

## 外科領域における Enduracidin (EDC)

石山俊次・坂部 孝・古橋雅一・高橋右一 川上 郁・中山一誠・大島聡彦

日本大学 石山外科

## I. はじめに

武田薬品醸酵生産物研究所の基礎的研究によると、Enduracidin の生産菌は *Streptomyces fungicidicus* No. B 5477 で、主としてその菌体中にあり、塩酸性の含水溶剤で抽出したのち、carbon 吸着法で精製される。本品の遊離体は、塩基性 polypeptid 系の新抗生物質で、水に難溶性で、pH 3.5~7.5 では、きわめて安定である。化学構造式はまだ決定されていないが、C.H.O のほかに N および Cl を含む白色粉末である。In vitro および in vivo で、Gram 陽性球菌に対して強い抗菌力を示し、その安全性についても、内服あるいは筋肉内注射では毒性が低い。血液、肝、腎などに対する慢性毒性もはなはだ低い。

このような基礎的薬理的な実験成績をもとにして、臨床抽出試験を開始したのは、1966年9月で、同年12月23日、翌年4月8日の2回にわたって会議をもち、Enduracidin の臨床応用に関する基本的な討議を行なったのち、自由試験を開始し、その使用法、使用量、臨床効果および副作用などの研究を行なった。

討議の経過中に、とりあげられたおもな事項をあげてみると、おおむね次のようである。まず、本剤の体液内微量定量は、普通の他の抗生物質と同様な方法では行ない難い。武田研の低温量法は、よくその微量を把握することができるが、一般の臨床検査室で行なうためには、その特殊性のために不適当な点がある。その後各施設の研究では、若干の工夫をすれば、普通の方法でも定量可能であり、かつ、特殊な方法をもちいて定量したばあい、その臨床的な意味づけに関して別途考慮しなければならない。そのような理由から、当分の間は、定量法に特別な規制を設けることなく、その表示には、方法を附記することにした。試験菌には *B. subtilis*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* のいずれもが適当するが、その優劣については未定である。

次に、Enduracidin の抗菌力は、Gram 陽性球菌には 0.1~2.0 mcg/ml、抗酸菌にはほぼ 5.0 mcg/ml、淋菌にはほぼ 6.25 mcg/ml 以上の濃度で有効で、chlor-tetracycline とほぼ同程度であるが、Gram 陰性菌、かびおよび酵母には無効である。なお、他の Peptid 系抗

生物質である gramicidin, bacitracin より強力であるが、A 群溶連菌には BCT < B-77 < PC-G、ブドウ球菌、他の連鎖球菌に対しては、PC-G, BCT より強力であるという成績と、腸球菌にははなはだ強力であるが、他の連鎖球菌では PC-G に劣るという成績とがある。ガス壊疽菌、ジフテリア菌に対しては PC-G と同程度のようである。病巣ブドウ球菌の感受性分布は、その 55.5% が 0.8 mcg/ml 以下、100% が 1.56 mcg/ml 以下の濃度で発育が阻止される。

本剤の抗菌力は、アルカリ側でやや強いが、培地の pH の範囲では影響されない。血清の混在は抗菌力に影響しない。接種菌量によつてかなり異なつた値がでる。寒天培地の中で拡散がおそく、mikamycin の約 1/2 であることが、本剤の吸収排泄に、この性質がかなり影響するものと思われる。

100 mg 1 回筋注後の血中濃度は、その最高到達値が低く、おそく現われ持続が長い。連続筋注で蓄積性がみられるのは、その吸収が悪いためである。尿中排泄も、最高値が低く、遅延し、24 時間後の回収率は 1~5.8% である。臓器別では腎に最もよく移行するが、6 時間よりも 24 時間後の濃度のほうが高値である。

要するに Enduracidin は、その遅い拡散性に関連して、体液内での濃度は低く、遅延する。これが臨床効果にはどう現われるか、副作用として peptid 系抗生物質の中では、腎毒が少ない。しかし、腎集中性と相俟つて、腎障害者に使用するには細心の注意を払うべきであり、100 mg 1 回注射では、時にかなり強い局所疼痛がある。

これらの検討の結果を含めて、われわれの外科感染症に使用した成績をまとめてみると以下のようであった。

## II. 抗菌力におよぼす諸因子の検討

## 血 清

Heart infusion agar に馬血清 (極東) を 50%, 25%, 5% それぞれ添加し、*Staph. aureus* 209 P 株および *Staph. aureus* Smith 株に対する Enduracidin の最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。その結果 *Staph. aureus* 209 P 株では 5~50% 添加で血清の影響は認められなかつたが、*Staph. aureus* Smith 株では 50% 添加の際 1 段階の抗菌力の減弱を認めた (Tab. 1)。

pH

培地の pH 5, 6, 7, 8 の4段階についてみると *Staph. aureus* 209 P 株, *Staph. Smith* 株とも pH による培菌力の著しい影響は認められなかつた (Tab. 2)。

接 種

接種菌量  $10^6 \sim 10^8$  の段階について Enduracidin の MIC を測定した。*Staph. aureus* 209 P 株においてはこの範囲での抗菌力の差は認められなかつたが *Staph. aureus* Smith,

Table 5 Cross-resistance of EDC

<i>Staph. aureus</i>	TC	PC	SM	EM	CP	KM	MK	EDC
1	100	3.12	100	50	6.25	0.4	0.4	0.4 mcg/ml
2	>100	>100	>100	0.4	12.5	3.12	0.8	0.2
3	>100	>100	>100	0.8	12.5	6.25	0.8	0.4
4	>100	>100	>100	0.8	12.5	6.25	0.8	0.4
5	>100	1.56	>100	0.4	50	6.25	0.8	0.4
6	>100	>100	>100	>100	>100	6.25	3.12	0.8
7	>100	>100	>100	>100	12.5	3.12	1.56	0.8
8	>100	>100	>100	0.2	6.25	12.5	0.4	0.4
9	>100	>100	>100	0.2	6.25	3.12	1.56	0.8
10	>100	>100	>100	0.2	6.25	12.5	0.8	0.4

Table 1

Serum	<i>Staph. aureus</i> 209 P	<i>Staph. aureus</i> Smith
Cont.	0.8 mcg/ml	0.8 mcg/ml
5%	0.8	0.8
25%	0.8	0.8
50%	0.8	1.56

Table 2

pH	<i>Staph. aureus</i> 209 P	<i>Staph. aureus</i> Smith
5	0.8 mcg/ml	0.8 mcg/ml
6	0.8	0.8
7	0.8	0.8
8	0.8	0.8

Table 3

Cell counts	<i>Staph. aureus</i> 209 P	<i>Staph. aureus</i> Smith
$10^5$	0.4 mcg/ml	0.2 mcg/ml
$10^6$	0.4	0.4
$10^7$	0.4	0.4
$10^8$	0.4	0.8
Cont.	0.8	0.8

Table 4 Susceptibility distributions of *Staph. aureus* isolated from surgical field. 238 str.

MIC	≤0.2	0.4	0.8	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	mcg/ml ≥100
PC	52	12	10	18	29	22	16	7	14	58
SM	13	3	22	18	17	24	49	16	14	62
TC	15	39	43	24	24	19	4	5	5	60
CP	5		2	9	23	106	67	8	9	9
KM	13	19	15	35	28	43	68	4	2	11
MK	5	56	134	39	3	—	—	—	—	—
EDC	24	72	126	16	—	—	—	—	—	—

(10.1%) (30.2%) (52.9%) (6.7%)

株では  $10^6 \sim 10^7$  で control より1段階低い抗菌力を示した (Tab. 3)。

III. 病巣由来黄色ブ菌感受性分布

外科感染症より分離した coag. 陽性ブドウ球菌 238 株についての Enduracidin に対する感受性分布を測定した。

測定法は寒天平板稀釈法を用い、稀釈系列は 100 mcg/ml から 2 倍稀釈し、0.05 mcg/ml までにした。被検菌のペプトン水 18~24 時間培養液 1 白金耳 (直径 2 mm) を上記の稀釈系列の各濃度の薬剤を加えた HIA 培地に塗抹し、37°C 18 時間培養後、菌の発育を阻止する最小発育阻止濃度を測定した。

その成績は 0.8 mcg/ml 以下でその大部分の 222 株 (93.2%) が阻止された (Tab. 4)。

また TC 100 mcg/ml または 100 mcg/ml 以上の *Staph. aureus* coag. 陽性耐性ブ菌についての Enduracidin に対する感受性は Tab. 5 のごとくである。

IV. 病巣由来グラム陰性桿菌感受性分布

外科的感染症より分離した大腸菌 22 株、緑膿菌 20 株についての Enduracidin に対する感受性分布はいずれも 100 mcg/ml 以上の値を示した (Tab. 6, 7)。変形菌については同様の値を示した。

Table 6 Susceptibility distributions of *E. coli* isolated from surgical field. 22 str.

MIC	3.13	6.25	12.5	25	50	≥100 mcg/ml
PC				1	9	12
SM	1	4		1	2	14
TC		4	1			17
KM		1	16	2		3
EDC						22 (100%)

Table 7 Susceptibility distributions of *Pseudomonas* isolated from surgical field. 20 strs.

MIC (mcg/ml)	12.5	25	50	≥100
SM		2	7	11
TC				20
KM				20
EDC				20 (100%)

Fig. 1 耐性獲得曲線

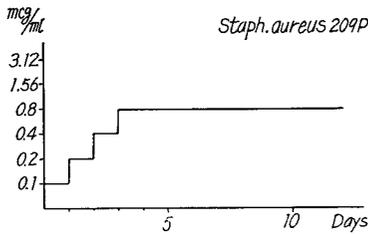


Fig. 2 Serum levels of EDC

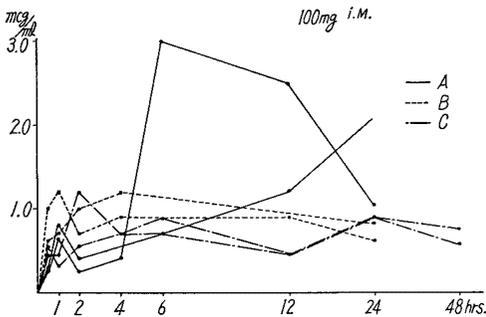


Table 8 Serum levels of EDC. 100 mg i.m.

	Sex	B.W.	30 min.	1	2	4	6	12	24	48 hrs.
A	M	53.0 kg	0.28	0.65	0.25	0.42	3.00	2.50	1.05	— mcg/ml
			0.25	0.80	0.40	—	0.70	1.20	2.10	—
B	M	55 kg	1.00	1.20	0.70	0.90	0.90	0.90	0.60	—
			0.65	0.70	1.00	1.20	—	—	0.86	—
C	M	60.0 kg	0.55	0.34	0.55	0.70	0.70	0.42	0.90	0.75
			0.42	0.42	1.20	0.70	0.90	0.42	0.90	0.58

Table 9 Urine concentrations of EDC. 100 mg i.m.

	Sex	B.W.	0-1/2	1/2-1	1-2	2-4	4-6	6-12	12-24	24-48 hrs.	Recovery
A	M	53.0 kg	0.15	2.00	1.00	0.55	1.00	0.38	0.32	— mcg/ml	<1%
			0.09	0.50	0.65	0.34	—	0.38	0.34	—	
B	M	55.0 kg	0.38	0.13	0.42	1.03	0.20	0.55	0.23	—	<1%
			0.15	—	0.65	0.68	0.34	5.80	1.00	—	
C	M	60.0 kg	0.12	0.15	0.25	0.55	0.70	0.09	0.15	0.09	<1%
			0.55	1.20	0.90	0.34	1.20	1.20	0.34	0.50	

V. 耐性獲得

*Staph. aureus* 209 P 株を用いて *in vitro* における耐性獲得を観察した。Enduracidin 0.1 mcg/ml から常法の増量的継続代培養法によつて 37℃, 24 時間培養を 1 世代とし 12 世代継代した。この結果 12 世代継代まで 0.8 mcg/ml でそれ以上の耐性上昇は認められなかつた (Fig. 1)。

VI. 血中濃度および尿中排泄

Enduracidin 100 mg を健康成人男子 3 名に筋注しその血中濃度, 尿中排泄を 30 分, 1 時間, 2 時間, 4 時間, 6 時間, 12 時間, 24 時間, 48 時間経時的に測定した。測定法は cup 法で薄層平板を使用し, 検定菌として *Bacillus subtilis* PCI 219 株の孢子懸濁液を使用した。なお寒天平板の組成は武田研のそれに準じた。

結果は Tab. 8, Fig. 2 のごとくで血中濃度の peak は 1~4 時間で 0.4~1.2 mcg/ml となり, その後漸減するが 24 時間でもほとんどそれと変わらない値を示した。尿中濃度も血中濃度とほぼ同様の傾向を示し, 他の抗生剤に比較して低濃度で回収率も 48 時間で 1.0% 以下であつた (Tab. 9, Fig. 3)。

VII. 臨床成績

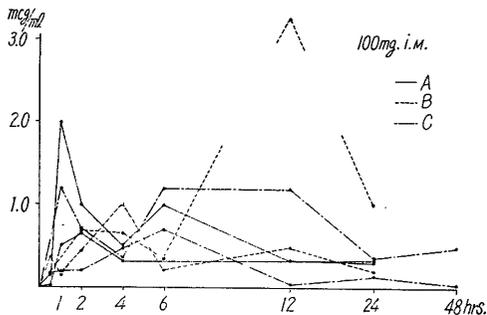
外科的感染症 17 例および感染予防 3 例, 計 20 例に対して Enduracidin を投与し, その臨床効果を検討した (Tab. 10)。

Table 10 臨床成績

	氏名	性	年齢	臨床名	起炎菌	1日投与量	投与期間	総量	副作用	併用	効果
1		♂	24	粉瘤化膿	<i>Staph. aur.</i>	100 mg	3	300 mg	局所疼痛	切開	+
2		♀	42	縫合糸膿瘍	〃	〃	1	100			-
3		♂	23	蜂窩織炎	〃	〃	6	600		切開	+
4		♂	26	背部癰	〃	〃	2	200		切開	+
5		♂	51	熱性潰瘍	〃	〃	3	300			+
6		♂	51	顔面癰	〃	〃	2	200			卅
7		♂	28	顔面癰	〃	〃	3	300			卅
8		♂	29	術後化膿創	<i>Staph. epid.</i>	〃	3	300			卅
9		♀	54	瘰癧	<i>Staph. aur.</i>	〃	5	500	局所疼痛		卅
10		♂	20	皮下膿瘍	〃	〃	1	100	局所疼痛		+
11		♂	24	皮下膿瘍	<i>Ps. aerg.</i>	〃	2	200		切開	-
12		♂	21	背部膿瘍	<i>Staph. aur.</i>	〃	4	400			-
13		♂	38	粉瘤化膿	〃	〃	5	500		切開	+
14		♂	7	挫創後化膿	$\beta$ - <i>Strept.</i>	50, 100	4	350			卅
15		♂	5	臍炎	—	50	1	50			卅
16		♀	33	粉瘤化膿	—	100	2	200		切開	+
17		♀	40	瘰癧	—	〃	1	100	消炎剤使用		卅
18		♀	22	ガングリオン術後	—	〃	2	200			※
19		♀	20	鶏眼剔出後	—	〃	2	200			※
20		♀	20	線維腫剔出後	—	〃	5	500			※

※ 感染予防症例

Fig. 3 Urine concentrations of EDC



投与量は1例を除いて1回 100 mg, 1日1回筋注した。投与日数は最低1日より最高6日で, 最高投与総量は 600 mg である。

治療効果は下記のような基準により判定した。

著効(卅) : Enduracidin 投与後 48 時間で, (1)急速に自他覚症状の緩解, (2)原因菌の病巣からの消失, または, (3)Enduracidin 単独使用, または, きわめてわずかな補助的治療の併用で治癒し, 投与中止後も病状の再燃しないもの。

有効(+) : Enduracidin 投与後 72 時間で, 上記事項に該当するもの。

やや有効(+) . Enduracidin 投与後 24 時間で比較的

速やかに自他覚症状の緩解をみたが他の抗生物質の併用, または切開排膿等の治療手段をおこなつたもの。

無効(-) : Enduracidin 投与後, (1)単独投与72時間, (2)他の抗生物質の併用または切開排膿等の治療手段をおこなつたのち, 48 時間にも治療効果が臨床的, または細菌学的に全くみとめ難く, 病状の不変, 増悪拡大をきたし, Enduracidin の投与を中止して他の治療手段に変更したもの。

症例 20 例のうち起炎菌を検出し, 感受性を測定したもの 11 例, 感受性を測定しなかつたもの 3 例, 菌検索のできなかつたもの 3 例, 感染予防に Enduracidin 使用したもの 3 例である。起炎菌としては *Staph. aureus* が 11 例で半数を占め, 寒天平板稀釈法で測定した感受性は Tab. 11 のごとくである。

上記の判定基準をもとにした成績では, 著効 4 例 (23.5%), 有効 3 例 (17.6%), やや有効 7 例 (41.2%), 無効 3 例 (17.6%) であつた。

副作用として 20 例中 3 例に注射部位の疼痛があつたがその他重篤の副作用を示す症例は認められなかつた。

VIII. 総括と結論

Enduracidin は, pH および熱に安定な, 水に難溶性 polypeptid 系抗生物質である。体液中の拡散は遅く,

筋注後の血中濃度、尿中排泄、臓器組織への移行は遷延性で、その最高到達値は低く、おくれで最高値に達し、長時間有効濃度を維持する傾向が著しい。臓器移行は腎に高く、肝にはやや低い。

体液内濃度測定には、多少の工夫を要し、抗菌力はアルカリ側で強められる。接種菌量によつて測定値にかなり著しい差異があるが、pH、血清蛋白は、その抗菌力に影響するところが多くはない。病巣由来の黄色ブドウ球菌 238 株中、222 株 (93.2%) は、Enduracidin 0.8 mcg/ml 以下の

濃度で発育阻止をうけ、TC、PC などに耐性の株でも Enduracidin は有効に作用する。病巣由来の大腸菌、22 株、緑膿菌 20 株および変形菌に対しては無効であった。

無差別抽出の 20 例に対して Enduracidin 100 mg を 1 日 1 回筋注し、使用期間 1~6 日で、最高使用量 600 mg の範囲では、著効 23.5%、有効 17.6%、やや有効 41.2%、および無効 17.6% であつた。

副作用として 3 例 (15%) に、かなり激しい注射部位の疼痛を訴えたが、腎、肝などに重篤な副現象をみた症例はない。

本剤の吸収、排泄の状況から、充分な治療効果を期待するためには、100 mg 1 回使用では不十分と思われる

Table 11 感受性検査

症例	検出菌	MIC (mcg/ml)								
		EDC	CER	TC	SM	KM	CP	EM	OM	PC-G
1	<i>Staph. aur</i>	3.12	0.05	1.56	0.8	0.4	12.5	0.4	3.12	0.05
2	"	1.56	0.1	1.56	100	6.25	12.5	0.4	3.12	1.56
3	"	1.56	0.2	3.12	6.25	6.25	12.5	0.4	3.12	3.12
4	"	1.56	0.2	1.56	3.12	3.12	12.5	0.4	1.56	1.56
5	"	1.56	0.1	1.56	6.25	6.25	12.5	0.4	3.12	3.12
6	"	0.8	0.2	1.56	3.12	0.8	12.5	0.4	3.12	100
7	"	0.8	0.1	1.56	1.56	0.8	12.5	0.4	3.12	100
8	<i>Staph. epid.</i>	0.8	0.05	3.12	0.8	0.4	6.25	0.4	0.8	1.56
9	<i>Staph. aur.</i>	0.8	0.1	3.12	0.8	0.8	6.25	0.4	1.56	6.25
10	"	1.56	6.25	1.56	12.5	6.25	12.5	0.4	3.12	100
11	<i>Ps. aerg.</i>	>100	>100	>100	>100	100	>100	>100	>100	>100

成績であつた。しかし、1 回注射量を増加すれば、注射部位の疼痛などのために、適応の範囲が制限されるおそれがある。そこで、広く一般に使用されるためには、この抗生物質の拡散性を増す。したがって急速に体液中に移行するように、また注射部位の疼痛を軽減するように、製剤上の工夫が加えられることが望まれる。

#### 文 献

- 1) 東出、波多野、柴田、中沢：日本抗生物質学術協議会第 153 回研究会発表要旨 1967. J. Antibiotics, Ser. A 掲載予定
- 2) 土屋、近藤、大石、山崎、善養寺、大久保、五島 第 40 回日本細菌学会総会 発表要旨 1967

## CLINICAL AND CLINICOLABORATORY STUDY ON ENDURACIDIN

S. ISHIYAMA, T. SAKABE, M. FURUHASHI, U. TAKAHASHI,

I. KAWAKAMI, I. NAKAYAMA & T. OSHIMA

The 3rd Surgical Department, Nihon University School of Medicine

Antibiotic effects of enduracidin against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas* obtained from surgical fields were tested by means of plate dilution method, and the MIC's of 222 out of 238 strains of *Staphylococcus aureus* were distributed in the range of less than 0.8 mcg/ml of enduracidin, while those of *Escherichia coli* and *Pseudomonas* were more than 100 mcg/ml.

Serum concentration of enduracidin in normal adults after 100 mg intramuscular injection, which were measured by cup assay using *B. subtilis* PCI 219, reached their peaks of 0.4~1.2 mcg/ml at 1~4 hours following injections, and continued their high until the end of 24 hours. Urinary levels showed almost similar patterns as those of serum, and the 48 hours urinary recovery were less than 1.0% of administrated dose.

Clinical results of enduracidin in 82.3% of 17 patients with surgical infections and 3 with prophylactic use were satisfactory. We used the drug as much as daily 100 mg intramuscularly and continued it for 1~6 days.

Any serious side effects were not observed, excepting 3 patients complained of pain in injected areas.