

## 新しいアミノ配糖体抗生物質 KW-1062 に関する細菌学的評価

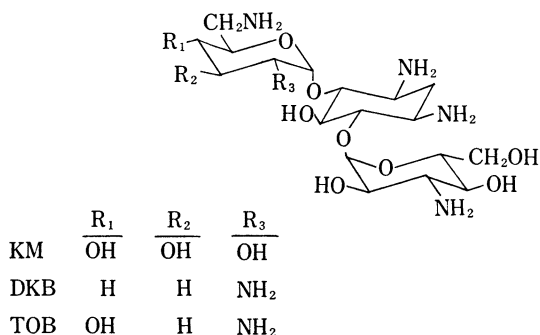
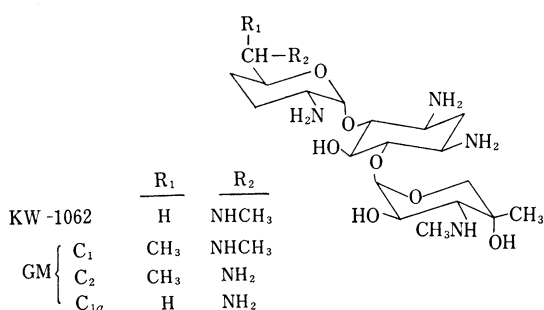
中沢昭三・佐藤 清・吉田 勇

竿下尚子・能勢恵美子・福井正憲

京都薬科大学微生物学教室

KW-1062 は協和醸酵工業株式会社において発見された新アミノ配糖体抗生物質で、Gentamicin(GM)の構成成分の一つである  $C_{1a}$  の  $6'-NH_2$  が  $6'-NHCH_3$  になった構造を有し GM と非常に良く類似している<sup>1-3)</sup>。分子式は  $C_{20}H_{41}N_5O_7$ 、分子量 463.5 の硫酸塩である。本剤は GM と同じくグラム陽性、陰性菌に広範囲に抗菌力を示し、とくにグラム陰性桿菌の緑膿菌、変形菌、肺炎桿菌および大腸菌の感染症に効果が期待できる<sup>4)</sup>。

今回、私どもはこの KW-1062 について既知アミノ配糖体抗生物質である Kanamycin (KM), Dibekacin (DKB), Tobramycin (TOB) および GM を対照薬剤<sup>5-8)</sup>として同一条件下で細菌学的評価を行なったので、その成績について報告する。



## I. 実験材料および実験方法

## 1. 使用抗生物質

KW-1062 (lot. R 15 MO 1, 566  $\mu$ g/mg, 協和醸酵), GM (Batch No. GMC 8 M 491, 608  $\mu$ g/mg, 塩野義製薬),

TOB (lot. 856 AD-291-1, 956  $\mu$ g/mg, 塩野義製薬), DKB (lot. C-107, 720  $\mu$ g/mg, 明治製菓), KM (lot. KSP-389, 702  $\mu$ g/mg, 万有製薬), Amikacin (AMK) (lot. BK-23, 701  $\mu$ g/mg, 万有製薬), Carbenicillin (CBPC) (lot. L-250, 798  $\mu$ g/mg, 藤沢薬品), Sulbenicillin (SBPC) (878  $\mu$ g/mg, 武田薬品), Polymyxin B (PLB) (台糖ファイザー)を使用した。

## 2. 抗菌スペクトラム

教室保存のグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対する試験管内抗菌力を前培養 Tryptosoyアピオン(TSB, ニッスイ), 測定用培地に Heart infusion 寒天培地(HIA, ニッスイ)を用い、日本化学療法学会最小発育阻止濃度(MIC)測定法によって求めた。

なおレンサ球菌群, 肺炎球菌群, ジフテリア菌については, 10% 馬血液加 HIA を用いて 37°C, 20 時間培養後の MIC を求めた。淋菌, 髄膜炎菌については, GC 培地(栄研), 嫌気性菌の破傷風菌, ウェルシュ菌についてはチオグリコール酸塩培地(ニッスイ)を用いて 37°C, 48 時間培養後の MIC を求めた。

## 3. 臨床分離株に対する感受性分布と感受性相関

臨床分離ブドウ球菌 49 株, 大腸菌 71 株, 緑膿菌 87 株, 変形菌 33 株, クレブシエラ 20 株, セラチア 127 株の感受性分布と感受性相関を HIA を用いる日本化学療法学会 MIC 測定法により求めた。

## 4. 抗菌力におよぼす諸因子の影響

抗菌力におよぼす培地 pH, 馬血清添加, 接種菌量の影響を *S. aureus* 209 P 株, *E. coli* NIH JC-2 株および *Ps. aeruginosa* No. 12 株を試験菌とし, 前培養 TSB, 測定用培地に Heart infusionアピオン(HIB)(ニッスイ)を用いた液体希釈法によって, 37°C, 20 時間培養後の MIC で求めた。培地 pH の抗菌力におよぼす影響では, 培地 pH を 5, 6, 7, 8, 9 に調整した培地中での変動を, 馬血清添加の影響では, 馬血清を 50%, 25%, 10%, 0% に含む培地中での変動を検討した。接種菌量による影響については, 培地中の菌量を *S. aureus* 209-P 株では  $2.7 \times 10^7 \sim 2.7 \times 10^4$  cells/ml, *E. coli* NIH JC-2 株では  $2.1 \times 10^8 \sim 2.1 \times 10^4$  cells/ml, *Ps. aeruginosa* No. 12 株では  $1.4 \times 10^8 \sim 1.4 \times 10^4$  cells/ml の間で 10 倍希釈系

列を作り菌量の多少による抗菌力の變動により検討した。

#### 5. 増殖曲線におよぼす影響

##### (a) Biophotometer による観察

*Ps. aeruginosa* No. 12 株を用い TSB で 37°C, 20 時間培養菌液を HIB で  $10^{-3}$  希釈し、濁度の経時変化を自動的に記録する Biophotometer (JASCO/JOUAN 製) を使用し約 4 時間培養後 ( $T=60\%$ ) に抗生剤を添加し 24 時間までの濁度の変化を観察した。

##### (b) 生菌数測定法

*Ps. aeruginosa* No. 12 株, *E. coli* NIH JC-2 株を試験菌とし HIB で 37°C, 20 時間培養液を HIB で  $10^{-3}$  希釈し, 37°C で振盪培養しながら菌数が約  $10^7$  cells/ml に達した時点で薬剤を添加し以後経時的に生菌数を測定した。また, 初めの菌数 ( $10^7$  cells/ml) が薬剤添加により  $10^3$  オーダー減少するに要する時間を求め 99.9% Killing を同時に求めた。

#### 6. 自然耐性菌の出現頻度

*Ps. aeruginosa* No. 12, PP-4 株を試験菌とし, Brain heart infusion ブイヨン (ニッスイ) で 37°C, 20 時間振盪培養して得られる菌を  $10^9$  cells/シャーレになるように, 5 MIC, 10 MIC の薬剤を含む HIA と混和し, 37°C 48 時間培養後形成するコロニー数を測定した。

#### 7. 試験管内における CBPC との併用効果

ペニシリン系抗生物質 CBPC との併用効果の有無を *Ps. aeruginosa* No. 12 株および *E. coli* NIH JC-2 株を試験菌として HIB を用いた chequer board titration 法により 37°C, 20 時間培養後の MIC で求めた。

#### 8. マウス実験的感染症に対する治療効果

感染菌として *Ps. aeruginosa* 3 株, *Serratia* 2 株を用い, 各菌を TSB で 37°C, 12 時間振盪培養し所定の菌量に希釈を行ない, これを 4% Gastric mucin (NBC) と等量混合し 0.5 ml/マウス腹腔内に接種した。治療は菌接種後 2 時間 1 回皮下注射し, 7 日間生死を観察し ED<sub>50</sub> (mg/マウス) を求めた。使用マウスは dd-YS 系 ♂ 16~18g で 1 群 10 匹を用いた。

## II. 実験結果

### 1. 抗菌スペクトラム

教室保存のグラム陽性菌, 陰性菌について試験管内抗菌力を求めた。その成績は Table 1, 2 に示されるとおりである。その抗菌力を比較すると, グラム陽性菌であるブドウ球菌に対しては KW-1062, GM 0.1~0.39  $\mu$ g/ml, TOB, DKB 0.2~0.39  $\mu$ g/ml, KM 0.39~1.56  $\mu$ g/ml の感受性を示した。レンサ球菌群の溶血レンサ球菌に対し KW-1062 1.56~6.25  $\mu$ g/ml, GM 3.12~6.25  $\mu$ g/ml, TOB, DKB 12.5~25  $\mu$ g/ml, KM 25~100  $\mu$ g/ml

Table 1 Antibacterial spectrum (I) —Gram positive bacteria— MIC ( $\mu$ g/ml)

	KW-1062	GM	TOB	DKB	KM
1 <i>Sta. aureus</i> 209P	0.1	0.1	0.2	0.2	0.39
2 <i>Sta. aureus</i> Smith	0.2	0.2	0.2	0.39	1.56
3 <i>Sta. aureus</i> Terajima	0.1	0.1	0.2	0.2	0.39
4 <i>Sta. aureus</i> Newmann	0.39	0.39	0.39	0.39	1.56
5 <i>Sta. aureus</i> E-46	0.39	0.39	0.39	0.39	1.56
6 <i>Sta. aureus</i> No. 80	0.2	0.2	0.39	0.39	1.56
7 <i>Sta. epidermidis</i>	0.2	0.1	0.2	0.2	0.78
8 <i>Str. pyogenes</i> S-23	1.56	3.12	12.5	12.5	25
9 <i>Str. pyogenes</i> Cook	6.25	6.25	12.5	25	100
10 <i>Str. faecalis</i>	25	50	>100	>100	>100
11 <i>Str. viridans</i>	50	50	>100	>100	>100
12 <i>Str. pneumoniae</i> Type I	12.5	6.25	12.5	25	50
13 <i>Str. pneumoniae</i> Type II	25	12.5	50	50	50
14 <i>Str. pneumoniae</i> Type III	3.12	3.12	12.5	50	50
15 <i>S. lutea</i> PCI-1001	0.39	0.39	3.12	3.12	6.25
16 <i>B. subtilis</i> PCI-219	0.1	0.1	0.1	0.1	0.78
17 <i>B. anthracis</i>	0.2	0.2	0.39	0.39	0.78
18 <i>Cory. diphtheriae</i>	0.2	0.39	0.2	0.39	0.39
19 <i>Cl. tetani</i>	100	>100	>100	>100	>100
20 <i>Cl. perfringens</i>	>100	>100	>100	>100	>100

Table 2 Antibacterial spectrum (II) —Gram negative bacteria— MIC ( $\mu$ g/ml)

	KW-1062	GM	TOB	DKB	KM
1 <i>N. gonorrhoeae</i>	0.78	0.78	1.56	1.56	3.12
2 <i>N. meningitidis</i>	1.56	1.56	6.25	6.25	6.25
3 <i>E. coli</i> NIHJC-2	0.78	0.78	0.78	1.56	3.12
4 <i>E. coli</i> NIH	0.78	0.78	0.78	0.78	3.12
5 <i>Ent. aerogenes</i>	0.39	0.78	0.78	0.78	1.56
6 <i>Sal. typhi</i> O-901	0.39	0.78	0.39	0.78	1.56
7 <i>Sal. typhi</i> T-287	0.39	0.39	0.39	0.39	1.56
8 <i>Sal. paratyphi</i> A	0.39	0.39	0.39	0.39	3.12
9 <i>Sal. paratyphi</i> B	0.39	0.78	0.39	0.78	3.12
10 <i>Sal. enteritidis</i>	1.56	1.56	3.12	3.12	6.25
11 <i>Shi. dysenteriae</i> EW-7	1.56	1.56	1.56	1.56	3.12
12 <i>Shi. flexneri</i> 2a EW-10	0.78	1.56	1.56	1.56	3.12
13 <i>Shi. boydii</i> EW-28	0.78	0.78	1.56	0.78	1.56
14 <i>Shi. sonnei</i> EW-33	0.78	1.56	0.78	1.56	6.25
15 <i>K. pneumoniae</i>	0.39	0.39	0.39	0.78	1.56
16 <i>Pr. vulgaris</i> OX-19	0.78	1.56	1.56	0.78	1.56
17 <i>Pr. mirabilis</i> 1287	1.56	1.56	0.78	0.78	3.12
18 <i>Pr. morganii</i> Kono	1.56	1.56	1.56	0.78	3.12
19 <i>Ps. aeruginosa</i> No. 12	0.39	0.39	0.2	0.39	25
20 <i>Ps. aeruginosa</i> No. 5	1.56	1.56	0.78	0.78	25

ml, 腸球菌, 緑色レンサ球菌では KW-1062 25~50 $\mu$ g/ml, GM 50 $\mu$ g/ml, TOB, DKB, KM >100 $\mu$ g/ml を示した。肺炎球菌に対しては KW-1062 3.12~25 $\mu$ g/ml, GM 3.12~12.5 $\mu$ g/ml, TOB 12.5~50 $\mu$ g/ml, DKB 25~50 $\mu$ g/ml, KM 50 $\mu$ g/ml を示した。ザルチナ菌, パチルス菌, ジフテリア菌に対しては KW-1062, GM 0.1~0.39 $\mu$ g/ml, TOB, DKB 0.1~3.12 $\mu$ g/ml, KM 0.39~6.25 $\mu$ g/ml を示した。嫌気性菌の破傷風菌, ウェルシュ菌に対しては他剤と同様抗菌力を示さなかった。

一方, グラム陰性球菌の淋菌, 髄膜炎菌に対しては KW-1062, GM 0.78~1.56 $\mu$ g/ml, TOB, DKB 1.56~6.25 $\mu$ g/ml, KM 3.12~6.25 $\mu$ g/ml の感受性を示した。グラム陰性桿菌の大腸菌, アエロゲネス菌, 赤痢菌, 変形菌, 肺炎桿菌, 緑膿菌に対して KW-1062 は GM, TOB, DKB とほぼ同じ抗菌力を示し, 0.39~1.56 $\mu$ g/ml の感受性で KM は 1.56~25 $\mu$ g/ml であった。以上の結果, KW-1062 はグラム陽性菌, 陰性菌に広い抗菌スペクトラムを有しその抗菌力は GM とほぼ同程度であることがわかった。グラム陰性桿菌群に対しては KW-1062, GM, TOB, DKB 4 剤はほぼ同じ抗菌力を示すが, グラム陽性菌では TOB, DKB より強い傾向を示した。KM は 4 薬剤と比べると全体的に抗菌力は弱いようであった。

## 2. 臨床分離株に対する感受性分布と感受性相関

臨床分離のブドウ球菌, 大腸菌, 緑膿菌, 変形菌, クレブシエラ菌およびセラチア菌に対する感受性分布を検討しその成績を Fig. 1~6 に示した。ブドウ球菌については, KW-1062 0.2~0.39 $\mu$ g/ml, GM, TOB 0.39 $\mu$ g/ml, DKB 0.39~0.78 $\mu$ g/ml, KM 1.56 $\mu$ g/ml にそれぞれの感受性のピークが認められた。大腸菌については, KW-1062, GM 1.56 $\mu$ g/ml, TOB, DKB 1.56~3.12 $\mu$ g/ml, KM 6.25 $\mu$ g/ml にそれぞれ感受性のピークがみられた。緑膿菌については TOB 0.78 $\mu$ g/ml, DKB 1.56 $\mu$ g/ml, KW-1062, GM 3.12 $\mu$ g/ml に感受性のピークを

もち KM は大部分  $\geq 100\mu$ g/ml の耐性であった。変形菌については KW-1062 0.39~0.78 $\mu$ g/ml, GM, TOB, DKB 0.78 $\mu$ g/ml にピークをもち KM は 1.56~6.25 $\mu$ g/ml に分布を示した。クレブシエラ菌については KW-1062, GM 0.39~0.78 $\mu$ g/ml, TOB 0.78 $\mu$ g/ml, DKB 0.78~1.56 $\mu$ g/ml, KM 1.56~3.12 $\mu$ g/ml にピークをもって分布を示した。最近臨床面で新しい起炎菌として注目されているセラチア菌については KW-1062 0.78 $\mu$ g/ml, GM 1.56 $\mu$ g/ml, KM 3.12 $\mu$ g/ml, TOB 6.25 $\mu$ g/ml, DKB 6.25~12.5 $\mu$ g/ml にそれぞれピークをもって

Fig. 2 Sensitivity distribution of clinically isolated strains(II)

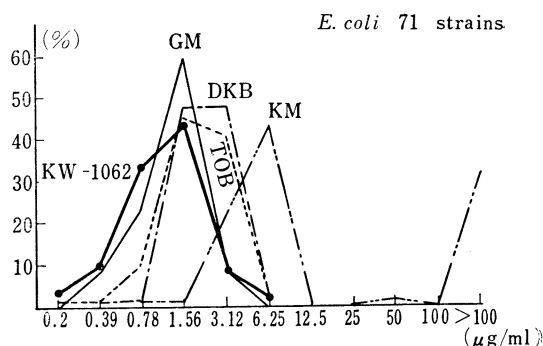


Fig. 3 Sensitivity distribution of clinically isolated strains(III)

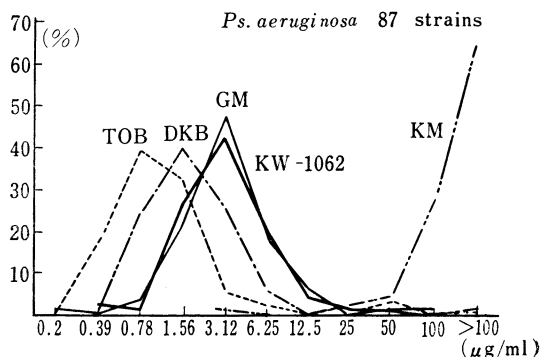


Fig. 4 Sensitivity distribution of clinically isolated strains(N)

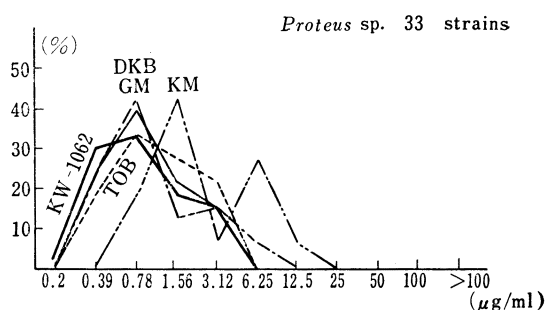


Fig. 1 Sensitivity distribution of clinically isolated strains(I)

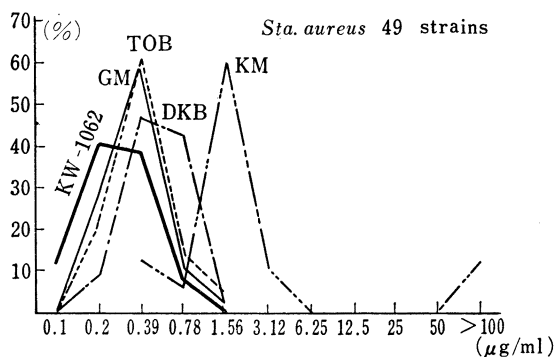


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinically isolated strains(V)

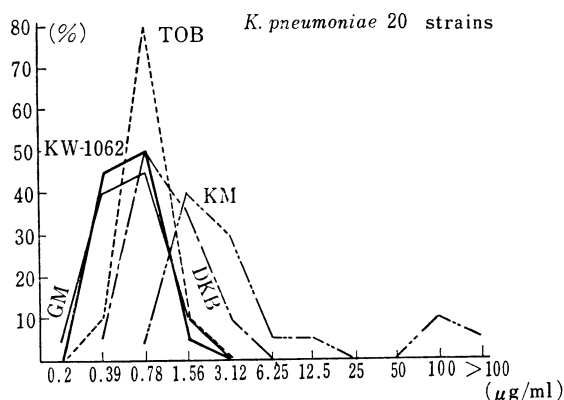
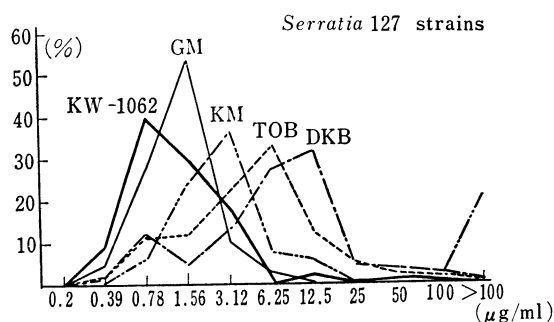
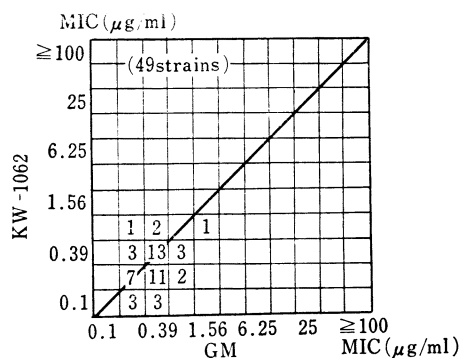
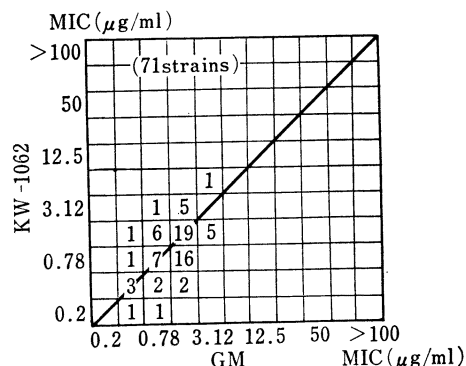
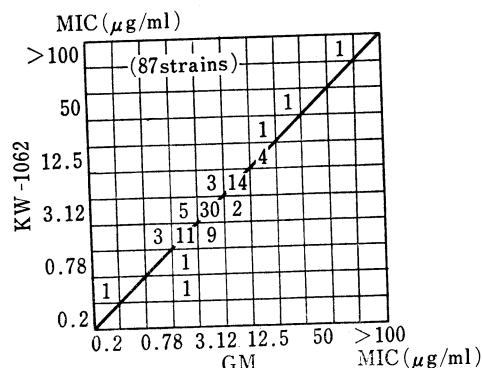
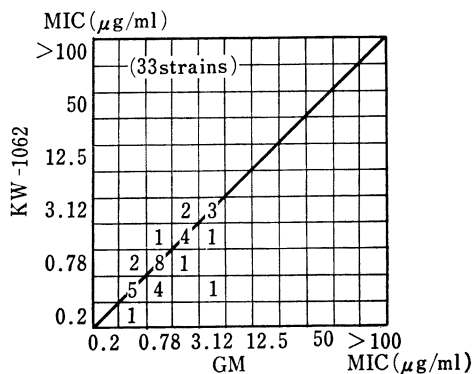


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinically isolated strains(V)

Table 3 Cross sensitivity of KW-1062 and GM against *Sta. aureus*

分布し KM では約 20% の耐性菌も認められた。

以上のように、KW-1062 はブドウ球菌、大腸菌、変形菌、クレブシエラ菌については GM, TOB, DKB と同じかややシャープな感受性を示し、セラチア菌については最も良好な成績を示した。緑膿菌については TOB, DKB, KW-1062, GM, KM の順で良い感受性を示し、KM はいずれの菌に対しても感受性が劣り耐性菌が認め

Table 4 Cross sensitivity of KW-1062 and GM against *E. coli*Table 5 Cross sensitivity of KW-1062 and GM against *Ps. aeruginosa*Table 6 Cross sensitivity of KW-1062 and GM against *Proteus* sp.

られた。

一方、これらの菌種について KW-1062 と GM の感受性相関を検討した成績は Table 3~8 に示した。いずれの菌種においても、KW-1062 は GM とよく相関を示した。

### 3. 抗菌力におよぼす諸因子の影響

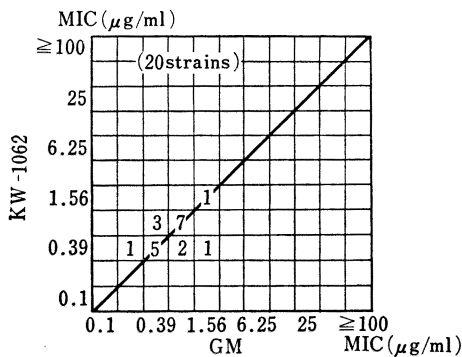
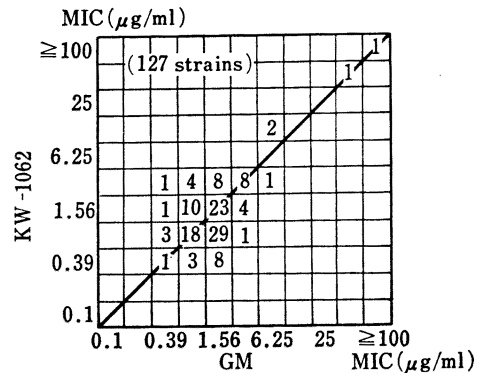
Table 7 Cross sensitivity of KW-1062 and GM against *K. pneumoniae*Table 8 Cross sensitivity of KW-1062 and GM against *Serratia*

Fig. 7 Influence of pH on MIC

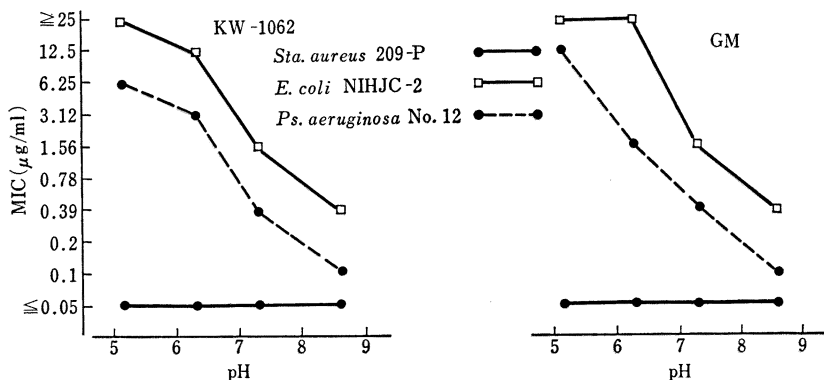
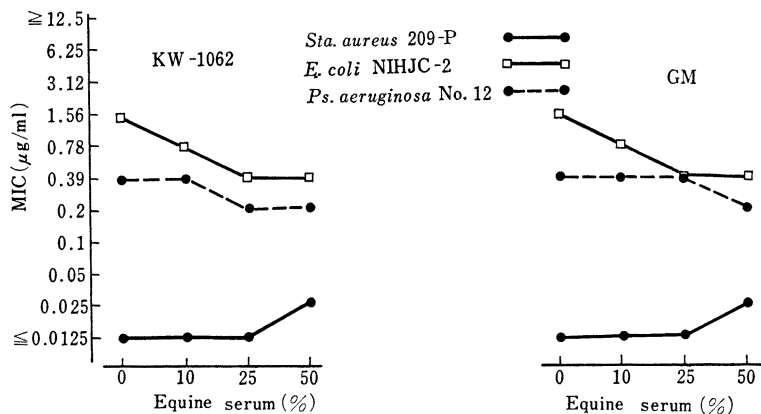


Fig. 8 Influence of equine serum on MIC



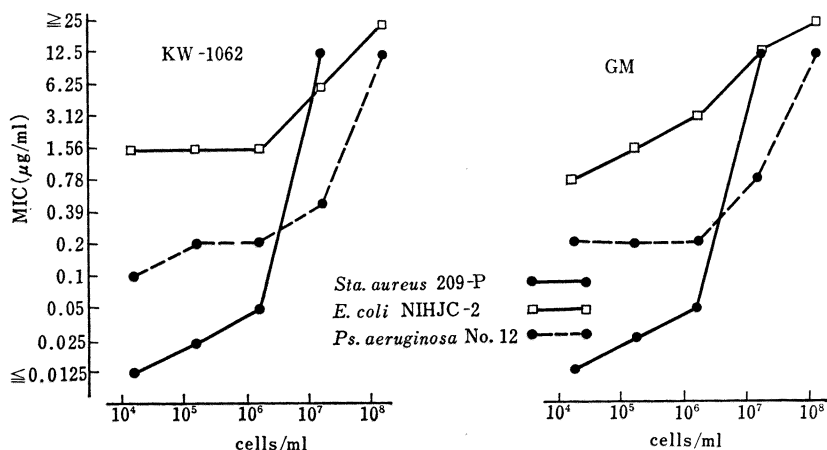
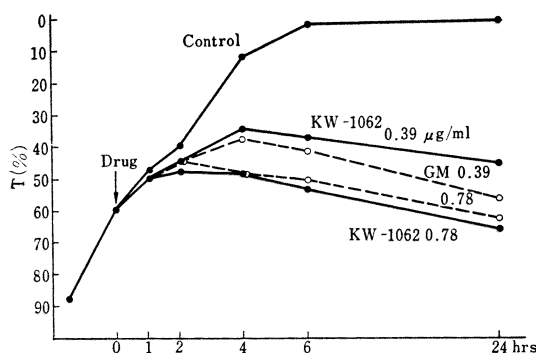
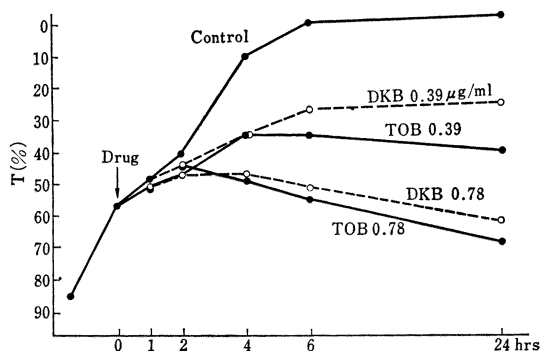
KW-1062 の抗菌力におよぼす培地 pH, 馬血清添加, 接種菌量の影響について GM と比較検討した。その成績は Fig. 7~9 に示されるとおりである。培地 pH の影響では緑膿菌, 大腸菌で酸性側において抗菌力の減弱がみられ, ブドウ球菌では変化が認められなかった。血清の影響についてはいずれの試験菌を用いてもあまり影響はなかった。接種菌量の影響では菌量が増すと, 抗菌力の

低下がみられた。以上これらの傾向は比較薬剤 GM にも認められ 2 剤間で大差はなかった。

#### 4. 増殖曲線におよぼす影響

Biophotometer を用いて *Ps. aeruginosa* No. 12 株の増殖に対する KW-1062, GM, TOB および DKB の殺菌作用を濁度の変化により検討しその成績を Fig. 10, 11 に示した。4 薬剤いずれも薬剤添加後, 無添加と比べ明

Fig. 9 Influence of inoculum size on MIC

Fig. 10 Effect of KW-1062 and GM on growth curve of *Ps. aeruginosa* No. 12Fig. 11 Effect of TOB and DKB on growth curve of *Ps. aeruginosa* No. 12Table 9 The frequency of aminoglycoside resistant cells found in *Ps. aeruginosa*

Strain	Dose		KW-1062		GM		TOB		DKB		KM	
	5 MIC	10 MIC	5 MIC	10 MIC	5 MIC	10 MIC	5 MIC	10 MIC	5 MIC	10 MIC	5 MIC	10 MIC
<i>Ps. aeruginosa</i> No. 12	0		0		0.74	0	1.48	16.5	0	0		
<i>Ps. aeruginosa</i> PP-4*	0	0	0	0	3.47	0	8.91	16.5	0	0		

\* This strain is a clinical isolate and MIC of KW-1062, GM, TOB, DKB and KM against the strain is 0.39, 0.39, 0.39, 0.39 and 0.78  $\mu\text{g/ml}$  respectively.

らかに増殖を抑えてはいるが、薬剤間の差は小さく殺菌力を比較することは困難であった。次に生菌数を経時的に測定することにより4薬剤の殺菌作用を比較した成績を Fig. 12, 13 に示した。試験菌として *Ps. aeruginosa* No. 12, *E. coli* NIH JC-2 を用いた。両菌株に対し4薬剤は MIC 以上の添加濃度で急速な生菌数の減少がみられ顕著な殺菌作用が認められた。この殺菌作用を各薬剤について、99.9% 殺菌するに要する時間の関係を求め、Fig. 14 (a), (b) に示した。両菌の MIC は4薬剤はほぼ同じであるにもかかわらず KW-1062, GM は TOB, DKB

より殺菌速度がはやい傾向を示していた。Fig. 15 はアミノ配糖体系以外にペプチド系抗生物質として PLB, ペニシリン系抗生物質として SBPC を含め抗緑膿菌抗生物質の殺菌作用を同じ表示法により示した成績である。これによると抗緑膿菌活性はアミノ配糖体系、ペプチド系、ペニシリン系の順で強く、アミノ配糖体系の中では GM, KW-1062 が TOB, DKB, AMK より優れていた。

##### 5. 自然耐性菌の出現頻度

Table 9 に示したとおり 5 MIC 濃度では TOB, DKB とともにシャーレ当たり数個～数百個の colony 形成がみら

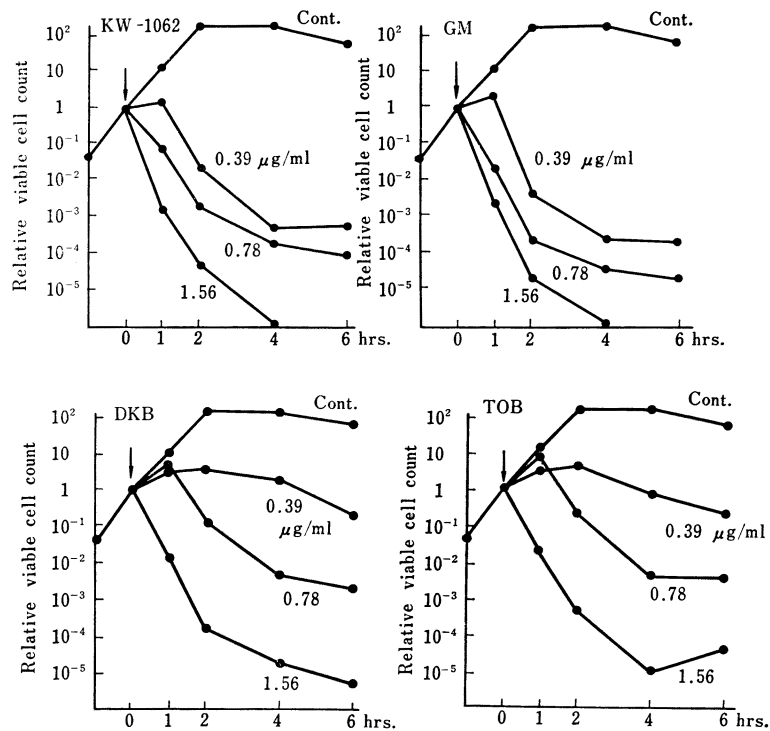
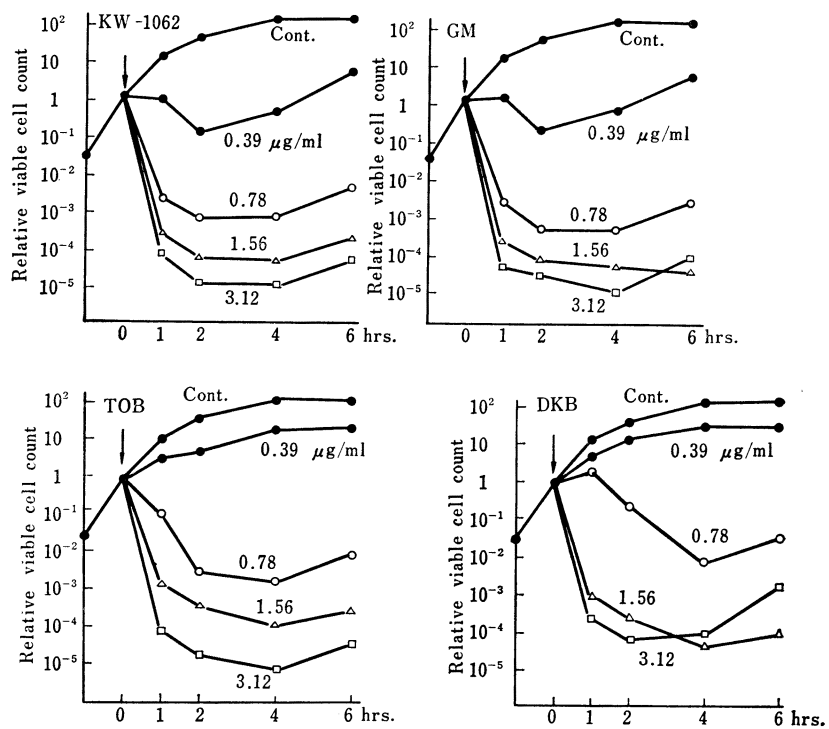
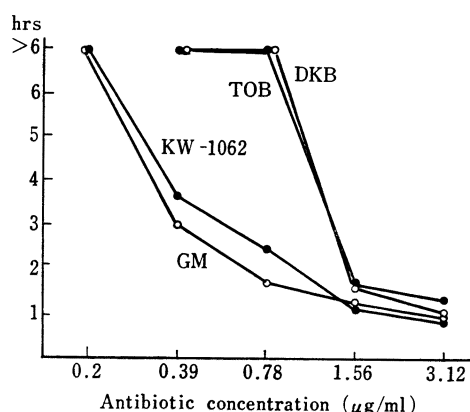
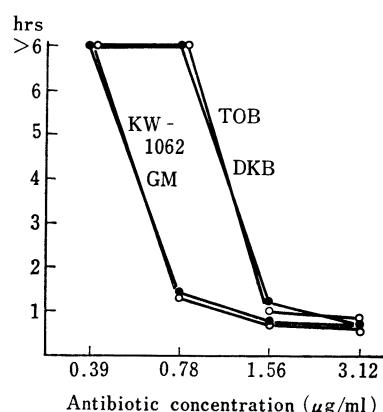
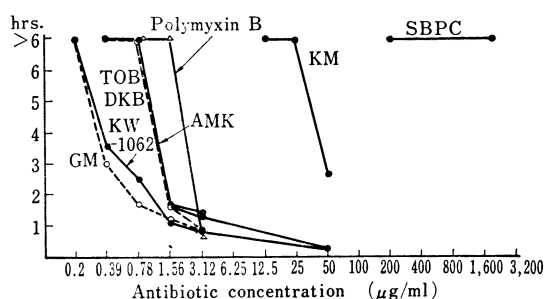
Fig. 12 Bactericidal effect of KW-1062, GM, TOB and DKB on *Ps. aeruginosa* No.12Fig. 13 Bactericidal effect of KW-1062, GM, TOB and DKB on *E. coli* NIH JC-2

Fig. 14 Time in hours to kill 99.9% of organisms

(a) *Ps. aeruginosa* No. 12(b) *E. coli* NIHJC-2Fig. 15 Comparison of 99.9% killing time against *Ps. aeruginosa* No. 12

れ、DKBでは *Ps. aeruginosa* PP-4 において 10 MIC 濃度でも数十個の colony 形成がみられた。

一方 KW-1062, GM は *Ps. aeruginosa* No. 12, PP-4 両株において 5, 10 MIC いずれの濃度でも colony 形成はみとめられず自然耐性菌が出現し難いことを示した。

#### 6. 試験管内における CBPC との併用効果

*Ps. aeruginosa* No. 12 株および *E. coli* NIH JC-2 株を用い、CBPC との併用効果を GM と比較しその成績を Table 10, 11 に示した。KW-1062 は両菌に対して GM と同様に協効効果が認められた。

#### 7. マウス実験的感染症に対する治療効果

緑膿菌 3 株、セラチア 2 株のマウス感染症に対する KW-1062 の治療効果の成績を GM と比較して Table 12 に示した。5 菌株いずれの感染症に対しても、KW-1062 はほぼ GM に近い効果を示した。各感染菌に対する *in vitro* 抗菌力には両薬剤に大差がないことから、この結果は *in vitro*, *in vivo* 間に抗菌力がよく平行しているものと考えられた。

### III. 総括および考察

協和醸酵工業株式会社において発見された新アミノ配糖体抗生物質 KW-1062 に関する細菌学的評価を既知アミノ配糖体抗生物質である GM, TOB, DKB, KM を主な比較薬剤として検討を加えた。

Table 10 Combination effect between KW-1062 or GM and CBPC against *Ps. aeruginosa* No. 12

(a) KW-1062/CBPC

		CBPC (μg/ml)										
		400	200	100	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0	
KW-1062 (μg/ml)	6.25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3.12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1.56	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.78	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.39	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.2	—	—	—	—	—	—	—	±	±	±	+
	0.1	—	—	—	—	—	—	—	±	+	+	+
	0.05	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
	0.02	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
	0	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+

(b) GM/CBPC

		CBPC (μg/ml)										
		400	200	100	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0	
GM (μg/ml)	6.25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3.12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1.56	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.78	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.39	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.2	—	—	—	—	—	—	—	±	+	+	+
	0.1	—	—	—	—	—	—	—	±	+	+	+
	0.05	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
	0.02	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
	0	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+



Table 11 Combination effect between KW-1062 or GM and CBPC against *E. coli* NIH JC-2

(a) KW-1062/CBPC

	CBPC ( $\mu\text{g/ml}$ )									
	100	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0
KW-1062 ( $\mu\text{g/ml}$ )	12.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	6.25	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3.12	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1.56	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.78	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.39	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.05	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(b) GM/CBPC

	CBPC ( $\mu\text{g/ml}$ )									
	100	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0
GM ( $\mu\text{g/ml}$ )	12.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	6.25	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3.12	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1.56	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.78	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.39	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.05	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Table 12 Protecting effect of KW-1062 and GM against experimental mice infections

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		Challenge dose cells/mouse	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)		A/B
	KW-1062	GM		KW-1062 <sup>A</sup>	GM <sup>B</sup>	
<i>Ps. aeruginosa</i> Nc-5	1.56	1.56	$4 \times 10^6$	0.95	1.05	0.90
<i>Ps. aeruginosa</i> No. 12	0.39	0.39	$5 \times 10^7$	0.50	0.70	0.71
<i>Ps. aeruginosa</i> E-2	3.12	3.12	$2 \times 10^8$	0.35	0.38	0.92
<i>Serratia</i> sp. T-55	0.78	1.56	$3 \times 10^6$	10.6	10.8	0.98
<i>Serratia</i> sp. T-26	3.12	1.56	$3 \times 10^6$	2.06	1.88	1.09

Mice were injected intraperitoneally with each organism and administered subcutaneously as a single dose at 2 hours after challenge.

その結果、KW-1062 は教室保存のグラム陽性菌群、陰性菌群に対して、広範囲な抗菌スペクトラムを有し、その抗菌力はグラム陽性菌、グラム陰性球菌に対し、KW-1062 は GM と共に TOB, DKB より若干抗菌力が良好な傾向を示し、グラム陰性桿菌に対する抗菌力は 4 薬剤ほとんど同程度であった。各種臨床分離株に対する感受性分布を検討したが、ブドウ球菌、大腸菌、変形菌、クレブシエラ菌について GM, TOB, DKB と同じかやや良い感受性分布を示し、セラチアについては 4 薬剤の中で最も良好な感受性を示した。緑膿菌については TOB が最も良好な成績で、次いで DKB, KW-1062 は GM と同じ感受性の分布を示した。KM は全体的にこれら 4 薬剤と比べると抗菌力が弱いようであった。また、これらの臨床分離株の感受性相関を GM について検討したが、KW-1062 と GM の間には相関性が見られた。

抗菌力に及ぼす諸因子の影響を、ブドウ球菌、大腸菌、緑膿菌を試験菌として検討したが、酸性側の培地 pH、接種菌量の増加によって抗菌力は影響を受け、血清の影響はあまり受けなかった。このことについては同時に検討した GM についても認められた。

KW-1062 の殺菌作用の検討については、Biophoto-

meter による濁度の変化としてとらえにくかったため、生菌数測定法によって行なった。*Ps. aeruginosa* No. 12, *E. coli* NIH JC-2 について KW-1062 は MIC 以上の濃度添加で急速な生菌数の減少が見られ、その殺菌効果は MIC がほぼ同じ位にもかかわらず、TOB, DKB より KW-1062 は GM とともに強い傾向を示した。ペブタイド系、ペニシリン系を含めた既知抗緑膿菌抗生物質間での比較においても GM の次に良好な位置を占めた。

自然耐性菌の出現についての検討では、TOB, DKB が  $10^{-7}$  の頻度で現われるのに対し、KW-1062 は GM とともに皆無であった。アミノ配糖体と合成ペニシリン系抗生物質間での併用効果についてはすでに報告されているように、大腸菌、緑膿菌に対して KW-1062 は GM の場合と同様に CBPC との間で併用効果が得られた。

最後に、マウス実験の感染症に対する治療効果については、緑膿菌、セラチアを感染菌として検討したが、*in vitro* 抗菌作用と同様な効果が *in vivo* でも得られ、対照として用いた GM との間に大差は認められなかった。

以上の諸実験から、KW-1062 は強力な抗菌力と幅広い抗菌スペクトラムを有する新しいアミノ配糖体抗生物

質として今後、本物質の臨床効果が期待される。

#### IV. 結 論

新アミノ配糖体抗生物質KW-1062についてGM, TOB, DKBおよびKMを比較薬剤として細菌学的評価を行ない、次のような成績を得た。

1. KW-1062はグラム陽性菌, グラム陰性菌に広範囲な抗菌スペクトラムを有し, その抗菌力はGMとはほぼ同程度であり, 一部の菌種に対してはTOB, DKB, KMより優れていた。

2. 臨床分離ブドウ球菌, 大腸菌, 緑膿菌, 変形菌, クレブシエラ菌, セラチア菌に対する感受性分布はほぼGMと同じ感受性を示し, 感受性相関も見られた。

3. 抗菌力におよぼす培地pH, 血清添加, 接種菌量の影響についてはGMとはほぼ同様な傾向を示した。

4. 緑膿菌, 大腸菌に対する殺菌効果についてはGMと同様の強い殺菌作用が認められ, 99.9% Killing curveでみた抗緑膿菌活性の点では, アミノ配糖体, ペプチド系, ペニシリン系を含めて最も良いグループに位置をしめた。

5. 自然耐性菌の出現はGMと同様に認められなかった。

6. 緑膿菌, 大腸菌に対してCBPCとの協力作用がGMの場合と同様に認められた。

7. マウス実験的感染症に対する治療効果を, 緑膿菌, セラチア菌を用いて検討し, GMとはほぼ同じED<sub>50</sub>値を得た。

#### 文 献

- 1) OKACHI, R.; I. KAWAMOTO, S. TAKASAWA, M. YAMAMOTO, S. SATO, T. SATO & T. NARA:

A new antibiotic XK-62-2 (Sagamicin) I. Isolation, physicochemical and antibacterial properties. J. Antibiotics 27(10): 793~800, 1974

- 2) NARA, T.; I. KAWAMOTO, R. OKACHI, S. TAKASAWA, M. YAMAMOTO, S. SATO, T. SATO & A. MORIKAWA: New antibiotic XK-62-2 (Sagamicin) II. Taxonomy of the producing organism, fermentative production and characterization of sagamicin. J. Antibiotics 28(1): 21~28, 1975
- 3) EGAN, R. S.; R. L. DEVAULT, S. L. MUELLER, M. I. LEVENBERG, A. C. SINCLAIR & R. S. STANASZEK: A new antibiotic XK-62-2 III. The structure of XK-62-2, a new gentamicin C complex antibiotic. J. Antibiotics 28(1): 29~34, 1975
- 4) WEINSTEIN, M. J.; G. H. LEUDMANN, E. M. ODEN & G. H. WAGMAN: Gentamicin, a new broad spectrum antibiotic complex. Antimicro. Agents & Chemo. -1963: 1~7, 1964
- 5) 中沢昭三, 横田芳武, 金森政人, 吉田進彦, 石田邦子: 新抗生物質 Gentamicin に関する細菌学的研究。Chemotherapy 15(4): 477~481, 1967
- 6) 中沢昭三, 大槻雅子, 中尾雅文, 塚沢志津代, 那波久彰, 二木克己: 3', 4'-Dideoxykanamycin B の細菌学的研究。Chemotherapy 22(5): 779~785, 1974
- 7) 井口博史, 西野武志, 山田泰造, 堀川哲夫, 中沢昭三: 新しいアミノ配糖体抗生物質 Tobramycin の細菌学的評価。Chemotherapy 23(3): 843~858, 1975
- 8) 中沢昭三, 大槻雅子, 西野武志, 黒木裕男, 西嶋俊和, 渡辺僖子: 新しいアミノ配糖体抗生物質 Amikacin に関する細菌学的評価。Chemotherapy 23(6): 2063~2072, 1975

## BACTERIOLOGICAL EVALUATION OF KW-1062, A NEW AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTIC

SHOZO NAKAZAWA, KIYOSHI SATO, ISAMU YOSHIDA

HISAKO SAOSHITA, EMIKO NOSE and MASANORI FUKUI

Department of Microbiology, Kyoto College of Pharmacy, Kyoto, Japan

The antibacterial activity of KW-1062, a new aminoglycoside antibiotic, was compared with that of gentamicin (GM), tobramycin (TOB), dibekacin (DKB) and kanamycin (KM). The results obtained are as follows :

1) KW-1062 exhibited a broad antibacterial spectrum. Its activity was much the same as that of GM. Against a few species of gram-positive bacteria, it was found to be more active than TOB, DKB and KM.

2) The antibiotic had a similar activity to GM, TOB and DKB against clinical isolates of *S. aureus*, *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *Proteus* sp., *K. pneumoniae* and *Serratia* sp. Cross resistance between KW-1062 and GM was observed.

3) *In vitro* antimicrobial activity of KW-1062 was influenced to the same degree as gentamicin, by medium pH, the presence of equine serum and the inoculum size of *S. aureus*, *E. coli* and *Ps. aeruginosa*.

4) KW-1062 as well as gentamicin exhibited a rapid bactericidal action against *E. coli* and *Ps. aeruginosa*.

5) KW-1062 showed nearly the same *in vivo* activity as gentamicin against the experimental *Ps. aeruginosa* and *Serratia* infection in mice.

6) KW-1062 was found to be synergistic with semi-synthetic penicillins.