

Enduracidin の *Staph. aureus* 209 P 株増殖曲線におよぼす作用について

第 I 臨床検査科 徐 慶 一 郎

耳鼻科 三 辺 武 右 衛 門

関東通信病院

このたび新しく武田薬品工業株式会社により西宮市の土壌より分離された *Streptomyces fungicidicus* No. B 5477 の菌体より抽出された新抗生物質 Enduracidin は、構造上、塩基性で、有機結合の塩素をもつ Peptide 型抗生物質であることが証明され、グラム陽性球菌に対し、特異的に強い抗菌作用を示し、その際、試験管内で著明な殺菌作用を示すことが確かめられている。

そこでわれわれは、本物質ならびに、本物質投与後のヒト血液および尿の *Staph. aureus* 209 P 株に対する抗菌作用の作用型式を、Biophotometer (Jouan) を使用し、自動記録した増殖曲線の動きから検討した。

I. 実験材料と方法

1) Enduracidin 標準粉末

武田薬品より供与の精製粉末で、秤量後、少量のメタノールで溶解、次で、蒸留水で希釈、1 mg/ml の原液を作製、小試に分注凍結 (-20°C) 保存し、実験時、溶解適当濃度にブイオンで希釈使用した。

2) 使用培地

透明度が高く、菌の増殖率の高い Trypto-Soy Broth (BBL) を使用した。

3) 接種菌

当検査室保存の *Staph. aureus* 209 P 株をブイオンで 18 時間培養後、小試験管に 2 ml ずつ分注、凍結 (-20°C) 保存し、実験の都度溶解使用した。

4) ヒト検体

血液は、血清分離後、尿はそのまま、採取後なるべくすみやかに、いつたん凍結 (-60°C) 保存比較すべき 2~5 検体が集められたところで、溶解、対照 (培地のみ) と共に実験を行なった。

5) Biophotometer 使用の実際

滅菌したキューベット (10 ml 入) 6 個に、先ず菌液 (前述) 0.1 ml (10^5 生菌単位相当) を入れ、次でブイオンで適宜希釈した EDC あるいは EDC 投与後の検体を加え、さらに、ブイオンを追加、全量を 10 ml とした。ただし、増殖対数期初期に EDC を加えようとする時は、まず、菌液 0.1 ml にブイオン 9 ml を加え培養を始め、曲線が対数期に入ってから EDC ブイオン希釈列

の各 1 ml をそれぞれのキューベットに添加後培養を継続した。

II. 実験成績

1) EDC の 209 P 株に対する直接抗菌作用

a) 培養開始時期に EDC を加えた場合

培養の最初から EDC の 0.1, 0.03, 0.01, 0.003, 0.001 mcg/ml を加えておくと、0.1 mcg/ml で完全に増殖阻止がみられるが、0.03 mcg/ml 以下の濃度では、ブイオン対照との間に差が認められなかつた (Fig. 1)。この際の誘導期は 4.5 時間で、くり返しの実験においても、4.0~4.5 時間に一定化することができた。

b) 増殖期の初期に加えた場合

EDC の最終濃度が 10, 1, 0.1, 0.01 mcg/ml になるように、各キューベットに添加すると 10, 1 mg では、添加後、増殖曲線の下降がみられ、殺菌、かつ溶菌作用のあることが明らかにされた。また、0.1 mcg/ml では、いつたん増殖曲線の上昇が阻止されるが、一定時間後、再上昇することが認められた。0.01 mcg ではブイオン対照の曲線との間に差が認められなかつた (Fig. 2)。

Fig. 1 The growth inhibitory action of EDC upon 209 P strain

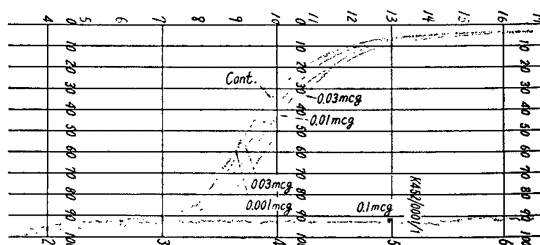


Fig. 2 The growth inhibitory action of EDC upon 209 P strain

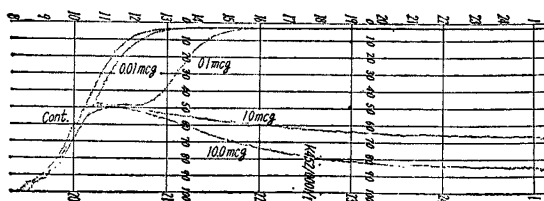


Fig. 3 The anti-staphylococcal growth inhibitory action of serum after administration of EDC

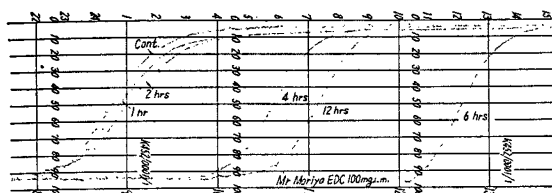


Fig. 4 The anti-staphylococcal growth inhibitory action of serum after administration of EDC

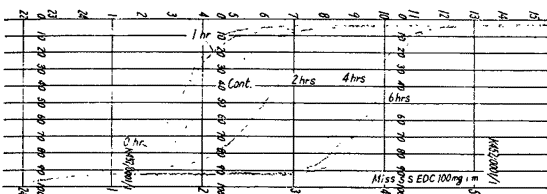
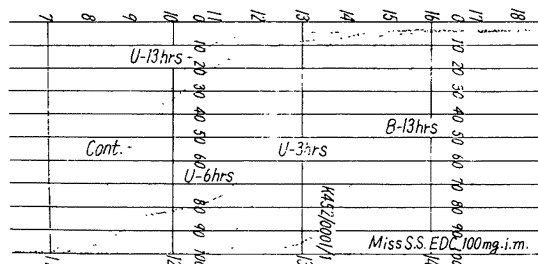


Fig. 5 The anti-staphylococcal growth inhibitory action of urine and serum after administration of EDC



2) EDC 投与後のヒト血清ならびに尿の 209 P 株増殖阻止効果

EDC 100 mg を筋肉内注射後、1, 2, 4, 6, 12, 24 時間後に採血、各血清について 209 P 株増殖阻止作用を増殖曲線におよぼす影響から検討すると、その作用は、誘導期 (Lag phase) の延長として認められ、増殖曲線では、一定時間後に、上昇してくることが認められた。

2 実験例について、誘導期の延長をそれぞれ測定してみると、第 1 例では、2 時間後までは、対照との間に差がなく、4 時間後では、はつきりし、6 時間後が最大で、12 時間でも強い抗菌力の存在が明かにされた (Fig. 3, 4)。なお、第 2 例では EDC 注射後、3, 6, 13 時間後の尿が集められ、その抗菌作用が検討されたが、血清に比し、むしろ低い抗菌効果が認められた (Fig. 5)。

III. ま と め

本物質は、試験管内実験で、強い殺菌力を有することが知られているが、さらに、増殖対数期の 209 P 株に対し著明な溶菌作用を呈することが増殖曲線の動きから確められた。また、本物質投与後の血清、尿は、長時間にわたり、抗菌作用を示すが、その作用は、静菌的で、試験管内で示された強い殺菌作用は期待に反して、明かにされなかつた。

本物質の筋肉内注射時、注射局所より吸収がおそく、血中濃度のピークがおおよそ注射 6 時間後にみられ、その後長時間血中に認められ、また尿中への排泄も、比較的悪いことが血清や尿の増殖曲線におよぼす作用から確かめられた。

THE GROWTH INHIBITORY ACTION OF ENDURACIDIN UPON *STAPH. AUREUS* 209 P STRAIN

KEIICHIRO JO & BUEMON SAMBE

Chief, 1st Dep. Clinical Laboratories, Chief, Dep. Oto-Rhino-Laryngology
KantoTeishin Hospital

The growth inhibitory action of enduracidin upon *Staph. aureus* 209P strain was investigated by analyzing the growth curve automatically registered by Biophotometer (Jouan).

The following data were elucidated by the experiment.

1) The growth of 209P strain was inhibited by EDC at the dosis of 0.1 mcg/ml when given at the beginning of the culture, and the action of EDC was demonstrated not only bactericidal but also bacteriolytic when the antibiotic was given at the beginning of the logarithmic growth phase.

2) The anti-staphylococcal growth inhibitory action after i.m. injection of EDC were also studied by the same method and the activities were evaluated as the prolongation of the lag phase.

The serum level of activities was proved to be highest at 6 hours after injection and retained for long period. On the contrary the excretion into the urine was proved to be smaller as expected before.