皮膚病巣の細菌叢及び病原性ブドウ球菌の薬剤感受性に関する研究

Studies on the Bacterial Flora of Skin Lesions and the Drug
Sensitivity of Pathogenic Staphylococci.勝屋次郎* 丸山平次* 渡辺善美*
Jiro KATSUYA,* Heiji, MARUYAMA* Yoshimi WATANABE*枝了** 大平堅一**
Satoru EDA** Kenichi OOHIRA**

緒 言

1928年 Fleming により Penicillin が発見されてから、各種抗生物質の研究は著しい発展を遂げ、ついに化学療法剤として華々しい地位を占めるに至った。しかし抗生物質の発展に伴い、抗生剤耐性菌の出現もみるに至って、病原性細菌の薬剤耐性検査は重要な意義をもつこととなった。凡ゆる細菌は薬剤に対し多少なりとも耐性を獲得するが、中でも結核菌、赤痢菌、ブドウ球菌の耐性獲得は臨牀上極めて重大な問題である。病院ブドウ球菌 (Hospital Staphylococci) ¹⁻⁵⁾ として注目を浴びている耐性ブドウ球菌は、大量の抗生剤使用と病院内交叉感染 (Cross Infection) 等により、近年著しく増加の傾向にある。私共はこれらブドウ球菌の実態の一部を明らかにするため、昭和32年10月以降約2カ年にわたり各種皮膚疾患の細菌叢を検査し、分離したブドウ球菌について生物学的性状、薬剤耐性、ファージ・タイピングを行つたので、その成績を報告したい。これらの成績の一部は既に報告したが (日皮会誌, 68: 528, 昭33), その後の実験と比較検討を行つたので、その成績について報告し、御批判を仰ぐ次第である。

検査材料及び検査法

a) 検査材料

昭和32年10月より34年6月までの間に、自衛隊中央病院皮膚科外来を訪れた患者の各種皮膚病巣から試料を採取し、研究の対象とした。検査人員は450名で、採取した菌株数は537株であつた (表1)。検査期間は表1に示す如く、3期にわけて行つたので各期を夫々 A, B, C 群とし、各期の成績の比較検討を行つた。期間中に分離した菌株は表3に示したが、採取した病原性ブドウ球菌の数は219株であり、主としてこれらの菌につき

表 1

期 間	検査人員	陽性数	陰性数	採取菌株数
A (32,11,1~33, 2,28)	223	203	20	223
B (32,10,1~33,12,31)	114	101	13	125
C (34, 2,1~34, 6.30)	113	105	8	189
計	450	409	41	537

各種の検査を行つた。

b) 菌の分離法

各種皮膚病巣を滅菌せる綿棒で擦過し、これを血液寒天及びマンニット食塩培地に塗抹し、又他の綿棒を Brain Heart Infusion Broth 中に入れ、37°C, 18時間の培養を行つた。培養終了後血液寒天及びマンニット食塩寒天より孤立の集落を釣菌して純培養を行い、Broth 中の菌は再びこれを血液寒天平板に拡げ、孤立した集落を同様に釣菌、純培養をえて実験を行つた。

c) 生物学的性状

(1) 色素産生能は牛乳寒天培地⁶⁾に37°C, 24時間培養を行い、7日間室温に放置して色素産生の有無を検した。

(2) コアグラゼ産生能⁷⁾は、血液銀行の保存血から血漿を分離し、その0.5mlに1白金耳の菌を接種し、37°Cに2時間、4時間、18時間放置して観察を行い、凝固を認めたものを陽性とした。

(3) 溶血能は血液銀行の保存血液を5%加えた血液寒天平板を作製し、これに菌を塗抹培養して24時間後に溶血を認めたものを陽性とした。又B群の菌株に対しては、家兎血球を用いてα-溶血素産生能を測定した。

(4) マンニット分解能は、マンニットを0.5%に加えた Phenol Red Agar⁸⁾に菌の穿刺培養を行い、37°C, 7日間培養して糖分解の有無を判定した。

(5) ゲラケン液化能はゲラケン高層培地に菌の穿刺培養を行い、37°C, 7日間培養後液化の有無を調べた。

*順天堂大学医学部細菌学教室

**自衛隊中央病院

1960年8月20日受付

(6) フィブリノリジン産生能は Lack⁹⁾ の法により検査を行った。即ち 56°C, 20 分間加熱した血漿を 12% の割に普通寒天に混じて平板をつくり、被検菌を塗抹して 37°C, 24 時間培養し、集落の周囲に透明帯をつくつたものを陽性とした。

試験菌株の同定にあたっては、Bergey の Manual of Determinative Bacteriology (7 版) に従い分類した。

d) 各種抗生剤に対する感受性の測定

使用した抗生物質は Penicillin (PC), Erythromycin (EM), Streptomycin (SM), Tetracycline (ACM), Chlortetracycline (AM), Oxytetracycline (TM), Chloramphenicol (CM) の 7 種で、感受性測定法は Burton 等¹⁰⁾ の試験管稀釈法に準じて行った。即ち Nutrient Broth に使用前 1/10 量抗生剤を添加して所要の濃度とし、18 時間培養の菌液を一白金耳 (菌数約 16⁶⁾ 加えて 37°C, 18 時間培養を行い、肉眼で菌の増殖を認めたものを耐性とした。各種抗生剤の使用濃度は表 2 に示した。使用した抗生剤は、PC は標準ペニシリン G ナトリウム (国立予防衛生研究所), SM は明治, CM は藤沢, AM 及び TM は Pfizer, ACM は Lederle, EM は Lilly の製品である。

表 2 抗生物質感受性試験使用濃度

PC	SM	EM	CM	AM	TM	ACM
1u	5mcg	5mcg	5mcg	5mcg	5mcg	5mcg
10u	10mcg	10mcg	10mcg	10mcg	10mcg	10mcg

e) ファージ型別法

ファージ型別に使用したブドウ球菌型別ファージ及び増殖用菌株は、国立予防衛生研究所から分与をうけた NCTC (National Collection of Type Culture) 21 株で下記のとおりである。

Group I 29, 52A, 52, 79, 80

Group II 3A, 3B, 3C, 55, 71

Group III 6, 7, 42E, 53, 54, 70, 73, 75, 77

Group IV 42D

ファージ型別の手技は Williams & Rippon¹¹⁾ の法及び Staphylococcus Reference Laboratory^{12) 13)} の記載に従った。使用した型別培地は Nutrient Agar (Difco) である。

実験成績

1) 皮膚病巣の細菌叢について

450 名の患者から分離した 537 株の菌同定結果は表 3

表 3 各期における皮膚病巣の細菌叢

期 間	A	B	C	計	
St. aureus	90 (40%)	66 (53%)	63 (33.5%)	219 (41%)	92.5%
St. epidermidis	96 (43)	37 (29)	86 (45)	219 (41)	
Micrococcus	10 (5)	14 (11)	23 (12)	47 (8.5)	
Streptococcus	6 (3)		3 (2)	9 (2)	
Gram+ve Rod	20 (8.5)	7 (6)	13 (7)	40	7%
Gram-ve Rod	1 (0.5)		1 (0.5)	2	0.4%
Candida		1 (1)		1	0.1%
計	223株	125株	189株	537株	

の如くである。

グラム陽性球菌は 92.5%, グラム陽性桿菌は 7% であつて、コアグラセ陽性ブドウ球菌は 41%, β -溶連菌が 2% であつた。又各期における細菌叢の著しい変動は見られなかつたが、各期を通じて約 80% の菌がブドウ球菌であつたことは、化膿性皮膚疾患に限らず、一般に皮膚病変部においてはブドウ球菌の存在を無視することができないことを示している。多数例において 1 種類の菌が殆ど純培養の状態で検出されたが、約 16% では 2 種以上の菌が混在していた。表 4 において 2 種以上の菌

表 4 皮膚病巣の細菌叢

菌 名	組合せ No.								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
St. aureus	○	○	○	○	○				
St. epidermidis	○	○				○	○	○	○
Micrococcus					○	○	○		
Streptococcus				○					○
gram+ve rod		○	○				○	○	
症 例 数	20	2	5	4	6	15	2	17	3

が混在した症例の組合せ及びその症例数を示したが、*St. aureus* 及び *St. epidermidis* の組合せの症例が最も多く、次いで *St. epidermidis* とグラム陽性桿菌の組合せであつた。

試料を採取した患者の皮膚疾患の種類は、癰、白癬、湿疹、手術創、尋常性瘡癤の順に多く（表5）、41名（8%）は菌培養陰性であつた。又患者14名の健康皮膚面より分離した菌は *St. epidermidis* とグラム陽性桿菌が大部（78%）を占め、コアグララーゼ陽性ブドウ球菌は2例（14%）のみに見出された。

2) 生物学的性状について

コアグララーゼ陽性ブドウ球菌とコアグララーゼ陰性ブドウ球菌間における生物学的性状には明瞭なる差異が認められた（表6）。これら諸性状の中、マンニット分解能は *St. aureus* の98%に対し、*St. epidermidis* は43%であり、Bergey の分類に示す如く、著明な差があり、分類の根拠となり得ることを認めた。しかしコアグララーゼ陽性、マンニット非分解株2%、コアグララーゼ陰性、マンニット分解株が43%も存在することは分類に考慮を要するところである。又コアグララーゼ、 α -溶血素、ヒ

表5 皮膚疾患の種類

疾 患 名	例 数	百 分 率
癰	63	14%
白 癬	56	12
湿 疹	51	11
手 術 創	49	11
尋 常 性 瘡 癤	45	10
火 傷	22	5
毛 囊 炎	17	4
潰 瘍	13	3
膿 瘍	13	3
そ の 他	131	27
計	450	100%

アルロニダーゼ等と共に病原性に関係が深いといわれる。フィブリノリジンは、*St. epidermidis* の23%に対して、*St. aureus* は90%を示し、コアグララーゼ陽性病原性株と極めて関係の深いことを示している。色素産生能は *St. aureus* において80%であり、残り20%は Bergey 6版の分類では *St. albus* に同定されるべきもので

表6 *Staphylococcus* の生物学的性状

期 間	<i>St. aureus</i>				<i>St. epidermidis</i>			
	A	B	C	計	A	B	C	計
溶 血	90%	100%	100%	97%	64%	57%	79%	67%
マンニット分解	93	100	100	98	25	54	50	43
ゲラチン液化	90	94	100	95	76	78	74	76
色素生産	61	92	87	80	4	16	0	6
コアグララーゼ生産	100	100	100	100	0	0	0	0
フィブリノリジン生産	92	90	89	90	7	32	31	23
食塩抵抗性	92	100	100	97	15	84	81	60

表7 疾患別 *St. aureus* の生物学的性状

疾患名	癰	白癬	湿疹	手術創	尋常性瘡癤	火傷
総 株 数	55	28	21	11	8	4
色素産生	95%	57%	71%	64%	88%	25%
コアグララーゼ	100	100	100	100	100	100
マンニット分解	100	96	100	82	100	100
ゼラチン液化	100	96	95	91	100	100
溶 血	100	100	100	82	100	75
食塩抵抗性	100	100	100	91	100	75
フィブリノリジン	96	93	90	91	75	75

あり、色素産生能を失つた変異株がかなり高率に存在することになる。又疾患別に採取した *St. aureus* の生物学的性状を観察すると、最も大きな相異は色素産生能であつて、癰の95%の産生率に対して、白癬57%、手術創64%を示した（表7）。

3) ファージ型別について

B群63株（コアグララーゼ陽性）についてファージ型別を行つた（表8, 9）。型別可能株が28.5%であつたことは、従来の成績に比し著しく低い。試験菌株数が少ないため明確な傾向を知るには不十分であつた。又型別可能株の Phage Pattern は、Ⅰ群14株（77%）、Ⅱ群2株（11%）、Ⅲ群1株（6%）、混合群1株（6%）であり、

表 8

試験株数	型別可能	型別不能
63	18 28.5%	45 61.0%

表 9 Phage Pattern

Phage Group	Phage Pattern	Number
Group I	80	11
	29	1
	29/80	2
Group II	3C/55	1
	55	1
Group III	73	1
Group IV	0	0
	7/29/80	1

表 10 Phage 型別と抗生剤耐性

	I 群	II 群	III 群	混合群
PC	14/14 100%	2/2	1/1	1/1
SM	5/14 35%	0/2	1/1	1/1
EM	3/14 21%	0/2	0/1	0/1
CM	8/14 57%	1/2	0/1	1/1
AM	12/14 85%	2/2	0/1	1/1
TM	13/14 92%	2/2	1/1	1/1
ACM	12/14 85%	2/2	0/1	1/1

表 11 Phage Pattern と疾患の関係

Phage Pattern	疾患名						計
	皮膚炎	毛嚢炎	癰	尋常性瘡癤	頑癬		
I 群	80	1	2	8		11	14
	29	1				1	
	29/80		1		1	2	
II 群	3c/55			1		1	2
	55		1			1	
III 群	73		1			1	1
混合群	7/29/80			1		1	1
計		2	3	11	1	1	18

I 群中 Type 80 が 11 株 (61%) であった (表 9)。

ファージ型と耐性との関係は、I 群においては PC

耐性 100%, Tetracycline 系が 85~90%, CM 57%, SM 35% で, EM が最も低く 21% であった (表 10)。又例数が少ないので各群の比較は行わなかった。従来 III 群では抗生剤耐性株が多いことが知られているが, ファージ 80 (I 型) においても抗生剤耐性株が多く, 最も耐性の低い抗生剤は EM であった。ファージ型と疾患の関係は表 11 の如く, I 群中ファージ型 80 は癰に最も多く検出され, 又ファージ 80 によつて溶菌されるものは 10 株で約 56% を占めるのが特異であつた。

ファージ型と PC 発育阻止濃度, α -溶血素価 との関係は表 12 の如く, I 群ファージに属する菌株がすべて PC 100mcg 以上耐性である点が特異であつたが, α -溶血素との間には何の関係も見出し得なかつた。

表 12 Phage Pattern と PC 発育阻止濃度, α -溶血素価の関係

菌株番号	Phage Group	Phage pattern	疾患名	PC 発育阻止濃度	α -溶血素価
19	I	80	皮膚炎	>1000mcg	256
21	I	80	毛嚢炎	>1000	2048
22	I	80	癰	>1000	64
24	I	80	癰	>1000	1024
26	I	80	毛嚢炎	>1000	2048
27	II	3C/55	尋常性瘡癤	250	2048
36	I	80	癰	>1000	64
46	I	80	癰	>1000	2048
52	I	29	皮膚炎	>1000	512
64	II	55	癰	>1000	1024
75	I	29/80	癰	>1000	2048
84	I	80	癰	>1000	32
96	I	80	癰	>1000	512
101	I, III	7/29/80	癰	125	1
107	I	80	癰	>1000	512
109	I	29/80	頑癬	>1000	512
110	I	80	癰	>1000	1024
112	III	73	毛嚢炎	125	16

4) 抗生物質感受性について

各種抗生物質に対する感受性は, A, B, C 各期の平均値を比較すると, *St. aureus* と *St. epidermidis* の間で大差を認めなかつた。又 *St. aureus* の各種抗生剤に対する感受性は, PC 耐性株 86% が最も高率であつて, 以下 PC>TM>AM>CM>ACM>EM>SM の順であつた。

私共は耐性境界濃度を PC 1u, SM 10mcg, EM 5mcg, CM 10mcg, AM 5mcg, TM 5mcg, ACM 5mcg と定めたが, この基準に基づき *St. aureus* 並びに *St. ep-*

表 13 各種抗生剤に対する耐性

		St. aureus				St. epidermidis			
		A	B	C	平均	A	B	C	平均
PC	1u	74	90	95	86	67	82	98	82
	10u	56	81	85	74	29	78	62	56
SM	5mcg	25	42	19	28	33	29	25	29
	10mcg	11	17	6	11	15	12	13	13
EM	5mcg	16	56	10	27	15	44	20	26
	10mcg	6	18	3	9	13	24	4	14
CM	5mcg	53	76	88	72	74	58	64	65
	10mcg	34	34	38	34	57	38	28	41
AM	5mcg	9	59	82	52	28	50	71	50
	10mcg	7	32	32	24	28	24	34	29
TM	5mcg	24	95	44	54	54	97	57	69
	10mcg	13	42	25	27	52	44	34	43
ACM	5mcg	13	53	26	31	54	47	39	46
	10mcg	9	40	23	24	50	35	28	38

idermidis の抗生剤に対する耐性出現率を調べると、先にのべた如く PC 耐性菌が最も多く、SM 耐性菌が最少であつた (図 1)。又各抗生剤毎に A, B, C 各期の耐性菌出現の推移を示すと図 2 の如く、PC, AM においては、耐性菌の増加が著明であつて、SM, EM, TM, ACM においては、B 群において耐性菌株が増加し、次で C 群において再び減少がみられた。CM においては、5mg 耐性株の著明な増加をみるにも拘らず、10mg においては殆ど減少を示さず、耐性発生率は最も少かつた。又各群を通じて所謂中間耐性株の多いのは PC であつて、耐性獲得の一因として注目すべきところである。

図 1 各種抗生剤に対する耐性株百分率

図 2 各種抗生物質に対する耐性 (St. aureus)

総括並びに考察

1) 病原性ブドウ球菌の Penicillin に対する感受性

Rammelkamp (1942) 等¹⁴⁾ はブドウ球菌の PC 感受性を検査し、0.02~0.08u/ml 感受性菌が最も多いと報告したが、その後 PC の大量使用等によつて PC に対する耐性は逐次上昇し、最近においては 1u/ml 耐性菌が 70~80% を占めるという報告さえある。即ち Finland (1959)¹⁵⁾ は 1.6mcg 耐性菌 80%, Spink (1955)¹⁶⁾ は 3mcg 耐性菌 88%, 児島 (1959)¹⁷⁾ は 3.1u 耐性菌 73.9%, 伊賀 (1959)¹⁸⁾ は耐性菌 72.7% を報告している。PC 耐性限界濃度については各報告者によつて異なり、更に検査方法も一定していないので、その成績を厳密に比較することは困難であるが、耐性ブドウ球菌の著しい増加は欧米においても我国においても明かな事実である。

1950 年から 1959 年に至る内外の報告の一部をまとめると表 14 の通りである。即ち欧米においては、Kirby (1951) 73%, Eisenberg (1953) 72.6%, Finland (1953) 73%, Spink (1953) 85%, Waisbren (1958) 74%, Finland (1959) 80% であつて、概ね PC 耐性菌は 70~80% であつた。一方我国においては、関根 (1955) 45.4%, 惟子 (1957) 86.2%, 永井 (1958) 77%, 中山 (1956) 68%, 伊賀 (1959) 72.7% であつて、最近における PC 耐性菌は欧米における報告と同様高率を示している。私共の分離したブドウ球菌の PC 耐性株は、A 群 74%, B 群 90%, C 群 95%, 平均 86% でやゝ高い値を示している。又 B 群 63 株について行つた PC 発育阻止濃度試験においては 1000mcg/ml 耐性菌が約 70% を占め (表 15)、高度耐性菌の分布が著しく大であつた。この事実はブドウ球菌感染症の治療に当り、PC 使用が臨牀上意義を失いつゝあることを示し、又抗生剤の撰択を慎重に考慮すべき段階にあることを語るもので

表 14 抗生剤耐性菌出現率の年代的推移

報告者	発表年次	感受性試験法	試験株数	PC	SM	EM	CM	AM	TM	ACM
Kirby	1951	試験管法 稀釈法	102	73%			20%	42%	42%	
	1953		102	68		2%	6	61	61	
Eisenberg	1953	ディスク法	255	72.6		0.8		27.5	26.3	
Einland	1953	寒天平板法	500	73	10		2.4	23.6	32.2	
Spink	1953	試験管法 稀釈法	154	85.06 61.04	95.45 65.60	21.43 18.80	100.00 0.65	66.23 63.00	66.23 62.90	
	1954		156	83.72 73.10	100.00 69.80	21.15 14.70	100.00 0.78	67.88 66.02	67.31 60.20	67.31 56.50
小 酒 井	1954	寒天平板法	70	84.2	61.4	5	2.9	32.4	32.4	
Sping	1955	試験管稀釈法	209	88.00	99.04	24.88	99.52	64.03	64.03	67.46
				70.81	69.38	22.49	1.91	51.80	56.11	49.76
関 根	1955	寒天平板法	155	45.4	23.2	0	0	3.8	3.8	
古 本	1956	ディスク法	88	30.7	21.7	8	3.4	7.9	14.8	10.2
惟 子	1957	ディスク法	51	86.2	9.8		6	9.5	17.6	
Waisbren	1958	試験管法	500	74	65	23	12	51	54	52
永 井	1958	寒天平板法	100	77	72	4	9			15
松 田	1958	寒天平板 稀釈法	292	30.5	14.4	0.3	1.0		1.0	
			168	47	36.9	5.4	10.7		0	
Finland	1959	寒天平板法	210	80	56	26				50
Griffith	1959	試験管法	794	80.2	58.4	46.0	21			65.4
児 島	1954	寒天平板 稀釈法	97 院外	58.8	41		8.2	1.0		
			46 院内	73.9	50		13	4.3		
中 山	1959	寒天平板 稀釈法	196 鼻咽腔	53	25	0	6.2		10	
			211 病巣	68	13	0	3.3		5.5	
伊 賀	1959	寒天平板法	44	72.7	36.4	0	2.3	45.5	44.7	

表 15 B グループ Staphylococcus の PC感受性

PC 発育阻止濃度 mcg	菌株数	百分率
>1000	44株	70%
500	3	16株 26%
250	5	
125	3	
16	1	
8	2	
4	2	
<1	3株	4%

ある。

2) 抗生剤の使用量と耐性菌分布の関係

抗生剤の使用量増加によって耐性菌が増加し、抗生剤の使用減少又は中止によつて耐性菌が減少するという事実¹⁹⁻²⁰⁾、あるいは抗生剤の使用が殆ど行われない特殊の環境において、耐性菌が非常に少いという現象²³⁾は、抗生剤の使用頻度と耐性菌の分布とが密接な関係を有していることを示している。私共の実験において、各種抗生剤に対する耐性出現率と使用量を比較すると図3の如く、PC, SM, ACM においてはよく平行した値を示したが、AM においては使用量と耐性出現率が全く反対

図 3 抗生剤使用量と耐性菌分布の関係

の結果を得た。この理由は明らかではないが、病院外来、病室において AM 軟膏の使用が多いことに関係があらうと思われる。又抗生剤の使用量は病院の病床数等を考慮して比較するべきであるが、私共の病院における抗生剤使用量と The Kingston General Hospital の年間使用量 (1953~1955)¹⁹⁾ とを比較すると、PC において著しく低いように思われ、その他の抗生剤については CM, EM の使用量が著しく多いとは思われない。

3) 耐性の境界濃度

感受性試験によつて最少発育阻止濃度を測定した際、どの濃度を境界として感受性とし、あるいは耐性とするかは臨牀効果を考慮して決定すべき問題である。しかし境界濃度に関する研究^{24) 25)}においてすら、必ずしも一定の成績が得られず、表 16 に示す通り報告者によつて

表 16 抗生剤感受性試験の耐性限界濃度

抗生剤	PC	SM	CM	TM	AM	ACM	EM
Kirby (1953)	5		10	5	5		2
Finland (1953)	1.6	12.5	12.5	6.3	6.3		
関根 (1956)	1	10	10	5	5	5	1.28
中西 (1956)	1	10	10	3.3			
氏家 (1957)	1	10	10	10			1
Hinton (1957)	1.5		10			10	10
Waisbren (1958)	3	3	25	3	3	3	3
永井 (1958)	1	10	10			3	1
児島 (1959)	3.1	12.5	12.5		12.5		
中山 (1959)	1	10	10	3			3
小酒井 (1959)	1	10	10			3	1
White (1959)	1					6.2	1.6
Finland (1959)	6.1	12.5				6.3	12.5
著者	1	10	10	5	5	5	5

耐性の境界濃度は種々である。大体の傾向として「極めて感受性」は常用量の血中濃度の下限に、「耐性」の限界は尿中濃度の下限におき、その中間に「やや感受性」をおくものが多い。しかし一般に境界濃度は常用量の血中濃度よりやや高いようである⁴⁰⁾。私共は表 2 のような耐性の境界濃度として、PC 1u, SM 10mcg, EM 5mcg, CM 10mcg, AM 5mcg, TM 5mcg, ACM 5mcg を用いた。又最近の PC 耐性菌等の臨牀報告において、耐性濃度が明示されていないのがみられるが、耐性菌株の相対的増減を推測するには、○mcg 耐性菌、○% と記載するのが望ましい。私共は一応抗生剤の濃度を 2 段階用いて検査を行ったが、境界濃度の決定には更に研究と検討が必要と思われる。

4) 試験管稀釈法による感受性測定

私共が行つたブドウ球菌の感受性試験の成績は表 13 に示す如く、耐性出現の最も高率を占めたのは PC であつた。しかし Kirby (1951, 1953)²⁶⁾, Spink (1953, 1954, 1955)²⁴⁾, Waisbren (1958)²⁵⁾, 等の試験管稀釈法の成績と比較すると、耐性限界濃度が一致せず、濃度にかんがりの相異があるので、直接比較することができない。一般に SM, EM 耐性株は低率であり、PC に対する耐性菌は高率である点が注目値する。

欧米においては、ディスク法、試験管稀釈法、寒天平板法がほとんど同様に研究されているが、我国においては寒天平板稀釈法とディスク法のみが用いられ、試験管稀釈法は殆どみられない。その理由としては手技の複雑性が考えられるが、試験管稀釈法は正統な方法であり、Jackson²⁸⁾, Hoffman²⁹⁾, Waisbron⁴⁰⁾ 等も誤差の少い推奨すべき方法であると述べている。又試験管稀釈法と臨牀効果との関係については、Livingood^{41) 42)} は皮膚科領域における外用薬の治療効果が試験管稀釈法において最もよく一致したと述べ、又 Abboud⁴⁴⁾ もブドウ球菌菌血症においても試験管法が感受性試験として最も満足すべき結果を得たと報告している。一方 Branch²²⁾ 等は感受性試験法の差異によつて起る耐性菌出現の差について研究し、PC における耐性出現率は試験管稀釈法 36%, 寒天平板法 30%, ディスク法 25% であつたと述べ、この原因としては、所謂 “Borderline Resistant Staphylococci” の増加をあげており、特に寒天平板法で現われる少数の耐性菌 (S^r 又は MR^r で表す) が重要な因子であるとしている。しかしながら AM, TM, CM, SM については試験法の差異による有意の差を認めず、PC 投与に当つては “Borderline Resistant Staphylococci” を抑制しうるだけの薬剤濃度が治療上

表 17 フ ァ ー ジ 型 別

	被検株数	型別可能	I 群	II 群	III 群	IV 群	混合群	雑 群
東 一 (1957)	39	28%	27.2%	18.1%	54.5%	0%		
東 二 (ク)	74	63	42.5	44.6	0	0	12.7%	
大 蔵 (ク)	75	74	37.5	14.2	26.7	0	21.4	
相模原 (ク)	27	67	22.4	22.2	27.7	0	27.7	
永 井 (1958)	100	76	17	22	37	0	24	
児 島 (1959)	74	56.8	9.5	28.5	31	0	31	
中 山 (ク)	283	47	17	64	11	0	8	
Koch (ク)	1152	66	4.2	3.8	44.1	0.1	42.5	4.2%
著 者 (ク)	63	28.5	77	11	6	0	6	

必要であることを強調している。

Suter 等⁴³⁾ はディスク及び試験管稀釈法の境界濃度について明瞭な 区別を行い、試験管稀釈法の 12.5mcg/ml はディスク法の 10mcg/ml (Erythromycin は 7.5 mcg/ml) に相当し、試験管法が臨牀効果と最もよく一致したと述べている。以上の点から考えて、PC 耐性菌の増加問題、あるいは薬剤投与と治療効果の関係は試験管法、ディスク法、平板稀釈法によつて更に比較検討する必要があると思われる。

5) ブドウ球菌の薬剤耐性とファージ型別

私共が分離したブドウ球菌のファージ型別は表9に示したが、型別可能株は 28.5% であつて、これは現在迄報告されている率に比較すると、かなり低い値を示している。即ち昭和 32 年国立病院において実施した統計並びに最近文献の一部を示すと、表 17 のようになる。又各群における百分率は I 群 77%, II 群 11%, III 群 6%, 混合群 6% であつて、I 群の多いのが特異であつた。PC 耐性菌は主として III 群に多いという報告³⁰⁾ が現在迄行われている。又我国における型別用ファージは通常 20 種を用いているが、私共は PC 耐性株の多い点に注目してファージ 80 を加えて型別を行つたところ、ファージ 80 によつて溶菌されるブドウ球菌が 11 株 (61%) 認められ著しい特異性を示した。ファージ型 80 或は 80/81 については、Rountree & Freeman (1955) によつて始めて報告され、その後その病原性及び抗生物質に対する著しい耐性についても多くの報告がある²⁷⁾⁻³⁰⁾。これらはいずれも著しい感染力と重症症状をひきおこす病原性が注目をあびている。Koch 等³⁰⁾ は 80/81 の Phage Pattern を示すブドウ球菌が外科並びに上気道感染症に比較して、皮膚疾患 (癰、癰、潰瘍) に多いことを報告している。又 Rountree 等³¹⁾ はインフルエンザの合併症として起る肺炎がファージ型 80 のブドウ球

菌によつておこつたことを報告した。ファージ 80, 81 を使用した報告は我国においては未だ数少いが⁴⁶⁾、私共の実験は試験株数が多くないので更に検討を要するところがあり、今後ファージ 80, 81 を加えてファージ・型別を行う必要があると考える。

結 語

私共は各種皮膚病巣から菌を分離して同定を行い、その細菌叢を観察すると共に、ブドウ球菌 438 株について生物学的性状、抗生剤感受性、ファージ型別等の検査を行い、次の所見を得た。

- 1) 分離した細菌中グラム陽性球菌は 92.5% を占め、コアグラゼ陽性ブドウ球菌は 41% であつた。
- 2) 生物学的性状の中、コアグラゼ産生能、マンニト分解能の他に、色素産生能及びフィブリノリジン産生能は、病現性ブドウ球菌の指標となしうる。
- 3) 試験管稀釈法による感受性テストを行い、各種抗生剤に対する耐性菌の著しい増加をみた。即ち PC 68%, TM 64%, AM 62%, CM 34%, ACM 31%, EM 27%, SM 11% であつた。
- 4) 抗生剤使用量と感受性との関係は、PC, SM, ACM において相関を示したが、AM においては相関関係を見出すことができなかった。
- 5) B 群 63 株についてファージ型別を行い、型別可能株は 28.5% であつた。又 Phage Pattern は特異的に 80 型が多数 (61%) を占め、抗生剤に対する耐性も著明であつた。
- 6) 試験管稀釈法による感受性試験のもつ意義を検討し、文献的考察を行つた。

稿を終るに当り、御指導並びに御校閲を賜つた土屋教授に厚く感謝の意を表すると共に、御鞭撻を賜つた自衛隊中央病院研究部長神子博士に深謝致しま

す。また終始種々の御教示を頂いた皮膚科科長藤田博士に厚く感謝致します。

文 献

- 1) Rountree & Barbour: J. Path. Bact. 63: 313 (1951).
- 2) Lepper et al: Arch. Int. Med. 92: 40 (1953).
- 3) Sompolinsky: J. Inf. Dis. 100: 1 (1957).
- 4) 長岐: 日本伝染病誌, 32(2): 69 (1957).
- 5) 斎藤, 藤井: 日本伝染病誌, 31(2): 118 (1957).
- 6) Christie & Keogh: J. Path. & Bact. 51: 189 (1940).
- 7) Chapman: J. Bact. 28: 343 (1934).
- 8) Difco Manual: (B 98) 187.
- 9) Lack: Staphylococcal Infections 65: 103 (1955).
- 10) Burton: Am. J. Clin. Path. 21: 884 (1951).
- 11) Williams & Rippon: J. Hyg. 50: 320, (1950).
- 12) Staphylococcus Reference Laboratory colin dole London N.W. 9
- 13) 福見: 臨床病理, 特集 (2), 68 (1955).
- 14) Rammelkamp: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 51: 386 (1942).
- 15) Finland: Arch. Int. Med. 104: 365 (1959).
- 16) Spink: Staphylococcal Infections 65: 173 (1956).
- 17) 児島: 日外会誌, 60: 993 (1959).
- 18) 伊賀: 臨牀皮泌誌, 13: 323 (1959).
- 19) Norman: J. Lab. Clin. Med. 49: 566 (1957).
- 20) Thomson: Med. J. Aust. 1: 871 (1951).
- 21) Lepper et al: J. Lab. Clin. Med 42: 832 (1953).
- 22) 島田: 日本医師会誌, 39: 587 (1958).
- 23) White: Am. J. Med. 27: 26 (1959).
- 24) Tunevall: Antibiotics & Chemotherapy 4: 886 (1954).
- 25) 金沢: J. Antibiotics 10: 85 (1957).
- 26) 土屋: 公衆衛生, 22: 375.
- 27) Timbury: Lancet 7056 (1958).
- 28) Gillespile: Lancet 7056 (1958).
- 29) Monro: Lancet 7039 (1958).
- 30) Koch: Antibiotics & Chemotherapy 9: 412 (1959).
- 31) Rountree: Lancet (ii), 501~504 (1949).
- 32) Branch: Antibiotics Annual 407 (1955~1956).
- 33) Kirby: Antibiotics & Chemotherapy 3: 831 (1953).
- 34) Spink: Staphylococcal Infection 65: 173 (1956).
- 35) Waisbren: A.M.A. Arch. Int. Med. 101: 397 (1958).
- 36) Jawetz: A.M.A. Arch. Int. Med. 103: 289 (1959).
- 37) Truant: Antibiotics Annual 744 (1958~1959).
- 38) Jackson: A.M.A. Arch. Int. Med. 88: 446 (1956).
- 39) Hoffman: J. Lab & Clin. Med. 51: 873 (1958).
- 40) Waisbren: Am. J. Clin. Path. 21: 884 (1951).
- 41) Livingood: J.A.M.A. 153: 1266 (1953).
- 42) Livingood: A.M.A. Arch. Int. Med. 69: 43 (1954).
- 43) Suter: Antibiotics & Chemotherapy 9: 38 (1959).
- 44) Abboud: Antibiotics Annual (1958~1959) 748.
- 45) 石原: 日外会誌, 60: 13 (1960).

Summary

Strains of pathogenic staphylococci isolated from outpatient at the S. D. F. central Hospital during 2 years between October 1, 1957 and June 30, 1959 tested for susceptibility to 7 antibiotics and subjected to phage typing. A tube-dilution technique with determinations of bacteriostatic and bactericidal endpoints was employed. The following conclusions have been reached:

1) Out of the 537 strains isolated from skin lesions, 494 strains (92.5%) were gram-positive cocci and 219 strains (41%) were pathogenic staphylococci.

2) Marked differences were found between the coagulase-positive staphylococci and coagulase-negative staphylococci in the production of pigment, fibrinolysin and mannitol fermentation. And these characteristics are said to correlate well with coagulase production as an index of pathogenicity.

3) Among the 219 strains of pathogenic staphylococci, penicillin resistant strains occupied 86%, and these strains were resistant over 60% to tetracycline and aureomycin. Although erythromycin and chloramphenicol were potent bactericidal agents.

4) The general incidence of antibiotics-resistant staphylococci appeared to be related to the frequency and intensity of use of those antibiotics.

5) Of the strains isolated from skin infections 28.5% were typable, and the strains lysed by phages of Group I were most frequent among isolated strains. The phage pattern identified as 80 was the only frequent one observed in this study, and showed increased resistance to antibiotics.

6) In general, tube-dilution tests were in good agreement with the choice of an antibiotic for the therapy of a staphylococcal infection. The references and the correlation between agar plate and tube dilution sensitivity tests were described.

*Department of Bacteriology, School of Medicine, Juntendo University
Central Hospital, Self Defence Forces*