

原 著

各種乳酸菌製剤の抗生物質感受性について

藤井次和^{*1)} 若月純恵^{*1)} 大久保耕嗣^{*1)}
 渡辺七朗^{*1)} 藤田勝嘉^{*2)}

〔方法〕抗生物質の副作用である下痢等に対する、各種耐性乳酸菌製剤の予防効果について、MICを測定し比較検討した。また、厚生連病院でのシロップ剤の調剤方法についてアンケート調査を実施した。さらに小児用シロップ剤に、抗生物質と乳酸菌製剤を混合した際の、乳酸菌製剤の安定性についても検討した。〔結果〕抗生物質に耐性とされる乳酸菌製剤の中にも、感受性を示す製品が認められた。またシロップ剤に混合した際、乳酸菌製剤は日数の経過とともに死滅した。〔結論〕乳酸菌製剤を抗生物質と併用する場合、感受性を考慮に入れ選択することが望ましいと思われる。混合調剤にする際は、散付水剤にする等別包にすべきである。当院の約束処方であるヘルニアシロップから、乳酸菌製剤を削除することになった。

キーワード：抗生物質、下痢、耐性乳酸菌製剤、予防効果、安定性

はじめに

様々な感染症の治療に抗生物質の投与は不可欠であるが、腸内細菌叢が変化し、下痢・軟便といった副作用を誘発し、重大なものでは偽膜性大腸炎等を引き起こす場合がある。抗生物質に起因する下痢の予防・治療に乳酸菌製剤が併用されている。当院でも小児科の粉薬等で日常的に使用されており、また水薬等にも一緒に処方される場合がある。

そこで今回、抗生物質に耐性の乳酸菌製剤が、併用時どの程度効果があるかを比較検討した。また厚生連病院において、水薬調剤時の方法についてアンケート調査を実施した。さらに、小児用シロップ剤に抗生物質と乳酸菌製剤を混合した場合の、乳酸菌製剤の安定性についても比較検討した結果、若干の知見が得られたので報告する。

1. 耐性乳酸菌製剤の抗生物質感受性について

方 法

1. 試験薬剤

使用した乳酸菌製剤は、アンチビオフィルス[®]細粒（日研一明治製薬）、エンテロノンR[®]（森下ルセル）、エントモール[®]散（山之内）、ピオフィェルミンR[®]（ピオフィェルミン）、ラックビー-R[®]（日研）、ポリラクトン[®]ミドリ（ミドリ十字）、ラクスパン（キッセイ）、レベニン（わかもと）を用いた（表1）。今

回使用した薬剤は、抗生物質耐性の乳酸菌製剤として承認を受けている製品全てについて実施した。

また感受性試験に用いた抗生物質は、当院でルーチンに実施されている薬剤を使用し（表2）、最小発育阻止濃度：μg/mL（以下MICと略す）を測定した。

表1 使用した抗生物質耐性の乳酸菌製剤

| 乳酸菌製剤名 | 菌 種 |
|-------------------------|----------------------------------|
| アンチビオフィルス [®] | <i>Lactobacillus acidophilus</i> |
| エンテロノンR [®] | <i>Streptococcus faecalis</i> |
| エントモール [®] | <i>Streptococcus faecalis</i> |
| ピオフィェルミン [®] | <i>Streptococcus faecalis</i> |
| ラックビー-R [®] | <i>Bifidobacterium longum</i> |
| ポリラクトン [®] ミドリ | <i>Streptococcus lactis</i> |
| | <i>Lactobacillus lactis</i> |
| | <i>Lactobacillus acidophilus</i> |
| ラクスパン [®] | <i>Streptococcus gaecalis</i> |
| | <i>Lactobacillus bifidus</i> |
| | <i>Lactobacillus acidophilus</i> |
| レベニン [®] | <i>Streptococcus faecalis</i> |
| | <i>Lactobacillus acidophilus</i> |
| | <i>Bifidobacterium infantis</i> |

*1) 〒958-0854 新潟市村上市田端町2番17号

村上総合病院薬剤部

*2) " 検査科

表2 感受性試験に用いた抗生物質

| | | | |
|----------------|----------|----------|-------|
| セファクロム | CCL | スルタミシリン | SBTPC |
| セフォチアム | CTM | エリスロマイシン | EM |
| セフィキシム | CFIX | クリンダマイシン | CLDM |
| クラブラン酸/アモキシシリン | CVA/AMPC | ミノサイクリン | MINO |
| | | ホスホマイシン | FOM |

表3 好気性状態で培養した菌

| | | | | | | |
|-------|-------------------|---------------------|----------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| | エテロン [®] | エントモール [®] | ピオフェルミン [®] | ポリラクトン [®] | ラクスパ [®] | レベニン [®] |
| グラム染色 | GPC | GPC | GPC | GPC | GPC | GPC |
| 溶血環 | α | α | α | α | α | α |
| カタラーゼ | - | - | - | - | - | - |
| SF培地 | + | + | + | + | + | + |

2. 菌の検出および同定

各種乳酸菌製剤を生理食塩液 5 mL に適量溶解する。その 3 mL をシグナル培地に注入し、37°C・48時間培養する。好気性菌は羊血液寒天培地、トリガルスキー改良培地、チョコレート寒天培地に植菌し、37°C・24時間培養した。また嫌気性菌はキョクトーHKプルセラ培地に植菌し、嫌気状態で37°C・48時間培養し試験菌株とした。MIC測定には、採取した菌株を0.5Mc Farandに調製し、試験菌液とした。

得た菌株について以下の試験を実施し、最小限の同定を行った。すなわちグラム染色による分類、血液寒天培地上に見られる溶血の状態による分類、カタラーゼ試験（呼吸酵素に関する検査）を実施した。また *Streptococcus faecalis* については、SF培地（選択培地）を用いて検査した。

3. MICの測定

MICの測定は得られた菌株に対し、微量液体培地希釈法（ブレイクポイント法）に準じ、セプターテストパネル（日本ベクトン・ディッキンソン社）を用いて行った。

結 果

1. 菌の検出および同定

8種類の乳酸菌製剤を培養し、アンチピオフィルス[®]、エテロン[®]、エントモール[®]、ピオフェルミン[®]、ラックビー[®]、由来の株各々1株ずつ、およびラクスパ[®]、レベニン[®]由来の株各々2株、そしてポリラクトン[®]ミドリ由来の3株を分離した。

好気状態で培養した6株はグラム陽性球菌でα型溶血環を形成し、カタラーゼ試験陰性、SF培地陽性であることから *Streptococcus* 属と同定した（表3）。また嫌気状態で培養した6株はグラム陽性桿菌で溶血環がなく、カタラーゼ試験陰性であることから *Lactobacillus* 属と同定した（表4）。

表4 嫌気性状態で培養した菌

| | | | | | | |
|-------|------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| | アンチピオフィルス [®] | ラックビー [®] | ポリラクトン [®] | ポリラクトン [®] | ラクスパ [®] | レベニン [®] |
| | NO1 | | NO2 | | | |
| グラム染色 | GPR | GPR | GPR | GPR | GPR | GPR |
| 溶血環 | なし | なし | なし | なし | なし | なし |
| カタラーゼ | - | - | - | - | - | - |

2. 各種抗生物質のMIC測定と乳酸菌製剤の耐性の獲得について

乳酸菌製剤の抗生物質に対するMICの結果を示す（表5、6）。セフェム系・マクロライド系抗生物質に対して、全ての乳酸菌製剤が耐性を獲得していた。ペニシリン系（β-ラクタマーゼ阻害剤含有）は、好気性菌ではピオフェルミン[®]、ポリラクトン[®]ミドリ、嫌気性菌ではラックビー[®]が感受性であった。それ以外の乳酸菌製剤は全て耐性を獲得していた。リンコマイシン系では、ポリラクトン[®]ミドリ中の好気性菌が感受性があったが、それ以外は全て耐性を獲得していた。しかし、テトラサイクリン系の薬剤では、嫌気性菌のアンチピオフィルス[®]、ポリラクトン[®]ミドリの1種とレベニン[®]で耐性を獲得しているのみで、それ以外は感受性であった。その他FOMでは、嫌気性菌ではラクスパ[®]を除き耐性を獲得しているが、好気性菌では全て感受性があった。

表5 乳酸菌製剤の抗生物質に対する感受性

好気性菌 (*Streptococcus faecalis*)

| | | | | | | |
|-------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | エテロン [®] | エントモール [®] | ピオフェルミン [®] | ポリラクトン [®] | ラクスパ [®] | レベニン [®] |
| CCL | R ₁ = 32 | R ₁ = 32 | R ₁ = 32 | R ₁ = 32 | R ₁ = 32 | R ₁ = 32 |
| CTM | R ₁ = 32 | R ₁ = 32 | R ₁ = 32 | R ₁ = 32 | R ₁ = 32 | R ₁ = 32 |
| CFIX | R ₁ = 4 | R ₁ = 4 | R ₁ = 4 | R ₁ = 4 | R ₁ = 4 | R ₁ = 4 |
| C/A | R ₁ = 32 | R ₁ = 32 | S ₁ <= 8 | S ₁ <= 4 | R ₁ = 32 | R ₁ = 32 |
| SBTPC | R ₁ = 32 | R ₁ = 32 | S ₁ <= 8 | S ₁ <= 2 | R ₁ = 32 | R ₁ = 32 |
| EM | R ₁ = 8 | R ₁ = 32 | R ₁ = 32 | R ₁ = 32 | R ₁ = 32 | R ₁ = 32 |
| CLDM | R ₁ = 4 | R ₁ = 4 | R ₁ = 4 | I ₁ <= 2 | R ₁ = 4 | R ₁ = 4 |
| MINO | S ₁ <= 16 | S ₁ <= 16 | S ₁ <= 16 | I ₁ <= 8 | S ₁ <= 4 | S ₁ <= 4 |
| FOM | S ₁ <= 16 | S ₁ <= 16 | S ₁ <= 16 | S ₁ <= 16 | S ₁ <= 16 | S ₁ <= 16 |

S : 感受性, I : 中間, R : 耐性 MIC (μg/mL)

表6 耐性乳酸菌製剤の抗生物質に対する感受性
嫌気性菌 (*Lactobacillus* 属)

| | アンチ オフル® | ラックビー® | ホラクトン® NO1 | ホラクトン® NO2 | ラクスマ® | レベニン® |
|-------|-------------|---------|---------------|---------------|---------|---------|
| | CCL | R) = 32 | R) = 32 | R) = 32 | R) = 32 | R) = 32 |
| CTM | R) = 32 | R) = 32 | R) = 32 | R) = 32 | R) = 32 | R) = 32 |
| CFIX | R) = 4 | R) = 4 | R) = 4 | R) = 4 | R) = 4 | R) = 4 |
| C/A | R) = 32 | S) = 4 | R) = 32 | I) = 6 | R) = 32 | R) = 32 |
| SBTPC | R) = 32 | S) = 8 | R) = 32 | R) = 32 | R) = 32 | R) = 32 |
| EM | R) = 32 | R) = 32 | R) = 32 | R) = 32 | R) = 32 | R) = 32 |
| CLDM | R) = 32 | R) = 32 | R) = 32 | R) = 32 | R) = 32 | R) = 32 |
| MINO | R) = 16 | S) = 4 | S) = 4 | R) = 4 | S) = 4 | R) = 16 |
| FOM | R) = 64 | R) = 64 | R) = 64 | R) = 64 | I) = 32 | R) = 64 |

S : 感受性, I : 中間, R : 耐性 MIC(μg/mL)

II. アンケート調査および水剤 (抗生物質含有) 中の乳酸菌製剤の安定性

当院において、約東処方であるヘルニアシロップは、抗生物質のケフラール®細粒 (塩野義)、乳酸菌製剤のラックビー®微粒 (日研)、アリメジン®シロップ (第一)、ノイチーム®シロップ (エーザイ) を用いて混合調剤する水薬の処方である。また小児科処方において、抗生物質と乳酸菌製剤がシロップ剤と同一処方に記載された場合、全てシロップに溶解し調剤している。

そこで抗生物質乳酸菌製剤が同一処方された場合、他の厚生連病院ではどの様に調剤を行っているのか現状を把握するためアンケート調査を実施した。さらに抗生物質と乳酸菌製剤を、一緒に溶解することにより、乳酸菌製剤としての効果を示すかを検討するため、実際の処方内容を基に実験を試みた。

方法および結果

1) アンケート

水薬の調剤方法についてはアンケート調査を実施した。アンケートの内容および結果を以下に示す (表7)。抗生物質と乳酸菌製剤について散付水剤にする病院が多いものの、一緒に調剤する病院もあった。またヘルニアシロップについては当院以外に1病院あり、その処方内容に乳酸菌製剤は含まれていないとの回答を得た。

表7 小児用シロップ調製方法についてのアンケート調査

- 問1. 小児用シロップ処方 (水薬) において、抗生物質 (細粒・ドライシロップ) と乳酸菌製剤 (ラックビー等) および他の水薬が同一処方された場合、どの様に調剤しますか？
- 問2. 小児用シロップ処方 (水薬) において、抗生物質 (細粒・ドライシロップ) と他の水薬が同一処方された場合、どの様に調剤しますか？

| | 問 1 | | 問 2 | |
|-----|---------|--------|---------|--------|
| | 散付水剤 | 全て溶解する | 散付水剤 | 全て溶解する |
| 糸魚川 | ○ | | ○ | |
| 頸南 | ○ | | ○ | |
| 上越 | ○ | | ○ | |
| 刈羽 | ○ | | ○ | |
| 中条 | ○ | | ○ | |
| 魚沼 | | ○ | | ○ |
| 中央 | 一緒の処方なし | | 一緒の処方なし | |
| 栃尾 | ○ | | ○ | |
| 三条 | ○ | | ○ | |
| 豊栄 | | ○ | 一緒の処方なし | |
| 村上 | | ○ | | ○ |

2) 乳酸菌製剤の安定性

使用薬剤としては、ヘルニアシロップで用いられているケフラール®細粒、およびラックビー®微粒を用いた。ラックビー®は *Bifidobacterium longum* であることから、実験 I と同様に、嫌気性菌の培養を実施・同定し、MICを測定した。ラックビー®を培養し1株を分離した結果、グラム陽性桿菌で、溶血環がなく、カタラーゼ試験陰性であることより *Bifidobacterium* 属と同定した。MIC値は8 μg/mLであった。

当院ヘルニアシロップの処方より、ケフラール®300mg、ラックビー®1.0gを蒸留水で溶解し、100mLとした溶液を試験液① (CCL:3000 μg/mL) とした。これをMIC値8 μg/mLまで375倍希釈したものを試験液②とした。またコントロールとして、ラックビー®のみで同様に調製したものをそれぞれ試験液③、④とした。1.2.5.7日後、キョクトーHKブルセラ培地に1白金耳植菌し、37℃・48時間培養後コロニーを計数した。以下に結果を示す (表8)。

ケフラーール[®]のラックビー[®](*Bifidobacterium longum*)に対する影響

コロニー数の変動

| 経過日数 | 1 | 3 | 5 | 7 |
|------|-----|-----|-----|----|
| ① | 0 | 0 | 0 | 0 |
| ② | 1 | 0 | 0 | 0 |
| ③ | 300 | 200 | 175 | 98 |
| ④ | 2 | 0 | 0 | 0 |

考 察

抗生物質による消化器系の副作用を防止するために、乳酸菌製剤は薬効発現のため相当な耐性を有している必要がある。我々が測定したMIC値は、細菌検査でルーチンに実施されている検査と同様に行ったが、具体的な数値は得られなかった。メーカー等の資料によると、ラックビーR[®]はCCLに対しては1600 μ g/mL (ラックビー[®]: 6.25 μ g/mL) と耐性を獲得している。¹⁾

臨床において併用された場合、消化管内における抗生物質、乳酸菌製剤の動態の差等により安易な判断は出来ない。実際の併用で、下痢等の消化管症状が予防できたとの報告も多い^{2,3)}。今回の実験で、抗生物質に感受性のある耐性乳酸菌製剤があることが判明した。ラックビーR[®]以外は全て添付文書⁴⁻¹¹⁾、テトラサイクリン系のミノマイシン[®]と併用可能となっている。しかし今回の結果から、エンテロノンR[®]、エントモール[®]、ピオフィェルミンR[®]、およびラクスパン[®]では併用効果は期待できないことが推測された。山崎ら¹²⁾によると、耐性ではない乳酸菌製剤(ミヤBM[®])およびミノマイシン[®]を通常の10倍量マウスに投与したところ、有効成分である *Clostridium butyricum* は糞便中で検出限界以下になったと報告している。

赤痢等の感染性下痢、*Campylobacter* 腸炎等、腸管・腹腔内の感染症にホスホマイシンが用いられることがあるが、約半数の耐性乳酸菌製剤で感受性があり、併用効果はあまり期待できないと思われた。抗生物質と乳酸菌製剤を併用する場合、感受性を考慮に入れ選択することが望ましいと思われる。

抗生物質と乳酸菌製剤を混合した実験では、コントロール(ラックビー[®]1g/100mL溶液)でも日数の経過とともにコロニー数の減少が見られた。混合した場合は、1日目以後にはコロニーが見られなくなった。抗生物質と乳酸菌製剤をシロップ剤に混合し調製する場合、散付水剤にする必要がある。今回の結果を踏ま

え、院内約束処方であるヘルニアシロップ中のラックビー[®]を削除することになった。

今日、ピリドンカルボン酸系合成抗菌剤であるニューキノロン剤、ペムネ系抗生剤等の新規薬剤が臨床に使用されている。今回のMIC値の測定では、これらの薬剤が含まれていなかったことなど反省点も多い。また実験はin vitroで実施したため、薬剤感受性でしか判断することが出来なかった。乳酸菌製剤の、抗生物質に起因する下痢の予防・治療に対する効果を検討する場合、生体を用い検討する必要性もあると思われた。

謝 辞

今回の実験でアドバイスをいただきました、細菌検査室平山てる子、渡辺直樹両技師に深謝します。

参考文献

- 1) 耐性乳酸菌製剤ラックビーRの各種抗生物質、化学療法剤に対する耐性度、日研化学資料
- 2) 辻野芳弘：アンチビオフィルス[®]の使用経験、基礎と臨床 15(4):2127-2130,1981.
- 3) 多剤耐性活性乳酸菌製剤(ピオフィェルミンR[®])の使用経験、小児科臨床、35:1408-1411,1982.
- 4) アンチビオフィルス[®]細粒添付文書
- 5) エンテロノンR[®]添付文書
- 6) エントモール[®]散添付文書
- 7) ラックビーR[®]添付文書
- 8) ピオフィェルミンR[®]添付文書
- 9) ポリラクトン[®]ミドリ添付文書
- 10) ラクスパン[®]添付文書
- 11) レベニン[®]添付文書
- 12) 山崎喜久雄、宮川夏樹、湯沢隆義：抗生物質併用がミヤBM[®]細粒に及ぼす影響についての基礎的検討、J.New Remedies & Clinics 45(4):871-876,1996.
- 13) 松山耐至、山本景子、小田 仁：乳酸菌製剤の抗菌剤感受性について、薬理と臨床 5(11):1995-1998,1995.
- 14) 戸田忠夫、武谷健二編：「戸田細菌学」、南山堂、1982.
- 15) 酒井克治：「最新抗生剤要覧第7版」、薬業時報社、1990.
- 16) 西野武志：「化療ハンドブック第3版」、第一製薬、1996.

Antibiotic Sensitivity of Lactic Acid Bacteria Preparations

Tsugukazu Fujii^{*1)}, Sumie Wakatsuki^{*1)}, Koji Okubo^{*1)}
Shichiro Watanabe^{*1)} and Katsuyoshi Fujita^{*2)}

Methods : We investigated the preventive effects of various resistant lactic acid bacteria preparations on the diarrhea, etc., that occurs as a side effect of antibiotics by measuring MICs and comparing them. In addition we conducted a questionnaire survey on methods of preparing syrups in Koseiren hospitals and investigated the stability of lactic acid bacteria preparations when mixtures with antibiotics were prepared in syrups for children. Results: Some of the lactic acid bacteria preparations that were thought to be resistant to antibiotics exhibited sensitivity. When mixed in syrups the lactic acid bacteria preparations gradually lost viability as each day passed. Conclusion: It seems advisable to consider sensitivity and to be selective when lactic acid bacteria are used with antibiotics. When preparing mixtures they should be in equal different packages that are made into a dispersed aqueous solution. Lactic acid bacteria preparations are no longer included in the coded prescription Hernia syrup at our hospital.

Key words: antibiotics, diarrhea, resistant lactic acid bacteria preparations, preventive effect, stability

^{*1)} *Department of Pharmacy, Murakami General Hospital*

^{*2)} *Department of Clinical Raboratory, Murakami General Hospital
Tabatamachi2-17, Murakami Niigata958-0854*