



Title	結核症の気管支拡張症における感染細菌叢の薬剤耐性に関する知見
Author(s)	中野, 武文
Citation	結核の研究, 21-22, 49-58
Issue Date	1965-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26757
Type	departmental bulletin paper
File Information	21_22_P49-58.pdf



結核症の気管支拡張症における感染細菌叢の 薬剤耐性に関する知見

中 野 武 文

(北大第一内科・国立札幌療養所)

緒 言

近時化学療法剤の進歩はめざましいものがあるが、反面ここ数年来、各種薬剤に対する微生物の耐性獲得により、これら耐性菌感染疾患の治療には大きな障碍が横たわってきた。特に結核菌感染によって生じた気管支の拡張は、これら細菌の絶好の繁殖場所となり、更には細菌感染を繰返すことにより、化学療法上各種抗生物質の耐性化の原因ともなり、ひいては肺結核、肺膿瘍、肺炎などの慢性肺疾患治療上の大きな問題になっているといえよう。感染菌に対する使用薬剤の選択は最も重要な要素であるが、現在広く用いられているのが細菌感受性試験である。しかしこの成績に基いて使用した薬剤の臨床的効果は必ずしも之に一致しない点もあり、現行の薬剤感受性検査は真の感性または耐性の分別にならぬ面が多いように思われる。

そこで著者は肺結核に合併した気管支拡張症の喀痰から分離した各種細菌について、その種類、Host側の因子を加味した耐性獲得状況などについていささかの知見を得たので報告する。

実験方法

1) 検査対象並びに使用菌：気管支拡張症を有する肺結核患者の喀出した喀痰 48 例から分離したブドウ球菌、肺炎双球菌、連鎖球菌、ナイセリヤおよびグラム陰性桿菌。

2) 使用薬剤：Streptomycin (SM), Kanamycin (KM), Penicillin (PC), Erythromycin (EM), Tetracyclin (TC), Sulfa 剤 (SF)。

3) 実験方法：a) 図 1 に示す如く患者喀痰から分離したブドウ球菌、肺炎双球菌、連鎖球菌、ナイセリヤの 4 種を各々血液加ハートインフュージョン培地に接種し、これに 3 濃度感受性ディスクと、更に 24 時間化学療法を中止した患者に SM 1g 筋注 30 分後、KM 1g 筋注 30 分後、PC 20 万単位筋注 30 分後、EM 200mg 内服 4 時間後、TC 250mg 内服 2 時間後、SF 1g 内服 1 時間後に採血・

血清を分離し、これに濾紙（感受性試験のディスク製造と同規格のもの）を浸したものを接置し、阻止帯の有無を検索した。なお対照として各薬剤に感性の標準ブドウ球菌 209 P、肺炎双球菌 I 型、連鎖球菌 A 型およびナイセリヤを使用した。b) 図 2 に示す如く患者喀痰より分離したブドウ球菌 10 株をブイオン液体培地に培養、その濾液を 4 つに分け、これに SM 50mcg/cc, KM 30mcg/cc, PC10U/cc, EM 10mcg/cc になるよう混和し、これに濾紙を浸したものを各自家排出ブドウ球菌および標準菌株上に接置し、阻止帯の長さを測定した。なお対照にはブイオン培地濾液を設置した。c) 患者喀痰の肺炎双球菌 6 例についても b) と同様の実験を試み、更にこれが他標準菌、即ちブドウ球菌 209 P に対してはどんな阻止帯を生ずるか、また PC, EM について、その濾液を 100°C 10 分間加熱した後に薬剤を混和した場合の阻止帯の変化について検索した。d) 3 濃度ディスク法と血清ディスク法で、各分離菌株が何種類の耐性を獲得しているか検査成績より整理した。

実験成績

I 48 例の喀痰より分離した菌株は 76 株であり、その種類は a) ブドウ球菌 31 例 (40.8%) b) 肺炎双球菌 20 例 (26.4%), c) 連鎖球菌 7 例 (9.2%), d) ナリセリヤ 14 例 (18.4%), e) グラム陰性桿菌 4 例 (5.2%) となった。

II 3 濃度ディスク法と患者血中薬剤の自家排出菌に対する感受性検査の比較。

表 1 に示す如く、血清ディスク法で感性のものはすべて栄研 3 濃度ディスク法でも感性であるが、3 濃度ディスク法感性のものは、血清ディスク法では必ずしも感性とならず、逆に耐性または感受性不明のものが含まれている。図 3, 4 はその差を図示したものである。a) 栄研ディスク法感性例 SM 52.8%, KM 91.7%, PC 80.6%, EM 97.2%, TC 98.3%, SF 59.6%, 更にブドウ球菌 78%, 肺炎双球菌 82.2%, 連鎖球菌 75%, ナリセリヤ 87% であるが、b) 血清法感性例 SM 27.8%, KM

27.8%, PC 47.2%, EM 52.8%, TC 10.7%, SF 1.8%, ブドウ球菌28.3%, 肺炎双球菌32.2%, 連鎖球菌34.4%, ナイセリヤ28.6%の結果を得た。

Ⅲ 3濃度栄研ディスク法感性例と血清ディスク法の比較分析。

表2に表す如く、栄研ディスク法感性例は血清ディスク法では次の4つに分けられる。即ち a) 血清ディスク法が自家菌、標準菌共に阻止帯の生ずるもの、b) 自家菌に阻止帯を生ずるが標準菌には生じないもの、c) 両者共阻止帯を生じないもの、d) 自家菌には阻止帯を生じないが標準菌では生ずるもの。この中 a) + b) (38%) は感性であり、c) 37.6%が不明、d) 24.4%が耐性と思われる。

Ⅳ 患者排出ブドウ球菌と、これら培養濾液添加薬剤 SM, KM, PC, EM との関係。

表3に示す如く、各薬剤とも全例が標準菌株に対して阻止帯を生じたが、反対に自家菌に対しては、SM 3例, KM 4例, PC 5例に阻止帯の生じないか、またはその短縮を認めた。このことから濾液は薬剤を不活化しないが自家菌に対してのみその効果が阻止されることが知られた。但し EM のみは両者共その差異が認められなかった。

Ⅴ 1) 患者排出肺炎双球菌と、これら培養濾液添加薬剤 SM, KM, PC, EM との関係, 2) 更に標準肺炎双球菌および標準ブドウ球菌に対する関係, 3) また培養濾液を加熱後 PC, EM を添加した時のこれら両菌に対する影響。

表4に示す如く、1) ブドウ球菌と同様 SM 3例, KM 4例, PC 5例阻止帯の生じないかまたはその短縮を認め、2) 標準肺炎双球菌およびブドウ球菌両者には同様の

図1 実験方法 1

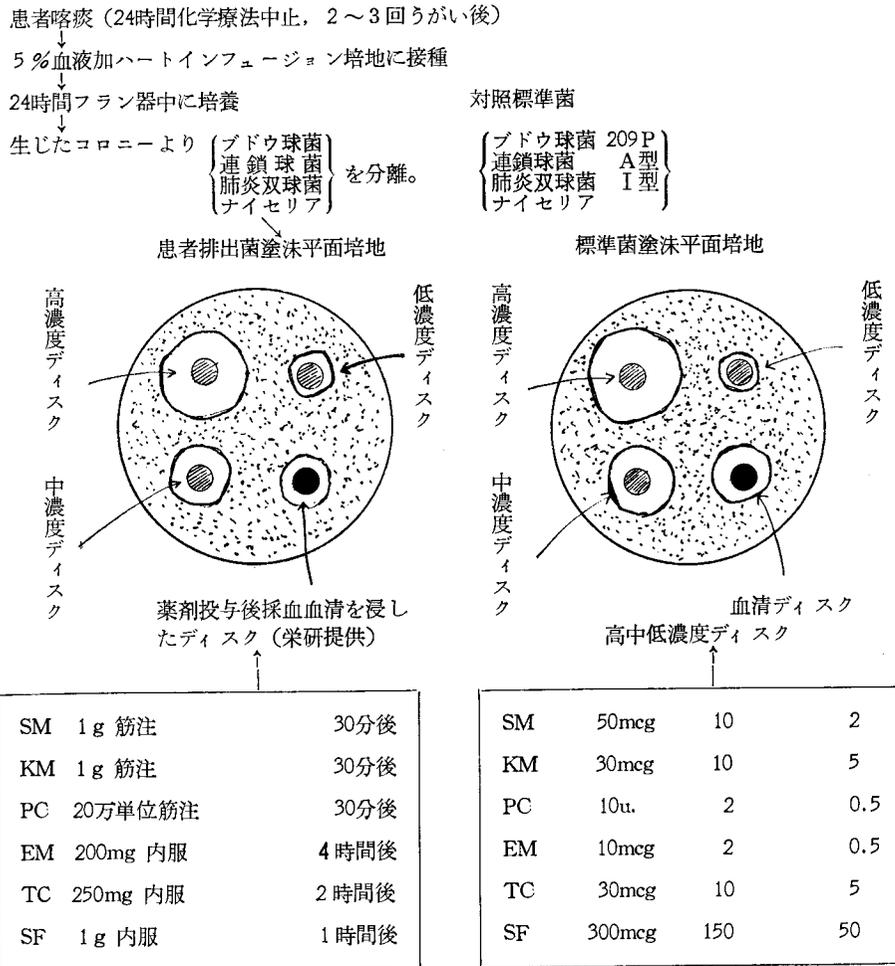


図2 実験方法 2

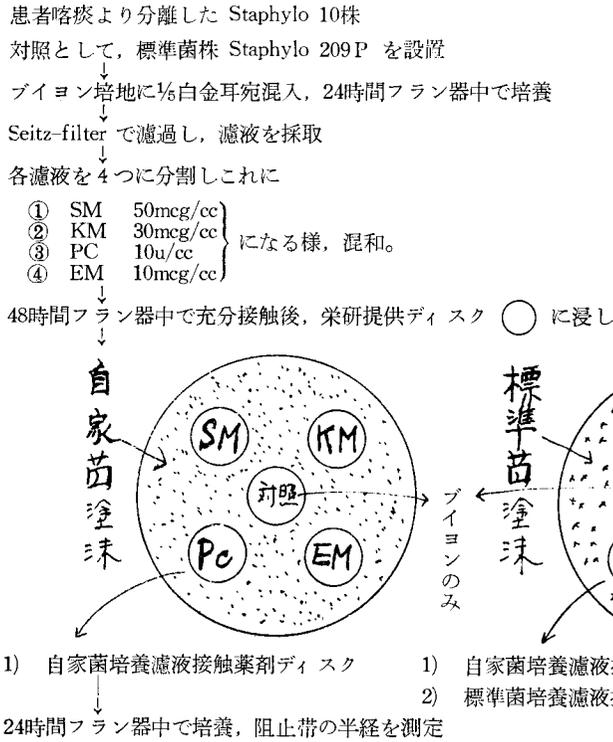


図3 栄研ディスク法と血清ディスク法の感受性検査の比較 (総計)

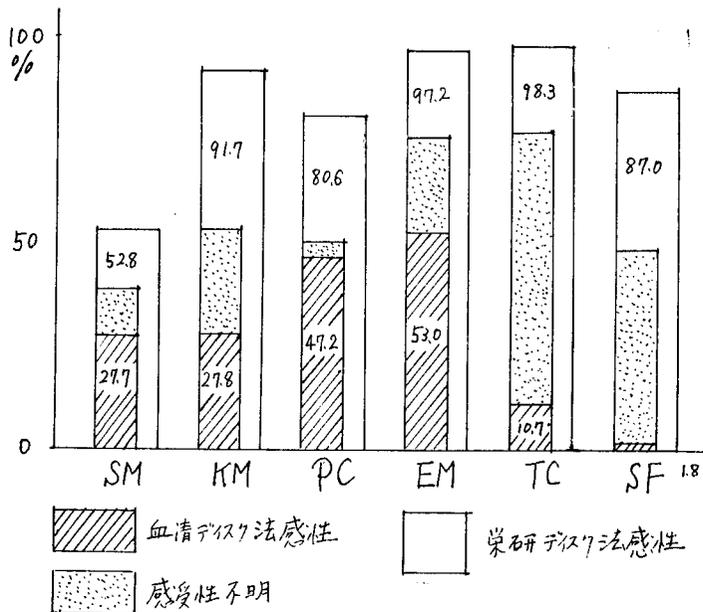


図 4 栄研ディスク法と血清ディスク法による Pneumo, Staphylo, Strept 及び Neisseria の感受性の比較

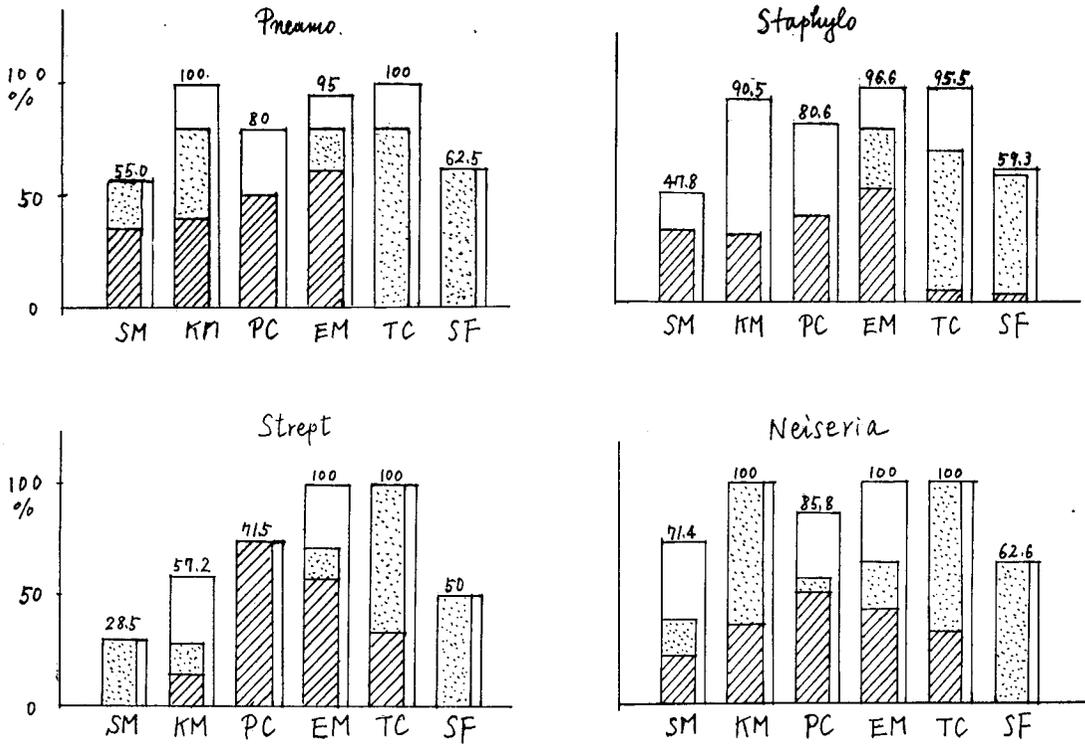


表 101 栄研ディスク法と血清ディスク法の感受性検査の成績

薬剤	患者略出菌	栄研ディスク法				血清ディスク法		
		高耐性	中耐性	低耐性	感性	耐性	感性	不明
		50mcg	10mcg	2mcg				
SM 48名	Pneumo 20例	4例	3例	2例	11例	9例	7例	4例
	Staphy 31	9	4	3	15	21	10	
48名	Strept 7	2	2	1	2	5		2
	Neiss 14	4			10	9	3	2
		30mcg	10mcg	5mcg				
KM 48名	Pneumo 20				20	4	8	8
	Staphy 31				28	22	9	
48名	Strep 7		2	1	4	5	1	1
	Neiss 14				14		2	9
		10u	2u	0.5u				
PC 48名	Pneumo 20	2		2	16	10	10	
	Staphy 31	1		4	25	18	12	1
48名	Strept 7		1	2	5	2	5	
	Neiss 14	1		1	12	6	7	1

表 102 栄研ディスク法と血清ディスク法の感受性検査の成績

薬 剤	患 者 略 出 菌	栄 研 デ ィ ス ク 法				血 清 デ ィ ス ク 法		
		高耐性	中耐性	低耐性	感 性	耐 性	感 性	不 明
		10mcg	2mcg	0.5mcg				
EM 48名	Pneumo	20		1	19	4	12	4
	Staphy	31		1	30	6	16	9
	Strept	7			7	2	4	1
	Neiss	14			14	5	6	3
			30mcg	10mcg	5mcg			
TC 38名	Pneumo	18			18	4		14
	Staphy	62		1	21	7	1	14
	Strept	3			3		1	2
	Neiss	13			13	2	4	7
			300mcg	150mcg	50mcg			
SF 28名	Pneumo	16	3	2	1	10	6	10
	Staphy	27	10	1		16	11	15
	Strept	6	1	1	1	3	3	3
	Neiss	8	1		2	5	3	5

表 2 栄研ディスク法感性例を血清ディスク法で分析した成績

		SM	KM	PC	EM	TC	SF	
① 自家, 標準菌共 阻止帯 (+)	Pneumo	4	4	10	12			感 性
	Staphylo	10	8	12	15	1		
	Strepto		1	5	4			
	Neisseria	3	2	7	6	3		
② 自家菌阻止帯(+) 標準菌 (-)	Pneumo	3	4					感 性 (38.0%)
	Staphylo		1		1		1	
	Strepto Neisseria					1		
③ 自家, 標準菌共 阻止帯 (-)	Pneumo	4	8		4	14	10	不 明 (37.6%)
	Staphylo			1	9	14	15	
	Strepto	2	1		1	2	3	
	Neisseria	2	9	1	3	7	5	
④ 自家菌阻止帯(-) 標準菌 (+)	Pneumo		4	6	5	4		耐 性 (24.4%)
	Staphylo	5	18	12	5	6		
	Strepto		2		1			
	Neisseria	5	3	4	4	2		

表 3 Staphylo 自家菌 ← } Staphylo 自家菌濾液加薬剤を作用させた場合
 Staphylo 標準菌 ← }
 (Staphyl. aureus 209P) (阻止帯半徑)

薬剂菌	濾液		SM 50mcg		KM 30mcg		PC 10u		EM 10mcg	
	自家菌 mm	標準菌 mm								
対照 (ブイヨン)	4	4.5	3.5	3.5	10	10	8	9		
標準菌株	4	4	5	4.5	10	10	6	6		
1 志佐株	4	4.5	0	4	9	9	8	6		
2 安丸株	4	5	0	3.5	10	9	8	7		
3 中田株	3	5	0	4	9	10	7	7.5		
4 菅原株	4	3.5	0	3.5	9	10	7	6		
5 奥野株	0	4	3.5	4.5	1	10	6	9		
6 中村株	0	4.5	4	4	0	10	5.5	6.5		
7 谷口株	5	5	5	5	0	10	6	7		
8 住吉株	0	7	4	5	3	10	7	7		
9 三国株	3	4	4	5	0	10	16	8		
10 村田株	2	4	4	4	10	11	11	9		
阻止帯陰性例	3例				4例				3例	

表 4 Pneumo 自家菌 ← } Pneumo 自家菌濾液加薬剤を作用させた場合
 Staphyl 標準菌 ← } (Staphyl. aureus 209P.)
 (阻止帯半徑)

薬剂菌	SM 50mcg		KM 30mcg		PC 10u.		EM 10mcg		PC 10u. 加熱		EM 10mcg 加熱	
	自家菌 mm	標準菌 mm	自家菌 mm	標準菌 mm	自家菌 mm	標準菌 mm	自家菌 mm	標準菌 mm	自家菌 mm	標準菌 mm	自家菌 mm	標準菌 mm
対照 (ブイヨン)	6	8	6	7	9	10	12	12	10	11	12	12
標準菌株	4	6	4	3	11	10	12	11	11	10	10	11
1 村田株	4	4	0	3	10	10	9	10	11	11	12	11
2 谷口株	6	5	3	5	0	6	12	12	5	6	12	12
3 山本株	0	3	1	4	0	9	12	10	3	10	13	13
4 梶本株	4	4	2	4	0	11	12	12	6	11	12	12
5 伊藤株	0	4	0	4.5	0	10	11	11	5	10	10	11
6 三国株	0	3.5	0	3	0	10	12	12	2	10	12	12
阻止帯陰性例	3例		3例		5例							

阻止帯を生じた。3) 濾液を加熱した例では、非加熱群で阻止帯の生じなかったもの5例が全例、標準菌の半分位の阻止帯を生じた。但し EM ではこの影響を殆んどうけないことを確めた。

Ⅴ 3 濃度栄研ディスク法による多剤耐性成績

表5に示す如く、1剤単独耐性例は72株中18株で25%、2剤耐性例が17株で23.6%、3剤耐性例が7株で9.7

%, 4剤耐性例1株で1.3%となった。

Ⅶ 血清ディスク法による多剤耐性成績

表6に示す如く栄研ディスク検査で1剤単独耐性72株中19株、26.3%、2剤耐性18株25%、3剤耐性14株19.4%、4剤耐性1株1.3%が血清ディスク法でも耐性を示すことがわかった。

表 5 栄研ディスク法による耐性検査成績

1 剤単独耐性		18株/72株 25.0%						
		SM	KM	PC	EM	TC	SF	
Staphylo	(31)	●●●●		●			●●	25.8%
Strepto	(7)	●						14.2%
Pneumo	(20)	●●●●		●●				25.0%
Neisseria	(14)	●●			●		●	28.5%
2 剤耐性		17株 23.6%						
		SM.PC	SM.EM	SM.KM	SM.SF	PC.SF	KM.SF	
Staphylo			●		●●		●	12.9%
Strepto		●●					●	42.8%
Pneumo		●●			●●●●	●	●	35.0%
Neisseria		●		●		●		21.4%
3 剤耐性		7株 9.7%						
		SM.KM.SF		SM.PC.SF				
Staphylo		●●●		●				12.9%
Strepto		●		●				28.5%
Pneumo				●				5.0%
Neisseria								
4 剤耐性		1株 1.3%						
		SM.PC.TC.SF						
Staphylo		●						3.2%

表 6 血清ディスク法による耐性検査成績

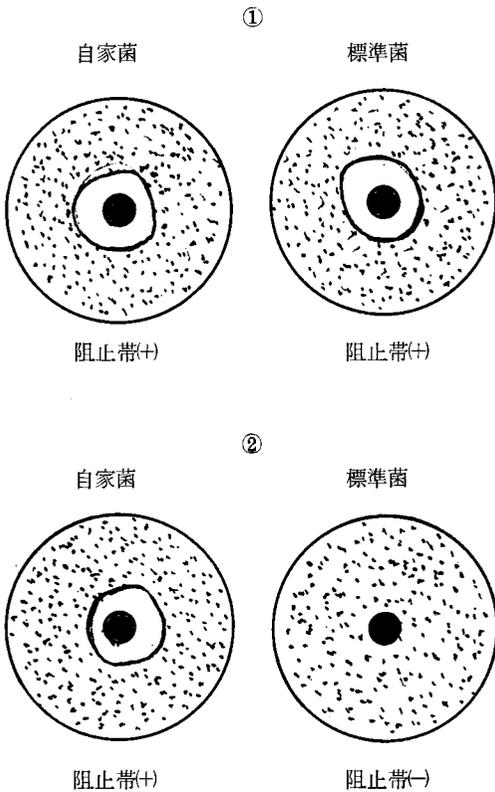
1 剤単独耐性		19株/72株 26.3%						
		SM	KM	PC	EM	TC	SF	
Staphylo	(31)	●	●	●●●●	●			22.5%
Strepto	(7)		●	●				28.5%
Pneumo	(20)	●	●	●●●●		●●		40.0%
Neisseria	(14)			●●				14.2%
2 剤耐性		18株 25.0%						
		SM.PC	SM.EM	SM.KM	PC.EM	KM.PC	KM.TC	
Staphylo		●●		●●●●		●●	●●	38.7%
Strepto				●				14.2%
Pneumo			●		●●●			20.0%
Neisseria		●						7.1%
3 剤耐性		14株 19.4%						
		SM.KM.PC		KM.PC.EM	SM.KM.EM		SM.KM.TC	
Staphylo		●●●●		●	●			
Strepto				●				
Pneumo		●						
Neisseria								
		PC.EM.TC	SM.PC.EM		KM.PC.TC		SM.PC.TC	
Staphylo							●	29.0%
Strepto								14.2%
Pneumo				●		●		15.0%
Neisseria		●						7.1%
4 剤耐性		1株 1.3%						
		SM.KM.PC.TC						
Staphylo		●						3.2%

考 按

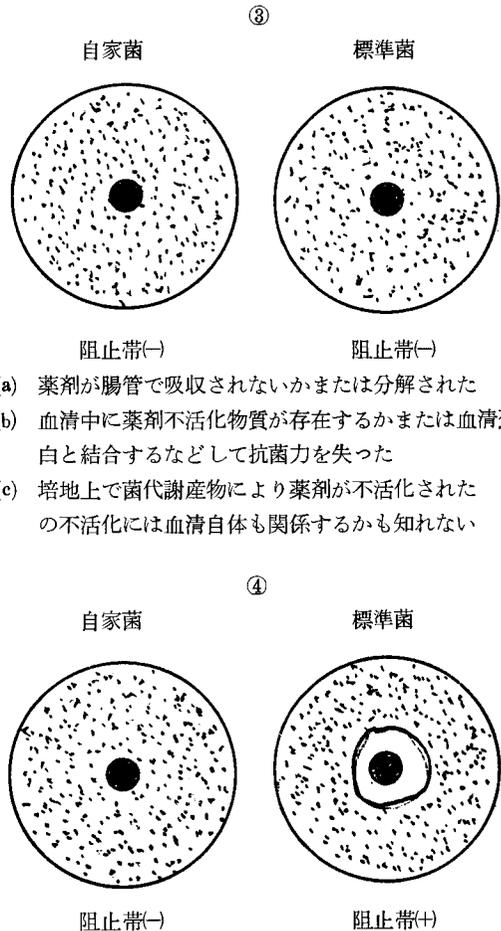
化学療法剤の選択は従来述べられている如く、Host-Drug-Parasite の関係に基いて考慮されるべきであることは言をまたないが、これら薬剤感受性試験も同様の関係に立脚して論ぜられるべきであろう。しかし現況をみると Drug-Parasite のみを検索し、Host 側因子の追究が殆んど考慮されていない。そこで実際に薬剤が生体内に取り入れられ更に血中に移行した状態で、患者自家菌に作用させると、従来3濃度ディスク法では感性和判定されていたものの中にはかなり多数の耐性例が含まれているように思われる。即ち榮研3濃度ディスク法で感性和例を血清ディスク法でみると図5に示した如く①、自家菌、

標準菌共に阻止帯(+)=感性和。3濃度ディスク法と一致、②自家菌に阻止帯生ずるも標準菌には生じないもの、これの要因は a) 標準菌に耐性が生じた? b) 標準菌より更に感受性の鋭敏な菌が存在する。c) 患者血清中に自家菌にのみ特異的に薬剤効果を高める因子が存在する d) 菌自体の薬剤に対する細胞透過性が亢進している。等が考えられた、③自家菌、標準菌共に阻止帯(-)感性和不明で原因として、a) 薬剤が腸管で吸収されないかまたは分解された。b) 血清中に薬剤不活化物質が存在するかまたは血清蛋白と結合して抗菌力を失った。c) 培地上で菌代謝産物等で不活化された。等が考えられる。④自家菌に阻止帯は生じないが標準菌には生ずる-耐性。a) 血清中に自家菌に対する時のみ薬剤に拮抗

図 5



- (a) 標準菌にある程度の耐性が生じている
- (b) 標準菌より更に感受性の鋭敏な菌の存在
- (c) 患者血清中に自家菌にのみ特異的に薬剤効果をたかめる因子が存在する
- (d) 菌自体の薬剤に対する細胞透過性が亢進している



- (a) 薬剤が腸管で吸収されないかまたは分解された
- (b) 血清中に薬剤不活化物質が存在するかまたは血清蛋白と結合するなどして抗菌力を失った
- (c) 培地上で菌代謝産物により薬剤が不活化された この不活化には血清自体も関係するかも知れない
- (a) 患者血清中に自家菌に対する時のみ薬剤に拮抗する因子が存在する
- (b) 菌自体の薬剤に対する細胞透過性が減退している

する因子が存在する。b) 菌自体の薬剤に対する細胞透過性が減退している等のことが考えられる。

次に患者排菌ブドウ球菌、肺炎双球菌の培養濾液中には、SM, KM, PC, 等の薬剤を不活化する因子があるように思われるが、その不活化はほんの小部分にすぎず、実際には自家菌に対する時のみ特異的に薬剤の効果を阻止する因子が大部分を占めているものと推定され、この因子は加熱によりある程度その作用が減少し、また薬剤に選択的であることも知られた。即ち標準菌株が同種であれ異種であれ標準菌に対しては阻止帯を生じたものが、現行の3濃度感受検査で感性的成績を得た感性菌に対して、必ずしも阻止帯を生じなかった事実は興味ある現象であり、このことはまた薬剤の耐性機構にも連なる問題を含み、しかもこれらの菌は全例が前記④のグループに属していることは益々その感を深めるものである。

次に多剤耐性についてみると、3剤耐性例が血清ディスク法でやや多い結果を得たが、他は両者ともほぼ同数であったが、内容を見ると栄研ディスク法で1剤耐性がSMに、2剤耐性はSM, SFに、また血清ディスク法では1剤耐性がPCに、2剤耐性がSM, KMに、3剤耐性はSM, KM, PCに比較的多いのは、両者共多少の差異はあっても肺結核の治療剤に対する耐性という点では当然といえよう。

結 論

結核症の気管支拡張症48名より分離したブドウ球菌引株、肺炎双球菌20株、連鎖球菌7株、ナイセリヤ14株につき、3濃度栄研ディスク法および血清ディスク法により、SM, KM, PC, EM, TC, SFの感受性を比較検討

し更に薬剤耐性状態についても検索した。

1) 血清ディスク法で感性的ものは栄研ディスク法でも感性的であるが、栄研ディスク法感性的例は必ずしも血清法で感性的とはならず、耐性的の結果を得たもの24.4%、不明が37.6%で残りの38%が感性的となった。

2) ブドウ球菌および肺炎双球菌培養濾液中に、SM, KM, PCを混ざると、上記の栄研ディスク法で感性的でありながら、血清法で耐性的の24.4%の菌株は、阻止帯を形成せず、PCが濾液加熱によりある程度の阻止帯を生じたことから、これら濾液中には自家菌に対してのみ特異的に薬剤効果を阻害する物質が存在し、他方菌自体も薬剤透過性が減少していると推定された。

3) Host側因子を加味した血清ディスク法による薬剤感受性は従来のDrug-Parasite側のみの検査より確実に妥当性を有する。

文 献

- 1) Hinshelwood, C.N. : Symp. Soc. Exp. Biol, **3**, 243 (1949.)
- 2) Sevag, M.G. : Advances in Enzymol. **6**, 33 (1946.)
- 3) Linz, R. : Ann. inst. Pasteur **78**, 105 (1950)
- 4) 秋葉朝一郎 : 医学の歩み. **13**, 250 (1952.)
- 5) Dermerec, M. : J. Bacteriol. **56**, 63 (1948.)
- 6) Davis, B. D : Bacterial and Mycotic Infections of men, edited by Dubos (J.B. Lippincott Co.), 3rd Ed. 654, (1958.)

摺筆するに当り本研究を指導下さった山田豊治教授、宮城行雄所長に深謝すると共に、発表の機会を与えられた会長高橋義夫教授に感謝する。