ANTI-PYOCYANEUS EFFECT OF VARIOUS CHEMOTTERAPEUTICS AND ANTIBIOTICS

By
R. KANZAKI

*From the Department of Oto-Rhino-Laryngology, Faculty of Medicine
University of Kumamoto (Director: Prof. Y. Nosaka)*

Anti-bacterial effect of various agents for pyocyanus bacilli was evaluated by test tube and disc method. The bacilli used were obtained from the cases with post-surgical infections following to radical operation of the middle ear and also those which had been preserved in the Department of Bacteriology. The bacilli were relatively sensitive to 3 to 5% solution of mercurochrome and hydrogen peroxide. Trypaflavin, rivanol and monafuracin were not effective even with high concentration. Among sulfas, homosulfamin was most effective and sulfathiazol, sulfaisomidin and sulfaisoxazol were much less effective. In antibiotics colistin and polymyxin B were most effective followed by streptomycin and chloramphenicol. The organisms were much more resistant to terramycin, aureomycin, penicillin and erythromycin.

緑膿菌に対する各種薬物の抗菌作用について

熊本大学医学部耳鼻咽喉科学教室 (主任: 野坂保次教授)

大学院学生 神 崎 龍 祐
カン サキ リウ ユウ

緒 言

緑膿菌は1892年 Gessard が始めて純培養に成功し、その特有色調によつて緑膿菌と命名したものである。以来その分類、凝集反応、「ピオチアナーゼ」等に関して幾多の研究がある。

又臨床的方面においても既に菌発見以前から創傷面における青緑色を帯びた膿汁は外科方面の注意をひいていたが、その当初においてはなん等創面治癒に害あるものではなく、むしろ創面の治癒に有意義とさえ考えられていた。併し細菌学的研究の進歩と共にその見解も変遷し、本来極めて弱いその病原性も亦種々の条件により個体組織の抵抗性減弱に乗じ旺盛となるとされ、この菌の感染は創傷治癒を著しく阻碍するものとして恐れられてきた。我々の領域においても耳介軟骨膜炎、慢性中耳炎、特に中耳根治手術後創に本菌の感染を見ると膿性分泌物多く、上皮化遅延し、病的肉芽増殖して乾燥治癒を遅らせ最悪の場合脳膜炎をも招来すると云われている。

更に近年に至り緑膿菌感染に対して交代菌現象なるものが大きな意義を持つことが判明した。即ち Penicillin の発見以来次々に広い有効スペクトルを持つ抗生物質の

使用が盛になるに従つて交代菌現象と云う問題が新に起きてきた。この交代菌現象を最も屢々起す菌として緑膿菌と真菌とが挙げられている。交代菌現象として緑膿菌感染増殖が見られるようになってから更に本菌についての認識を新にせねばならぬようになった。茲において私は緑膿菌感染の予防及び治療対策の見地から緑膿菌についての各種殺菌消毒剤、サルファ剤及び抗生物質の抗菌力を検討したのでその成績を報告し御批判を仰ぐ次第である。

実験方法及び実験成績

使用株

実験に用いた緑膿菌は中耳根治手術後約2週間目より緑膿菌の感染をきたした症例から分離した松本株と本学微生物学教室保存の株(以下保存株と略す)の2株である。これ等の株はいずれも普通寒天培地によく生え、青緑色の色素を産生し、フイーンを混濁し表面に被膜を作り褐色を帯びた沈澱を生じ、活潑な運動性を有する。又ゲラチン培地を著明に液化し、牛乳培地を凝固し黄緑色を呈するが、葡萄糖、乳糖を分解しない。

実験 I

予め培養した被験菌を 1mg/cc の菌浮遊液を作りそ

0.2cc と各種濃度の薬液 1.8cc とを混ぜ 5 分, 15 分, 30 分, 60 分と時間的差異を附してその混合液 0.2cc を普通寒天斜面培地に流し 37°C 24 時間孵卵器に入れ菌の発育状態を肉眼で判定した。その発育状態により強陽性 (卅), 陽性 (++) , 弱陽性 (+) 及び陰性 (-) の 4 段に分類した。なお対照として薬液の代りに 1.8cc の生理的食塩水を用いたが表には対照は省略した。

成 績

1. Oxydol においては表 1 の如き成績を得た。即ち 3% 30 分以上で松本株を, 3% 15 分以上で保存株の発育を阻止した。

2. Mercurochrom においては 3% 15 分以上, 5%

は全時間で松本株の発育を阻止し, 又保存株に対しては 2% 60 分で, 3%, 5% においては全時間で発育阻止が見られた。

3. Rivanol は表 3 の如き成績を得た。即ち 2% 30 分, 60 分においてのみ松本株の発育の阻止が見られ又保存株に対しては 2% で全時間において発育を阻止した。

4. Trypaflavin においては表 4 の如き成績を得た。即ち松本株に対しては 0.5% 15 分以上で発育阻止を, 保存株に対しては 0.2% 60 分で, 0.5% においては全時間で発育の阻止を見た。

5. Monafuracin においては表 5 の如き成績を得た。

表 1

薬 物		Oxydol			
		松 本 株		保 存 株	
		3%	1.5%	3%	1.5%
時 間	%				
5	分	+	卅	+	卅
15	分	+	卅	-	卅
30	分	-	++	-	++
60	分	-	++	-	++

表 2

薬 物		Mercurochrom							
		松 本 株				保 存 株			
		5%	3%	2%	1%	5%	3%	2%	1%
時 間	%								
5	分	-	+	++	++	-	-	+	++
15	分	-	-	+	++	-	-	+	++
30	分	-	-	+	++	-	-	+	+
60	分	-	-	+	+	-	-	-	+

表 3

薬 物		Rivanol									
		松 本 株					保 存 株				
		2%	1%	0.5%	0.2%	0.1%	2%	1%	0.5%	0.2%	0.1%
時 間	%										
5	分	+	++	++	++	++	-	++	++	++	++
15	分	+	++	++	++	++	-	+	++	++	++
30	分	-	++	++	++	++	-	+	++	++	++
60	分	-	+	++	++	++	-	+	++	++	++

表 4

薬 物		Trypaflavin											
		松 本 株						保 存 株					
		0.5%	0.2%	0.1%	0.05%	0.02%	0.01%	0.5%	0.2%	0.1%	0.05%	0.02%	0.01%
時 間	%												
5	分	+	+	++	++	++	++	-	+	++	++	++	++
15	分	-	+	++	++	++	++	-	+	++	++	++	++
30	分	-	+	++	++	++	++	-	+	+	++	++	++
60	分	-	+	++	++	++	++	-	-	+	++	++	++

表 5

薬 物		Monafuracin							
		松 本 株				保 存 株			
		0.1 %	0.05 %	0.02 %	0.01 %	0.1 %	0.05 %	0.02 %	0.01 %
時 間	%								
5	分	+	+	+	+	+	+	+	+
15	分	+	+	+	+	+	+	+	+
30	分	+	+	+	+	+	+	+	+
60	分	+	+	+	+	+	+	+	+

即ち実験に供した全濃度においても松本株、保存株に対する発育阻止は全く見られなかった。

6. Sulfathiazolum, Homosulfaminum においては表6の如き成績を得た。即ち Sulfathiazolum にお

いては実験に供した最高濃度10%でも松本株の発育阻止は見られなかった。併し保存株に対しては5%60分で、10%15分以上で発育の阻止を見た。又 Homosulfaminum においては5%60分、10%では全時間で松本株を阻止し、保存株に対しては5%15分以上、10%では全時間において発育を阻止した。

7. Sulfaisomidinum, Sulfaisoxazolum においては表7の如き成績を得た。即ち Sulfaisomidinum は松本株に対しては実験に供した濃度では発育阻止は全くなく、保存株に対しては10%30分、60分においてのみ発育を阻止した。Sulfaisoxazolum も松本株には発育阻止は全濃度においても見られなかったが、保存株に対しては10%15分以上で発育を阻止した。

表 6

薬 物		Sulfathiazolum								Homosulfaminum							
		松 本 株				保 存 株				松 本 株				保 存 株			
		10%	5%	2%	1%	10%	5%	2%	1%	10%	5%	2%	1%	10%	5%	2%	1%
時 間	%																
5	分	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
15	分	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+
30	分	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+
60	分	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+

表 7

薬 物		Sulfaisomidinum								Sulfaisoxazolum							
		松 本 株				保 存 株				松 本 株				保 存 株			
		10%	5%	2%	1%	10%	5%	2%	1%	10%	5%	2%	1%	10%	5%	2%	1%
時 間	%																
5	分	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	分	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
30	分	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
60	分	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+

実験 I

Disk-test による…Syowa sensivity disk (昭和薬品化工製) による。予め被検菌を塗抹した平板培地上に Disk を配列し 37°C 16 時間孵卵器に入れ、各 Disk の周辺に同心円状に発現する阻止環の大きさを Syowa-disk の標準曲線により判定した。表中の (+), (++) は抗菌性の強度を現わし、(-) は抗菌性の認められないものである。なお 1 Disk 当りの力価は Streptomycin (S.M.): 50mcg, Penicillin (P.C.): 200U, Aureomycin (A.M.): 50mcg, Terramycin (T.M.): 200mcg, Chloramphenicol (C.M.): 100mcg, Erythromycin (E.M.): 50mcg, Sulfaisomidinum (D): 400mcg, Sulfaisoxazolum (I): 400mcg である。

成 績

この実験においては表8の如く発育阻止環の認められたものは、S.M, C.M の2種で S.M に対する感受性

は著明であつた。これ等以外の各種 Disk に対しては菌糸のいずれにも阻止環の形成は全く認められなかつた。

表 8

薬物	S.M	P.C	A.M	T.M	C.M	E.M	D	I
松本株	++	-	-	-	+	-	-	-
保存株	++	-	-	-	++	-	-	-

実験 III

サルファ剤及び抗生物質の各種系系列を作りその抗菌力を検べた。即ち種々の濃度のサルファ剤及び抗生物質を含ませた pH 7.0 の斜面寒天培地に、予め培養した被検菌 1mg/cc の菌液 0.2cc づつ斜面培地に流し 37°C 24 時間孵卵器内で培養し菌の発育を肉眼で判定した。強陽性(++)、陽性(++), 弱陽性(+)及び陰性(-)の4段に分類した。なお表中の 1: 1000mcg/cc, 2: 500mcg/cc, 3: 250mcg/cc, 4: 100mcg/cc, 5: 50mcg/cc, 6: 25mcg/cc, 7: 10mcg/cc, 8: 5mcg/cc, K: Kontrast である。

成績

1. Sulfathiazolum, Sulfaisomidinum, Sulfaisoxazolum, Homosulfaminum においては表 9 に示す成績を得た。即ち Sulfathiazolum は松本株に対しては 1000mcg/cc でも発育阻止はなかつたが、保存株に 500mcg/cc 以上で阻止を見た。Sulfaisomidinum, Sulfaisoxazolum においてはいずれの濃度でも同株の

表 9

薬物	S.T		S.D		S.I		H.S	
	松本株	保存株	松本株	保存株	松本株	保存株	松本株	保存株
1	+	-	+	+	+	+	-	-
2	+	-	+	+	+	+	-	-
3	+	+	++	++	+	+	+	-
4	++	+	++	++	++	+	+	+
5	++	++	++	++	++	++	+	++
6	++	++	++	++	++	++	++	++
7	++	++	++	++	++	++	++	++
8	++	++	++	++	++	++	++	++
K	++	++	++	++	++	++	++	++

S.T=Sulfathiazolum
S.D=Sulfaisomidinum
S.I=Sulfaisoxazolum
H.S=Homosulfaminum

発育阻止は見られなかつた。Homosulfaminum では 500mcg/cc 以上で松本株を、250mcg/cc 以上で保存株を阻止した。

2. Streptomycin, Penicillin, Erythromycin.

Aureomycin においては表 10 に示す成績を得た。即ち Streptomycin では 100mcg/cc 以上で松本株の、50mcg/cc 以上で保存株の発育阻止を見た。Penicillin, Erythromycin はいずれの濃度でも同株の発育阻止は全く見られなかつた。Aureomycin は松本株に対しては発育阻止は見られなかつたが 1000mcg/cc で保存株

表 10

薬物	S.M		P.C		E.M		A.M	
	松本株	保存株	松本株	保存株	松本株	保存株	松本株	保存株
1	-	-	++	++	+	+	+	-
2	-	-	++	++	+	+	+	+
3	-	-	++	++	+	+	+	+
4	-	-	++	++	++	++	+	+
5	+	-	++	++	++	++	++	+
6	+	+	++	++	++	++	++	+
7	+	+	++	++	++	++	++	++
8	++	+	++	++	++	++	++	++
K	++	++	++	++	++	++	++	++

S.M=Streptomycin
P.C=Penicillin
E.M=Erythromycin
A.M=Aureomycin

表 11

薬物	T.M		C.M		C.L		P.L	
	松本株	保存株	松本株	保存株	松本株	保存株	松本株	保存株
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	+	+	-	-	-	-	-	-
3	+	+	+	-	-	-	-	-
4	+	+	+	-	-	-	-	-
5	+	+	+	+	-	-	-	-
6	++	+	+	+	-	-	-	-
7	++	++	+	+	+	-	-	-
8	++	++	++	++	+	+	+	+
K	++	++	++	++	++	++	++	++

T.M=Terramycin
C.M=Chloramphenicol
C.L=Colistin
P.L=Polymyxin B

は阻止された。

3. Terramycin, Chloramphenicol, Colistin, Polymyxin B においては表11の如き成績を得た。即ち Terramycin は 1000mcg/cc において同株の発育阻止を見た。Chloramphenicol においては 500mcg/cc 以上では松本株を、100mcg/cc 以上で保存株を阻止した。Colistin は 25mcg/cc 以上で松本株を、10mcg/cc 以上で保存株を阻止し、Polymyxin B は松本株、保存株の同株共 10mcg/cc 以上で完全な発育阻止が見られた。

考按並に総括

本菌並にその感染創治療に関しては古くより多くの研究者が多量多様の報告をなしている。

殺菌消毒剤について後藤は Jodiloid, Presojod の沃度剤が卓効あり、Trypaflavin, Mercurochrom 等の色素剤も相当効果が在るが併し Rivanol は遙に劣っている。磯野は Rivanol 0.812%, Mercurochrom 0.603%, Furacin 0.0624% をもつて緑膿菌に対する殺菌濃度としている。白岩は慢性中耳炎患者の緑膿菌感染に Monafuracin の粉末を用いて効果ありとしている。一方飯塚・石川等は硝酸水、硫酸重土水、Rivanol, Trypaflavin は全く無効としている。私は臨床上に使用されているところの薬物を主として選り Oxydol, Mercurochrom, Rivanol, Trypaflavin, Monafuracin について検べた。Mercurochrom, Oxydol が比較的発育阻止を示したのに対し、Trypaflavin, Rivanol は相当高濃度では発育阻止が見られたが普通耳鼻科領域で使用される濃度即ち 0.025%~0.2% の範囲内では発育阻止は示さなかつた。松村は患者より分離した緑膿菌の9株について検べ0.5% Rivanol では5分で9株中2株、30分で5株、1時間で7株に対して発育阻止を見ている。Trypaflavin については1.0%5分では9株とも発育阻止はなく、30分で4株、1時間で6株に対して発育阻止を、又 Mercurochrom については1%5分で9株とも発育阻止なく、30分で1株、1時間で4株の発育阻止を認めている。Mercurochrom についてはいずれの研究者もその発育阻止力を認めているが比較的低濃度においてであり、私の実験では Mercurochrom が発育阻止が顕著なことには一致するが比較的高濃度即ち3%~5%位の濃度においてであった。Oxydol も3%で比較的発育阻止を見たが、その臨床使用に当つては新鮮な酸化力の軽減していないものであることを必要とする事勿論である。Monafuracin については相当高濃度で

も発育阻止作用は全く見られなかつた。

サルファ剤では Ersner & Alexander は Sulfasoxazolum 系の Gantrisin を、又飯塚・石川等は Sulfazin と Homosulfaminum が有効としている。荒井は緑膿菌耳介軟骨膜炎にネオボレオン (4-aminobenzolsulfonamide) を使用して膿形を残さず全治せしめ得たとし、立木は殊に根治手術後緑膿菌感染又はその疑いある時サルファ剤散布を行つて著効ありとしている。井田は Homosulfaminum 0.62~1.25mg/cc で Sulfaisomidinum 系の Domian-Na 10~20mg/cc において、又 Sulfasoxazolum 系の Thiasin においては 10mg/cc で発育阻止作用を認めたとしている。私の成績では実験I及びIIより Homosulfaminum が最も有効であつた。この点では井田の結果と全く一致した。併し発育阻止濃度は井田のそれよりやや低値をとつた。五十嵐は Tablet 法にて Chloramphenicol, Streptomycin について Sulfathiazolum を挙げてゐるが、私の実験でもある程度発育阻止を見たが Homosulfaminum には劣つてゐた。更に Sulfaisomidinum Sulfasoxazolum は遙かに劣つてゐた。従来のサルファ剤がパラアミノ安息香酸及びこれに類似の物質が前面の膜及び膜死組織中に存在しこれらの物質により拮抗作用を受けるため効力減弱することが最近明らかになったが、Homosulfaminum は(他のサルファ剤が $-NH_2$ が直接 Benzen 核に結合しているが Homosulfaminum では $-NH_2$ が $-CH_2$ を介して Benzen 核に結合している点の特異である)特性としてパラアミノ安息香酸に拮抗されない。又水溶性であり局所使用に適する事からしても Homosulfaminum が一般と緑膿菌感染治療に有力と思われる。

抗生物質では Ellard, M. Yow によれば Polymyxin B が最も有効で Neomycin, Terramycin, Streptomycin, Aureomycin, Chloramphenicol の順で有効であるとしている。Ersner & Alexander はサルファ剤の Gantrisin と共に Polymyxin B を高く評価している。三辺は Polymyxin B あるいは Colistin 次に Neomycin, Terramycin, Streptomycin の順に抗菌力を有すると報告し、Tablet 法により Chloramphenicol, Terramycin 次いで Streptomycin, Aureomycin に発育阻止環の形成を見ている。更に三辺は Streptomycin 12.5r, Chloramphenicol 6.25r, Aureomycin 25r, Colistin 3.12r で発育阻止を見ている。相磯は Aureomycin 100r/cc, Chloramphenicol >100

7/cc, Streptomycin > 100r/cc としている。五十嵐は Tablet & Disk 法では Chloramphenicol, Streptomycin に対しては感受性高く、以下 Sulfathiazolum, Terramycin, Aureomycin が有効で Penicillin, Ilo-tycin は全く無効の成績を得ている。又綿糸糸列法では Chloramphenicol, Streptomycin は 250~1000mcg/cc とし, Colistin, Polymyxin B にあつてはそれより低く 100mcg/cc としている。私の実験では Polymyxin B 及びこれに非常に近い関係にあると考えられている Colistin が阻止濃度 10~25mcg/cc で最も有効であることは三辺、五十嵐のそれと全く一致した。併し五十嵐の 100mcg/cc の阻止濃度よりは低く、三辺の阻止濃度よりは高かった。五大抗生物質の中では Streptomycin, Chloramphenicol がこれに続いていた。Terramycin, Aureomycin については Ellard, M. Yow, 三辺、相磯は相当感受性を認めているが私の場合それ程でもなかった。この点は五十嵐のそれと同じであった。Erythromycin, Penicillin については全く阻止力は示さなかった。

結 論

緑膿菌に対する各種殺菌消毒剤、サルファ剤及び抗生物質の抗菌力を試験管内実験及び Disk-test により追求し次の成績を得た。

1. 殺菌消毒剤では 3%~5% 程度の Mercuriochrom において有効であり、又 3% の Oxydol も比較的有効であつた。

2. サルファ剤では Homosulfaminum が最も有効で、Sulfathiazolum がこれにつぎ Sulfasomidinum,

Sulfaisoxazolum は遙かに劣つていた。

3. 抗生物質では Polymyxin B, Colistin が最も有効で、Streptomycin, Chloramphenicol がこれにつぎ、Terramycin, Aureomycin, Penicillin, Erythromycin は遙かに劣つていた。

主要文献

- 1) 後藤末男: 耳鼻, 40 巻 5 号.
- 2) 松村正澄: 耳鼻, 36 巻 8 号, 10 号.
- 3) 大沢林之助: 総合医学, 8 巻 15 号.
- 4) 相磯和嘉: 診断と治療, 38 巻 12 号.
- 5) 白岩俊雄: 診断と治療, 38 巻 3 号.
- 6) 三辺武右衛門: 診断と治療, 43 巻 12 号.
- 7) 立木豊: 医学, 4 巻 5 号.
- 8) 後藤光治: 医学, 11 巻 2 号.
- 9) 井田智子: 福島医学, 4 巻 6 号.
- 10) 渡田良司: 熊本医学, 29 巻 2 号.
- 11) 飯塚栄一, 石川元一: 十全医学, 55 巻 5 号.
- 12) 磯野節: 新潟医学, 65 年 12 号.
- 13) 五十嵐真: 耳鼻咽, 29 巻 10 号.
- 14) L. Weinstein: Am. J. Med. Sci. 214: 56, 1947.
- 15) Ellard, M. Yow: J.A.M.A. 149: 1184, 1952.
- 16) Erner, Alexander: Coates, Schenk, Miller, Otolaryngology Chapter 10, 99, 1, 1957.

(稿を終るに臨み御懇篤なる御指導、御校閲を賜つた恩師野坂教授並に御助言を戴いた微生物学教室木場博士に深謝する。)

(原稿到着=昭和 33.4.23 日)