

SF 837 の嫌気性菌に対する抗菌作用

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

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

(昭和 48 年 12 月 28 日受付)

はじめに

明治製菓研究所で開発された国産マクロライド系抗生物質 SF 837 は第 18 回日本化療学会東日本支部総会の新薬シンポジウム¹⁾ にとりあげられ、本剤に対する細菌学のおよび臨床的評価がなされている。嫌気性菌についての検討は中沢²⁾、小酒井ら³⁾により少数の菌株について検討されているだけである。著者らは SF 837 の教室保有株および臨床分離の嫌気性菌に対する抗菌作用を検討した。

実験方法

1. 供試菌株

教室保有の reference strain および岐阜大学医学部微生物、岐阜大学医学部泌尿器科学教室、順天堂病院中央検査部における臨床材料から分離され著者らが同定した菌株約 200 株を用いた。

2. 供試薬剤

明治製菓から供与された SF 837 および本剤と比較検

討するため JM (山内製薬)、EM (シオノギ製薬)、RFP (第一製薬)、LM, OL, SPM, LCM, CLDM をも用いた。

3. 薬剤感受性測定法

GAM 寒天培地 (日水) を基礎培地とした平板希釈法を用いた⁴⁾。また Liver veal agar (Difco)、Brain heart infusion agar (BBL)、Brucella agar (BBL) にはウサギ血液を 5% に加え、培地間による MIC 変動を検討した。

被検菌株を GAM 液体培地 (日水) に 24 時間嫌気培養後、滅菌 yeast extract 0.04% 液により McFARLAND 1/2 に調整し MIC を測定した。

接種方法には多目的アパラツス (武藤製作所) を用いた。

実験成績

I. 抗菌スペクトラム

Table 1 は教室保育の無芽胞嫌気性菌に対する SF

Table 1 Susceptibility of anaerobic bacteria to SF 837

Organisms	MIC (mcg/ml)	
	SF 837	JM
<i>P. variabilis</i> ATCC 14956	0.78	1.56
<i>P. anaerobius</i> Pasteur Lille PL 7	3.13	3.13
<i>P. prevotii</i> ATCC 9321	0.78	0.78
<i>P. aerogenes</i> ATCC 14963	0.39	0.78
<i>Ps. anaerobius</i> Pasteur Lille B 38	0.19	0.39
<i>A. fermentans</i> ATCC 25085	1.56	0.78
<i>V. alcalescens</i> ATCC 17745	3.13	3.13
<i>B. fragilis</i> ss <i>fragilis</i> J 13	0.19	0.39
<i>B. fragilis</i> ss <i>distasonis</i> J 11	0.19	0.19
<i>B. fragilis</i> ss <i>ovatus</i> J 6-2	0.78	0.78
<i>B. fragilis</i> ss <i>thetaiotamicron</i> J 20-1	0.19	0.19
<i>B. melaninogenicus</i> Rm-1	0.19	0.19
<i>B. praecutis</i> ATCC 25539	0.78	0.78
<i>B. hypermegas</i> ATCC 25560	3.13	6.25
<i>F. necrophorum</i> GI-3	3.13	6.25
<i>F. russii</i> ATCC 25533	12.5	12.5

Table 2 Susceptibility of *Clostridia* to SF 837

Organisms	MIC (mcg/ml)	
	SF 837	JM
<i>C. perfringens</i> Sakai	0.19	0.19
<i>C. perfringens</i> Kanasawa Univ.	0.19	0.19
<i>C. tetani</i> Yoken	0.19	0.19
<i>C. tetani</i>	0.19	0.19
<i>C. novyi</i>	0.19	0.19
<i>C. septicum</i>	0.19	0.19
<i>C. septicum</i>	0.19	0.19
<i>C. sticklandi</i>	0.19	0.19
<i>C. bifermentans</i>	0.19	0.19
<i>C. bifermentans</i>	0.19	0.19
<i>C. sporogenes</i>	0.39	0.39

Table 3 Antibacterial activity of SF 837 on various media against anaerobes

Organisms		media			
		GAM ^a	LV ^b	BHI ^c	BA ^d
<i>P. anaerobius</i>	Pasteur Lille	6.25	12.5	12.5	12.5
<i>P. prevotii</i>	ATCC 9321	0.78	1.56	1.56	0.19
<i>P. saccharolyticus</i>	ATCC 14953	1.56	3.13	1.56	0.19
<i>P. aerogenes</i>	ATCC 14963	0.78	3.13	1.56	0.19
<i>P. variabilis</i>	ATCC 14955	0.78	1.56	6.25	1.56
<i>P. variabilis</i>	ATCC 14956	3.13	6.25	12.5	3.13
<i>P. variabilis</i>	Pasteur Lille PL 7	3.13	6.25	3.13	3.13
<i>Ps. anaerobius</i>	Pasteur Lille B 38	0.39	0.78	0.78	0.39
<i>A. fermentans</i>	ATCC 25085	1.56	3.13	6.25	3.13
<i>A. fermentans</i>	ATCC 25088	3.13	3.13	12.5	3.13
<i>B. hypermegas</i>	ATCC 25560	1.56	3.13	12.6	0.78
<i>B. hypermegas</i>	B 777	3.13	6.25	3.13	3.13
<i>B. furcosus</i>	ATCC 25662	0.19	0.39	0.19	0.39
<i>B. fragilis</i> ss <i>fragilis</i>	J-13	0.19	6.25	0.13	1.56
<i>B. fragilis</i> ss <i>distasonis</i>	J-11-1	0.39	3.13	6.25	0.78
<i>B. praeacutus</i>	ATCC 25539	1.56	0.78	3.13	0.78
<i>B. melaninogenicus</i>	Rm-1	0.19	0.78	6.25	1.56
<i>F. freundii</i>	ATCC 9817	100 <	100 <	100 <	100 <
<i>F. glutinosum</i>	J-21	100 <	100 <	100 <	100 <
<i>F. mortiferum</i>	B 1082	100 <	100 <	100 <	100 <
<i>F. russii</i>	ATCC 25533	1.56	—	3.13	0.19
<i>F. necrophorum</i>	GI 3	3.13	12.5	12.5	25

a : GAM agar

b : Liver veal agar with 5 % rabbit blood

c : Brain heart infusion agar with 5 % rabbit blood

d : *Brucella* agar with 5 % rabbit blood

837 の抗菌スペクトラムを JM と比較検討した成績である。

グラム陽性嫌気性球菌である *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* では、全株が SF 837 に対し 3.13 mcg/ml 以下の MIC を示した。

グラム陰性嫌気性球菌である *Veillonella*, *Acidaminococcus* も SF 837 に対し 3.13 mcg/ml 以下の MIC を示した。

グラム陰性桿菌の *Bacteroides* では *B. fragilis* ss *fragilis*, *B. fragilis* ss *distasonis*, *B. fragilis* ss *thetaitaomicron*, *B. melaninogenicus*, *B. praeacutus*, *B. furcosus* などが 0.78 mcg/ml 以下の MIC を示し, *B. hypermegas* の 2 株は 1.56~3.13 mcg/ml の MIC を示した。

また、同じグラム陰性桿菌である *Fusobacterium* では *F. necrophorum* は 3.13 mcg/ml, *F. russii* では 12.5 mcg/ml の MIC を示した。

SF 837 の抗菌スペクトラムは JM と類似し、その抗菌力は JM とほぼ同等であつた。

教室保育の *Clostridium* に対する成績を Table 2 に示した。*C. perfringens*, *C. histolyticum*, *C. novyi*, *C. septicum* などのガス壊疽菌群, *C. tetani* は 0.19 mcg/ml 以下の MIC を示した。本剤の抗菌スペクトラム、およびその抗菌力は JM と全く同じであつた。

II. MIC に及ぼす諸因子の影響

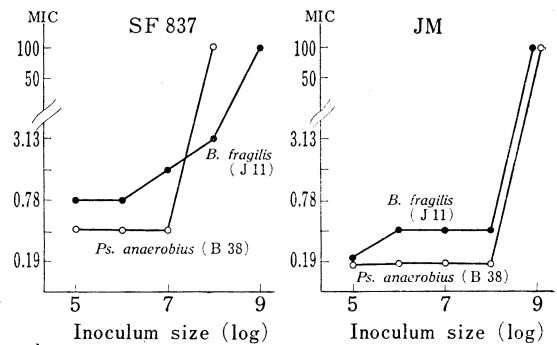
i) 基礎培地の差異による MIC の変動

その成績を Table 3 に示す。使用した基礎培地の違いにより被検菌株の MIC は 2~8 倍変動する。とくに *P. prevotii*, *P. saccharolyticus*, *P. aerogenes* などの菌種の MIC は培地間の差により著しい変動を示した。

ii) 培地 pH の影響

Table 4 は GAM 寒天培地を基礎培地とし、その pH

Fig. 1 Influence of inoculum size on activity of SF 837



を pH 6, pH 7, pH 8, pH 9 に調整し、検討した成績である。*P. anaerobius*, *F. varium* を除いた菌種の MIC は培地 pH にあまり影響されず 2~4 培の変動を示すにとどまっていた。*P. anaerobius*, *F. varium* では酸性側で低い MIC を示した。

iii) 接種菌量による影響

Fig. 1 にその成績を JM と比較して示した。MIC の変動は $10^5 \sim 10^7$ /ml の接種菌量では少なく、 10^9 /ml の接種菌量では 100 mcg/ml の MIC を示した。

III. 臨床分離株に対する SF 837 の抗菌力

最近、各種臨床材料から分離した 145 株の嫌気性菌に対する SF 837 の抗菌力を検討した。

Table 5 は嫌気性球菌に対する SF 837 の成績である。*Peptococcus*, *Peptostreptococcus* の 56 株中 52 株 (93%) は 6.25 mcg/ml の MIC を示した。100 mcg/ml 以上の MIC を示した *P. prevotii* の 1 株は EM, OL, LM, JM, RFP, LCM, CLDM に対しても 100 mcg/ml を示す多剤耐性株であつた。

Veillonella の感受性ピークは 12.5~50 mcg/ml にみ

Table 4 Influence of pH on MIC

Organisms		medium pH			
		pH 6	pH 7	pH 8	pH 9
<i>P. aerogenes</i>	Pasteur Lille PL 4	0.39	0.78	0.78	1.56
<i>P. anaerobius</i>	Pasteur Lille B 40	0.39	3.13	3.13	3.13
<i>P. variabilis</i>	ATCC 14955	0.39	0.39	0.19	0.39
<i>P. variabilis</i>	ATCC 14956	0.78	1.56	0.78	0.78
<i>Ps. anaerobius</i>	Pasteur Lille B 38	0.19	0.39	0.19	0.19
<i>B. hypermegas</i>	B 777	0.39	0.78	0.78	0.78
<i>F. varium</i>	ATCC 8501	12.5	100	100	100
<i>F. freundii</i>	ATCC 9817	25	50	50	50
<i>F. mortiferum</i>	B-1082	25	50	50	50

Table 5 Susceptibility of anaerobic cocci isolated from clinical specimens to SF 837

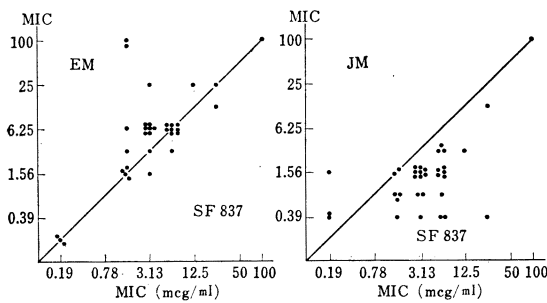
Organisms	Number of strains	MIC (mcg/ml)									
		0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100
<i>P. anaerobius</i>	15	1			2	4	6	1	1		
<i>P. asaccharolyticus</i>	6				1	4	1				
<i>P. prevotii</i>	4				1	2					1
<i>P. grigoroffii</i>	4				1		3				
<i>Ps. magnus</i>	12		1		1	7	3				
<i>Ps. putridus</i>	8	2			1	4			1		
<i>Ps. foetidus</i>	3				1		2				
<i>Ps. intermedius</i>	2						2				
<i>Ps. anaerobius</i>	1					1					
<i>Ps. productus</i>	1					1					
<i>V. alcalescens</i>	8			1				3		4	
<i>V. parvula</i>	5							2	2	1	
<i>Veillonella</i> sp.	13			1		1	2	2	5		2

P : *Peptococcus*

Ps : *Peptostreptococcus*

V : *Veillonella*

Fig. 2 Correlogram between SF 837 and EM, JM (*Peptococcus* and *Peptostreptococcus* 34 strains)



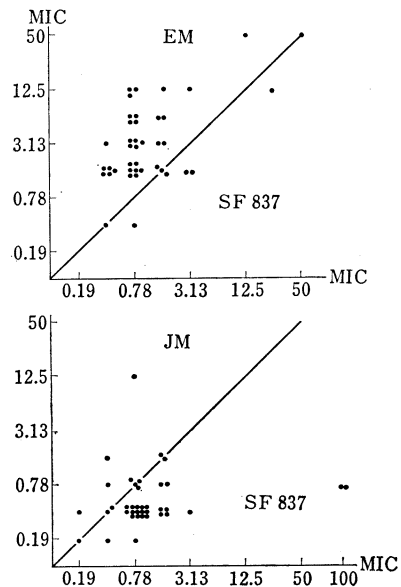
られた。100 mcg/ml 以上を示した 2 株は EM, LM, JM に対し 25 mcg/ml, RFP, LCM, CLDM には 3.13 mcg/ml 以下の MIC を示した。

Fig. 2 に *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* について SF 837 と EM, JM との抗菌力の相関を示した。SF 837 は EM よりすぐれ、JM より劣る抗菌力を示した。

Table 6 はグラム陰性桿菌の成績である。*Bacteroides* 41 株中 35 株 (90%) は 3.13 mcg/ml 以下の MIC を示した。

Fig. 3 に *Bacteroides* について Fig. 2 と同様、3 剤

Fig. 3 Correlogram between SF 837 and EM, JM (*Bacteroides* 41 strains)



の相関を示した。SF 837 は EM よりすぐれ、JM とほぼ同等の抗菌力を示した。

これに反し、*Fusobacterium* 22 株は全株が 50 mcg/ml

Table 6 Susceptibility of anaerobic gram negative rod isolated from clinical specimens to SF 837

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>B. fragilis</i> ss <i>fragilis</i>	19		2	12	3	1			1		
<i>B. fragilis</i> ss <i>distasonis</i>	5			2	3						
<i>B. fragilis</i> ss <i>vulgatus</i>	4	1	2	1							
<i>B. fragilis</i> ss <i>ovatus</i>	2				1					1	
<i>B. fragilis</i> ss <i>thetaiotaomicrom</i>	4				2						2
<i>B. trichoides</i>	5		1	2							2
<i>B. oralis</i>	2			1	1						
<i>F. varium</i>	17										17
<i>F. mortiferum</i>	2									2	
<i>F. glutinosum</i>	2										2
<i>F. necrogenes</i>	1										1

Table 7 Simple differential diagnosis of *Bacteroides* and *Fusobacterium* using SF 837

Organisms	Number of strains	MIC (mcg/ml)									
		0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400
<i>ss fragilis</i>	33	24	7				1				1
<i>B. fragilis</i>	<i>ss distasonis</i>	9	7	2							
	<i>ss thetaiotaomicron</i>	6	2	3						1	
	<i>ss ovatus</i>	1			1						
<i>ss vulgatus</i>	2	2									
<i>B. biacutus</i>	3		2			1					
<i>B. melaninogenicus</i>	2	2									
<i>B. clostridiformis</i>	1	1									
<i>F. varium</i>	30	7				1				30	
<i>F. varium</i>	30									30	
<i>F. nucleatum</i>	8						1	3	4		
<i>F. glutinosum</i>	2									2	
<i>F. necrophorum</i>	4						1	3			
<i>Fusobacterium</i> sp.	11									1	10

以上の MIC を示した。この 22 株は EM, LM, SPM, JM, RFP に対しても 50 mcg/ml 以上の MIC を示した。

IV. SF 837 による *Bacteroides* と *Fusobacterium* との簡便鑑別の検討

FINEGOLD ら⁵⁾は EM ディスク (60 mcg/ml 含有) を用い、*Bacteroides* と *Fusobacterium* を簡便鑑別している。このディスクに対し *Bacteroides* は感受性、*Fusobacterium* は耐性である。著者らは同じマクロライド剤

である SF 837 を用い、両属の簡便鑑別の有用性を検討した。その成績を Table 7 に示す。供試した *Bacteroides* 65 株中 61 株が本剤に対し 6.25 mcg/ml 以下の MIC を示し、*Fusobacterium* 55 株全てが 25 mcg/ml 以上の MIC を示し、43 株は 400 mcg/ml 以上の MIC であった。

考 察

SF 837 は JM と同様、国産のマクロライド抗生物質

であり、マクロライド耐性を誘導しないと報告されている^{1),6)}。また、本剤は生体内で代謝され $M_1 \sim M_5$ の代謝物となる¹⁾。血中、尿中では M_1 が、胆汁中では M_2 が主体となる。これらの代謝物の抗菌活性は M_1 では SF 837 の 25%、 M_2 では 12% と低下する¹⁾。著者らはこれらの代謝物の抗菌活性を検討する機会を与えられなかつたので、原物質の SF 837 の嫌気性菌に対する抗菌力について考察する。

SF 837 の嫌気性菌に対する抗菌スペクトラムはひじょうに広く *Fusobacterium* を除く嫌気性菌各菌種に強い抗菌力をもっている。多くの菌種が 0.39 mcg/ml 以下の MIC を示すことから、本剤投与後に得られる体液濃度¹⁾ を考え併せると、各種の嫌気性菌感染症に臨床的効果を期待できる。

MIC におよぼす諸因子の検討では基礎培地の違いにより MIC が大きく変動した。教室常用の GAM と比較した培地は、嫌気性菌の薬剤感受性を多く報告している研究室で常用されている。すなわち、小酒井ら⁹⁾は Liver veal agar (Difco) を、FINEGOLD ら⁷⁾は *Brucella* agar (BBL) を、HOLDMAN ら⁸⁾は Brain heart infusion agar (BBL) を使用している。この原因については不明である。今後、世界的レベルで究明されるべき問題であろう。

次いで培地 pH の影響ではアルカリ側で本剤の抗菌活性が強いと好気性菌の場合報告されている¹⁾が、著者らの検討ではこのような現象はみられなかつた。著者らは嫌気状態の維持に CO_2 10%、 N_2 90% のガス環境を用いている。この条件下では予じめ調整して置いた培地の pH はかなり低下し、目的とした培地 pH を得られないことを本剤実験中に気づいた。それゆえ、嫌気性菌について薬剤の培地による抗菌活性を検討する際には、嫌気環境の作り方に留意しなければならない。 CO_2 の比率を無にすれば簡易と思われるが、そのために発育できない嫌気性菌が多いからである。

EM などのマクロライド剤は CO_2 によりその抗菌活性が不活化されることが報告されている⁹⁾。また INGHAM ら¹⁰⁾は CLDM についてこのことを報告している。著者らはこの点を検討したが、 CO_2 10% ではこの現象をみることはなかつた。

本剤の臨床分離株に対する検討では、すでに小酒井らが *Peptococcus* 10 株、*Peptostreptococcus* 2 株、*C. perfringens* 1 株、anaerobic nonsporeforming gram positive rod 4 株、*Veillonella* 3 株、*Bacteroides* 1 株、計 21 株について検討し、*Veillonella* 1 株を除く 20 株は 6.25 mcg/ml 以下の MIC を示したと報告している。著者らも近似した成績を得た。また中沢らは *C. tetani* 1

株、*C. perfringens* 1 株を検討し、それぞれ 3.13 mcg/ml、6.25 mcg/ml の MIC を示したと報告している。著者らの成績とは 16~32 倍ちがつている。感受性測定法の差異であろう。つまり高層法(中沢ら)、平板法(著者ら)の差異であろう。この方法の差による MIC の変動については上野が報告している¹¹⁾ので省略する。

Bacteroides と *Fusobacterium* との簡易鑑別法として SF 837 を用いることは、ひじょうに有用と思われる。すなわち、*Fusobacterium* の多くの菌株は SF 837 50 mcg/ml に耐性、*Bacteroides* の多くの菌株は SF 837 6.25 mcg/ml に感受性であり、SF 837 12.5 mcg/ml 含有ディスクで両属の簡易鑑別が可能と思われる。

結 論

1. SF 837 の抗菌スペクトラムは嫌気性菌に対しひじょうに広く、*Fusobacterium* を除く嫌気性菌各菌種に抗菌作用を示した。
2. 臨床分離の嫌気性菌 147 株に対する SF 837 の抗菌力は *Fusobacterium* を除く多くの嫌気性菌に対し 3.13 mcg/ml~6.25 mcg/ml の濃度でその発育を阻止した。
3. *Bacteroides* と *Fusobacterium* の簡易鑑別法として SF 837 12.5 mcg/ml 含有ディスクの可能性が認められた。

文 献

- 1) 第 18 回日本化学療法学会東日本支部総会新薬シンポジウム SF 837 抄録集
- 2) 中沢昭三、他：新しいマクロライド系抗生物質 SF 837 (ミデカマイシン) に関する細菌学的評価。Chemotherapy 21: 705~710, 1973
- 3) 小酒井望、他：最近臨床材料から分離した各種病原細菌の SF 837 (ミデカマイシン) 感受性について。Chemotherapy 21: 698~704, 1973
- 4) 二宮敬宇、他：嫌気性菌の薬剤感受性試験法について。Chemotherapy 19: 106~110, 1971
- 5) SUTTER, V.L. et al: Antibiotic susceptibility tests for rapid presumptive identification of gram negative anaerobic bacilli. Appl. Microbiol. 21: 13~20, 1971
- 6) 井上松久：第 18 回日本化学療法学会東日本支部総会シンポジウム, I 細菌学的見地から。Chemotherapy 21: 659~664, 1973
- 7) FINEGOLD et al.: Anaerobic Bacteriology Manual, Department of Continuing Education in Health Sciences University Extension, and The School of Medicine, UCLA, 1972
- 8) HOLDMAN et al.: Anaerobe Laboratory Manual, Virginia Polytechnic Institute, Blacksburg, 1972
- 9) 抗生物質感受性試験国際的協同研究の報告。医薬の門 12: 263~272, 1972
- 10) INGHAM, H.R. et al: The effect of carbon

dioxide on the sensitivity of *Bacteroides fragilis* to certain antibiotics *in vitro*. J.Clin. Path. 23: 254~258, 1970

11) 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: 875~880, 1971

SUSCEPTIBILITY OF ANAEROBIC BACTERIA TO SF 837

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

Susceptibilities of 145 strains of anaerobic bacteria to SF 837, a new macrolide antibiotic developed by Research Laboratory of Meiji Seika, were examined.

Many strains of *Peptococcus* and *Peptostreptococcus* were sensitive to this drug, while strains of *Veillonella* were relatively resistant.

SF 837 showed strong activity to *Bacteroides* and little activity to *Fusobacterium* so that this drug may be useful to differentiate genera among gram negative anaerobic rods.