

SF-837 に関する基礎的研究

大島 洋・井上松久・大久保豊司
 布施成美・川辺晴英・三橋 進
 群馬大学医学部微生物学教室

(昭和 47 年 2 月 8 日受付)

緒 言

SF-837 物質は明治製菓中央研究所において研究開発されたマクロライド系の新抗生物質で、広島県尾道市の土壌から分離された、*Streptomyces mycarafaciens* nov. sp. によつて生産される。

本稿においては SF-837 の *in vitro* における抗菌力についての結果を報告する。

実験材料および方法

使用菌株：各種病原菌としては教室保存株を用い、そのうち標準株としては、*S. aureus* 209 P および *E. coli* NIHJ を用いた。

ブドウ球菌は耐性ブドウ球菌研究班（班長、市川篤二博士）分離のものを用いた。

使用薬剤：SF-837、ジヨサマイシン (JM)、ロイコマイシン (LM)、エリスロマイシン (EM)、オレアンドマイシン (OM) を用いた。

培地：耐性検査用培地としては、ハートインフュージョン寒天乾燥培地（日水 HIA）、ポリペプトン（武田薬品工業 K K）を用いた。

耐性検査：被検菌の前培養には 0.5% ペプトン水を用い、耐性検査は平板希釈法を用いた。平板法では日水 HIA を処方どおり調製し、pH は 20% HCl で 7.2 に修正した。培地に加える薬剤は 2 段階希釈法を用いた。接種菌量はペプトン水中 18 時間培養液をそのまま 1 白金耳ずつ接種した。その他の耐性検査は化学療法学会の方法に準じて行なつた。耐性値は最小発育阻止濃度 (MIC) で表わし、MIC は日本化学療法学会限定の方法に従つた。

耐性の誘導：MA 537 およびその変異株 MS 537-59 を用い、各種薬剤の 0.1~1.0 mcg/ml で前処理することによつて行なつた。誘導による耐性の獲得は、選択平板 50 mcg/ml を含む液体培地中での増殖曲線を、薬剤を含まない培地中でのそれと比較して判定した。液体培地には半合成培地を用いた。増殖の測定には Simazu スペクトロニック 20 コロリメーターを用い、530 m μ の吸収 (O. D.) によつて測定した。

実験結果ならびに考察

19 株の各種グラム陰性の病原菌分離菌について SF-837

と他のマクロライド系抗生物質 (EM, LM) の抗菌力を調べてみると、SF-837 の MIC は EM, LM と同様 100 mcg/ml の MIC を示した。

いつぼう、*S. aureus* に対して SF-837 は LM と同様感受性のグループと耐性を示す 2 つのグループに分かれた。

ブドウ球菌に対する SF-837 および他のマクロライド系薬剤の感受性分布を図 1 に示した。

SF-837 は、LM と同様 0.8 mcg/ml 付近にピークを示した³⁾。

S. aureus のマクロライド耐性を分類すると、Constitutive—あらゆるマクロライド系抗生物質に対して耐性度の高い群と、Inducible—ほとんどすべてのマクロライド系抗生物質に対して耐性度が低く誘導剤によつて耐

表 1 種々の細菌に対する SF-837 の抗菌作用

菌 株	薬剤濃度 (mcg/ml)		
	SF	EM	LM
<i>E. coli</i> NIHJ	100	100	100
K 12 W 3630 (R 5)	100	50	100
<i>E. freundii</i> Bal-107	100	50	100
Bal-315 F	100	100	100
<i>Klebsiella</i> GN 343	100	100	100
GN 350	100	100	100
<i>Proteus</i> OX 19	100	100	100
OX 2	100	100	100
<i>Arizona</i> BC 5	100	25	100
SO 50	100	12.5	100
<i>S. paratyphi</i> A 1015	100	100	100
B 8006	100	50	100
<i>Sh. flexneri</i>			
2 a JS 700	100	50	100
2 a JS 2997 (R 4)	100	50	100
3 a 833	100	50	100
3 a 2529 (R 4)	100	50	100
<i>S. aureus</i> 209 P	0.2	0.05	0.2
MS 642	50	100	50
MS 537	0.2	50	0.2

EM : Erythromycin, LM : Leucomycin, SF : SF 837

図1 ブドウ球菌のマクロライド抗生剤感受性の分布

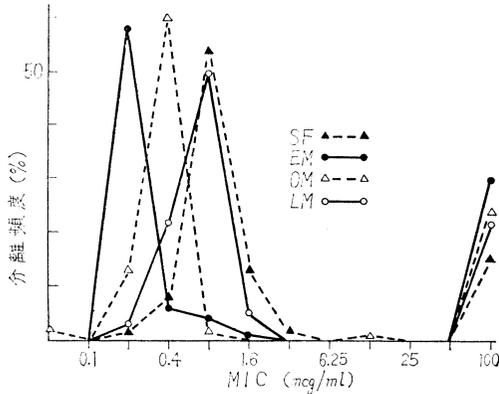


表2 ブドウ球菌のマクロライド耐性

A群 (EM, OM, LM, SP, LCM) 耐性
 (EM, OM, LM, SP) 耐性
 C群 (EM, OM) 耐性
 (EM または OM の誘導によって

(EM, OM, LM, SP, LCM) 耐性

表3 ブドウ球菌におけるマクロライド耐性の分類

群	検査株数	耐性株			
		SF	EM	OM	LM
constitutive	56	56	56	56	56
inducible	44	0	44	21	0

保存中の株からマクロライド耐性菌 100 株を自由に選択した。

表4 マクロライド誘導耐性菌 MS 537 に対する SF-837 の影響

誘導	誘導剤		薬剤平板 (50 mcg/ml)			
	薬剤	薬剤濃度 (mcg/ml)	no drug	EM	EM + SF ^{a)}	SF
-	-	-	卅	卅	卅	-
+	EM	0.1	卅	卅	卅	-
+	SF	0.05	卅	卅	卅	-
+		0.1	卅	卅	卅	-
+		0.2	卅	卅	卅	-
+		0.5	卅	卅	卅	-
+		1.0	卅	卅	卅	-

増殖は 37°C 24 時間後、判定 卅 完全増殖、- 増殖なし。

a) それぞれの薬剤を 50 mcg/ml ずつ加えた。

性が上昇する群とに分類されている²⁾。

Constitutive 56 株, Inducible 44 株についての耐性

表5 LM によつて誘導される MS-537-9 株に対する SF-837 の影響

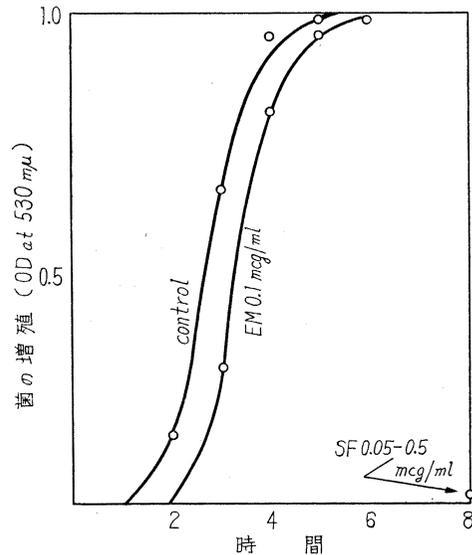
誘導	誘導剤		薬剤平板 (50 mcg/ml)			
	薬剤	薬剤濃度 (mcg/ml)	no drug	EM	EM + SF ^{a)}	SF
-	-	-	卅	卅	卅	+
+	EM	0.1	卅	卅	卅	卅
+	SF	0.05	卅	卅	卅	+
+		0.1	卅	卅	卅	+
+		0.2	卅	卅	卅	卅
+		0.5	卅	卅	卅	卅
+		1.0	卅	卅	卅	卅

判定は 37°C 24 時間後に行なつた。

増殖は 卅, 卅, + の 3 段階に分けた。

a) それぞれの薬剤を 50 mcg/ml ずつ加えた。

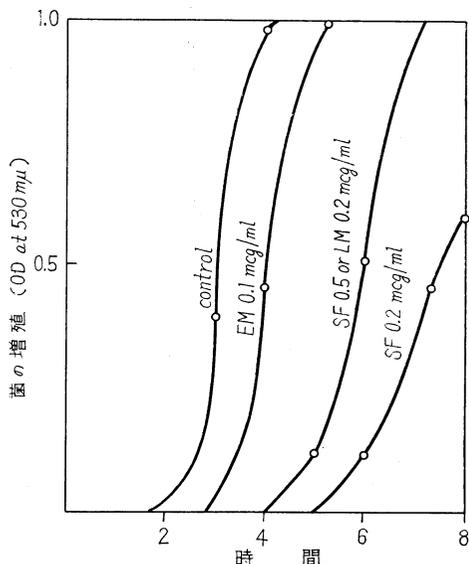
図2 MS537株に対するEMおよびSF-837の誘導能の比較



菌を予め図示したそれぞれの薬剤の濃度で 37°C 60 分前処理した後、EM を 50 mcg/ml 含む培地での増殖の模様を判定した。
 control; 薬剤を含まない培地での増殖カーブ

を検討した結果、SF-837 は LM と同様 Constitutive 群 56 株はこの薬剤に耐性を示した。しかし、Inducible 群は EM に耐性を示したが、SF-837 に対し耐性を示す株は認められなかつた。したがつて、EM, OM とは異なり SF-837 はマクロライド耐性誘導能がない、いわゆる非誘導型マクロライド系抗生物質に属すると結論され

図3 MS 537-59に対するSF-837の誘導能の比較



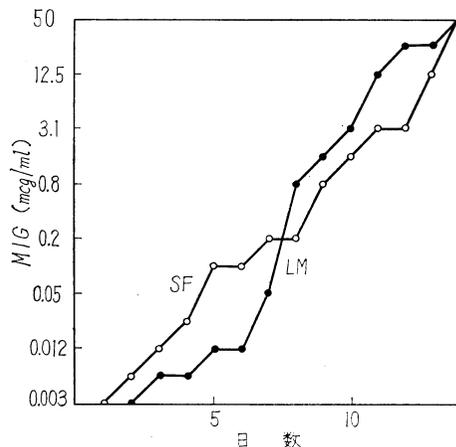
図示した薬剤の濃度で菌を予め37°C 60分間前処理した後、EMを50 mcg/ml含む培地に接種し、その増殖模様を観察した。control; 薬剤を含まない培地での増殖カーブ

る。

InducerにEMを用い、(EM+SF-837) plateでの菌の増殖が認められた。これはEMが耐性誘導を惹起するため誘導された菌がSF-837にも耐性を示す結果である。当然(SF-837)のみを含むplateでは菌の増殖が認められなかつた。

さらに、SF-837の耐性誘導能を詳細に検討する目的で液体培地を用い菌の増殖を検討した。

図4 209PのLMおよびSF-837に対する耐性のin vitroでの出現の状況



菌をSF-837またはLMの種々の濃度を含むブイヨンに毎日次々に接種し耐性の状況を観察した。

薬剤を含まない対照培地での増殖に比し、EM培地ではやや発育が遅れるが、やがて耐性が誘導され、対照と同程度の増殖を示した。

これに反し予め菌をSF-837で種々の濃度(0.05~0.5 mcg/ml)で前処置しても耐性の誘導はみとめられずSF-837を50 mcg/mlを含む培地での増殖は全くおこらなかつた。

我々はLMがinducerになり得る変異株MS 537-59をMS 537から分離している。この株を用いてSF-837の誘導能を検討したり。この変異株では、SF-837を単独に含むplateでも(EM+SF-837)を含むplateでも菌の増殖がみられた。さらに、液体培地を用いての増殖曲線の解析結果を得た。

表6 マクロライド誘導耐性菌 MS 537 および MS 537-59 Constitutive から耐性菌の出現頻度

菌株番号	選択薬剤		変異率	耐性型	検査株数 耐性菌数
	薬剤	濃度 (mcg/ml)			
MS 537	EM	100	4×10^{-8}	EM, OM EM, OM, LM, JM, SF, SP, LCM	60/400
MS 537	SF	50	5.5×10^{-9}	EM, OM, LM, JM, SF, SP, LCM	11/11
		100	2.5×10^{-9}		6/6
MS 537-59	EM	100	8×10^{-8}	EM, OM EM, OM, LM, JM, SF, SP, LCM	60/800
MS 537-59	SF	50	2.9×10^{-8}	EM, OM, LM, JM, SF, SP, LCM	24/57
		100	3.3×10^{-8}		30/67

それぞれの薬剤を含む培地に菌を約 10^9 個接種し、それから出現する Constitutive 耐性菌の頻度を算出した。

従がつて MS 537-59 に対して SF-837 は LM と同様に誘導能を有することがわかつた。

しかしながらこのように LM が inducer となる変異株は、現在のところ臨床分離株から我々は未だ得ていない。従がつて SF-837 が inducer となるような株も、おそらく病巣分離株からはほとんど得られないものと推定される。

Inducible な株 MS 537 および MS 537-59 を用いて、SF-837 および LM に対する constitutive な耐性を示す mutant の分離率を検討した。EM 入り選択薬剤平板の場合、得られた変異株は EM, OM および EM を含めたあらゆるマクロライド系抗生物質に耐性を示し、約 10^{-7} ~ 10^{-8} の頻度で耐性菌を分離した。

いつぼう、SF-837 の場合、SF-837 50 mcg/ml, 100 mcg/ml 入り選択薬剤平板ではあらゆるマクロライド (SF-837, EM, OM, LM, JM, SP, LCM) に耐性を示す菌が得られ、mutant の分離頻度は 10^{-8} ~ 10^{-9} であつた。

S. aureus 209 P の感受性株を用い、SF-837 と LM に対する *in vitro* 耐性獲得状態を検討した。LM と SF-837 はほぼ同様なカーブで段階的に耐性上昇し、約 2 時間で SF-837 に 50 mcg/ml の耐性を獲得した。しかしながら one step で耐性の高い mutant は得られなかつた。

結 論

病巣由来のブドウ球菌、その他のグラム陽性菌および

陰性菌に対する SF-837 の抗菌力を測定した。その結果は以下のように総括される。

1. これまでのマクロライド群抗生物質と同様グラム陰性菌には無効であつた。
2. これまでのマクロライド感受性菌には、SF-837 は有効である。
3. マクロライド群耐性菌の中の A 群菌には当然全く無効である。
4. マクロライド群耐性菌の中、EM または OM によつて誘導される誘導型の耐性 (C 群) がある。SF-837 は C 群に対し誘導剤となり得ない。従がつて C 群菌に有効である。
5. C 群菌から A 群への変異について言及した。

引用文献

- 1) KONO, M.; H. HASHIMOTO & S. MITSUHASHI: Drug resistance of *Staphylococcus aureus*. III. Resistance to some macrolide antibiotics and inducible system. Japan. J. Microbiol. 10: 59~66, 1966
- 2) MITSUHASHI, S.: Epidemiological and genetical study of drug resistance in *Staphylococcus aureus*. Japan. J. Microbiol. 11: 49~68, 1967
- 3) MITSUHASHI, S.: Laboratory evaluation of josamycin. Chemotherapy 17: 567~571, 1969

LABORATORY EVALUATION OF SF-837

HIROSHI OSHIMA, MATSUHISA INOUE, TOYOJI OKUBO, NARUMI FUSE,
HARUHIDE KAWABE and SUSUMU MITSUHASHI
Department of Microbiology, Gunma University School of Medicine

Antibacterial activity of SF-837 was investigated by using *Staphylococcus aureus* and gram-negative enteric bacteria which were isolated from clinical specimens. The results are summarized as follows:

1. SF-837 was found to be ineffective against gram-negative enteric bacteria including *Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella-Aerobacter* group, and *Pseudomonas aeruginosa*.
2. SF-837 was not an active inducer for staphylococcal strains carrying macrolide (Mac) inducible strains of staphylococci. Therefore, this agent was effective against both Mac-sensitive and Mac-inducible strains of staphylococci.
3. The staphylococcal strains carrying Mac-constitutive resistance were resistant to SF-837.
4. Mac-inducers such as erythromycin and oleandomycin exhibited to be ineffective against infection with staphylococcal strains carrying Mac-inducible resistance, and the microorganisms in the organs of animals treated with Mac-inducers, were found to acquire resistance to both Mac antibiotics and lincomycin.