

THE EFFECT OF TEMPERATURE AND NUTRITION ON THE SUSCEPTIBILITY OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* TO ANTIBIOTICS.

Tsuneya Nakajima, Hiroshi Moriyama and Yoshio Honda

Department of Oto-rhino-laryngology, The Jikei University School of Medicine

Shogo Masuda

Department of Bacteriology, The Jikei University School of Medicine

In daily practice some cases of pseudomonal infection are refractory to chemotherapy. Very few efforts have been made in order to increase the efficacy of antipseudomonal antibiotics or susceptibility of pseudomonal strains to currently used antibiotics.

We investigated the effects of circumstance factors such as temperature and nutrition on the susceptibilities of *Pseudomonas aeruginosa* strains to antipseu-

domonal antibiotics such as DKB and PIPC.

The data obtained in the present investigation suggested that the higher temperature, and the lower nutrition at the infected site might be suitable conditions for the effective therapy of pseudomonal infections with lesser amounts of antipseudomonal antibiotics, some of which are sometimes extremely toxic even with the usually administered doses.

緑膿菌感染症における重症度の予測に関する実験 — 薬剤耐性に影響を及ぼす菌側の環境因子の検索 —

東京慈恵会医科大学耳鼻咽喉科学教室

中 島 庸 也・森 山 寛・本 多 芳 男

東京慈恵会医科大学第二細菌学教室

益 田 昭 吾

はじめに

過去2回の当研究会において、緑膿菌に対する生体側の防御能の一つである血清の殺菌能（主に補体）について述べてきた、今回は、実際の臨床で使用される抗生剤について、菌をとりまく環境因子（栄養や温度）の変化により、緑膿菌の感受性がどのように影響を受けるかを検討した。ここで述べている環境因子の変化とは、あくまでも菌が増殖しうる範囲内のものであるが、この範囲内において各

因子の変化が菌の抗生剤に対する感受性に与える影響を調べた。このような検討により、緑膿菌感染症をより効果的に、さらに、より少量の抗生剤で治療できるのではないかという可能性について若干の考察を試みた。

対象および方法

最初に、温度による各緑膿菌の抗生剤に対する感受性の変化をみた。

菌：中央検査室より無作為に選んだ緑膿菌3株 (strain A,B,C)

抗生剤に対する感受性(PIPC/DKB)

A株 (+++/+++)

B株 (+++/+++)

C株 (- / ++)

抗生剤：PIPC, DKB

培養温度：25℃, 37℃, 40℃

実験前日、菌をハートインフュージョン培地にまき、一昼夜、37℃で静置培養し、当日、ブイヨンにて1000cfu/mlとなるように調整する。抗生剤は両者共に、1000μg, 100μg, 10μg, 1μg, 1/10μg, 1/100μg, 1/1000μg/mlに調整した。この菌と抗生剤との組み合わせを、各温度で一昼夜培養し、その後、平板にまき、コロニー数を数えて、抗生剤の感受性の変化を調べた。

次に、栄養によるA株緑膿菌の抗生剤に対する感受性の変化を検索した。
 栄養因子：良好な条件として、ブイヨン(B)、
 不良な条件として、1/1000倍希釈ブイヨン(D-B)を設定した。

菌：strain A, 菌数は10⁵cfu/mlとした。培養温度および実験方法は前実験と同様に行った。

結果および考察

まず、PIPCに対する感受性をみると、Fig. 1, 2, 3に示す通り、コントロール(抗生剤を含まない)にて、各菌は温度に関わらず10⁹cfu/mlのオーダーまで増殖した。抗生剤の効果である菌の発育阻止はA株の40℃を除けば、A, B株共にPIPC, 10μgで認められた。一方、C株は耐性株のため100μgにて発育阻止が認められた。培養温度による明確な感受性の変化は3株共に認められなかった。

次に、DKBの感受性についてみると、Fig. 4, 5, 6に示すようにA株とB株で25℃, 37℃では発育阻止が10μgであるのに、40℃の培養温度のときは1μgへと感受性が高まった。25℃と37℃との間では、はっきりした差は認められなかった。C株では発育阻止は10μgであり、各培養温度でA株, B株で見られるような明確な差は認められなかった。

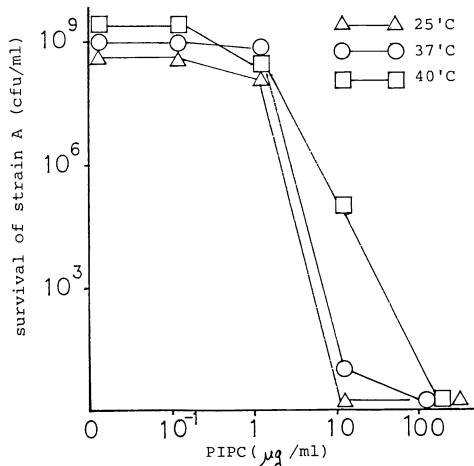


Fig. 1. Survival of strain A in bouillon after 24hours of incubatin with PIPC at 25°C, 37°C and 40°C.

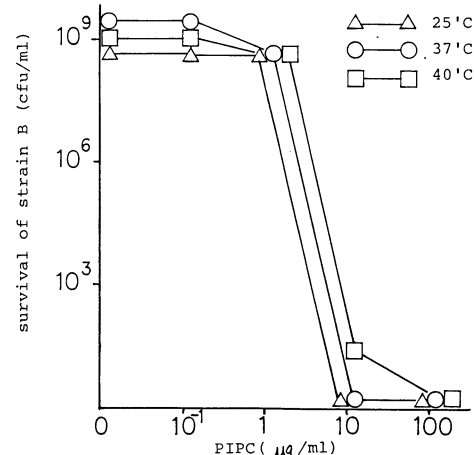


Fig. 2. Survival of strain B in bouillon after 24hours of incubation with PIPC at 25°C, 37°C and 40°C.

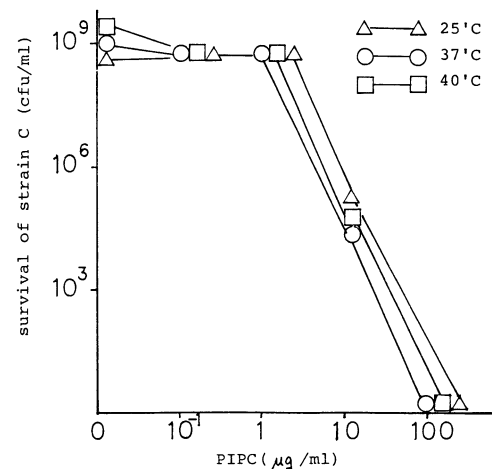


Fig. 3. Survival of strain C in bouillon after 24hours of incubation with PIPC at 25°C, 37°C and 40°C.

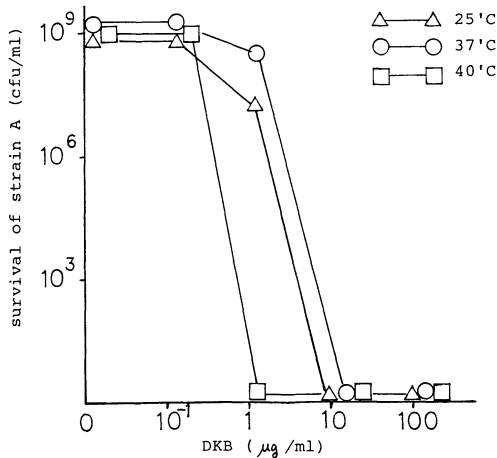


Fig. 4. Survival of strain A in bouillon after 24 hours of incubation with DKB at 25°C, 37°C and 40°C.

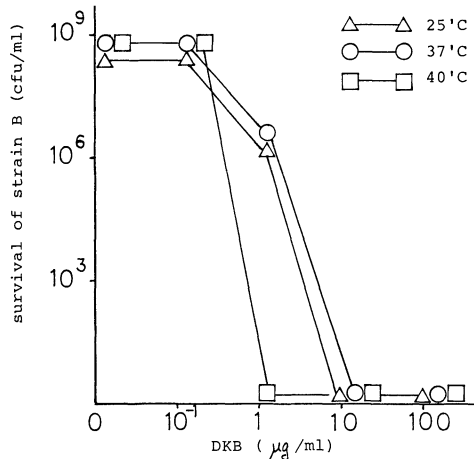


Fig. 5. Survival of strain B in bouillon after 24 hours of incubation with DKB at 25°C, 37°C and 40°C.

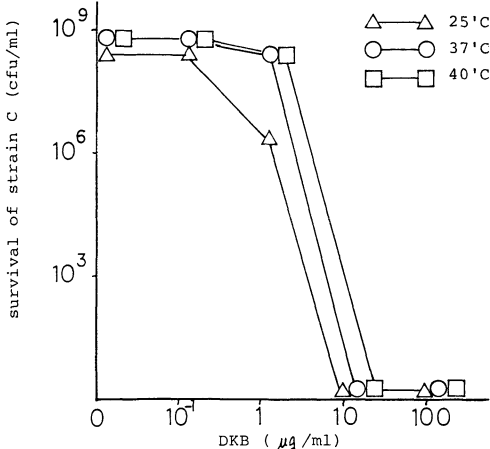


Fig. 6. Survival of strain C in bouillon after 24 hours of incubation with DKB at 25°C, 37°C and 40°C.

栄養による緑膿菌の抗生剤に対する感受性の変化をみるのに、培養温度で感受性の変化が見られたA株とDKBの組み合わせを使用した。結果は Fig. 7 に示すように、コントロールにおいて、ブイヨン（高栄養）では菌は 10^9 cfu/mlのオーダーまで増殖するのに対して、1/1000倍希釈ブイヨン（低栄養）では 10^6 cfu/mlのオーダーで、最初の菌数が 10^5 cfu/mlであることを考えると増殖力は非常に低下した。

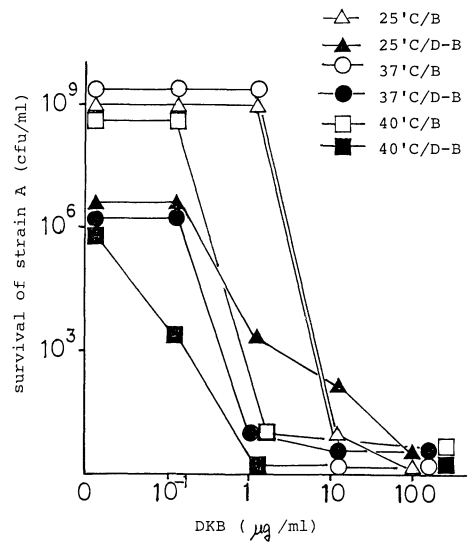


Fig. 7. Survival of strain A in bouillon and diluted bouillon after 24 hours of incubation with DKB at 25°C, 37°C and 40°C.

低栄養での培養温度が感受性に及ぼす影響は、高栄養状態でみられたのと同様の変化が観察された。つまり、低栄養で、25°C、37°Cは1 μg以上で発育の抑制がみられるのに対して、40°Cでは1/10 μgから抑制が認められた。

低栄養と高栄養で感受性の変化を認めるかについては、先に述べたように、コントロールの24時間後の到達菌数が異なるので、それぞれの発育阻上濃度の違いを根拠に、ただちに結論をくだすことは、少々、無理があると考えられるが、低栄養にした方が抗生剤に対する感受性が高まるという可能性を示唆するものではないかと考えられた。

ま と め

今回、菌をとりまく環境因子として、温度と栄養に着目し、これら因子の変化が菌の抗生剤に対する感受性に与える影響について、3株の緑膿菌と2種の抗生剤の組み合わせで検討した。PIPCでは温度による感受性の変化はみられなかったが、DKBでは2株において、40℃で感受性の上昇をみた。栄養による影響は、温度による感受性の変化がみられた1株について検討したが、低栄養での菌の増殖が悪く、高栄養の場合の感受性とそのまま比較検討するのは無理ではないかと考えられたが、低栄養下における菌の抗生剤に対する感受性は上昇するのではないかと考えられた。

以上の結果により、緑膿菌感染症において、温水等で洗浄を行うことにより局所を低栄養状態に保つと共に、高温状態にすることで、より効果的に、さらには、より少量の抗生剤で緑膿菌感染症を治療できる可能性を検討することも価値があるのではないかと考えられた。

参 考 文 献

- 1) 五島智子：薬剤感受性測定法
臨床検査, 27 (11), 1397-1406, 1983