

無菌室治療の臨床細菌学的研究-1-腸管内常在細菌叢の抑制について

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8765

無菌室治療の臨床細菌学的研究

〔I〕腸管内常在細菌叢の抑制について

金沢大学大学院医学研究科内科学第3講座（主任：服部絢一教授）

丹 羽 和 夫

（昭和54年1月16日受付）

急性白血病などの重症血液疾患に合併する感染症は、顆粒球減少、出血傾向、細胞性および液性免疫の低下などが種々の程度に絡み合って重篤な経過をたどるため、原疾患の治療の大きな障害となっている^{1)~4)}。また、治療のための抗癌剤や免疫抑制剤の投与が、このような生体側要因をさらに増悪させ、感染症を誘発している。感染症の治療や予防に、顆粒球や血小板の輸注、γ-グロブリンや免疫賦活剤の投与などが試みられている。しかし、依然として、感染症は急性白血病の死因のうちで大きな割合を占めている。

一方、感染症の原因菌から眺めると、Klebsiella, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa などのグラム陰性桿菌が大半を占め⁵⁾、これらは主に腸管内の常在菌として見出されることが多い。したがって、清浄な環境に無菌化した患者を収容し、疾患本来の治療を行うという無菌室治療は、きわめて合理的な感染予防対策といえる。

無菌室 (bioclean room)⁶⁾ は、high efficiency particulate air (H.E.P.A.) フィルターの導入によってほぼ確立されたといってよい。しかし、常在細菌叢特に腸管内細菌叢は、多種類の菌群が多数存在するため、その抑制はきわめてむずかしく、種々の抗生剤処方が考案されているものの、これといって確実なものはない。これらの処方文献^{7),8)}上より考察すると、gentamicin (GM), vancomycin (VCM), nystatin (NYS) からなるGVNは最も簡単な処方であり、菌叢抑制効果が優れているという印象を受けた。この処方は、本邦で最初の試みであるが、今後の無菌室治療の基礎となるものと考え、臨床細菌学的な立場からこれに基礎的検討を加えた。

対象と方法

1. 当科における無菌室治療の概要

当科に設置された無菌室は Fig. 1 に示す配置で、垂直層流方式を取り入れた NASA 基準で級別 1,000 の2室と級別 10,000 の1室を具備している。各室には、物品の出し入れのためのパスボックス、インターロック式の電子レンジ、処置用の小窓が設けられている。また、室外には娯楽用のテレビが備え付けてある。

無菌室は患者入室直前に1昼夜ホルマリン薫蒸したのち、十分に換気を行い、患者の入室に備えられた。日用品はできる限りホルマリン薫蒸前に無菌室内に持

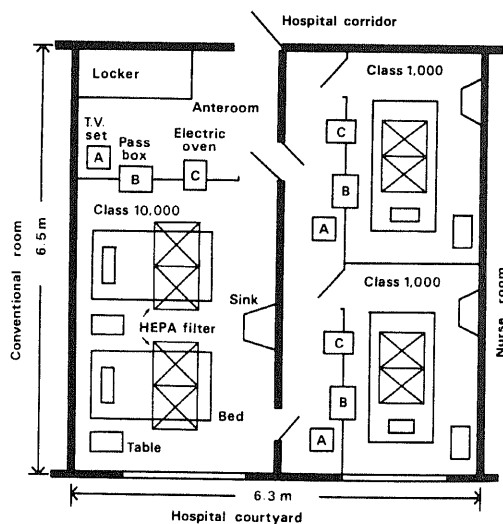


Fig. 1. Bioclean room used in our clinic

Clinical and bacteriological studies on protected environment-prophylactic antibiotic program. [I] The suppression of intestinal flora. **Kazuo Niwa**, The Third Department of Internal Medicine, (Prof. K. Hattori), Kanazawa University School of Medicine, Kanazawa.

Table 1. GVN antibiotic regimen

Gentamicin sulfate	240mg
Vancomycin hydrochloride	500 mg
Nystatin	3.0 million units
Every 6 hours	

Table 2a Isolation media in aerobic culture

1. Blood agar*
2. PEA azide agar 'Eiken'
3. BTB agar 'Eiken'
4. MacConkey agar 'Eiken'
5. Mannitol salt agar 'Eiken'
6. EF agar 'Eiken'
7. NAC agar 'Eiken'
8. DHL agar 'Eiken'
9. Sabouraud dextrose agar 'Eiken'
10. Candida GS agar 'Eiken'
11. Rogosa agar¹⁸⁾

* Tryptosoy agar with 5% sheep blood.

Table 2b Isolation media in anaerobic culture

1. GAM agar 'Nissui'
2. CW agar base 'Nissui' with 5% sheep blood
3. Modified FM agar 'Nissui'
4. Bacteroides agar 'Nissui'
5. Clostrisel agar 'BBL'
6. Veillonella agar 'Difco'
7. Rogosa agar

ち込むようにし、物品の出し入れはすべてパスボックスを通して行っている。

食事は本学付属病院の調理部で汚染に注意して十分に加熱調理された。これに上述の壁取付け電子レンジの中で、5～10分間マイクロ波照射を行い無菌食として患者に与えた。また、滅菌水の供給のため紫外線流水殺菌装置⁹⁾を用いた。

腸管内菌叢の抑制を目的とした GVN 処方 Table 1 に示した。これは Bodey ら⁷⁾および Preisler ら⁸⁾の報告を参考にした処方で、臨床例では菌叢の抑制状態に応じて多少の変更を加えた。

2. 研究対象

対象とした volunteer は 3 名の医師で、7 日間無菌室に入室した。この間、それぞれの volunteer に GVN 処方準じて GM, VCM, NYS の各単剤を経口投与した。抗生剤投与に伴う便菌叢の変動、抗生剤の便中濃度や腸管からの吸収、分離菌の GM および VCM に対する感受性の推移を検討した。また、投与前後の肝機能、腎機能などの血液化学検査も行った。

3. 研究方法

1) 便の培養検査

便は自然排泄したものを採取し、直ちに培養検査に供した。まず、便 2g を秤量し 8 ml の GAM ブイヨン(日水)を加え、十分に解きほぐしガーゼで濾過したものを 0.2g/ml の検液とし 10 倍段階希釈を行った。それぞれの 0.05 ml を分離用平板に滴下し、コンラジ棒で均一に塗抹したのち好気および嫌気培養を行った。好気培養は 37℃、24 時間、嫌気培養は GasPaK 法で、37℃、72 時間とした。各培地平板上に発育した集落数より便 1g あたりの生菌数を算定した。平板上に発育した菌群のうち最も高い菌数を真の菌数とし、得られた各菌群の総計をもって総生菌数とした。なお、本研究に使用した分離培地を Table 2a, b に示した。同定は Cowan & Steel の成書¹⁰⁾に従い、嫌気性菌については Holdeman ら¹¹⁾の方法を参考にし、グラム染色および代謝産物のガスクロマトグラフィーの所見から属までの同定にとどめた。

2) 投与抗生剤の便中濃度および腸管からの吸収量の測定

便中濃度測定のための便の採取は先に述べたと同様に行い、希釈には 0.1M 磷酸緩衝液 (pH 7.4) を使用した。血清は抗生剤投与前および投与 7 日目に採血した。これは抗生剤が生体内に蓄積する可能性を考慮に入れて投与最終日とした。尿は 1 日全量を十分に攪拌してその一部を測定に供した。

検体中の抗生剤濃度の測定は、*Baillus subtilis* ATCC 6633 を検定菌とした重層カップ法で行った。低濃度測定のためには、7 ml の種層のみを用い薄層カッ

ブ法を行った。標準曲線は上記の緩衝液を使用した。

3) 薬剤感受性試験

上述の3名のvolunteerを含む医療従事者および病棟入院患者の便より分離した15菌属、501株を対象菌株とした。使用薬剤は、GM、VCM、NYSの3剤で、薬剤感受性は日本化学療法学会標準法¹²⁾による最小発育阻止濃度(MIC)の測定で行った。

嫌気性菌については、本邦でまだ標準法がないため以下の方法で実施した。増菌用培地にはGAMブイヨン、感受性測定用培地にはGAM寒天培地(日水)を使用した。なお、対象菌株としては好気性菌に準じてブドウ球菌209P株を用いた。接種用菌液の調整には、GAMブイヨン10mlを中試験管に分注、滅菌後脱気し、毛細管ピペットでその底部に接種、37℃、18時間培養後、測定にはこれを原液接種した。この菌液の生菌数は、菌株によって多少の違いはあったが、ほぼ $10^8 \sim 10^9$ /mlであった。菌を接種した平板はGasPak法で、37℃、48時間培養後に判定した。その他の操作は好気性菌の場合に準じた。

NYSに対するCandidaの感受性検査には、増菌用としてサブロー寒天培地(栄研)より寒天を濾過して

用い、感受性測定用培地としてサブロー寒天培地を用いた。操作は好気性菌の場合に準じた。なお、NYSの溶解のためジメチルホルムアミドを使用し、4000 μ g/mlの溶液を作り、0.1M 磷酸緩衝液(pH 7.0)で希釈した。

4) GMとVCMの併用による相互作用

MICの測定に供した菌株のうちで、適当な菌株E.coli, Veillonella, Bacteroidesのそれぞれ1株を用いて寒天平板希釈法で判定した。すなわち、GMとVCMの各種濃度の組合せで2剤含有平板を作製し、MICの測定に準じて判定した。

結 果

1. GVNの各単剤投与に伴う便菌叢の変動

Table 3にGM投与例における便菌叢の変動を示した。投与7日目には、好気性菌、嫌気性菌を含む広範囲に及ぶ菌群が抑制され、わずかにBacteroides, Clostridium, Candidaが残存した。しかし、総菌数に変化はみられなかった。投与中止7日目には、ほぼもとの菌叢に回復した。なお、Candidaは投与中に著明な増加を認めたが、投与中止とともにもとの菌数にもどった。

Table 3. Numerical changes in fecal flora during the administration of gentamicin

Day of study	Pre-entry	3	7	14
		[G M 960mg/day]		
Fecal flora				
Total count	9.8*	10.1	10.0	10.2
Escherichia coli	6.8			8.7
Klebsiella				8.0
Enterobacter	4.0			
Citrobacter	5.0			
Staphylococcus				4.0
Streptococcus	6.6			7.6
Bacillus	2.8			3.0
Corynebacterium	3.7			
Peptostreptococcus	9.1			
Lactobacillus	6.5			8.7
Bifidobacterium	9.2			9.0
Clostridium			8.8	9.1
Veillonella				9.0
Megasphaera	6.7	3.0		
Bacteroides	9.5	10.1	9.9	10.0
Candida	4.2	7.1	6.9	6.2

* Log bacterial counts

Table 4 に VCM 投与例における便菌叢の変動を示した。好気性菌ではグラム陽性菌が抑制され、嫌気性菌では GM 投与で抑制されなかった *Bacteroides*, *Clostridium* の他 *Peptostreptococcus*, *Bifidobacterium* が抑制された。ただし、*Clostridium* の抑制にはやや日数を要したが、これは本菌が孢子型菌であることが関係していると思われる。また、GM 投与例に比べ、総菌数が投与前の約 1% に減少した点が特徴であり、抑制されずに残存した菌の overgrowth は認められなかった。なお、*Candida* は軽度の増加にとどまった。

NYS 投与例では、*Candida* についてのみ調査し、投与前 6.0×10^4 / g、投与中は検出されず、投与中止後 1.2×10^4 / g とともに回復した。

2. GM および VCM の便中濃度および腸管からの吸収

Fig.2 に GVN 処方準じて GM240 mg および VCM500 mg を 1 日 4 回経口投与した時の便中濃度を示した。同一日に 2 点以上を記載してあるのは、便の部位により抗生剤濃度にばらつきがあることを示している。GM では、 $1150 \sim 2350 \mu\text{g/g}$ 、VCM では、 $2500 \sim 4750 \mu\text{g/g}$ であった。

血中濃度は、GM、VCM 投与例ともに最低測定限度

(GM: $1.25 \mu\text{g/ml}$, VCM: $2.5 \mu\text{g/ml}$) 以下であった。GM 投与例の尿中濃度は、 $4.0 \sim 12.0 \mu\text{g/ml}$ で、尿中排泄量は 1 日投与量の 0.5 ~ 1.1 % であった。VCM 投与例では、最低測定限界以下であった。

3. 便中分離菌の薬剤感受性分布の推移

上述した便中濃度の成績から、本研究における感性和耐性の境界濃度を GM: $800 \mu\text{g/ml}$, VCM: $1600 \mu\text{g/ml}$ に設定した。

GM 投与例より分離された腸内細菌、*Bifidobacterium*, *Bacteroides* の GM に対する感受性分布の推移を Fig.3 に示した。腸内細菌では投与前後で MIC は変化しなかったが、嫌気性菌では投与中止後に耐性菌が優勢を占める場合がみられた。投与中に出現した *Bacteroides* はすべて GM 耐性、VCM 感性であった。

VCM 投与例より分離された *Peptostreptococcus*, *Veillonella*, *Bacteroides* の VCM に対する感受性分布の推移を Fig.4 に示した。投与前後で分離菌の MIC 分布にほとんど変化はみられなかった。VCM 投与中に出現した *Veillonella* はすべて GM 感性、VCM 耐性であった。

4. 医療従事者および病棟入院患者の便分離菌の GM および VCM 感受性

Table 4. Numerical changes in fecal flora during the administration of vancomycin

Day of study	Pre-entry	3	7	9	20
		[V C M 2000mg/day]			
Fecal flora					
Total count	10.6*	8.2	8.8	10.0	9.7
<i>Escherichia coli</i>	8.4	8.0	8.0	8.6	6.8
<i>Klebsiella</i>	8.2	7.0	7.9	8.6	7.9
<i>Enterobacter</i>	7.4	7.5	7.0	7.5	6.4
<i>Citrobacter</i>	6.3	7.3	8.6		5.0
<i>Proteus</i>				8.3	
<i>Staphylococcus</i>	3.3			4.0	2.6
<i>Streptococcus</i>	8.5			8.8	5.5
<i>Bacillus</i>	4.8			2.5	3.0
<i>Peptostreptococcus</i>	7.0			8.5	9.0
<i>Lactobacillus</i>	5.1	6.5	5.7	6.2	4.0
<i>Bifidobacterium</i>	10.0			6.5	9.3
<i>Clostridium</i>	10.0	5.3		9.9	7.7
<i>Veillonella</i>	8.4	5.0	5.3	8.4	7.6
<i>Bacteroides</i>	10.3			8.1	9.3
<i>Fusobacterium</i>				5.7	
<i>Candida</i>	3.5	4.6	4.4	4.5	3.4

*Log bacterial counts

上述した volunteer における検討から, GVN 処方によって腸管内菌叢の全般的な抑制が可能であることが推察されたが, このことを一般化するため多数の菌株の薬剤感受性を調査した。

便から分離した好気性菌 187 株, 嫌気性菌 294 株に対する GM および VCM の MIC を測定し, 同じ菌群に対する両剤の感受性の対比図を作って検討したところ, 好気性菌はすべて GM 感性であったが, 腸球菌を除く各菌群に VCM 耐性株がみられた。特に, Fig. 5 のように *P.aeruginosa* ではすべての株が VCM 耐性であった。一方, 嫌気性菌では, *Clostridium*, *Bacteroides* が GM 耐性であったが, これらはいずれも VCM 感性であった。ただし, Fig. 6 に示したように, *Bacteroides* の一部には GM 感性, VCM 耐性株がみられた。以上のように, 調査した全菌株が GM と VCM の両剤あるいはその 1 剤に感性であった。また, 20 株の *Candida* に対する NYS の MIC は $12.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下で感性であった。

5. GM と VCM の併用による相互作用

Fig. 7 に *E.coli*, *Veillonella*, *Bacteroides* のそれぞれ 1 株について相互作用を検討した成績を示した。いずれの菌株においても拮抗作用はみられず, 相加的に作用する傾向がみられた。

6. 無菌室入室, GVN 投与に伴う精神的, 身体的変化 7 日間無菌室に入室した 3 名の volunteer は, 入室

期間中に拘禁症状などの精神的变化は全く出現しなかった。また, 大量の抗生剤投与にもかかわらず, 悪心, 嘔吐, 下痢, 消化不良などの消化器症状はみられなかった。ただ, 排便回数が 1 日 2~3 回となり, 軟便傾向を示した。本学中央検査部に依頼して行った血液化学検査の成績は, Table 5 に示したように GVN 投与前後で著変はなかった。

考 察

腸管内常在細菌叢は, 拮抗と共存の複雑な相互関係の上に一面では感染防御機構の一端を受け持っている¹³⁾。しかし, 最近抗癌剤や免疫抑制剤が大量かつ頻繁に使用されるにつれて, 感染症の様相も大きく変貌し, これらの常在菌が感染症の原因菌として注目されるようになった。また, 生体の全身抵抗力の低下が菌叢構成に変動を来たことが示唆されている¹⁴⁾ことから, 外来性の菌の定着を容易にしているとも考えられる。

特に, 急性白血病や再生不良性貧血などの重症血液疾患では, このような菌叢構成の破綻以外に顆粒球減少や出血傾向といった宿主側要因も等閑視するわけにはいかない。このために, 原疾患に対する充分な治療を受ける以前に感染症を併発して死亡することも稀でない³⁾。敗血症などの重症感染症の治療に, 抗生剤療法に加えて顆粒球輸注が推奨されているが, 実際上問題点も

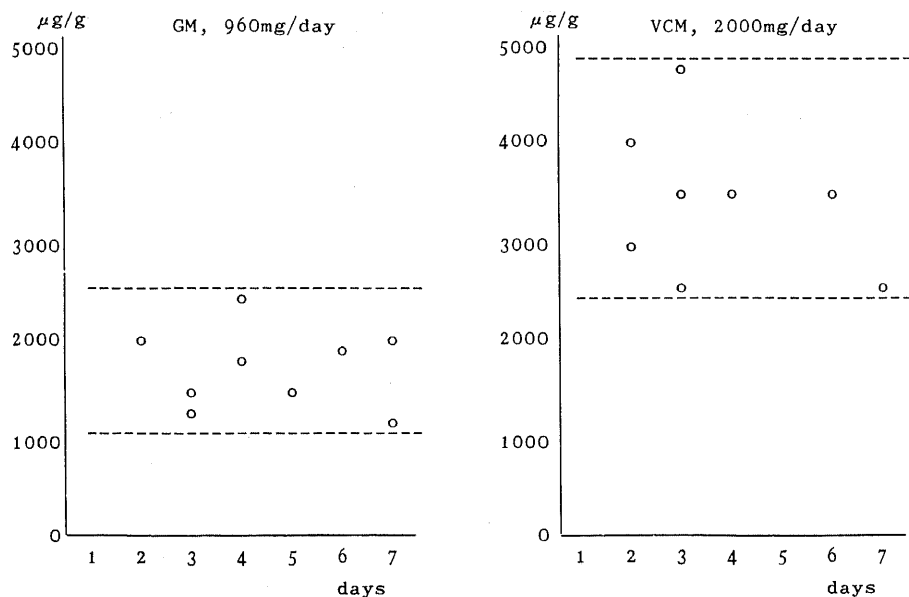


Fig. 2. Fecal level of gentamicin and vancomycin

多く、さらに顆粒球数 $100/\text{mm}^3$ 以下の状態が2週間以上も続く症例では、たいてい予後が悪いようである¹⁵⁾¹⁶⁾。

一方、菌と生体との相互関係がもっと詳細に解明されれば、たとえば人工菌叢を作りこれを操作するなどして、感染予防に役立てることができのかも知れない。しかし、現状としては常在菌のすべてが感染の原因菌

になる可能性を想定して、この対策を考慮しなければならない。

このような観点から、無菌室治療は菌と生体との接触を遮断しようという目的で実施されている。本稿では、この主要な要素であるが、きわめてむずかしい腸管内細菌叢の抑制について検討した。GVN処方米国を中心にかんりの臨床検討があり、3剤ともに腸管か

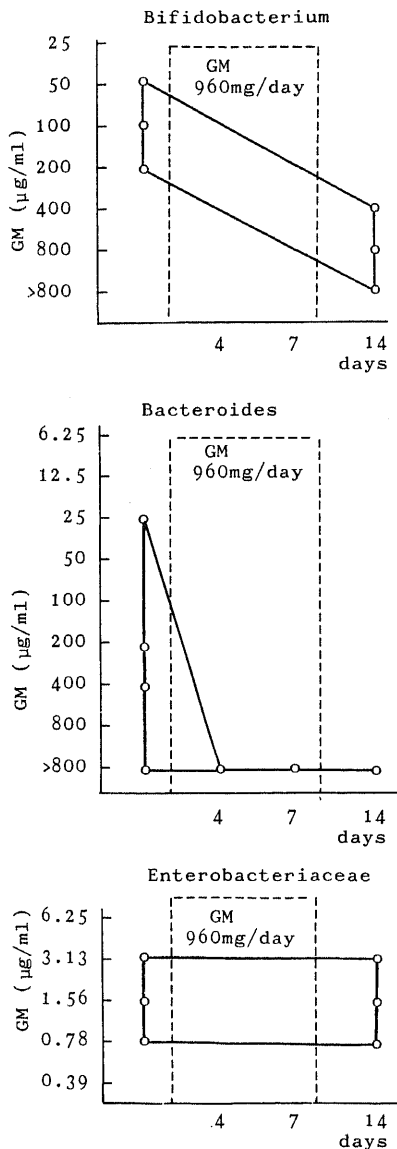


Fig. 3. Serial changes in MICs of fecal bacteria isolated from a volunteer tested with gentamicin

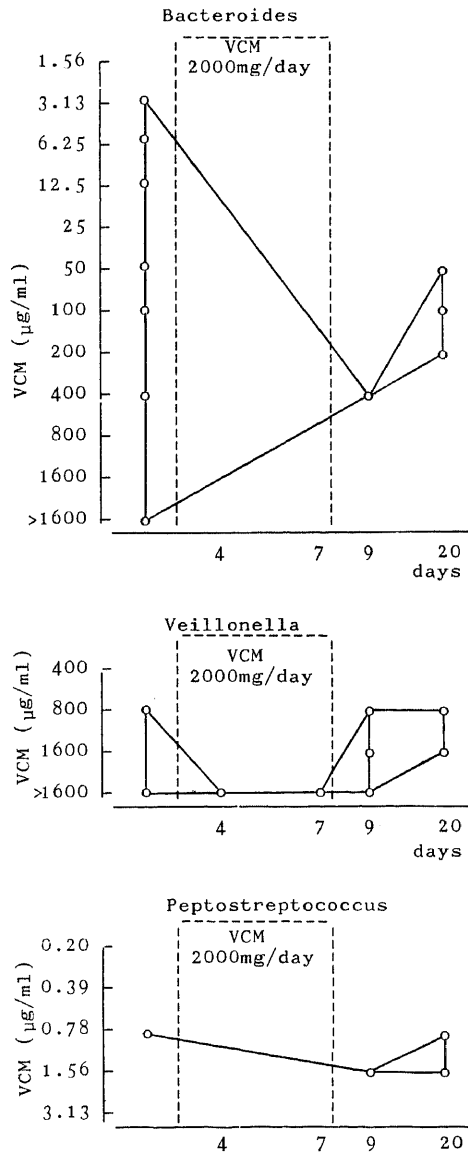


Fig. 4. Serial changes in MICs of fecal bacteria isolated from a volunteer tested with vancomycin

らほとんど吸収されないということが共通した特徴点である。しかし、臨床細菌学的な立場からの解析、すなわち菌叢構成の変動に言及した報告はほとんどない。

本研究では、それぞれ単独の抗生剤について検討することを目的とし、GVN 処方での投与は行わなかった。GVN の各単剤投与による腸管内細菌叢の変動をみると、GM 投与では、*Clostridium*, *Bacteroides*, *Candida*

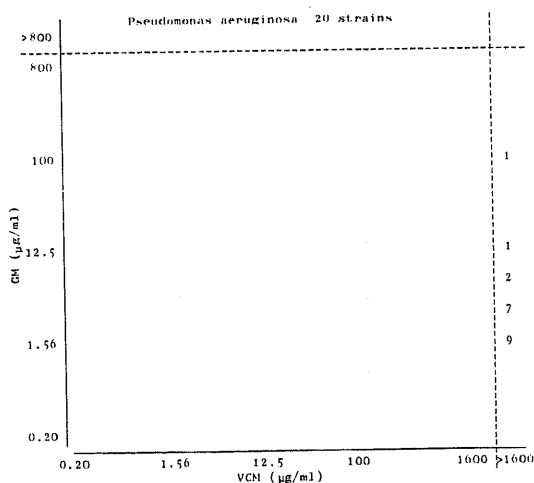


Fig. 5. MICs of gentamicin and vancomycin against fecal bacteria

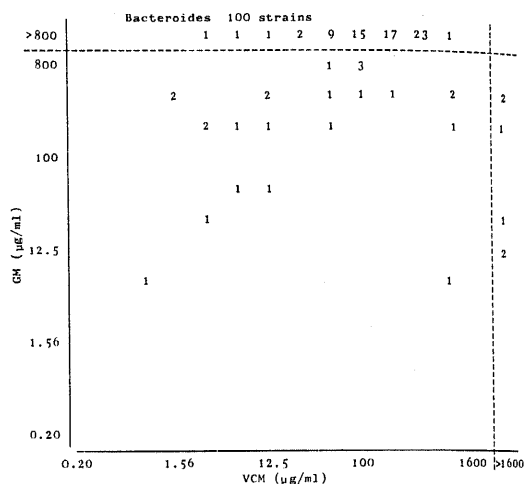


Fig. 6. MICs of gentamicin and vancomycin against fecal bacteria

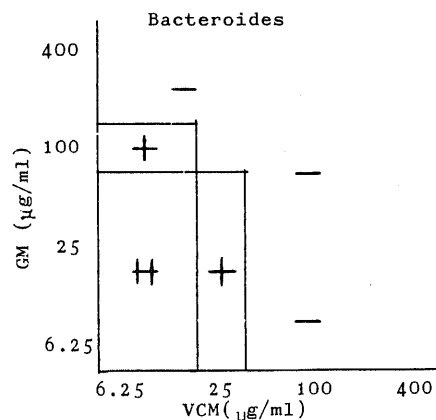
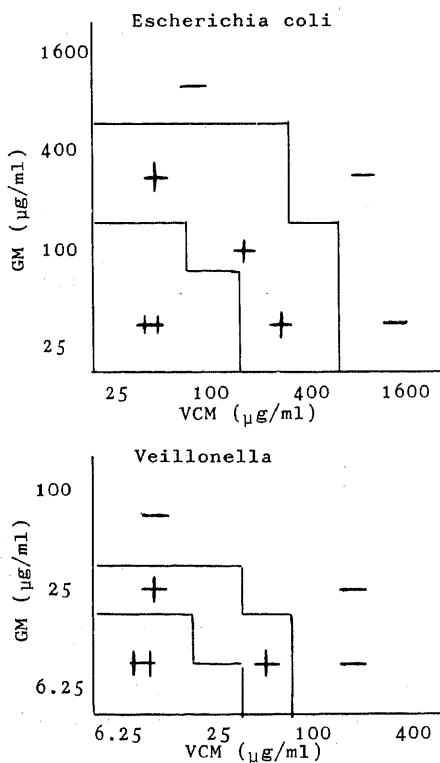


Fig. 7. Drug interaction of gentamicin and vancomycin

Note: -, + & ++ mean no, poor and profuse growth in medium. All patterns apparently show additive effect.

を除く広範囲の菌群が抑制され、これらの抑制されなかった菌群は、VCM あるいは NYS の投与で抑制された。また、抗生剤投与中に出現した菌群はすべて投与抗生剤には耐性で、他の 2 剤又は 1 剤に感性であった。以上の検討から、GM、VCM、NYS の併用によって腸内細菌叢が全般的に抑制されることが示された。また、この成績は、耐性と感性の境界濃度の設定が妥当であったことを示している。さらに、多数の便分離株の薬剤感受性試験でも 3 剤すべてに耐性を有する菌株は検出されず、薬剤相互作用に関しては、GM と VCM の間に拮抗作用はなく、相加的に作用する傾向がみられた。

抗生剤投与中止後は数日以内にもとの菌叢に回復した。このことは投与抗生剤に感性菌といえども、完全に死滅するわけではなく抑制されていたに過ぎないことを示唆している。あるいは、腸腺窩などに潜む菌は、有効濃度の抗生剤に接触しないで生き残るのかもしれない。

Greene ら¹³⁾は、GVN 処方を用いた無菌室治療中に GM 耐性の *Paeruginosa* が出現したと報告している。このことは将来最も危惧される問題点であることから、抗生剤投与前後の薬剤感受性分布を検討した。ただし、この成績は同一菌における検討ではないために耐性化の有無を即断できない。嫌気性菌では、GM 投与中止後 GM 耐性菌が優勢を占めたが、少なくとも腸内細菌に関しては耐性菌の出現はみられなかった。

無菌室入室中に、原疾患の悪化に伴って、精神症状が出現した症例の報告がみられる¹⁾。今回の検討では、入室期間が 7 日間という短期間であったためか拘禁症状などの精神的変化は全く認められなかった。これは、対象となった 3 名が医師で、本研究の目的を充分理解していたことも関係しているかもしれない。また、投

与する抗生剤が大量であることや菌叢構成の大きな変動によって、悪心、嘔吐、下痢などが心配されたが、これらの副作用は一切認めなかった。腸管からの GM、VCM の吸収量も、全身的に投与される常用量と比較するときわめて少ない量であった。

結 論

腸管内細菌叢の抑制は、無菌室治療の重要な要素とされている。このための抗生剤処方として、GVN 処方 (GM:240 mg, VCM:500 mg, NYS:300 万単位 Q.I.D.) に検討を加えた。3 名の医師を対象に GVN 処方に準じて、各単剤を投与し、臨床細菌学的な観点から解析を加え、以下の成績を得た。

1. GVN の各単剤投与試験において、おもに GM は好気性菌、VCM は嫌気性菌、NYS は真菌を抑制するといった具合に、抑制される菌群の範囲にはそれぞれ特徴があり、3 剤の併用によって腸管内細菌叢を構成する全菌群が抑制されることが推定された。

2. 抗生剤の便中濃度をもって耐性と感性の境界濃度の指標とし、GM:800 $\mu\text{g}/\text{ml}$, VCM:1600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と設定した。GVN の各抗生剤投与中の便分離菌の MIC を測定したところ、投与抗生剤には耐性であったが、他の 2 剤あるいは 1 剤に感性であった。

3. 医療従事者および病棟入院患者から分離した多数の便分離株で、3 剤耐性を有する菌株は検出されなかった。

4. GM と VCM の間には、拮抗作用はみられず、相加的に作用する傾向がみられた。

5. GVN の単剤投与による副作用はほとんどなく、GM および VCM の腸管からの吸収もきわめて少ない量であった。

Table 5. Laboratory findings before and after the administration of oral antibiotics

	GM		VCM		NYS	
	before	after	before	after	before	after
Total protein (g/dl)	6.9	7.0	7.5	7.3	8.3	8.3
Al-p (13-48 u.)	26	25	18	18	27	31
GOT (0-17 u.)	7	8	11	13	9	11
GPT (0-13 u.)	7	9	6	11	6	11
Total cholesterol (mg/dl)	ND *		ND		150	144
BUN (mg/dl)	14	12	18	21	12	13
Creatinine (mg/dl)	0.9	0.9	1.2	1.1	0.9	1.0

* not done

以上の成績から、無菌室治療における腸管内細菌叢の抑制を目的とした GVN は、引き続き行う重症血液疾患に対する臨床応用に充分耐えうる処方であろうという結論に達した。

文 献

- 1) Bodey, G. P., Buckley, M., Sathe, Y. S. & Freireich, E. J. : Quantitative relationship between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. *Ann. Intern. Med.*, **64**, 328 - 340 (1966).
- 2) Myerowitz, R.L., Medeiros, A.A. & O'Brien, T.F. : Recent experience with bacilleemia due to gram-negative organisms. *J. Infect. Dis.*, **124**, 239 - 246 (1971).
- 3) Levine, A.S., Schimpff, S.C., Graw, R.G., Jr., & Young, R.C. : Hematologic malignancies and other marrow failure states: Progress in the management of complicating infections. *Semin. Hematol.*, **11**, 141 - 202 (1974).
- 4) 舟田久, 服部絢一: 血液疾患における感染症 - 宿主側の発症要因 - 急性白血病に併発する敗血症の場合 - 最新医学, **31**, 1315 - 1321 (1976).
- 5) Bodey, G.P., Rodriguez, V., Chang, H.Y. & Narboni, G. : Fever and infection in leukemic patients. A study of 494 consecutive patients. *Cancer*, **41**, 1610 - 1622 (1978).
- 6) 都築正和: 病院に於けるバイオクリーン技術, 臨床と研究, **53**, 84 - 90 (1976).
- 7) Bodey, G.P., Hart, J., Freireich & Frei, E. III : Studies of a patient isolator unit and prophylactic antibiotics in cancer chemotherapy. General techniques and preliminary results. *Cancer*, **22**, 1018 - 1026 (1968).
- 8) Preisler, H.D., Goldstein, I.M. & Henderson, E.S. : Gastrointestinal sterilization in the treatment of patients with acute leukemia. *Cancer*, **26**, 1076 - 1081 (1970).
- 9) 栃久保邦夫, 小塚論: 紫外線流水殺菌装置の殺菌効果について, 医器誌, **46**, 237 - 242 (1976).
- 10) Cowan, S.T., & Steel, K.J. : *Manual for the identification of medical bacteria.*, Cambridge University Press, Cambridge, 1973.
- 11) Holdeman, L.V. & Moor, W.E.C. : *Anaerobe laboratory manual*, 3rd ed., Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia, U.S.A., 1975.
- 12) 日本化学療法学会 MIC 測定法改定委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改定について, *Chemotherapy*, **22**, 1126 - 1128 (1974).
- 13) 佐々木正五: 腸管と感染 (佐々木編), 38 - 71 頁 東京, 朝倉書店, 1971.
- 14) Shechmeister, I. L., Paulissen, L. J. & Fishman, M. : Sublethal total body X-radiation and susceptibility of mice to *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **83**, 205 - 209 (1953).
- 15) Alavi, J.B., Root, R.K., Djerassi, I., Evans, A.E., Gluckman, S.J., MacGregor, R.R., Guerry, D., Schreiber, A.D., Shaw, J.M., Koch, P. & Cooper, R.A. : Randomized clinical trial of granulocyte transfusions for infection in acute leukemia. *N. Engl. J. Med.*, **296**, 706 - 711 (1977).
- 16) Herzig, R.H., Herzig, G.P., Graw, R.G., Jr., Bull, M.I. & Ray, K.K. : Successful granulocyte transfusion therapy for gram-negative septicemia. A prospectively randomized controlled study. *N. Engl. J. Med.*, **296**, 701 - 705 (1977).
- 17) Greene, W. H., Moody, M., Schimpff, S., Young, V.M. & Wiernik, P.H. : Epidemiologic and clinical aspects in a cancer center. *Ann. Intern. Med.*, **79**, 684 - 689 (1973).
- 18) Rogosa, M., Mitchell, J.A. & Wiseman, R.F. : A selective medium for the isolation and enumeration of oral and fecal *Lactobacilli*. *J. Bact.*, **62**, 132 - 133 (1951).