

Amoxycillin の嫌気性菌に対する抗菌作用について

渡辺邦友・望月 泉・二宮敬宇・上野一恵・鈴木祥一郎

岐阜大学医学部微生物学教室

(主任：鈴木祥一郎教授)

Amoxycillin は英国 Beecham 研究所で開発された新しい半合成ペニシリンである。好気性菌に対する抗菌スペクトラムおよび抗菌力は Ampicillin とほぼ類似しているが、経口投与後の血中濃度は Ampicillin の約2倍に達すると言われている。

私どもは Amoxycillin の嫌気性菌に対する *in vitro* での抗菌作用および接種菌量、培地の種類、培地の pH が Amoxycillin の抗菌力に及ぼす影響について Ampicillin と比較しながら検討した。

実験材料および方法

供試菌株：教室保育株と臨床分離株を用いた (Table 1)。教室保育株には、ATCC, パストール研究所, DR. REINHOLD (東独), DR. BARNES (イギリス), VPI (アメリカ) から分与された株が含まれている。

Table 1 Organisms used

1) Reference strains

<i>Bacteroides fragilis</i> ss. <i>fragilis</i> (Ju-13)
" ss. <i>fragilis</i> (B-777)
" ss. <i>ovatus</i> (Ju-6-2)
" ss. <i>distasonis</i> (Ju-11-1)
" ss. <i>thetaitaomicron</i> (B-767)
" ss. <i>thetaitaomicron</i>
<i>B. melaninogenicus</i> (Rm-1)
<i>B. melaninogenicus</i> (B-1045)
<i>B. hypermegas</i> (B-777)
<i>B. hypermegas</i> (ATCC 25560)
<i>B. furcosus</i> (ATCC 25662)
<i>B. praeacutus</i> (ATCC 25539)
<i>Fusobacterium necrophorum</i> (S-36)
<i>F. necrophorum</i> (Gi-3)
<i>F. varium</i> (B-1082)
<i>F. varium</i> (ATCC 8501)
<i>F. glutinosum</i> (J-21)
<i>F. mortiferum</i> (B-1082)
<i>F. freundii</i> (ATCC 9817)
<i>F. russii</i> (ATCC 25533)
<i>Eubacterium lentum</i> (H-1)
<i>Clostridium perfringens</i> (SAKAI)
<i>C. novyi</i>

<i>Peptococcus anaerobius</i> (B-40)
<i>P. aerogenes</i> (PL-4)
<i>P. aerogenes</i> (ATCC 14963)
<i>P. prevotii</i> (ATCC 9321)
<i>P. saccharolyticus</i> (ATCC 14953)
<i>P. variabilis</i> (PL-7-1)
<i>P. variabilis</i> (ATCC 14955)
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> (B-38)
<i>Ps. putridus</i> (PL-9-2)
<i>Ps. sp.</i> (B-43)
<i>Veillonella parvula</i> (ATCC 10790)
<i>V. alcalescens</i> ss. <i>alcalescens</i> (ATCC 17745)
<i>Acidaminococcus fermentans</i> (ATCC 25085)
<i>A. fermentans</i> (ATCC 25088)

2) Clinical isolates

<i>Bacteroides fragilis</i> ss. <i>fragilis</i> (10 strains)
" ss. <i>distasonis</i> (4 st.)
<i>Bacteroides</i> sp. (5 st.)
<i>Fusobacterium varium</i> (28 st.)
<i>F. russii</i> (2 st.)
<i>F. glutinosum</i> (2 st.)
<i>Fusobacterium</i> sp. (3 st.)
<i>Peptococcus anaerobius</i> (9 st.)
<i>P. prevotii</i> (1 st.)
<i>P. asaccharolyticus</i> (4 st.)
<i>P. aerogenes</i> (1 st.)
<i>Peptococcus</i> sp. (29 st.)
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> (2 st.)
<i>Ps. magnus</i> (11 st.)
<i>Ps. putridus</i> (4 st.)
<i>Ps. foetidus</i> (3 st.)
<i>Ps. intermedius</i> (1 st.)

臨床分離株は、最近2年間に当教室および順天堂大学医学部中央検査室で分離され、当教室で同定されたものである。いずれの菌株も GAM 半流動高層培地で約1か月ごとに継代された。

供試培地：増菌用には、GAM 液体培地を用いた。また薬剤感受性測定用には、GAM 寒天培地 (日水) を用いた。薬剤感受性測定用培地のちがいによる MIC の変動の検討には、Liver veal 寒天培地 (Difco), *Brucella*

寒天培地 (BBL) および Brain heart infusion 寒天培地も用いた。これらの培地には凍結融解して溶血した市販脱線維家兎血液を5%の割合に添加した。GAM 寒天培地は血液を添加しなかつた。

供試薬剤: Amoxycillin (以下 AMPC と記す) Ampicillin (以下 ABPC と記す) は、協和醸酵から供与されたものを供試した。AMPC と ABPC を滅菌蒸留水で溶解し、1000 mcg/ml 溶液を作成した。これらの溶液を適宜滅菌蒸留水で希釈して用いた。

抗菌力の測定: AMPC および ABPC の供試菌株に対する抗菌力は、寒天平板希釈法によつた。GAM 寒天培地に2倍階段希釈した薬剤を最終濃度が100 mcg/ml から0.19mcg/ml になるように加えて平板とした。20~24 時間培養の菌液を滅菌した0.05% Yeast extract 水で Mc FARLAND 番号 1~1/2 になるように希釈し (この時の生菌数は $10^5 \sim 10^6$ /ml である)、多目的アパラツスで点状に接種した。37°C で24時間嫌気培養後、菌の発育の有無を肉眼で観察して判定した。

嫌気培養法: 嫌気培養法はスチールウール硫酸銅法で CO₂ 10%, N₂ 90% ガス環境下で行なつた。

実験成績

1) 教室保育株に対する抗菌作用

保育株に対する AMPC の抗菌作用を ABPC と比較した成績を Table 2 に示した。

グラム陰性桿菌に対して AMPC は *Bacteroides fragilis*, *B. melaninogenicus*, *Fusobacterium varium* を除く菌種に 3.13 mcg/ml 以下の MIC を示し、ABPC とほとんど同じ抗菌作用をもっている。*Bacteroides fragilis* は6株中5株までが 12.5~25 mcg/ml の MIC を示し、ABPC と同様に AMPC に対しても比較的耐性を示した。*Fusobacterium varium* (B-1083) は、AMPC に対して 100 mcg/ml に耐性を示した。

グラム陽性桿菌である *Eubacterium* と *Clostridium* では 0.19 mcg/ml 以下の MIC を示し、ABPC に比し 2~8 倍強い抗菌作用をもっている。

嫌気性球菌である *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Veillonella* および *Acidaminococcus* では、*Peptostreptococcus anaerobius* (B-38), *Peptostreptococcus* sp. (B-43) の2株を除くすべての菌種が ABPC と同様に AMPC に対して 0.19 mcg/ml 以下の MIC を示し、両者の抗菌力の差は認められない。

2) 臨床分離株に対する抗菌作用

臨床材料から分離した嫌気性菌 (119株) の AMPC, ABPC に対する感受性分布をみた。Table 3 は、*Bacteroides*, *Fusobacterium* に対する抗菌作用を示す。*Bacteroides fragilis* は、14株すべてが AMPC に対して

Table 2 Antibacterial activity of AMPC and ABPC against anaerobes (reference strains)

Organism	MIC (mcg/ml)	
	AMPC	ABPC
<i>B. fragilis</i> ss. <i>fragilis</i> (Ju-13)	25	12.5
<i>B. fragilis</i> ss. <i>fragilis</i> (B-772)	25	50
<i>B. fragilis</i> ss. <i>ovatus</i> (Ju-6-2)	25	25
<i>B. fragilis</i> ss. <i>distasonis</i> (Ju-11-1)	12.5	12.5
<i>B. fragilis</i> ss. <i>thetaitaomicron</i>	0.19	0.19
<i>B. fragilis</i> ss. <i>thetaitaomicron</i> (B-767)	25	100
<i>B. melaninogenicus</i> (Rm-1)	0.19	0.39
<i>B. melaninogenicus</i> (B-1045)	25	100
<i>B. hypermegas</i> (ATCC 25560)	0.39	0.39
<i>B. hypermegas</i> (B-777)	0.19	0.19
<i>B. furcosus</i> (ATCC 25662)	0.19	0.19
<i>B. praecutus</i> (ATCC 25539)	0.19	0.19
<i>F. necrophorum</i> (S-36)	0.39	0.78
<i>F. necrophorum</i> (Gi-3)	0.19	0.19
<i>F. glutinosum</i> (J-21)	0.78	0.78
<i>F. mortiferum</i> (B-1082)	1.56	3.13
<i>F. freundii</i> (ATCC 9817)	3.13	6.25
<i>F. russii</i> (ATCC 25533)	0.19	0.19
<i>F. varium</i> (ATCC 8501)	1.56	1.56
<i>F. varium</i> (B-1083)	100	50
<i>Eubacterium lentum</i> (H-1)	0.19	0.78
<i>Cl. perfringens</i> (SAKAI)	0.19	1.56
<i>Cl. novyi</i>	0.19	0.39
<i>P. anaerobius</i> (B-40)	0.19	0.19
<i>P. aerogenes</i> (PL-4)	0.19	0.78
<i>P. aerogenes</i> (ATCC 14963)	0.19	0.19
<i>P. prevotii</i> (ATCC 9321)	0.19	0.19
<i>P. saccharolyticus</i> (ATCC 14953)	0.19	0.19
<i>P. variabilis</i> (PL-7-1)	0.19	0.39
<i>P. variabilis</i> (ATCC 14955)	0.19	0.19
<i>Ps. anaerobius</i> (B-38)	6.25	0.78
<i>Peptostreptococcus</i> sp. (B-43)	0.39	0.39
<i>Ps. putridus</i> (PL-9-2)	0.19	0.19
<i>Veillonella parvula</i> (ATCC 10790)	0.19	0.19
<i>V. alcalescens</i> ss. <i>alcalescens</i> (ATCC 17745)	0.19	0.19
<i>Acidaminococcus fermentans</i> (ATCC 25085)	0.19	0.19
<i>Acidaminococcus fermentans</i> (ATCC 25088)	0.19	0.19

3.13 mcg/ml 以上の MIC を示し、菌種が同定されていない *Bacteroides* は5株全てが、0.39 mcg/ml 以下の MIC を示した。*B. fragilis* ss. *fragilis* の1株は AMPC, ABPC の両薬剤に 100 mcg/ml 耐性であった。

Table 3 Antibacterial activity of AMPC and ABPC against Gram-negative rods isolated from clinical material

Organism	No. of strain	Penicillin	MIC (mcg/ml)									
			0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100
<i>B. fragilis</i> ss. <i>fragilis</i>	10	AMPC					1	2	6			1
		ABPC					1	2	6			1
<i>B. fragilis</i> ss. <i>distasonis</i>	4	AMPC						2	2			
		ABPC						2	2			
<i>Bacteroides</i> sp.	5	AMPC	4	1								
		ABPC	3	2								
<i>F. varium</i>	28	AMPC		2	5	20			1			
		ABPC		2	6	11	8		1			
<i>F. russii</i>	2	AMPC				2						
		ABPC				2						
<i>F. glutinosum</i>	2	AMPC				2						
		ABPC				1	1					
<i>Fusobacterium</i> sp.	3	AMPC		1		1			1			
		ABPC				1	1		1			

Fusobacterium は35株中33株が AMPC に対して 1.56 mcg/ml 以下の MIC を示し、残りの2株は 12.5 mcg/ml の MIC を示した。

Table 4 は、*Peptococcus*, *Peptostreptococcus* に対す

る抗菌作用を示す。*Peptococcus* と *Peptostreptococcus* の72株全株が 0.78 mcg/ml 以下の MIC を示し、そのうち60株、約84%までが0.19mcg/ml以下の MIC を示した。ABPC との抗菌力の差はほとんど認められない。

Table 4 Antibacterial activity of AMPC and ABPC against anaerobic Gram-positive cocci isolated from clinical material

Organism	No. of strain	Penicillin	MIC (mcg/ml)				
			0.19	0.39	0.78	1.56	3.13
<i>P. anaerobius</i>	9	AMPC	7	2			
		ABPC	7	2			
<i>P. prevotii</i>	8	AMPC	8				
		ABPC	8				
<i>P. asaccharolyticus</i>	4	AMPC	2	1	1		
		ABPC	2	2			
<i>P. aerogenes</i>	1	AMPC	1				
		ABPC	1				
<i>Peptococcus</i> sp.	29	AMPC	25	3	1		
		ABPC	25	2	2		
<i>Ps. anaerobius</i>	2	AMPC	2				
		ABPC	2				
<i>Ps. magnus</i>	11	AMPC	8	3			
		ABPC	8	3			
<i>Ps. putridus</i>	4	AMPC	3	1			
		ABPC	3	1			
<i>Ps. foetidus</i>	3	AMPC	3				
		ABPC	3				
<i>Ps. intermedius</i>	1	AMPC	1				
		ABPC	1				

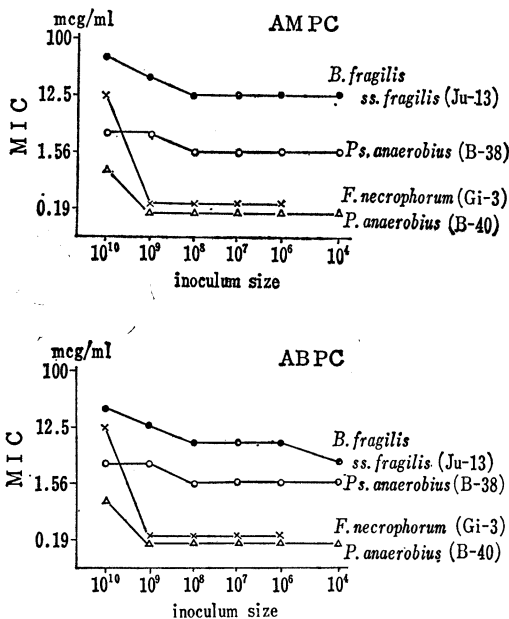
3) MIC に影響する因子について

① 接種菌量による MIC の変動

Bacteroides fragilis ss. *fragilis* (Ju-13), *Fusobacterium necrophorum* (岐-3), *Peptococcus anaerobius* (B-40) および *Peptostreptococcus anaerobius* (B-38) の4株の24時間培養菌を希釈液¹⁾で1mlあたり 10^{10} ~ 10^4 生菌数の菌液を作成した。

Fig. 1 に示すとおり, AMPC, ABPC とともに1mlあたり 10^8 ~ 10^6 生菌数ではMICに影響を及ぼさない。

Fig. 1 Influence of inoculum size on MIC of AMPC and ABPC



② 培地の種類による MIC の変動

GAM 寒天培地, 5%家兎血液加 *Brucella* 寒天培地, 5%家兎血液加 Liver veal 寒天培地および5%家兎血液加 Brain heart infusion 寒天培地を用いて, それぞれの培地における保育株26株のMICを比較した成績をTable 5に示す。

26株中13株は0.19 mcg/ml以下のMICで4培地におけるMICは一致した。不一致の13株についてみると5%家兎血液加 Liver veal 寒天培地におけるMICは最も高く, 5%家兎血液加 Brain heart infusion 寒天培地でのMICは最も低く現われた。GAM 寒天培地と5%家兎血液加 *Brucella* 寒天培地ではその中間を示し

た。

③ 培地 pH の差異による MIC の変動

滅菌後培地 pH が, 6.5, 7.5 および 8.0 になるように調整した GAM 寒天培地を用いて, 培地 pH による MIC の変動を検討した。Table 6 に示すとおり, 教室保育株10菌種において pH の差異による MIC の変動に一定の傾向は認められなかった。

考 按 と 結 果

以上の成績から, AMPC は ABPC と同様に, グラム陽性・陰性の嫌気性菌に広い抗菌スペクトラムを持つ。その抗菌力についても ABPC と同じかやや優れる成績を得た。すなわち嫌気性球菌の大部分に対して0.39 mcg/ml以下のMICを示し, 嫌気性桿菌に対しても *Bacteroides fragilis* と一部の *Bacteroides melaninogenicus*, *Fusobacterium varium* を除き, 3.13 mcg/ml以下のMICを示した。

Bacteroides fragilis は ABPC に対して比較的耐性を示すことが知られている。JAY²⁾らによると, ABPC には *B. fragilis* 40株中の50%が12.5 mcg/ml以上のMICを示している。

SUTHERLAND³⁾によると, *B. fragilis*の1株はAMPCに対して25 mcg/mlのMICであつた。本実験でも *B. fragilis*の多くはAMPCに対して3.13 mcg/ml以上のMICを示し, そのピークは12.5 mcg/mlにある。*B. fragilis*には5つの亜種があるが, これらの成績は使用した4つの亜種すべてに共通する現象であつた。

AMPCの抗菌力は, 他の半合成ペニシリンABPC, SBPC⁴⁾と同様に1mlあたり 10^8 ~ 10^6 生菌数の間ではまったく接種菌量の影響をうけない。

しかし使用培地によつてはMICは変動する。Liver veal 寒天培地でのMICが最も高く現われ, Brain heart infusion 寒天培地でのMICは低い。

培地 pH のMICに及ぼす影響については, NEU⁵⁾の *E. coli* を用いた成績のように酸性側で抗菌力が強く現われる現象はみられなかった。しかし嫌気培養中かなり培地 pH が変動することがわかっている。この問題は検討中である。

本剤は *in vivo* での実験により, 血中濃度が ABPC の2倍に達することが報告されており³⁾, 嫌気性菌感染症に対しても ABPC 以上の効果を期待できると考える。

Table 5 Influence of medium on MIC of AMPC

Medium and MIC (mcg/ml)

Organism	GAM	LV*	<i>Brucella</i> *	BHI*
<i>F. fragilis</i> ss. <i>fragilis</i> (Ju-13)	25	25	25	12.5
<i>B. fragilis</i> ss. <i>ovatus</i> (Ju-6-2)	25	100	50	25
<i>B. fragilis</i> ss. <i>distasonis</i> (Ju-11-1)	12.5	25	12.5	12.5
<i>B. fragilis</i> ss. <i>thetaitotaomicron</i>	0.19	0.19	0.19	0.19
<i>B. hypermegas</i> (ATCC 25560)	0.39	0.39	0.39	0.19
<i>B. hypermegas</i> (B-777)	0.19	0.19	0.19	0.19
<i>B. melaninogenicus</i> (Rm-1)	0.19	0.19	0.19	0.19
<i>B. furcosus</i> (ATCC 25662)	0.19	0.19	0.19	0.19
<i>B. praeacutus</i> (ATCC 25539)	0.19	0.19	0.19	0.19
<i>F. glutinosum</i> (J-21)	0.78	1.56	0.78	1.56
<i>F. necrophorum</i> (Gi-3)	0.19	0.19	0.19	0.19
<i>F. mortiferum</i> (B-1082)	1.56	1.56	0.78	1.56
<i>F. freundii</i> (ATCC 9817)	3.13	3.13	0.78	0.78
<i>F. russii</i> (ATCC 25533)	0.19	0.19	0.19	0.19
<i>F. varium</i> (ATCC 8501)	1.56	1.56	0.78	1.56
<i>P. saccharolyticus</i> (ATCC 14953)	0.19	0.19	0.19	0.19
<i>P. prevotii</i> (ATCC 9321)	0.19	0.19	0.19	0.19
<i>P. variabilis</i> (ATCC 14955)	0.19	0.39	0.39	0.39
<i>P. variabilis</i> (PL-7)	0.19	0.19	0.19	0.19
<i>P. aerogenes</i> (ATCC 14963)	0.19	0.19	0.19	0.19
<i>P. anaerobius</i> (B-40)	0.19	0.19	0.19	0.19
<i>Ps. anaerobius</i> (B-38)	6.25	1.56	1.56	1.56
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	0.39	0.78	0.39	0.39
<i>Acidaminococcus fermentans</i> (ATCC 25088)	0.19	0.19	0.39	0.19
<i>Acidaminococcus fermentans</i> (ATCC 25085)	0.19	0.19	0.39	0.19
<i>V. alcalescens</i> ss. <i>alcalescens</i> (ATCC 17745)	0.19	0.19	0.19	0.19

* plus 5% leaked rabbit blood

Table 6 Influence of pH on MIC of AMPC

Organism	pH		
	6.5	7.5	8.0
<i>B. melaninogenicus</i>	50	25	12.5
<i>B. fragilis</i> (B-772)	25	25	25
<i>B. fragilis</i> (B-767)	25	25	12.5
<i>F. varium</i> (B-1083)	100	100	100
<i>F. necrophorum</i> (S-36)	0.78	0.39	0.78
<i>Cl. novyi</i>	0.39	0.78	0.39
<i>E. lentum</i> (H-1)	0.78	0.39	1.56
<i>P. anaerobius</i> (B-40)	0.19	0.19	0.19
<i>P. aerogenes</i> (PL-4)	0.19	0.19	0.19
<i>P. prevotii</i> (ATCC 9321)	0.19	0.19	0.19
<i>Ps. putridus</i> (B-30)	1.56	1.56	1.56

文 献

- 1) 小酒井, 鈴木編: 嫌気性菌と嫌気性菌症。1968, 医学書院
- 2) KISLAK, JAY WARD: The susceptibility of *Bacteroides fragilis* to 24 antibiotics. J. Inf. Dis. 125: 295~299, 1972
- 3) SUTHERLAND, R.: A new semi-synthetic penicillin. British Medical Journal 3: 13~16, 1972
- 4) 上野一恵他: Sulfobenzylpenicillin の嫌気性菌に対する抗菌作用について。Chemotherapy 19(8): 875~880, 1971
- 5) NEU, HALORD C.: *In vitro* antimicrobial activity of 6[D(-)α-amino-p-hydroxyphenyl acetamide] penicillanic acid, A new semisynthetic penicillin. Antimicrobial Agents and Chemotherapy-1970: 407~410, 1971

ACTIVITY OF AMOXYCILLIN ON STRICT ANAEROBES

KUNITOMO WATANABE, IZUMI MOCHIZUKI, KEIU NINOMIYA, KAZUE UENO
and SHOICHIRO SUZUKI

Department of Bacteriology, Gifu University, School of Medicine

Amoxycillin had a broad spectrum of antibacterial activity similar to that of ampicillin against anaerobic bacteria.

Many strains of anaerobic cocci were sensitive to concentrations of 0.39 mcg/ml or less. Almost all strains of anaerobic rods were sensitive to concentrations of 3.13 mcg/ml or less.

Bacteroides fragilis were relatively insensitive to amoxycillin as well as to ampicillin.