

## Doxycycline (DOTC) の嫌気性菌に対する抗菌作用について

二宮敬宇・渡辺邦友・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)  
 望月 泉・清水保夫・磯貝和俊・西浦常雄  
 岐阜大学医学部泌尿器科学教室 (主任：西浦常雄教授)

(昭和 48 年 7 月 12 日受付)

嫌気性菌、とくに無芽胞嫌気性菌による各種感染症の報告が最近多くなっている<sup>1-12)</sup>。臨床研究者の間に無芽胞嫌気性菌による感染症が認識されるようになってきたためであろう。病院の細菌検査室で日常好気培養と併行して嫌気培養が行なわれるようになってきたことも事実である。従がつて、臨床材料から検出される嫌気性菌の薬剤感受性についての検討は重要である。著者らは既に嫌気性菌についての薬剤感受性試験法<sup>13)</sup>、各種の化学療法剤の抗菌作用についての検討を報告した<sup>14-17)</sup>。

今回、アメリカンファイザー社が Oxytetracycline (OTC) の Hydrogenation により開発した Doxycycline (DOTC) について、157 株の嫌気性菌に対する抗菌作用を *in vitro* において検討したので報告する。

#### 実験方法

##### 供試菌株

最近臨床材料から分離、同定した嫌気性菌と一部の教室保育株、計 157 株を用いた。半流動高層培地に継代し実験に供した。菌種については Table 1 に示す。

##### 薬剤感受性測定法

使用培地は GAM 寒天培地、測定法は平板希釈法である。当日作製した 1,000 mcg/ml の薬剤含有液からメスピペットを用い滅菌蒸留水で希釈し、500 mcg/ml から 1.9 mcg/ml まで 2 倍希釈する。GAM 寒天培地を 50°C に保ち、各段階希釈薬剤液 2 ml と培地 18 ml をペトリ皿の中でよく混和、乾燥させ、薬剤含有培地を作製した。被検菌株は GAM 半流動高層培地に 37°C、24 時間培養したものをを用いた。内径 1 mm の白金耳を用い、被検菌株の 1 白金耳を約 1 cm の長さに画線塗抹した。24 時間嫌気培養後、その成績を判定した。

供試薬剤は台糖ファイザーから供与された力価の明らかな DOTC および OTC の他、Aminobenzylpenicillin (AB-PC) (武田薬品)、Cephalothine (CET) (シオノギ薬品)、Lincomycin (LCM) (アップジョン) をを用いた。

##### 嫌気培養法

スチールウールによる嫌気培養法<sup>18)</sup> (CO<sub>2</sub> 10%, N<sub>2</sub> 90% ガス環境下) をを用いた。

Table 1 Strains used

organisms	number of strains
<i>Peptococcus anaerobius</i>	18
<i>P. prevoli</i>	15
<i>P. asaccharolyticus</i>	13
<i>P. variabilis</i>	9
<i>P. aerogenes</i>	3
<i>P. grigoroffii</i>	3
<i>P. saccharolyticus</i>	1
<i>P. activus</i>	1
<i>Peptococcus</i> sp.	3
<i>Peptostreptococcus magnus</i>	23
<i>P. putridus</i>	6
<i>P. intermedius</i>	2
<i>P. productus</i>	2
<i>P. anaerobius</i>	1
<i>P. foetidus</i>	1
<i>Veillonella alcalescens</i>	2
<i>Corynebacterium avidum</i>	6
<i>C. granulosum</i>	3
<i>C. acnes</i>	1
<i>Eubacterium lentum</i>	3
<i>E. moniliforme</i>	1
<i>Calenabacterium</i> sp.	1
<i>Clostridium perfringens</i>	2
<i>C. histolyticum</i>	1
<i>C. novyi</i>	1
<i>C. cochlearium</i>	1
<i>C. septicum</i>	1
<i>C. tetanomorphum</i>	1
<i>Bacteroides fragilis</i>	6
<i>B. melaninogenicus</i>	2
<i>Bacteroides</i> sp.	7
<i>Sphaerophorus funduliformis</i>	4
<i>S. necrophorus</i>	2
<i>S. ridiculosus</i>	3
<i>Sphaerophorus</i> sp.	6
<i>Fusobacterium fusiforme</i>	1
<i>Fusobacterium</i> sp.	1

Table 2 Susceptibility of anaerobic bacteria to DOTC, ABPC, CET and LCM.

organisms	chemotherapeutic agents			
	DOTC	ABPC	CET	LCM
<i>Peptococcus anaerobius</i> B 40 (Pasteur, Lille)	6.25	0.19	1.56	0.78
<i>P. prevotii</i> Z 770-1	12.5	0.19	0.78	3.12
<i>P. asaccharolyticus</i> Z 1003	0.19	0.19	1.56	0.39
<i>P. aerogenes</i> PL 4 (Pasteur, Lille)	0.39	0.78	1.56	0.39
<i>P. activus</i> Z 970	12.5	0.19	0.19	0.39
<i>P. variabilis</i> PL 7 (Pasteur, Lille)	0.78	0.78	0.78	0.78
<i>P. grigorofii</i> Z 1051-1	0.39	0.78	0.78	3.13
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> Z 716	12.5	0.78	0.19	0.19
<i>P. putridus</i> PL 9 (Pasteur, Lille)	0.39	0.39	0.78	0.78
<i>P. productus</i> Z 861	25	0.39	0.19	0.78
<i>P. foetidus</i> Z 712-1	3.13	0.39	3.13	0.19
<i>P. magnus</i> Z 913-1	25	0.39	0.78	3.13
<i>Veillonella alcalescens</i> Z 864	0.19	0.19	0.19	0.78
<i>Eubacterium lentum</i> B 37-1	1.56	0.78	#	0.19
<i>Corynebacterium avidum</i> B 39-1	1.56	0.78	#	0.78
<i>C. granulosum</i> B 40-1	0.78	0.78	#	0.39
<i>C. acnes</i> B 21-5	1.56	0.19	#	0.19
<i>Clostridium histolyticum</i>	0.19	0.19	0.39	0.19
<i>C. novyi</i>	0.19	0.39	0.39	0.19
<i>C. cochlearium</i>	0.19	1.56	0.78	0.19
<i>C. septicum</i>	0.19	6.25	3.13	6.25
<i>C. tetanomorphum</i>	3.13	100	1.56	0.19
<i>C. perfringens</i>	0.19	0.78	6.25	6.25
<i>Bacteroides fragilis</i>	3.13	100	3.13	0.19
<i>B. melaninogenicus</i>	0.39	100	3.13	0.19
<i>Sphaerophorus funduliformis</i>	0.39	0.78	12.5	6.25
<i>S. necrophorus</i>	0.78	100	12.5	6.25
<i>S. ridiculosus</i>	0.39	100	12.5	6.25
<i>Fusobacterium fusiforme</i>	0.78	0.39	1.56	0.19

## 実験成績

Table 2 は教室保育菌株を用いて DOTC, AB-PC, CET, LCM の抗菌作用を比較検討した成績である。DOTC に対し全菌株が 25 mcg/ml 以下の MIC を示し、そのうち 80% が 3.13 mcg/ml 以下の MIC であった。AB-PC では *C. tetanomorphum* 1 株と gram 陰性桿菌 4 株に 100 mcg/ml の MIC を示したが、gram 陽性菌に対しては DOTC に比しすぐれた抗菌作用を示した。CET, LCM は DOTC と類似した抗菌スペクトラムを示すが、gram 陽性球菌に対しては CET, LCM が、gram 陰性桿菌については DOTC がそれぞれ若干すぐれた抗菌作用を示した。

Table 3 に 157 株の嫌気性菌に対する抗菌作用を示した。全菌株の感受性分布では 0.39 mcg/ml と 25 mcg/

ml にピークがみられる。供試菌株の 70% が 12.5 mcg/ml の MIC を示した。*Peptococcus* では 66 株中 7 株、*Peptostreptococcus* では 35 株中 5 株、*Corynebacterium* では 10 株中 2 株を除いて 25 mcg/ml 以下の MIC を示し、また *Veillonella*, *Eubacterium*, *Catenabacterium*, *Clostridium*, *Bacteroides*, *Sphaerophorus* では全株が 25 mcg/ml 以下の MIC を示した。

菌種別の MIC を Table 4, Table 5, Table 6, Table 7 に示した。

Table 4 に *Peptococcus* の DOTC に対する感受性成績を示す。*Peptococcus asaccharolyticus*, *P. aerogenes*, *P. grigorofii*, *Peptococcus* sp. では全株が 25 mcg/ml 以下の MIC を示した。*P. variabilis* では 5 株が 1.56 mcg/ml 以下、4 株が 25 mcg/ml 以上の MIC を示し、2 峰性の感受性分布であった。*P. anaerobius* では 10 株が 3.13 mcg/ml 以下、3 株が 50 mcg/ml 以上の MIC を示した。*P. prevotii* では 15 株中 10 株が 1.56 mcg/ml 以下、5 株が 12.5~50 mcg/ml の MIC を示した。

Table 5 は *Peptostreptococcus* の成績である。*Peptostreptococcus putridus*, *P. intermedius* などは、DOTC に感受性を示したが、*P. magnus* では 23 株中 10 株が 1.56 mcg/ml 以下、2 株が 6.25~12.5 mcg/ml、6 株が 25 mcg/ml、5 株が 50 mcg/ml 以上であった。*P. productus* では 2 株が 25 mcg/ml の MIC を示した。

Table 6 は *Corynebacterium*, *Eubacterium*, *Catenabacterium* などの gram 陽性桿菌の成績である。

供試した 14 株中 11 株が 3.13 mcg/ml 以下の MIC を示し、*Corynebacterium granulosum* の 1 株は 25 mcg/ml、*C. avidum* の 2 株が 50 mcg/ml 以上であった。

Table 7 に *Bacteroides*, *Sphaerophorus* の成績を示した。*Bacteroides melaninogenicus*, *Sphaerophorus necrophorus* では 1.56 mcg/ml 以下、*B. fragilis*, *Bac-*

Table 3 Susceptibility of anaerobic bacteria to DOTC

organisms	number of strains	MIC (mcg/ml)									
		0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100
<i>Peptococcus</i>	66	8	11	8	10	1	3	7	11	5	2
<i>Peptostreptococcus</i>	35	5	8		3	1	2	3	8	2	3
<i>Veillonella</i>	2	1							1		
<i>Corynebacterium</i>	10		1	1	4	1			1	1	1
<i>Eubacterium</i> , and <i>Catenabacterium</i>	5	1	1	1	2						
<i>Clostridium</i>	7	6				1					
<i>Bacteroides</i>	15	2	1	1	1	1	2	2	5		
<i>Sphaerophorus</i>	15	1	5	1	1		1	1	5		
<i>Fusobacterium</i>	2		1	1							

Table 4 Susceptibility of *Peptococcus* to DOTC

organisms	number of strains	MIC (mcg/ml)									
		0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100
<i>Peptococcus anaerobius</i>	18		5		4	1	1	1	3	2	1
<i>P. prevotii</i>	15	2	4	3	1			2	1	2	
<i>P. asaccharolyticus</i>	13	3		2	3		2		3		
<i>P. variabilis</i>	9	1		2	2				2	1	1
<i>P. aerogenes</i>	3		1					1	1		
<i>P. grigoroffii</i>	3	1		1				1			
<i>Peptococcus</i> sp.	5	1	1					2	1		

Table 5 Susceptibility of *Peptostreptococcus* to DOTC

organisms	number of strains	MIC (mcg/ml)									
		0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100
<i>Peptostreptococcus magnus</i>	23	3	5		2		1	1	6	2	3
<i>P. putridus</i>	6	2	2				1	1			
<i>P. intermedius</i>	2		1		1						
<i>P. productus</i>	2								2		
<i>P. foetidus</i>	1					1					
<i>P. anaerobius</i>	1							1			

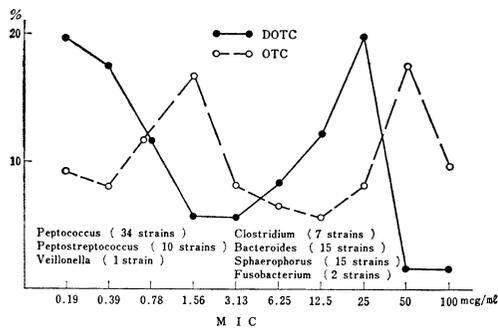
Table 6 Susceptibility of anaerobic gram positive rods to DOTC

organisms	number of strains	MIC (mcg/ml)									
		0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100
<i>Corynebacterium granulosum</i>	3		1	1					1		
<i>C. avidum</i>	6				3	1				1	1
<i>Eubacterium lentum</i>	3		1	1	1						
<i>E. moniliforme</i>	1	1									
<i>Catenabacterium</i>	1				1						

Table 7 Susceptibility of gram negative anaerobic rods to DOTC

organisms	number of strains	MIC (mcg/ml)									
		0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100
<i>Bacteroides fragilis</i>	6	1				1		1	3		
<i>B. melaninogenicus</i>	2	1	1								
<i>Bacteroides</i> sp.	7			1	1		2	1	2		
<i>Sphaerophorus funduliformis</i>	4		1		1				2		
<i>S. ridiculosus</i>	3		2						1		
<i>S. necrophorus</i>	2	1		1							
<i>Sphaerophorus</i> sp.	6		2				1	1	2		

Fig. 1 Comparison of antibacterial activity of DOTC and OTC



*teroides* sp., *S. funduriformis*, *S. ridiculosus*, *Sphaerophorus* sp. のほぼ半数は 6.25~25 mcg/ml に分布している。そしてグラム陰性桿菌の全株が 25 mcg/ml 以下の MIC を示した。

Fig. 1 は Table 1 に示した菌株中の 84 株を用いて、DOTC と OTC の抗菌力を比較検討したものである。被検菌株の両剤に対する感受性分布は 2 峰性を示し、DOTC に対しては 0.19 mcg/ml と 25 mcg/ml に、OTC には 1.56 mcg/ml と 50 mcg/ml にそれぞれピー

クがみられる。

Table 8 は DOTC の抗菌力を AB-PC, CET, LCM と比較検討した。

*Peptococcus* 20 株は DOTC, AB-PC, CET の 3 剤に対し類似した感受性分布を示すが、LCM に対し 100 mcg/ml を示す 3 株がみられた。この 3 株は *Peptococcus variabilis* であつた。

*Peptostreptococcus* の 10 株は DOTC より他の 3 剤に感受性を示した。

*Sphaerophorus*, *Fusobacterium* の 17 株は DOTC には全株が 25 mcg/ml 以下の MIC を示すが、他の 3 剤には 4 株が 100 mcg/ml の MIC を示した。

*Bacteroides* 15 株でも、DOTC には全株が 25 mcg/ml 以下の MIC を示すが、AB-PC, CET, LCM にはそれぞれ 2 株が 100 mcg/ml の MIC を示した。

#### 考 察

DOTC に対する嫌気性菌の薬剤感受性の検討は本邦では小酒井ら<sup>19)</sup>、柴田ら<sup>20)</sup>により報告されている。小酒井らによれば 30 株中 27 株が 12.5 mcg/ml 以下の MIC を示し Tetracycline, Dimethyl chlortetracycline (DMTC) よりすぐれた抗菌作用を持つと報告している。

Table 8 Comparison of antibacterial activity of DOTC and ABPC, CET, LCM against anaerobic bacteria

organisms	number of strains	antibacterial agents	MIC (mcg/ml)									
			0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100
<i>Peptococcus</i>	20	DOTC	5	4	6	3	2					
		ABPC	10	7	3							
		CET	6	4	5	5						
		LCM	2	7	4	4						
<i>Peptostreptococcus</i>	10	DOTC	2	2			1	1	2	2		
		ABPC	3	5	2							
		CET	4	2	2	1	1					
		LCM	6		3							1
<i>Bacteroides</i>	15	DOTC	2	1	1	1	1	2	2	5		
		ABPC	2	2	4		2	1			2	2
		CET	1		1	1	5	2	1	2		2
		LCM	2	2	2		5	2				2
<i>Sphaerophorus</i> and <i>Fusobacterium</i>	17	DOTC	1	6	2	1		1	1	5		
		ABPC	3	1	3		2	1	1		2	4
		CET	1	1		2	2	3	4			4
		LCM	4			1		5	3			4

柴田らは 50 株中 23 株 (46%) が 12.5 mcg/ml 以下の MIC を示し、*Peptococcus* は *Bacteroides* より感受性と報告している。

また小酒井らは DOTC の MIC は接種菌量により大きく変動することを好気性菌で報告している。著者らはこの接種菌量による MIC の変動について検討していない。

*In vivo* では松田<sup>21)</sup>が *Peptococcus* による右卵管溜膿腫に DO-TC を投与、治療効果が認められたと報告している。

FINEGOLD<sup>22)</sup> は 3 人の患者に DOTC を 1 日 200 mg 1 週間投与し、腸内細菌叢の変動を検討している。*Bacteroides*, *Sphaerophorus* が DOTC の投与により抑制されなかつたと報告している。著者らも同様な検討を行なった結果、FINEGOLD と類似した成績を得ている。*In vitro* では感受性でありながら、*in vivo* ではあまり影響されないという相反する成績についての考察は多くの実験の積重ねを待たねばならない。

DOTC と OTC の抗菌力の比較では DOTC がすぐれており、好気性菌についての報告と同様である。

DOTC と他の Tetracycline 系抗生物質との嫌気性

菌に対する抗菌力の比較検討の報告は先にのべた小酒井らによるものだけで、著者らの知る範囲では見当たらないようである。以下、TC 系の嫌気性菌に対する抗菌作用についての報告をのべる。WERNER<sup>23)</sup> は Thioglycollate bouillon, 10% 血清加 Thioglycollate bouillon, Rose-nou bouillon の 3 種の液体培地を用い、臨床材料と人糞便から得られた 15 株について、TC, Chlortetracycline (CTC), OTC, Pyrrolydinomethyltetracycline の抗菌作用を比較検討し、OTC が最も強い抗菌作用をもち、TC, CTC はほぼ同等、Pyrrolydinomethyltetracycline が最も弱いと報告している。

TC だけの嫌気性菌に対する抗菌作用の報告では species level で FINEGOLD<sup>24)</sup>, 上野<sup>12)</sup>が報告、小酒井らは 430 株の嫌気性菌について genus level で報告、多くの菌株が 12.5 mcg/ml 以下の MIC であることで成績が一致している。耳鼻科領域では馬場<sup>21)</sup>が、婦人科領域では高瀬<sup>2,25)</sup>がそれぞれの領域の臨床材料から嫌気性菌を分離し、各種抗生物質の薬剤感受性を検討し、90% 前後の嫌気性菌は TC に 10 mcg/ml 以下の MIC を示すと報告している。

DOTC と TC 系以外の抗生物質である AB-PC, CET,

LCM の抗菌作用の比較検討の報告もみられない。ただ WERNER は前述の報告の中で *Bacteroides* は AB-PC, CET に耐性であると報告している。しかし著者らの成績では *Bacteroides* の 60% が AB-PC, CET に対し 6.25 mcg/ml 以下の MIC を示した。

#### 結 論

最近臨床材料から分離した嫌気性菌などの株を用い、GAM 寒天培地による平板希釈法により DOTC の抗菌作用を検討した。

供試菌株の 70% が DOTC に対し 25 mcg/ml 以下の MIC を示した。

DOTC と OTC の抗菌作用の比較では DOTC がすぐれている。

DOTC と AB-PC, CET, LCM の抗菌作用の比較では *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* ではほぼ同程度, *Bacteroides*, *Sphaerophorus* などは DOTC だけに全株 25 mcg/ml 以下の MIC を示した。

著者らの成績と諸家の報告を総合すると, DOTC は嫌気性菌全体にすぐれた抗菌作用を示し, 今後嫌気菌による感染症に対し DOTC の臨床効果を期待できると考える。

#### 文 献

- 1) 鈴木祥一郎：日本伝染病学雑誌 40：12～18, 1966
- 2) 鈴木祥一郎，他：第 40 回日本細菌学会総会シンポジウム抄録集, 1967
- 3) 小栗豊子：日本衛生検査技師会雑誌 16：390～393, 1967
- 4) 鈴木祥一郎：日本細菌学雑誌 23：1～6, 1968
- 5) 渡辺英夫：Chemotherapy 17：59～70, 1969
- 6) 多羅尾和郎：日本消化器学会雑誌 66：27～46, 1969
- 7) 沢田滋正，他：内科 24：969～973, 1969
- 8) 中村 功，他：最新医学 25：1170～1177, 1970
- 9) 松浦宏充：第 1 報，日本眼科学会誌 74：366, 第 2 報，同誌，74：374, 第 3 報，同誌，74：381, 1970
- 10) HIROCHIKA MATSUURA：J. J. Ophthalm. 15：116～124, 1971
- 11) BEERENS, H.：Infections humaines à bactéries anaérobies non toxigènes. Paris, Presses Académiques Européennes. 1965
- 12) 小酒井 望，鈴木祥一郎編：嫌気性菌と嫌気性菌症，東京，医学書院，1968
- 13) 二宮敬宇，他：Chemotherapy 19：106～110, 1971
- 14) 上野一恵，他：Chemotherapy 19：102～105, 1971
- 15) 上野一恵，他：Chemotherapy 19：111～114, 1971
- 16) 上野一恵，他：Chemotherapy 19：115～118, 1971
- 17) 上野一恵，他：診療 23：994～995, 1970
- 18) 上野一恵：メディアサークル No. 57：1～7, 1964
- 19) 小酒井 望，他：Chemotherapy 17：109～113, 1969
- 20) 柴田清人，他：Chemotherapy 17：273～278, 1969
- 21) 松田静治，他：Chemotherapy 17：324～330, 1969
- 22) FINEGOLD, *et al.*：Annals of New York Academy of Science 145：264～281, 1967
- 23) WERENER, *et al.*：Zbt. Bakt. 208(3)：437～448, 1968
- 24) FINEGOLD, *et al.*：Bact. 94：1443～1450, 1967
- 25) 高瀬善次郎：日本産婦人科学会雑誌 11：1759～1768, 1959

## ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF DOXYCYCLINE AGAINST ANAEROBES

KEIU NINOMIYA, KUNITOMO WATANABE, KAZUE UENO and  
SHOICHIRO SUZUKI

Department of Bacteriology, Gifu University School of Medicine

IZUMI MOCHIZUKI, YASUO SHIMIZU, KAZUTOSHI ISOGAI and

TSUNEO NISHIURA

Department of Urology, Gifu University School of Medicine

The antimicrobial activity of doxycycline (DOTC) was determined against 157 strains of anaerobic bacteria mostly recent clinical isolates by a plate dilution method using GAM agar as culture medium. Seventy per-cent of the tested was inhibited by 25 mcg/ml or less of DOTC.

The antimicrobial activity of DOTC was greater than that of oxytetracycline.

While the antimicrobial activity was comparable among DOTC, aminobenzylpenicillin, cephalothin

---

and lincomycin against *Peptococcus* and *Peptostreptococcus*, DOTC was only antibiotic which had the minimal inhibitory concentration of 25 mcg/ml or less against all strains of *Bacteroides* and *Sphaerophorus*.

The results of the present investigations indicate as well as previous observations that DOTC has a favorable antimicrobial activity against all species of anaerobic organisms. This characteristics of DOTC may be advantageous for clinical therapy of infections due to anaerobic organisms.