

抗生物質の臓器内移行濃度測定に関する基礎的検討

和田 健二・馬場 駿吉・波多野 努*

緒 言

従来から抗生物質の臓器内移行濃度測定に際し用いられてきた薄層カップ法と、われわれが家兎の扁桃及び上顎洞粘膜への抗生物質移行濃度測定の目的で開発し用いて来た微量検体でも測定可能な micropore 法との信頼性の比較を試みるため、A B-P C を試験薬剤とし、その Standard curve 作成でもつて、阻止

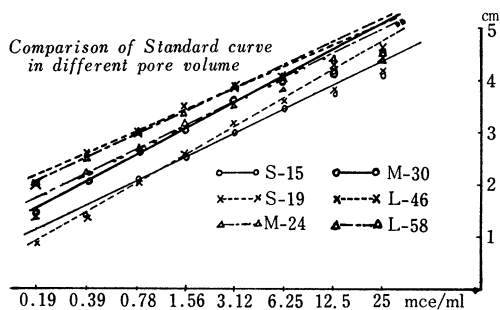
円の大きさ、阻止円のばらつき、Standard curve 上からの各濃度値のばらつきを基準に比較検討した。

方 法

カップ法との比較に先立ちまず micropore 法の検体量の適量を決める目的で、図1のごとくの3種の大きさの異なつた穴と、2種の種層の厚みを設定した、

表1 Comparison of Zone size in different pore volume (n = 5)

volume		AB-PC mcg/ml							
		0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25
S-15	Mean ±SD	(±)	1.39 ±0.07	2.05 ±0.14	2.49 ±0.08	2.99 ±0.07	3.42 ±0.11	3.70 ±0.03	4.08 ±0.09
S-19	Mean ±SD	0.84 ±0.14	1.35 ±0.11	2.03 ±0.13	2.56 ±0.11	3.14 ±0.14	3.55 ±0.05	3.73 ±0.09	4.16 ±0.07
M-24	Mean ±SD	1.34 ±0.11	2.23 ±0.07	2.69 ±0.03	3.19 ±0.05	3.48 ±0.08	3.81 ±0.10	4.12 ±0.12	4.42 ±0.09
M-30	Mean ±SD	1.43 ±0.11	2.06 ±0.04	2.63 ±0.04	3.01 ±0.05	3.54 ±0.02	3.89 ±0.05	4.10 ±0.05	4.48 ±0.03
L-46	Mean ±SD	2.00 ±0.06	2.57 ±0.06	2.98 ±0.04	3.39 ±0.04	3.47 ±0.01	3.95 ±0.01	4.23 ±0.02	4.57 ±0.02
L-58	Mean ±SD	2.07 ±0.05	2.54 ±0.05	2.94 ±0.03	3.31 ±0.02	3.74 ±0.06	3.97 ±0.05	4.27 ±0.02	4.47 ±0.05



B. Subtilis ATCC-6633
PH7.4 0.1M PHosphate buffer
Nutrient agar(eiken)

* 名古屋市立大学医学部耳鼻咽喉科学教室

すなわち 0.015 ml から 0.058 ml までの 6 通りの検体量で比較を行った。また培地による比較も試み、栄研の普通寒天培地と栄研のハートインフュージョン培地を使つてみた。試験菌は *B. Subtilis* ATCC-6633 を最終段階で 10^4 cell/ml となるようにし、pH 7.4 0.1 M phosphate buffer solution で、AB-PC の希釈系列を作成し、4°C 12時間の拡散と 37°C 8~10 時間の培養で阻止円の直径を測定した。

結 果

表1は培地に普通寒天を使用したもので、同一検体量を3カ所で測定しそれらの平均値をとりグラフを作成したものであり、標準偏差もあわせ計算し個々のばら

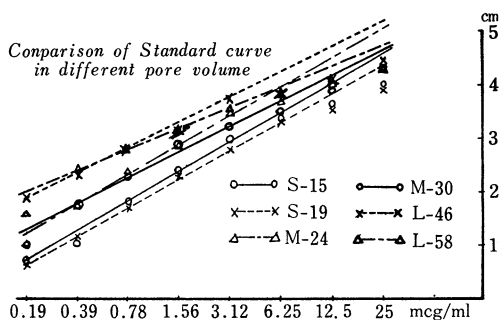
つきを比較した。この表より検体量 0.046 ml (種層の厚み 0.25 cm) が最もばらつきが少なく大きな阻止円が得られることがわかつた。しかし信頼でき得る測定範囲は $0.39 \mu\text{g/ml} \sim 3.12 \mu\text{g/ml}$ であると考えられる。

表2は培地にハートインフュージョンを使用したもので、普通寒天の場合に比べ全体にやや阻止円が小さく、かつ辺縁が不鮮明であつたが同様の結果が得られた。

以上の結果をもとにして検体量を 0.046 ml は少しはなばな数字なので 0.040 ml として、薄層カップ法と比較してみた。方法は前と同じで AB-PC の standard curve 作成でもつて行つた。

表2 Comparison of Zone size in different pore volume (n = 5)

volume		AB-PC mcg/ml							
		0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25
S-15	Mean	0.71	1.08	1.82	2.41	2.97	3.38	3.64	4.02
	±SD	±0.11	±0.14	±0.08	±0.12	±0.11	±0.09	±0.04	±0.07
S-19	Mean	0.64	1.12	1.73	2.31	2.78	3.33	3.60	3.92
	±SD	±0.06	±0.10	±0.13	±0.10	±0.09	±0.02	±0.05	±0.07
M-24	Mean	1.03	1.72	2.39	2.84	3.45	3.69	4.01	4.31
	±SD	±0.03	±0.16	±0.11	±0.12	±0.10	±0.07	±0.09	±0.07
M-30	Mean	1.01	1.77	2.29	2.87	3.22	3.55	3.88	4.28
	±SD	±0.10	±0.06	±0.10	±0.08	±0.04	±0.04	±0.08	±0.04
L-46	Mean	1.84	2.28	2.78	3.16	3.69	3.77	4.06	4.39
	±SD	±0.03	±0.07	±0.07	±0.04	±0.08	±0.05	±0.08	±0.02
L-58	Mean	1.59	2.35	2.77	3.17	3.51	3.78	4.05	4.30
	±SD	±0.06	±0.03	±0.05	±0.05	±0.06	±0.06	±0.03	±0.03



B. Subtilis ATCC-6633
 PH7.4 0.1M Phosphatebuffer
 Heart infusion agar(eiken)

結果は表 3 に示されたごとく両者にほとんど差を認めなかつた。ただ micropore 法の方が個々のばらつきが少なく測定可能な範囲も広いと考えられる結果を得た。

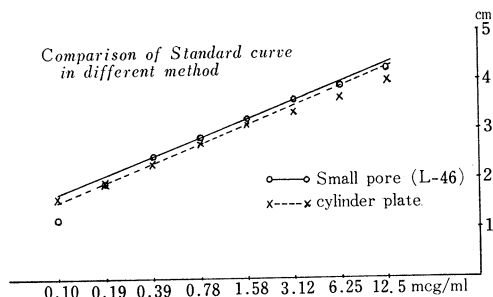
ま と め

micropore 法の検体量は 0.040 ml あれば充分であると考えられる。この量で測定した場合従来から用いられている薄層カップ法と信頼性を比較してまさと

も劣らないものであると言ひ得る結果が得られた。ただ今回は薄層カップ法にて種層の厚みが大きすぎた事がこの方法でのばらつきを大きくし、また測定可能な範囲を狭くしてしまつたのかもしれない。この点に関しては今後検討を加えていくつもりである。また、micropore 法についてもさらに検討を加えていくとともに、他剤あるいは血清並びに臓器抽出液についても検討を加えていきたいと考えている。

表 3 Comparison of Zone size in different method (n = 5)

method		AB-PC mcg/ml							
		0.10	0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5
small-pore	Mean	1.20	1.93	2.47	2.86	3.23	3.61	3.88	4.22
	±SD	±0.16	±0.05	±0.04	±0.03	±0.04	±0.02	±0.03	±0.03
cylinder-plate	Mean	1.62	1.95	2.32	2.73	3.09	3.36	3.66	3.99
	±SD	±0.06	±0.05	±0.02	±00.5	±0.07	±0.05	±0.08	±0.12



B. Subtilis ATSS-6633
 PH7.4 0.1M Phosphate
 buffer
 Nutrient agar(eiken)

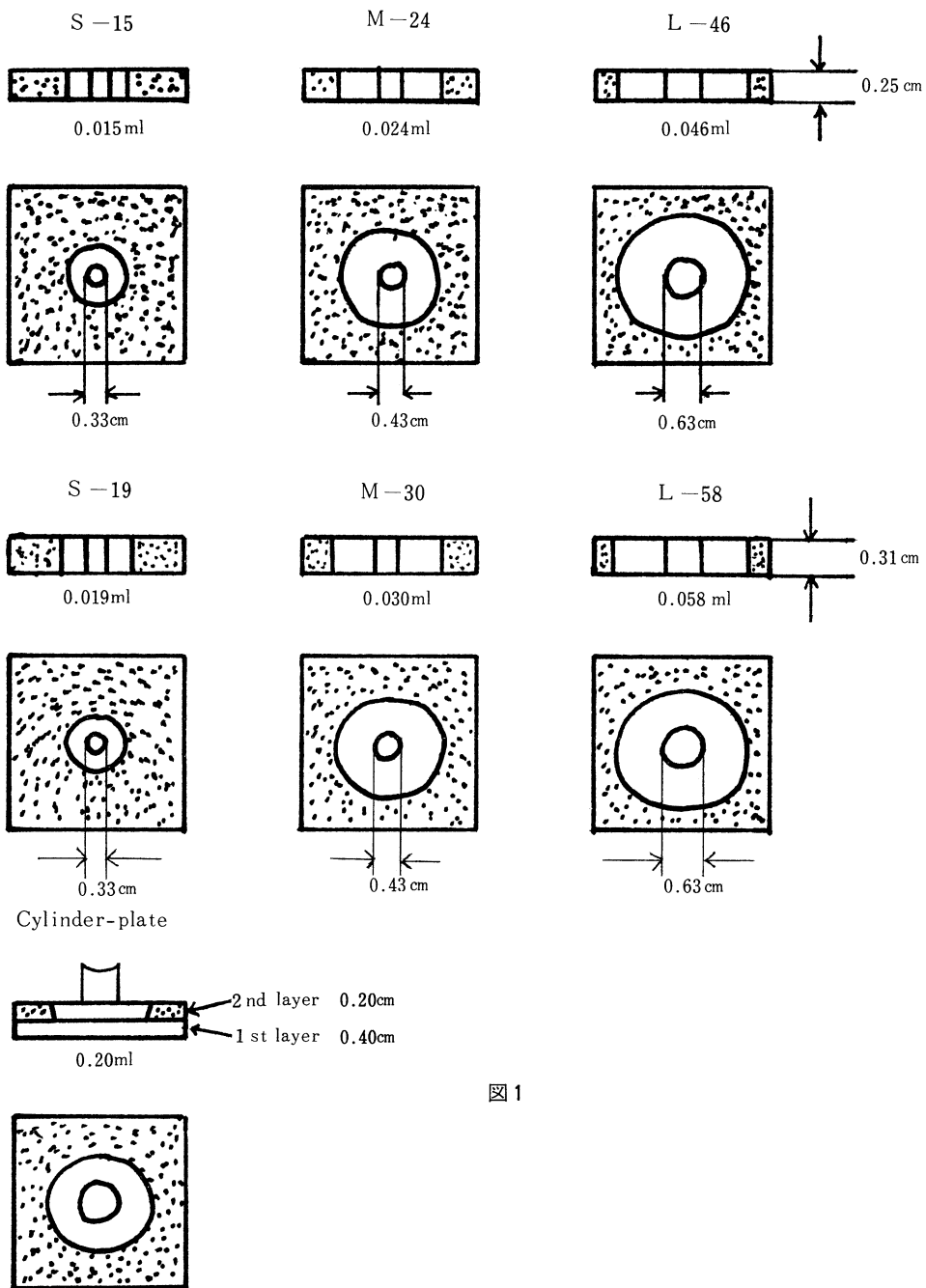


図 1