

## MRSA 発育抑制作用を有する緑膿菌の 走化性に及ぼすマクロライド剤の影響

菊島 一仁 荻野 純 久松 建一 村上 嘉彦

山梨医科大学耳鼻咽喉科教室

山田 俊彦

社会保険鵜沢病院

藤森 功

諏訪中央病院耳鼻咽喉科

後藤 領

山梨赤十字病院耳鼻咽喉科

### EFFECT OF 14-MEMBER LACTONE RING MACROLIDES ON GROWTH INHIBITORY ACTIVITY OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* AGAINST *STAPHYLOCOCCAS AUREUS* AND SWARMING ABILITY OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*.

Kazuhito Kikushima, Jun Ogino, Kenichi Hisamatsu, Yoshihiko Murakami

Department of Otorhinolaryngology

Yoshihiko Yamada

Kajikazawa Hospital

Isao Fujimori

Suwa-Central hospital

Rei Goto

Yamanashi Red Cross Hospital

The purpose of this report is to examine the effect of 14-member Lactone Ring Macrolides on growth inhibitory activity of *Pseudomonas aeruginosa* against *Staphylococcus aureus* and swarming Ability of *Pseudomonas aeruginosa*.

The standard strain and clinically isolat-

ed *P.aeruginosa* were used as test strains. The influence of Macrolides on growth inhibitory activity of *P.aeruginosa* and swarming ability were determined by the agar plate dilution method. 14-member lactone ring Macrolides were used to Erythromycin (EM), Roxithromycin (RXM)

and Clarythromycine (CAM). The growth inhibitory activity of *P.aeruginosa* against *S.aureus* were not affected under 1.56  $\mu\text{g}/\text{ml}$  concentration of Macrolides. The swarming ability of *P.aeruginosa* were decreased depending on the concentration

はじめに

我々は緑膿菌とメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の細菌相互の関係について以前より検討してきた結果、緑膿菌が MRSA に対して発育抑制性に働くことを明らかにした<sup>1)</sup>。このことから抗緑膿菌作用を示す化学療法剤の汎用が、今日の MRSA の蔓延の要因の一つとして示唆される。

今回我々は3種類の14員環マクロライド剤を用いて緑膿菌の MRSA 発育抑制作用に与える影響と、緑膿菌の病原因子の一つである走化性に与える影響について寒天平板希釈法を用いて検討し、ここに報告する。

材料と方法

1) 使用菌種及び使用薬剤

使用緑膿菌菌株は喀痰からの臨床分離株 (以下 SP 34) 及び標準株 ATCC 27854 を使用した。また、MRSA も臨床分離株を用いた。

実験に使用したマクロライド剤はエリスロマイシン (以下 EM), ロキシスロマイシン (以下 RXM), 及びクラリスロマイシン (以下 CAM) で、いずれも MRSA に対して高濃度耐性 (MIC 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以上) であることを確認した後実験に使用した。各菌液は Mueller-Hinton broth に懸濁し、約  $10^8 \text{cfu}/\text{ml}$  に調整し以下の実験に使用した。

2) EM, RXM 及び CAM の緑膿菌の MRSA 発育抑制作用への影響

EM, RXM 及び CAM は 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  から 0.20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  までの10段階に希釈した Mu-

eller Hinton 寒天培地 (2% agar) を用意し、マクロライド剤を加えない培地をコントロールとした。

各濃度の薬剤含有寒天培地に緑膿菌液を24時間好氣的に画線培養した後、発育した緑膿菌に対し直行するように MRSA を滅菌濾紙スタンプ法を用いて接種し、さらに24時間好氣的培養を行った。寒天表面を観察し、緑膿菌の発育している位置から MRSA の発育している先端までの距離を測定し、この距離を MRSA 発育抑制作用の強さの指標とした (Fig. 1)。

Measurement of Anti-*S.aureus* Activity by *P.aeruginosa*

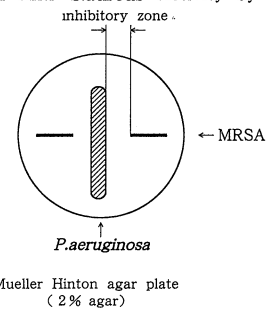
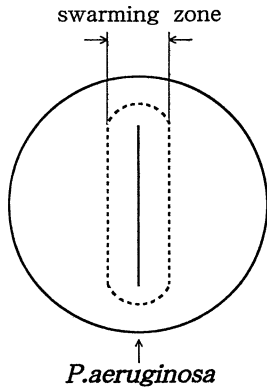


Fig. 1

3) EM, RXM 及び CAM による緑膿菌の走化性への影響

各種マクロライド剤の希釈系列培地を同様に作製し、滅菌濾紙スタンプ法を用いて緑膿菌液を約0.5mm幅で1.5% agar Mueller-Hinton 寒天平板上に接種した。48時間好氣的培養後に培地上の緑膿菌の発育状況を観察し、緑膿菌の発育帯の幅を測定し走化性の指標とした (Fig. 2)。

Swarming Activity of *P.aeruginosa*



Mueller Hinton agar plate (1.5% agar)

Fig. 2

結 果

1) EM, RXM及びCAMによる喀痰由来緑膿菌菌株のMRSA 発育抑制作用への影響

EM, RXM及びCAMは共に1.56  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の濃度では緑膿菌によるMRSA 発育抑制作用は良く保たれているが、3剤共3.13  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の濃度ではMRSA 発育抑制作用の減少が認められた (Fig. 3).

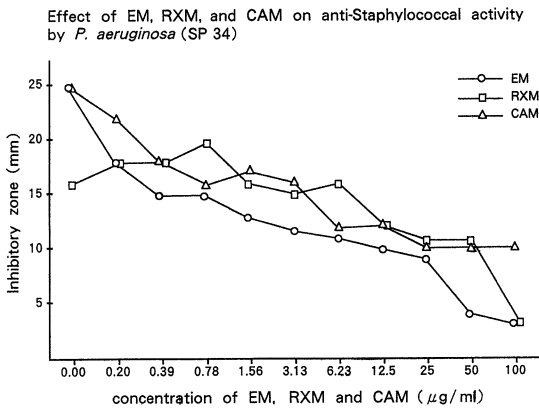


Fig. 3

2) EM, RXM及びCAMによる緑膿菌標準株のMRSA 発育抑制作用への影響

3剤共喀痰由来株と同様に1.56  $\mu\text{g}/\text{ml}$

まではMRSA 発育抑制作用は保たれていた。(Fig. 4).

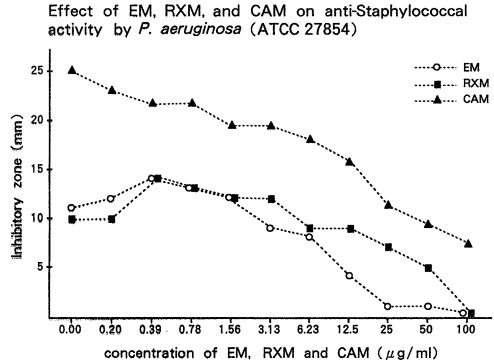


Fig. 4

3) EM, RXM及びCAMによる緑膿菌喀痰由来株の走化性への影響

EM, RXM及びCAMはいずれも12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ までは寒天平板上での走化性に影響を与えなかったが、この濃度を越えると著明に走化性の抑制が観察された (Fig. 5).

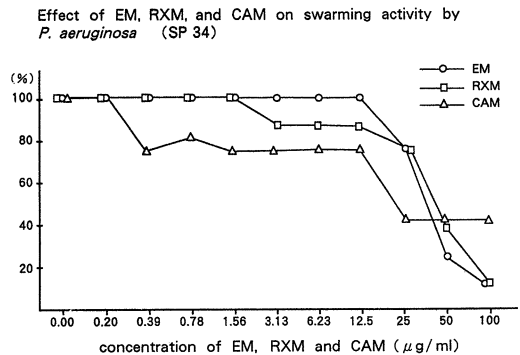


Fig. 5

4) EM, RXM及びCAMによる緑膿菌標準株の走化性への影響

喀痰株と同様な傾向の観察された (Fig. 6).

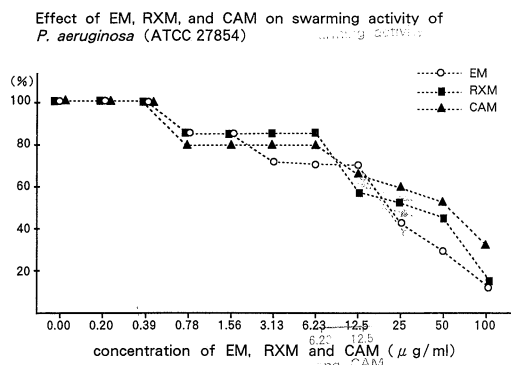


Fig. 6

考 察

我々がかねてより緑膿菌の有する黄色ブドウ球菌発育抑制作用に注目し検討を重ねてきた<sup>1)</sup>。その結果緑膿菌の黄色ブドウ球菌発育抑制効果は、緑膿菌の産生するピオシアニン等の色素のみならず、Machanが明らかにした非色素性低分子の2-Heptyl-4-hydroxyquinoline N-oxideと同一の物質である可能性が示唆された<sup>2)3)</sup>。

一方最近、緑膿菌が主病原菌である慢性下気道感染症に対して14員環マクロライド剤の少量長期投与が臨床有効であることが報告されている、また、耳鼻咽喉科領域では慢性副鼻腔炎にたいしてその有効性が報告されている<sup>4)5)6)</sup>。

今回我々が行った実験は、3種のマクロライド剤が緑膿菌の有する黄色ブドウ球菌発育抑制作用に対してどのような影響を有するか、また緑膿菌の病原性の一つである走化性に対してどのような影響を有するかに関して検討を行った。

その結果3種のマクロライド剤は共に低濃度では緑膿菌のMRSA発育抑制作用には影響を与えないが、高濃度になるとMRSA発育抑制作用の低下を認めており、これは異なる由来株間で共通に認められた。

また、緑膿菌の病原性因子の一つとして重要な走化性に対しても3種のマクロライド剤

で共通して、12.5 µg/ml以上の濃度で走化性の抑制を認めており、これも異なる由来株間で共通して認められた。これらの知見はマクロライド剤の新たな緑膿菌に対する薬理作用であり、今後実際の臨床の現場での応用に關してさらなる検討を重ねて行きたい。

参 考 文 献

- 1) 荻野 純, 山田俊彦, 後藤 領, 菊島一仁, 藤森 功: 臨床材料より分離される緑膿菌の黄色ブドウ球菌に対する発育抑制作用, 感染症誌, 66: 909-913, 1992.
- 2) 荻野 純, 山田俊彦, 小銭太郎, 伊藤正彦, 菊島一仁, 後藤 領, 藤森 功, 久松建一, 村上嘉彦: 由来別緑膿菌のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌発育抑制作用と色素産生性に及ぼすエリスロマイシンの影響. 感染症誌, 67: 18-23, 1993.
- 3) Machan ZA, Taylor Gw, Pitt TL, Cole PJ. & Wilson R.: 2-Hep-tyl-4-hydroxyquinoline N-oxide, an anti-staphylococcal agent produced by *Pseudomonas aeruginosa*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 30: 615-623, 1992.
- 4) 工藤翔二, 植竹健司, 荻原弘一, 平山雅清, 許 栄宏, 木村 仁, 杉山幸比古: びまん性汎細気管支炎にたいするエリスロマイシン少量長期投与の臨床効果—4年間の治療成績—. 日胸疾会誌, 25: 632-642, 1987.
- 5) 増谷喬之, 澤木政好, 三笠桂一, 古西満, 柳生善彦, 成田巨啓, 播 金収, 佐野麗子, 宗川義嗣, 間瀬 忠, 中野 博: Erisunomycinによる *Pseudomonas aeruginosa* の Elastase 産生抑制作用について. 感染症誌, 63: 1212-1214, 1989.
- 6) 横井山繁行: ムコイド型緑膿菌に対するマクロライド系薬剤の作用. 感染症誌, 64: 1439-1446, 1990.