

Aminobenzyl-penicillin と Methylchlorophenylisoxazolyl-penicillin の

協力作用に関する研究. I

試験管内抗菌作用

峯 靖 弘・西 田 実

藤沢薬品・中央研究所

五 島 瑳 智 子

東邦大学医学部・微生物学教室

(昭和 43 年 7 月 15 日受付)

未熟児および新生児の感染症, その他緊急時には, 起因菌の決定に先だつて広範囲抗生物質の投与が要求されることがある。このような場合, 従来 Chloramphenicol, Tetracycline または Penicillin G と Streptomycin の合剤などが比較的良好に使用されてきた。しかし, これらの抗生物質の投与は, 薬物にたいする感受性の高い新生児の治療面および耐性菌の増加傾向から問題があり, より効率の高い, より安全な薬剤の出現が要求されてきた。以上の観点から著者らは, 広範囲抗生物質 Aminobenzyl-penicillin と PC-耐性ブドウ球菌に有効な Methylchlorophenylisoxazolyl-penicillin との併用の意義について, 基礎面の検討をおこなつたのでこれについて報告する。

実験材料および実験方法

1) 使用薬剤

Aminobenzyl-penicillin (Penbritin-Beecham, AB-PC), Methylchlorophenylisoxazolyl-penicillin (Orbenin-Beecham, MCI-PC) および, 両者を種々の割合に混合したものをを用いた。

2) 使用菌株

抗菌スペクトラムの測定には, 当研究所保存の 19 株を使用した。患者分離ブドウ球菌は医科学研究所, 患者分離大腸菌は東邦大学医学部微生物学教室, 国立舞鶴病院および市立京都病院より分与されたものをを用いた。

3) 試験管内抗菌作用

試験培地としてペプトン 1%, 肉エキス 1%, 食塩 0.25%, カンテン末 1.5%(pH 7.0) のカンテン培地を用いた。これに肉汁ブイヨン中で 37°C, 20 時間培養した菌液をそれぞれ 1 白金耳量, カンテン平板上に画線接種した。

MIC の判定は 37°C, 20 時間培養後に菌の発育の有無を肉眼的に観察し, 完全に菌の発育を阻止した最小濃度をもつてあらわした。ただし *Diplococcus pneumoniae*, *Streptococcus hemolyticus*, *Corynebacterium*

diphtheriae については, 試験培地に 10% ウサギ脱セリン血液を, 接種前培養肉汁ブイヨンには, ウサギ血清を 10% の割合に添加したものをを使用した。

4) 試験管内発育阻止試験による併用実験

試験菌として *Staph. aureus* 209-P, *E. coli* NIHJ, *Proteus vulgaris* IAM-1025 および OX-19 などの標準株, および患者分離菌として *Staph. aureus* No. 18, T-52, *E. coli* T-15, T-20 および K-11 を用いた。

肉エキスブイヨン中で AB-PC と MCI-PC の倍数稀釈系列を作り, この 1 ml を試験菌の前培養液(肉汁ブイヨン, 37°C, 20 時間培養)を, 0.5% の割合にあらかじめ接種した試験培地 4 ml に加えて 37°C, 20 時間培養後, 肉眼で菌の発育の有無を観察した。

実験成績

(1) 抗菌スペクトラム

表 1 に示すごとく, AB-PC は *Proteus vulgaris* IAM-1025, *Pseudomonas aeruginosa* IAM-1095 以外のグラム陽性および陰性菌にたいして, 0.05~6.25 mcg/ml の MIC を示し, 広範囲な抗菌作用をもっている。

これにたいして, MCI-PC はグラム陽性菌には 0.2~0.78 mcg/ml の MIC を示すが, グラム陰性菌には 50~400 mcg/ml と抗菌作用はひじょうに弱い。

AB-PC と MCI-PC を所定の比率 (1:1, 2:1, 1:2) に混合した 3 群では, AB-PC および MCI-PC のグラム陽性菌にたいする抗菌活性には著明な変化はない。またグラム陰性菌にたいする AB-PC の抗菌作用も MCI-PC の添加によつて大して影響をうけず広範囲な抗菌スペクトラムが維持されている。

(2) 患者分離 AB-PC 耐性ブドウ球菌にたいする抗菌作用

表 2 に示すごとく, ここに用いた患者分離の 16 株にたいして AB-PC は 400~800 mcg/ml とひじょうに抗菌力が弱く, これらの株は AB-PC 高度耐性菌である。これにたいして MCI-PC は, 0.39~0.78 mcg/ml と比

表 1 AB-PC と MCI-PC の共存時の抗菌スペクトラム

MIC ; mcg/ml

試 験 菌 株	AB-PC	MCI-PC	AB-PC+MCI-PC		
			1 : 1	2 : 1	1 : 2
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P	0.05	0.2	0.05	0.05	0.05
" " Newman	0.2	0.39	0.2	0.2	0.2
" " Terashima	0.2	1.56	0.39	0.39	0.39
" " Smith	0.05	0.2	0.1	0.1	0.1
<i>Streptococcus hemolyticus</i> S-23	0.05	0.1	0.02	0.02	0.05
<i>Diplococcus pneumoniae</i> III	0.05	0.78	0.1	0.1	0.1
<i>Sarcina lutea</i> PCI-1001	0.01	0.2	0.01	0.01	0.01
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> PW-8	6.25	0.78	0.78	0.78	0.78
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC-6633	0.05	0.39	0.05	0.1	0.05
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	0.78	50	0.39	0.39	0.39
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ST-801	1.56	200	1.56	1.56	1.56
<i>Proteus vulgaris</i> 1 AM-1025	50	100	50	100	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1 AM-1095	400	400	400	400	200
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.1	100	0.39	0.2	0.39
" " O-901	0.2	100	0.39	0.2	0.39
" enteritidis	3.13	400	6.25	6.25	6.25
<i>Shigella flexneri</i> 2a	1.56	200	3.13	1.56	3.13
" sonnei 1	0.78	100	1.56	1.56	1.56

カンテン平板法：普通カンテン培地 10⁹/ml 1白金耳 37°C, 20時間

表 2 患者分離 AB-PC 耐性ブドウ球菌にたいする抗菌作用

MIC ; mcg/ml

菌 株	AB-PC	MCI-PC	AB-PC+MCI-PC		
			1 : 12 : 11 : 2		
			1 : 1	2 : 1	1 : 2
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 5	400	0.78	1.56	1.56	1.56
" No. 11	400	0.78	0.78	1.56	1.56
" No. 14	400	0.78	0.78	1.56	0.39
" No. 20	400	0.39	1.56	1.56	1.56
" No. 22	400	0.39	1.56	1.56	0.39
" No. 23	400	0.39	1.56	1.56	0.39
" No. 25	400	0.78	0.78	1.56	1.56
" No. 27	400	0.39	1.56	1.56	1.56
" No. 30	400	0.78	1.56	1.56	1.56
" No. 35	800	0.78	1.56	1.56	1.56
" No. 39	800	0.78	0.78	1.56	1.56
" No. 40	400	0.39	1.56	1.56	1.56
" No. 50	400	0.78	1.56	1.56	1.56
" No. 81	800	0.78	1.56	1.56	1.56
" No. 84	400	0.78	1.56	1.56	1.56
" No. 86	400	0.78	3.13	3.13	1.56

表 1 と同じ

表 3 患者分離大腸菌にたいする抗菌作用

MIC ; mcg/ml

菌 株	AB-PC	MCI-PC	AB-PC+MCI-PC	
			1 : 1	2 : 1
AB-PC sensitive				
<i>Escherichia coli</i> K-1	3.13	400	6.25	3.13
" " K-3	6.25	400	6.25	6.25
" " T-13	6.25	400	6.25	6.25
" " T-14	3.13	400	6.25	3.13
" " T-15	6.25	400	6.25	6.25
" " T-16	6.25	400	6.25	12.5
" " 101	3.13	400	6.25	3.13
" " 104	3.13	400	6.25	3.13
" " 106	3.13	400	6.25	6.25
" " 107	3.13	400	6.25	3.13
" " 108	3.13	400	12.5	6.25
" " 109	3.13	400	6.25	3.13
" " 110	3.13	400	6.25	3.13
AB-PC resistant				
<i>Escherichia coli</i> K-10	400	400	50	100
" " K-11	400	400	50	50
" " T-20	400	400	200	200

表 1 と同じ

較的強い抗菌作用を示した。

両者の 1:1, 2:1 および 1:2 の比率における併用では, AB-PC の弱い抗菌作用は MCI-PC の強い抗菌力によつておぎなわれ, MCI-PC のそれに近い値を示した。

(3) 患者分離大腸菌にたいする抗菌作用

1) 患者分離 AB-PC 感受性大腸菌にたいする抗菌作用

表3に示すごとく AB-PC は 13 株の患者分離 AB-PC 感受性 *E. coli* にたいし, 3.13~6.25 mcg/ml の MIC を示したが, MCI-PC は 400 mcg/ml と抗菌力は弱い。両者を併用したものは, ほとんど AB-PC と同等の抗菌力を維持し, これらの菌に抗菌作用の極めて弱い MCI-PC の添加によつて抗菌作用の低下は起らなかった。

2) 患者分離 AB-PC 耐性大腸菌にたいする抗菌作用
つきに AB-PC および MCI-PC の両者に高度耐性の *E. coli* 3 株にたいする併用の効果を検討した。AB-PC のこれらの株にたいする MIC は, いずれも 400 mcg/

ml, MCI-PC は >400 mcg/ml である。いつぼう AB-PC と MCI-PC の併用で, その混合比が 1:1, 2:1 および 1:2 のいずれの場合においても *E. coli* 3 株にたいして, それぞれ単独時にくらべて 2~8 倍抗菌力の増強が認められた。

この結果から AB-PC に感受性の *E. coli* にたいして, 両者の併用では特別の影響がみられないが, 両者にたいする高度耐性株では, 併用による抗菌作用の増強が認められた。

(4) 各種細菌にたいする試験管内発育阻止試験による併用効果

結果は図 1~9 のとおりである。図において線に囲まれた斜線の部分が菌の発育した範囲である。たとえば *Staph. aureus* 209-P では AB-PC 0.06 mcg/ml, MCI-PC 1 mcg/ml が最小発育阻止濃度であるが, それぞれ単独では菌の発育が認められるような組合せ, すなわち AB-PC 0.03 mcg/ml と MCI-PC 0.0312 mcg/ml,

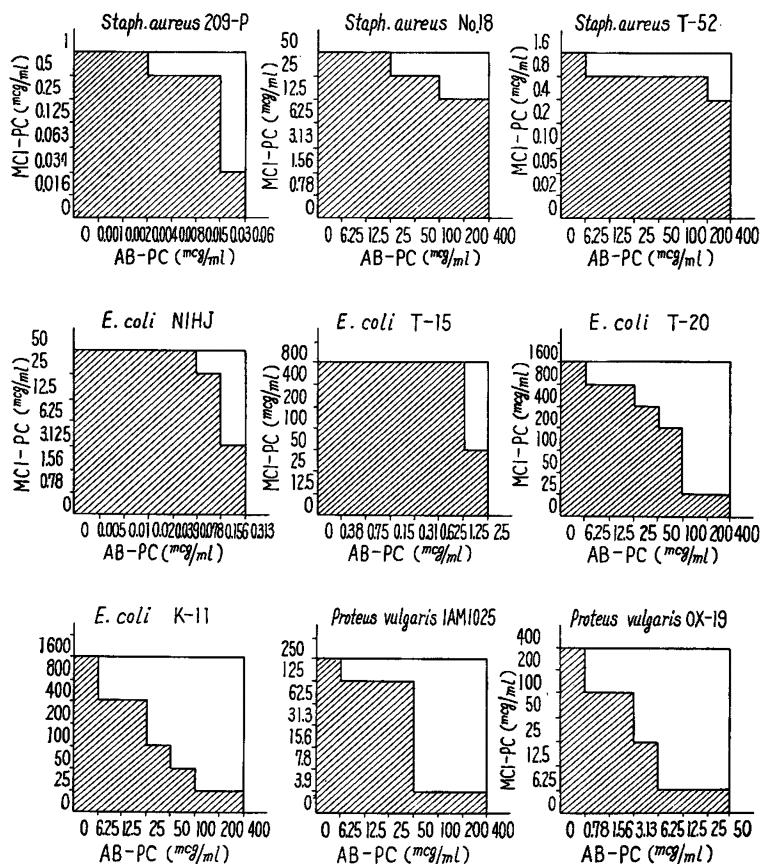
0.0625 mcg/ml, 0.125 mcg/ml, 0.25 mcg/ml, 0.5 mcg/ml の組合せでは, いずれも発育阻止が認められる。以上のように *Staph. aureus* 209-P, 患者分離菌 No. 18 および T-52 株において相乗効果が認められた。また AB-PC 感受性 *E. coli* NIHJ, T-15 でも同様に相乗効果が認められたが, AB-PC 耐性 *E. coli* T-20, K-11 および *Proteus vulgaris* IAM-1025, OX-19 株においては特に著明な相乗効果が認められた。要するに, これらの細菌にたいする AB-PC と MCI-PC の相乗効果は, 菌の種類ならびに株によつて異なるが, この傾向は比較的広い範囲に認められた。

考 察

化学療法剤の併用に関する報告は現在までひじょうに多い。これらの併用の理論的根拠として, 抗菌スペクトラムの拡大, 抗菌力の増強および耐性化の防止などがあげられる。

1953 年 JAWETZ¹⁾らは, 化学療法剤の併用について詳細な試験管内実験をおこない, 併用効果を相乗, 相加, 拮抗の 3 群に分類し,

図1 各種の細菌にたいする AB-PC と MCI-PC の併用効果
培養条件: プイオン (pH 7.0)
37°C. 20 時間



併用の価値評価をおこなった。とくに PC 類は他の抗生物質に比較して、一般に毒性が低く、強い殺菌性をもつという特性から、併用による再評価の条件を備えているため、これについての多数の報告がみられる²⁻⁷⁾。

いづれ近年、耐性菌の出現により広範囲抗生物質としての AB-PC の治療範囲がある程度制約をうける傾向がみられる。これにたいし PC 耐性ブドウ球菌に有効であるが、グラム陰性菌には抗菌作用をもたない MCI-PC の出現によつて、両者の併用が考えられるようになった^{8,9)}。

最近 ACRED および SUTHERLAND¹⁰⁾ は、AB-PC と MCI-PC の併用について検討し、AB-PC 感受性 *E. coli* と PC 感受性ブドウ球菌の混在するとき、AB-PC は *E. coli* に抗菌作用を示すが、PC 耐性ブドウ球菌が混在する場合には、AB-PC の抗菌性が低下することを報告している。また Penicillinase 産生 *E. coli* にたいして、MCI-PC は抗菌作用を有しないにもかかわらず、両者の併用によつて相乗効果を認めている。

われわれは AB-PC と MCI-PC の併用の有用性を検討し、まず両者の共存下で PC 耐性ブドウ球菌を含むグラム陽性菌および陰性菌で試験管内抗菌作用の増強を認めた。

最近、耐性ブドウ球菌に有効な合成ペニシリンの Penicillinase 不活化作用が報ぜられているので、この点については次報で報告する。

要 約

広範囲抗生物質 AB-PC と耐性ブドウ球菌に有効な MCI-PC との併用について 2, 3 の基礎的検討を加えた。その成績を要約すると、つぎのとおりである。

1) AB-PC と MCI-PC との併用によつて AB-PC と MCI-PC の試験管内抗菌スペクトラムが相補的に拡大された。また両者の 1:1, 2:1, 1:2 の混合によつて、各種細菌にたいする抗菌活性は低下しない。

2) 患者分離大腸菌のうち、AB-PC および MCI-PC に高度耐性株では両者の併用において 2~8 倍の抗菌力

の増強が認められた。

3) 試験管内発育阻止試験で各種の細菌に対して、AB-PC と MCI-PC との間に相乗効果が認められた。その相乗効果の強さは菌株の種類によつて一定ではないが、比較的広い範囲に認められた。

稿を終るにあたり、藤沢薬品中央研究所、小原前所長、中野現所長、熊田部長の御援助に感謝します。また実験に協力された藤沢薬品、深田志計実君に感謝します。

文 献

- 1) JAWETZ, E. & GUNNISON, J. B.: Antibiotic synergism and antagonism: An assessment of the problem. *Pharmac. Rev.* 5: 175~192, 1953
- 2) 草間 悟: ブドウ球菌感染症の抗生物質療法に関する基礎的研究, プ菌に対する Penicillin, Streptomycin, Oleandomycin, Chloramphenicol として Terramycin の抗菌効果の比較ならびに併用効果について。 *J. Antibiotics* 12: 643~651, 1952
- 3) 中渡瀬進: 抗生物質併用に関する基礎的研究。 *J. Antibiotics, Ser. B* 6(7): 363~366, 1953
- 4) 中渡瀬進: 抗生物質併用使用に関する基礎的研究。第 3 報。エリスロマイシンと諸種抗生物質との併用効果について。 *J. Antibiotics, Ser. B* 7(9) 339~342, 1954
- 5) 木村三生夫: 抗生物質併用療法に関する研究。Penicillin, Chlortetracycline 間の拮抗現象について。 *Chemotherapy* 5(2): 70~77, 1957
- 6) 真下啓明: 抗生物質相互の併用について、とくにブドウ球菌に対する併用効果。 *Chemotherapy* 10(1): 58~63, 1962
- 7) 野田俊策: ブドウ球菌感染マウスに対する各種抗生物質の併用効果に関する研究。 *Chemotherapy* 13(5): 412~421, 1965
- 8) Appraisal of the penicillins. *Lancet* 14: 562~563, Sept. 1963
- 9) Antibiotic combinations. *Lancet* 16: 863, 1966
- 10) P. ACRED & R. SUTHERLAND: Antibacterial activities of combinations of ampicillin and cloxacillin. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 1966: 53~58, 1967

STUDIES ON THE SYNERGISTIC ACTION OF
AMINOBENZYL-PENICILLIN AND
METHYLCHLOROPHENYLISOXAZOLYL-PENICILLIN. I

Antibacterial Activity *in vitro*

YASUHIRO MINE & MINORU NISHIDA

Research Laboratories, Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd., Osaka

SACHIKO GOTO

Department of Microbiology, Toho University School of Medicine, Tokyo

- 1) When AB-PC and MCI-PC were combined *in vitro*, the antibacterial spectrum tended to be extended in comparison with each one of the antibiotics.
- 2) The antibacterial activities *in vitro* against various bacteria were not remarkably influenced by the rates of combination (2 : 1, 1 : 1, 1 : 2) of both antibiotics.
- 3) The synergism of AB-PC and MCI-PC *in vitro* was demonstrated in various bacteria, but the degrees of synergistic activities varied among the bacteria and strains used.