性の比較的高いキノロン薬も排出することが示唆された。

男性尿道炎患者由来 *N. gonorrhoeae* のフルオロキノロン薬耐性について

岡山大学大学院医歯学総合研究科
泌尿器病態学

二ノ宮祐子, 光畑律子, 安東栄一, 門田晃一,
津川昌也, 狩山玲子, 公文裕巳

【目的】従来わが国では淋菌性尿道炎の治療において、主として *C. trachomatis* の合併が約 30% の症例に認められるという理由で、フルオロキノロン薬(FQs)が頻用されてきた。その結果として、FQs 耐性淋菌の分離頻度が近年増加して、臨床上的の問題となっている。今回、1997 年 3 月から 2000 年 6 月までに分離された *N. gonorrhoeae* に対する OFLX の MIC と、*gyrA* 遺伝子の変異との相関性について検討した。【対象・方法】当科及び関連施設で分離された男性尿道炎患者由来 *N. gonorrhoeae* 128 株に対する OFLX の MIC を測定し、*gyrA* 遺伝子の Ser91 部位と Asp95 部位の変異を LightCycler System を用いたリアルタイム PCR 法で解析した。【結果・考察】FQs 耐性淋菌(OFLX MIC \geq 2 μ g/ml)の分離頻度は 1997 年には 7.1%であったが、1999 年には 24.7%、2000 年には 45.2%に増加していた。リアルタイム PCR 法を用いた *gyrA* 遺伝子の変異解析では、Ser91 部位と Asp95 部位の両方に変異を認める株が 36 株(28.1%)、前者のみに変異を認める株が 49 株(38.3%)、後者のみに変異を認める株が 2 株(1.6%)、いずれにも変異を認めない株が 41 株(32.0%)であった。Ser91 部位と Asp95 部位の両方に変異を認める株の内、OFLX MIC \geq 2 μ g/ml の株は 94.4%であった。またいずれにも変異を認めない株では 97.6%が MIC \leq 0.25 μ g/ml であった。なお、今回使用したリアルタイム PCR 法では一度に 31 検体の検査が可能であり、判定に要した時間は約 60 分間であった。一方、セフェム薬低感受性淋菌(CFIX MIC \geq 0.5 μ g/ml)の分離頻度は 1997 年、98 年には認められなかったが、1999 年には 1.6%、2000 年には 10.3%と増加していた。したがって、今後淋菌の各種薬剤耐性が遺伝子学的に明らかになれば、淋菌感染症治療において迅速で精度の高い本システムを活用して、適切な抗菌薬選択が可能になりうるものと考えられる。

北九州およびその近隣地区における肺炎球菌の
薬剤感受性に関する検討

北部福岡感染症研究会¹⁾,
産業医科大学泌尿器科²⁾ 株式会社キューリン³⁾
○小田原ゆう子¹⁾, 村谷哲郎²⁾, 小林とも子³⁾, 長崎
雅春¹⁾, 有馬純徳¹⁾, 相本秀臣¹⁾, 重高正行¹⁾,
小倉由美子¹⁾, 田邊忠夫³⁾, 高橋康一³⁾,
澤江義郎¹⁾, 瀧井昌英¹⁾, 松本哲朗²⁾

【目的】近年薬剤耐性が注目されている肺炎球菌について、1999 年より北九州市およびその近隣地区(福岡県内および山口県西部)において、菌株の収集および薬剤感受性の測定を行っている。今回は 2001 年の結果について報告する。【方法】対象は期間内に分離された肺炎球菌全株とし、実施期間は本年 1 月から 2 月までの任意の 4 週間とした。調査項目は、検体採取日、検査材料名、患者 ID、年齢、性別、入院外来の区分とし、全株産業医科大学泌尿器科にて寒天平板希釈法による MIC 測定を行った。MIC 測定薬剤は、 β -lactam, キノロン系、MINO、マクロライド系、VCM、TEICなどに optochin を加えた 40 薬剤とした。参加施設は、福岡県内の 9 病院と検査センター 2 施設である。【結果】269 株中同一患者株などを除外した解析対象菌株数は、245 株であった。ペニシリン耐性率(n=245)は、PSSP 44.9%、PISP 44.9%、PRSP は 10.2%であった。検査材料別検体数の割合(n=245)は、咽頭、鼻腔などの上気道由来材料 58.0%、喀痰など下気道由来材料 29.4%、耳漏 9.4%、その他膿、眼脂および血液由来材料がそれぞれ 3.3%であった。検査材料別 PISP と PRSP を加え株の割合は、耳漏(65.2%)、下気道(56.9%)、上気道(53.6%)の順であった。他系統薬剤では LVFX 耐性(\geq 8 μ g/ml)株 4.5%、CAM 耐性(\geq 1 μ g/ml)株 71.0%、MINO 耐性(\geq 4 μ g/ml)株 63.7%であり、VCM および TEIC は 0.5 μ g/ml で全株の発育を阻止した。【考察】ペニシリン耐性率は、昨年同時期のデータ(PSSP 33.8%、PISP 36.5%、PRSP 29.7%)と比較すると PSSP の増加が認められ、一昨年(41.1%)のレベルに戻っていた。キノロン剤の耐性率(LVFX \geq 8 μ g/ml)は 4.5%と低いが、1999 年 0.7%(1/146)、2000 年 2.3%(5/222)と増加傾向が認められる。多剤耐性の傾向が認められており、今後とも監視が必要である。

気道由来肺炎球菌の薬剤感受性状況

大分医科大学第二内科¹⁾、検査部²⁾

○大濱 稔¹⁾、中野哲治¹⁾、平田範夫¹⁾、
一宮朋来¹⁾、時松一成¹⁾、山上由理子¹⁾、
永井寛之¹⁾、門田淳一¹⁾、那須 勝¹⁾、
平松和史²⁾、中野忠男²⁾、犀川哲典²⁾

〔目的〕肺炎球菌は市中肺炎の起炎菌として重要な病原体の一つであるが、近年各種薬剤に対する耐性化が大きな問題となっている。今回、当院において気道材料より分離された肺炎球菌の各種抗菌薬に対する感受性及び遺伝子変異について検討したので報告する。

〔方法〕1987年～2001年6月までの間に大分医科大学附属病院検査部において下気道材料（喀痰、気管内痰、肺穿刺液）から分離、保存された肺炎球菌184株を、寒天平板希釈法で各種抗菌薬を用いMICを測定した。

〔結果〕各年の当院における下気道材料からの肺炎球菌の分離頻度は2.1～4.9%（平均3.3%）を推移し、大きな変化はなかった。肺炎球菌の各種抗菌薬に対する感受性を1987～90（前期）、91～95（中期）、96～2001年（後期）に分けて見ると、PCGのMIC₉₀（ $\mu\text{g/ml}$ ）は、前期：0.05、中期：0.39、後期：1.56と明らかな耐性化の傾向を示していた。またCCL、CTM、CZX、EMなどにおいても耐性化の傾向を示していた。さらにIPMのMIC₉₀（ $\mu\text{g/ml}$ ）は前期：0.025、中期：0.05、後期：0.2と感受性の低下を認めた。CDTR、CFPN、FRPMも同様の傾向を示していた。LVFXは明らかな感受性の変化は認めなかった。PCGのMIC0.1 $\mu\text{g/ml}$ 以上の菌株についてPBP遺伝子の変化を調べてみると、すべての菌株で*pbp 1a*、*2x*、*2b*のいずれかの変異を有していた。またMIC値の高い株では複数の領域に変異を有していた。

〔結語〕下気道由来の肺炎球菌においても多くの薬剤に対して耐性化の傾向を示していた。特にこれまで比較的有効であった薬剤についても感受性の低下を示しており今後とも注意が必要であると思われた。

耐性肺炎球菌検出症例の背景因子と薬剤感受性

川崎医科大学呼吸器内科

○毛利圭二、宮下修行、深野浩史、矢木真一、
三村公洋、吉田耕一郎、中島正光、二木芳人、
松島敏春

〔目的〕耐性肺炎球菌の頻度は年々増加してきており、その治療面などから社会的にも問題となってきた。この耐性肺炎球菌が検出される症例の背景因子に関する報告は少なく、当院で分離された肺炎球菌検出症例を対象とし検討を行った。また、耐性肺炎球菌の各種薬剤に対する抗菌活性も併せて検討した。

〔方法〕1998年1月から2000年12月まで、当院でペニシリン耐性肺炎球菌の分離された成人症例を対象とし、その背景因子についてペニシリン感受性肺炎球菌分離症例と比較検討した。また、薬剤感受性検査は日本化学療法学会標準法に基づいて施行した。

〔結果および考察〕耐性肺炎球菌検出症例は、①65歳以上の高齢者、②呼吸器系（慢性閉塞性肺疾患など）または中枢神経系（脳血管障害など）に基礎疾患を持つ者、③過去3ヶ月以内の抗菌薬使用者、④免疫抑制剤使用者において有意に多かった。中でも、過去3ヶ月以内に β -ラクタム系抗菌薬使用者は、ペニシリン耐性肺炎球菌分離症例で74%、ペニシリン感受性肺炎球菌分離症例で26%と、危険因子の中でも特に注意すべき因子と考えられた。今後さらに症例を増やして検討を行う予定である。

重症感染症を起こした肺炎球菌の細菌学的特徴と臨床背景の検討

愛知耐性菌研究会

○飯沼由嗣、岡本典子、早川敏、鈴木克巳、犬塚和久

【目的】我々は、敗血症、髄膜炎、胸膜炎、重症肺炎など重症感染症を起こした肺炎球菌の細菌学的特徴と臨床背景の検討を行った。

【方法】参加施設：中部地区 13 の病院および検査センター（名古屋大病院、名古屋市大病院、保衛大病院、一宮市民病院、春日井市民病院、国立名古屋病院、名城病院、名古屋掖済会病院、名古屋第二赤十字病院、常滑市民病院、岡崎市民病院、安城更生病院、ファルコバイオシステムズ）会名称：愛知耐性菌研究会
細菌学的検討：上記 13 施設において分離された、重症感染症を起こした肺炎球菌症例の菌株および症例報告書を名古屋大病院へ送付、解析を行った。

期 間：平成 12 年 1 月～継続中

【結果】現在までに 30 症例の菌株および臨床背景が集積された。このうち、15 症例について解析が終了している。感染症名は、敗血症 3 例、髄膜炎 6 例、肺炎 1 例、関節炎 1 例、眼内炎 1 例、硬膜外膿瘍 1 例である。うち 1 例は髄膜炎と肺炎を併発していた。年齢、性別では 0～10 歳が 6 例、11～59 歳が 3 例、60 歳以上が 6 例となった。予後は、治癒が 12 例、死亡が 2 例、眼球摘出 1 例であった。また、髄膜炎 6 例中 4 例が、重症肺炎 4 例中 4 例が血液培養でも陽性となった。細菌学的検討では、ペニシリン耐性度は、PSSP7 例、PISP4 例、PRSP4 例となった。血清型では 25 型が 4 例と最も多く、次に 10 型の 3 例、6、14、19 の各型 2 例となった。PRSP は 6、9、19、23 型からそれぞれ 1 株ずつ検出されたが、10 型はすべて PSSP であった。

【結論】重症肺炎球菌感染症では 15 例中 8 例が血液培養陽性となったが、予後は比較的良好であった。重症感染症では稀とされる血清型 10 の株が比較的多く分離され、それらはすべて PSSP であった。

（会員外協力者：奈田俊、上屋洋子、毛利哲夫、多和田行男、清水聖一、西山泰暢、上井瑞恵、千田澄江、堀光弘、平本謙）

各種ニューキノロン薬の *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、久保田徹、當山真人、新里 敬、比嘉 太、健山正男、川上和義、斎藤 厚
琉球大学医学部附属病院検査部
仲宗根勇、山根誠久

【目的】当院では近年 *S. milleri* group (SMG) 株の約 14% がペニシリン低感受性株となっており、ペニシリンに次ぐ抗菌薬を考慮しておく必要がある。喀痰中や組織移行性に優れたニューキノロン薬は、グラム陽性球菌感染症に対しても適応が拡大され、その有用性が期待される。そこで、ニューキノロン薬の SMG 臨床分離株に対する薬剤感受性と殺菌効果を比較検討した。

【材料・方法】2000 年 1 月から 12 月の間に当院にて各種臨床検査材料より分離・同定された SMG を対象として、NCCLS 法に基づく微量液体希釈法により薬剤感受性試験を施行した。薬剤は LVFX、SPFX、CPFX、TFLX、STFX、TVFX を使用した。殺菌効果については、血液寒天上 5% 炭酸ガス下に 18 時間純培養後の *S. anginosus* (ペニシリン低感受性株 D327) を Brain-Heart infusion 液体培地中に 10^4 cfu/ml にて接種し、24 時間後の菌量の経時変化を追った。

【結果・考察】ニューキノロン系薬に対する臨床分離 SMG 株の感受性低下が確認された。STFX は MIC₉₀ が $0.03 \mu\text{g/ml}$ ときわめて優れた MIC を示し、殺菌効果も最も優れていた。

新鮮分離株に対する第四世代セフェムの薬剤感受性

岡山大学医学部附属病院中央検査部
○草野展周

第四世代セフェムは緑膿菌を含む広域の抗菌スペクトラムを有している。薬剤としてはCPR、CZOP、CFPM、CFSLの4薬剤が現在市販されており、岡山大学附属病院でも臨床の場での使用が徐々に増加している。そこで、各種の新鮮分離株に対する薬剤感受性について検討したので報告する。

〔方法〕

菌株は2000年7月～2001年8月に岡山大学附属病院で臨床材料から分離された210株 (*S. pneumoniae* 30株、*H. influenzae* 30株、*S. aureus* 40株、*E. coli* 30株、*K. pneumoniae* 40株、*P. aeruginosa* 40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準じた微量液体希釈法でMICを測定した。対象薬剤はCPR、CZOP、CFPM、CFSL、CTX、CAZ、FMOX、IPMの8薬剤を用いた。

〔結果・考察〕

*S. pneumoniae*に対するMIC80は、IPM(0.06 μ g/ml)が最も低く、次いでCPR (0.25 μ g/ml)、CFSLとCTX (0.5 μ g/ml)であった。*H. influenzae*ではCTX (0.06 μ g/ml)が最も優れており、次いでCPRとCAZ (0.13 μ g/ml)、であった。BLNAR (ABPC \geq 2 μ g/ml)は4株(13.3%)認められ、第四世代セフェムでも感受性株に比べ、4～16倍高いMICを示した。*E. coli*と*K. pneumoniae*に対するMIC80は、CPRとCFSLが \leq 0.03 μ g/mlと優れていたが、CZOPは0.13 μ g/mlであった。*P. aeruginosa*に対するMIC80はIPM(1 μ g/ml)が最も優れており、次いでCAZ (2 μ g/ml)であり、CZOP、CFPMおよびCFSLは8 μ g/mlであった。メタロ β -ラクタマーゼ産生 (IMP-1) 株は1株認められたが、全薬剤が \geq 32 μ g/mlであった。

外科感染症の分離菌とその薬剤感受性の動向

外科感染症分離菌研究会

○真下啓二、品川長夫、由良二郎、石川 周、水野 章、真辺忠夫、平田公一、牛島康栄、相川直樹、岩井重富、佐藤 毅、木下博明、藤本幹夫、谷村 弘、田中紀章、木村秀幸、小長英二、横山 隆、竹末芳生、池田靖洋、鈴木由美子

【目的】外科感染症の予防および治療における抗菌薬選択時の資料のひとつとして、感染巣からの分離菌とその薬剤感受性の年次的推移を調査した。

【対象と方法】全国 25 外科施設において、主として消化器外科領域感染症患者の病巣から検体を採取し、細菌の分離同定および薬剤感受性の測定を行った。調査期間は1982年7月～2001年3月であるが、今回は2000年4月以後の集計結果(2000年度分)を中心にして検討した。

【結果と考察】2000年度では234検体から388株が分離された。一次感染巣からは136株が分離され、*E. coli*(14株)、*B. fragilis*(9株)、*E. faecalis*(7株)、*P. aeruginosa*(7株)などが多かった。術後感染巣からの分離は252株で、多い方から*E. faecalis*(27株)、*S. aureus*(26株)、*B. fragilis*(20株)、*E. avium*(20株)、*P. aeruginosa*(16株)の順であった。主要菌種の分離比率を前年度と比較すると、一次感染では*B. fragilis* group、*P. aeruginosa*が増加、*S. aureus*、*E. coli*が減少、術後感染では*B. fragilis* group、*E. cloacae*が増加、*S. aureus*、*E. faecalis*、*K. pneumoniae*が減少した。一次・術後を合わせたMRSAの分離数は25株で、*S. aureus*に占める比率は86%であった。薬剤感受性では、*E. coli*と*K. pneumoniae*の1998～9年度分離株にみられた高世代セフェムやモノバクタムに対する感受性低下は2000年度では認めなかった。MEPMは*P. aeruginosa*に対して従来IPMより優れたMIC分布を示してきたが、1999年度以後では優位性を示さなくなった。*B. fragilis* groupのうち、*B. fragilis*以外の菌種のセフェマイシン薬やオキサセフェム薬に対する耐性化が近年、目立っていたが、2000年度ではさらなる耐性の進行はなかった。

グラム陰性尿中分離株の各種抗菌薬に対する感受性の年次推移

藤田保健衛生大学医学部泌尿器科

○石川清仁、早川 敏、宮川真三郎、田中利幸、
名出頼男、星長清隆

【目的】過去 10 年間に分離された臨床株の各種薬剤に対する感受性の年次推移を調べ、抗菌剤の使用頻度との関連を検討した。【対象と方法】藤田保健衛生大学泌尿器科の外來および入院で 1990 年から 1999 年の 10 年間に尿中から分離されたグラム陰性桿菌のうち代表的起炎菌である *E. coli* (5248 株)、*K. pneumoniae* (1496 株)、*P. aeruginosa* (1771 株) を対象とした。検討薬剤として PIPC、ABPC、CEZ、CAZ、AZT、IPM/CS、GM を、NQs 系は 1994 年前期までを OFLX、それ以降は LVFX を用いた。MIC は日本化学療法学会推奨寒天平板希釈法に基づき実地し、それぞれの breakpoint を設定して sensitive(S)、intermittent(I)、resistant(R) に分類した。【結果】*E. coli* の NQs に対する耐性株出現頻度は使用量の推移に関係なく 0.3%(1990) から 11.3%(1996) と上昇傾向が見られた。*K. pneumoniae* は CAZ、AZT、NQs に対し散発的に耐性菌が出現しており、ESBL の存在が予想された。AZT、NQs に関しては薬剤使用量と耐性菌の出現頻度に相関が認められた。*P. aeruginosa* の NQs に対する耐性株出現頻度は 1990~1995 年までは 70% 前後で推移していたが、その後下降傾向を示し、1999 年は 48.9% と最低となった。これも NQs 剤使用量と耐性菌の出現頻度に相関があった。菌種により耐性菌出現頻度と投与された抗菌薬の使用頻度の関連性に違いが認められた。【考察】菌種により耐性獲得機序が異なるのは周知のことである。今回の検討で細菌の持つ耐性機序と使用薬剤の関連性が示唆された。

北九州近隣地区で流行している UOE-2
(CTX-M-14) 産生 *Escherichia coli* に関する検討

産業医科大学泌尿器科¹⁾、株式会社キューリン²⁾
飯塚病院³⁾、北九州総合病院⁴⁾

○村谷哲郎¹⁾、小林とも子²⁾、長崎雅春³⁾、
有馬純徳⁴⁾、相本秀臣⁴⁾、山田陽司¹⁾、高橋康一¹⁾、
松本哲朗¹⁾

【目的】北九州近隣地区において、1999 年より、ESBL 産生菌を中心とするセフェム系耐性菌について、収集および耐性機序の検討を行っている。本検討において最も多く見出された UOE-2 β -lactamase 産生 *E. coli* について報告する。【方法】耐性株の目安として *E. coli* については、CPDX の MIC 2 μ g/ml 以上を示す株とした。菌株はすべて、寒天平板希釈法にて感受性測定を行った。UOE-2 の検出は、PCR によって行い、一部の株については、DNA sequence を行い塩基配列の確認を行った。染色体 DNA の *notI* 切断パターンを pulse field gel 電気泳動を行って比較した。【結果】2001 年 8 月までに、CPDX 2 μ g/ml 以上を示す *E. coli* は、9 病院と 2 検査センター (33 施設) の計 42 施設より、231 株が送付された。このうち CPDX 単独と CVA または TAZ 併用した場合の MIC を比較した場合、8 倍以上 MIC が低下した株は、190 株存在した。UOE-2 primer を用いた PCR 陽性であった株は 148 株で、同一患者同一検査材料の株を除くと、23 施設 87 患者 103 検体に及んだ。これらの株の CTX、CAZ、CPDX、AZT、CPR に対する MIC は 8-64、0.5-4、64-256、0.5-16、4-64 μ g/ml の範囲に 90% 以上の株が分布しており、CPDX および CPR の MIC は CVA を併用することにより、0.25-2 および 0.0156-0.125 μ g/ml まで低下した。LMOX は 2 μ g/ml で、IPM は 0.5 μ g/ml ですべての株の発育を阻止した。キノロン系は 2 株を除いて耐性 (LVFX: ≥ 16 μ g/ml) であり、GM 耐性株は 8% 程度であった。DNA 切断パターンは、異なる施設から分離された株であっても同一または、類似するパターンの株が多数存在した。【考察】今回用いた UOE-2 primer は、CTX-M-9、Toho-2 type β -lactamase にも共通だが、DNA sequence まで実施した株の塩基配列はすべて 100% 一致した。また他系統薬剤の感受性や染色体 DNA の切断パターンの検討より、特定の株が地域内で流行している可能性が高く、分離された時の対処法を徹底する必要があると考えられた。

尿路感染症におけるESBL産生菌の検出と糞便内保有について

藤田保健衛生大学泌尿器科¹⁾、同臨床検査研究部²⁾、飯能清和病院³⁾

○宮川真三郎¹⁾、石川清仁¹⁾、早川敏^{1) 2)}、田中利幸¹⁾、名出頼男^{1) 3)}、星長清隆¹⁾

【目的】尿中分離株より基質拡張型β-lactamase (以下ESBL) 産生菌を検出し、同菌検出症例の糞便内にESBL産生菌が存在するか否かを検討した。

【方法】2000年8月から12月までに当科尿検体より検出されABPC、PIPCが耐性且つCAZ、CPDX、AZTの何れかが耐性を示した4株 (*E.coli* 1株及び*K.pneumoniae* 3株) に対しP/CaseTESTによるβ-lactamaseクラス識別、及びNCCISによるESBL産生菌検出法 (ディスク法) にてESBL産生能を判定、PCR法によりプラスミドDNA同定も行った。更にその4症例に対しESBL産生菌の糞便内保有について調べるため、薬剤添加スクリーニング培地を自製し培地に生えた菌株に対し同定の上、ESBL産生能の判定及びプラスミドDNAの同定を行い、その相関性を検討した。

【結果】尿検体はP/CaseTEST及びディスク法より全株ESBL産生菌と判定した。プラスミドDNAは*E.coli* からTEMtype及びToho-1type、*K.pneumoniae* からTEMtypeが検出された。糞便内保有株は全例がβ-lactamase産生能を保有しており、その内ESBL産生菌株は*K.pneumoniae*、TEMtypeが2例検出された。

【結論】4症例とも尿路に基礎疾患を有しておりβ-lactamase剤の使用歴があった。ESBL産生菌による尿路感染は、外部からの感染によるものと抗菌剤使用により腸内細菌叢でESBL産生菌が選択されこれが内因性感染を起こすものの両方がありと考えられた。

同一病棟の2患者より分離されたESBL産生 *Escherichia coli* に関する検討

北九州総合病院¹⁾、産業医科大学泌尿器科²⁾

○有馬純徳¹⁾、村谷哲郎²⁾、相本秀臣¹⁾、増永晴子¹⁾、松本哲朗²⁾

【Key words】*E. coli*, SHV-12, ESBL

【目的】国内で分離されている基質特異性拡張型β-lactamase (ESBL)は、CTX-M-2などCAZが比較的感受性を示すものが多い。我々は北部福岡感染症研究会共同研究として、北九州近隣地区において、ESBL産生株の調査を1999年より行っている。そのほとんどはCAZのMICが2μg/ml以下を示すUOE-2 (CTX-M-14) typeであり、これまでに100名以上の患者から分離されている。今回CAZに高度耐性を示す*E. coli*が同一病棟の2患者より分離されたので検討を行った。

【材料および方法】2001年7月に分離されたCAZ高度耐性*E. coli* Rec1097およびRec1111の2株を用いた。MICの測定は寒天平板希釈法で行った。

【結果】Rec1097株は80才男性CPZ/SBT9日間、PIPC11日間投与直後に胆汁中から分離され、Rec1111株は77才女性IPM7日間投与後3週めにドレーンから分離された。いずれも手術後の患者であった。Rec1097株のCTX, CAZ, CPDX, AZTに対するMICはいずれも>256μg/mlであり、CVAの添加により、CAZおよびCPDXのMICは0.5および1μg/mlまで低下した。Rec1111株は、64~>256μg/mlとやや低いMICを示し、CVAの添加により、CAZおよびCPDXのMICは0.25および1μg/mlまで低下した。セファマイシン系のCMZは4μg/ml、LMOXは2および8μg/mlを示した。IPMは0.125、MEPMは0.031および0.016μg/mlを示した。fluoroquinoloneおよびアミノ配糖体系のGMは感受性を示した。β-lactamase typeを検討するためPCRを行ったところ両株ともSHV陽性となり、DNA sequenceの結果Rec1111株はSHV-12産生株であった。

【考察】ESBL産生菌は、北九州地区において増加の傾向が認められているが、本地区において、SHV-12が分離されたのは今回がはじめてである。現在のところ、このtypeのβ-lactamaseは2患者以外からは分離されていないが、院内感染の可能性も含めて検討が必要である。

臨床および環境分離アスペルギルスの薬剤感受性試験

九州大学大学院医学研究院病態修復内科学分野

○詫間隆博、山方昭弘、藤原尚子、岡田薫

[目的] 近年アゾール耐性の酵母様真菌が増加してきており、糸状菌においても抗真菌薬に対する獲得耐性の可能性が危惧される。最近、日本医真菌学会より比較的再現性のある抗真菌薬感受性試験法が提案されており、その方法を用いて臨床および環境分離糸状菌において抗真菌薬感受性に乖離がないかを調査したので報告する。

[方法] 臨床分離および病院環境分離の *Aspergillus* を用いた。同定は形態学的方法により行い、Advances in *Penicillium* and *Aspergillus* Systematics で提唱されている18のsectionに分類した。MIC測定はAMPH、ITCZ、MCZ、5-FCについて日本医真菌学会法に準じて行い、MFC (minimal fungicidal concentration) は7日間培養後、各wellより10 μ lをポテトデキストロース平面寒天培地に接種し、3CFU未満に発育阻止された最小濃度をとった。

[結果] section *Fumigati* のMIC値(μ g/ml)は臨床株(0)/環境株(0)、(0)内は中央値の表記で表すと、株数18/7株、AMPH 0.125-2(1)/1-2(1)、ITCZ <0.016-0.125(<0.016)/<0.016-0.125 (0.063)、MCZ <0.063-1(0.125)/0.5-1(1)、5-FC 8->128(128)/64->128(>128)で、臨床株と環境株とはほぼ同等であった。その他、section *Flavi* 7/6株、*Nigri* 7/7株、*Versicolor* 2/9株についてもMIC値はほぼ同等であった。また、MFCについても値はMICより高値であったものの臨床株と環境株の差は明らかでなかった。

[考察] 今回調査した範囲内では獲得耐性を示唆する結果は得られなかった。アスペルギルス等の外因性の目見感染症を起こす糸状菌は通常環境で繁殖し、ヒトに感染したあとに二次感染を起こすことは通常はない。そういう意味では環境株の耐性化傾向も問題となるが、環境分離株と臨床分離株の薬剤感受性に差がほとんど無いのであれば臨床分離株の薬剤感受性試験で代用できると考えられた。

起炎性の明らかな臨床検体からの嫌気性菌の抗菌薬感受性について

九州大学大学院医学研究院病態修復内科

○藤原尚子、詫間隆博、山方昭弘、岡田薫

[目的] 嫌気性菌は皮膚表面、粘膜面、口腔、腸管の常在菌叢を形成しており、誤嚥性肺炎をはじめとする内因性感染症の起炎菌として重要である。一般的にはサンプリングの問題と検査上のコストの問題から検出率は低く、積極的な感受性試験のデータも示されていないが、ペニシリンをはじめとする各種 β -ラクタム系薬剤やCLDMに耐性化が認められていることもあり、一般的な感受性動向の把握が必要である。

[方法] 1992年1月から2001年8月までに九大病院第一内科の臨床検体より分離された嫌気性菌、および岐阜大学医学部附属病院嫌気性菌実験施設から提供をうけた菌株、計42株についてABPC、CMZ、IPM、CLDM、MINO、SPFXに対する感受性をNCCLSに準拠した寒天平板希釈法により測定した。検体は主に胸水、血液から検出されたものであり、菌種は*Prevotella* spp.13株、*Bacteroides* spp.10株、*Fusobacterium* spp.6株、*Clostridium* spp.4株、*Peptostreptococcus* spp.3株、*Propionibacterium* spp.4株、*Streptococcus constellatus*、*Actinomyces Israel*が各1株ずつであった。測定培地はプルセラHK血液寒天培地とした。

[結果] 嫌気性菌全般に対して、IPMの抗菌力は優れており、MIC90は0.5 μ g/mlと最も低い値を示し、耐性株は認められなかった。次にSPFX、MINOがMIC90が8 μ g/mlと続き、CMZは32 μ g/ml、ABPCとCLDMはMIC90が>128 μ g/mlと低感受性を示した。ABPCの耐性株は嫌気性菌全体の60%に認められ、主に*Prevotella*属と*Bacteroides*属であり、 β -ラクタマーゼ産生株によるものと考えられた。CLDMは一般的に嫌気性菌に抗菌力が優れているとされるが、耐性株が19%に認められた。菌種別の測定結果についても検討を加えたので報告する。なお、同時に施行した便検体からの*Clostridium*属に関しては、 β -ラクタム系薬剤に対する耐性化傾向は認められなかった。

岐阜県下の淋菌性子宮頸管炎患者における咽頭からの淋菌の検出状況について

岐阜大学医学部産科婦人科、

岐阜総合病院産婦人科*

○三嶋廣繁、早崎容、和泉孝治*、玉舎輝彦

【目的】最近、女性における淋菌感染症は、増加傾向にある。一般的に、淋菌感染症は、性交渉により伝播するが、性行動の多様化により、いわゆるオーラルセックスが定着したため、女性の咽頭からの淋菌の検出が増加しているという経験的事実はあるものの、実際の頻度を調査した報告はない。そこで、淋菌性子宮頸管炎に罹患していた女性における咽頭からの淋菌の検出状況について検討した。

【方法】岐阜県下の病院で2000年1月から2001年9月までに、PCR法もしくは培養法により淋菌性子宮頸管炎と診断された患者25名において、同意の得られた患者の咽頭粘膜スワブを採取して、PCR法および培養法により淋菌の検出状況について検討した。同時に、患者には、可能な限り詳細な問診を行った。

【結果】淋菌性子宮頸管炎と診断された患者25名において咽頭粘膜から淋菌が検出された患者は、PCR法では18名(72%)、培養法では、12名(48%)であった。オーラルセックスの行動があるものは、20名あり、オーラルセックスのあった者に限れば、咽頭粘膜からも淋菌が検出された症例は90%であった。

【結論】淋菌性子宮頸管炎と診断された場合には、高率に、咽頭粘膜からも淋菌が検出されることが明らかとなり、現代の性活動様式の変化が関係していることが推察された。

岐阜県下における抗菌薬耐性淋菌の動向

岐阜大学医学部産科婦人科

○三嶋廣繁、早崎容、玉舎輝彦

岐阜市民病院産婦人科

伊藤邦彦

【目的】最近、淋菌感染症の増加傾向とフルオロキノロン耐性淋菌(QRNG)の増加が注目されている。そこで、岐阜県下で2000年1月から12月までに、淋菌性子宮頸管炎患者から分離された淋菌18株を対象として、各種抗菌薬に対する感受性を検討した。

【方法】MICの測定は、benzylpenicillin, ampicillin, amoxicillin, ceftriaxone, ceftazidime, cefpirome, flomoxef, cefaclor, ceftoram, cefdinir, cefditoren, cefcapene, faropenem, imipenem, panipenem, meropenem, aztreonam, ofloxacin, levofloxacin, ciprofloxacin, tosufloxacin, erythromycin, clarithromycin, azithromycin, minocyclin について、化学療法学会標準法(寒天平板希釈法)を用いて行った。

【結果】ペニシリナーゼ産生淋菌(PPNG)は1株認められたが、テトラサイクリン高度耐性淋菌(TRNG)はなかった。QRNGについては、OFLX \geq 0.25 μ g/mL株は61%(11/18)、CPFX \geq 0.25 μ g/mL株は33%(6/18)の頻度であった。

【結論】近年、岐阜県下においてもQRNGの増加は明らかであり、現時点では、淋菌感染症に対しては、セフェム系抗菌薬などのフルオロキノロン以外の系統の抗菌薬を第一選択薬として考慮すべきであると考えられた。