

抗緑膿菌作用を有する Aminoglycoside 剤, Sisomicin, Gentamicin, Dibekacin, Tobramycin, Amikacin, KW-1062 の細菌学的検討

五島瑳智子・小川正俊・金子康子・辻 明良・桑原章吾
東邦大学医学部微生物学教室

抗緑膿菌作用を有する新しい Aminoglycoside 系抗生物質, Sisomicin の抗菌作用を検討するため, 同系統の抗生物質である Gentamicin, Dibekacin, Tobramycin, Amikacin, KW-1062 を加えた 6 薬剤について, グラム陰性桿菌のうち腸内細菌およびブドウ糖非発酵菌群も含めて感受性を測定すると共に, *P. aeruginosa*, *Serratia* については, マウス実験感染による治療効果を比較し, 同種のマウスにおける血清中濃度および毒性について実験を行なった。

I. 実験方法

1) 感受性測定法

日本化学療法学会で設定された MIC 測定法に準じた^{1,2)}。

2) マウス実験感染における治療効果

ddN 系マウス, 雄, 5 週令, 体重 19~21 g, 1 群 6 匹を用いた。

感染菌は腹腔内接種とし, 感染後 1 時間に抗生剤を皮

下投与して 5 日間観察, マウスの生死により, ED₅₀ を算出した。

3) マウス血清中濃度測定

感染実験に用いた同条件のマウス 1 群 8 匹とし, Gentamicin (GM), Dibekacin (DKB), Tobramycin (TOB), Amikacin (AMK), KW-1062, Sisomicin を皮下投与後, 一定時間毎に 1 群ずつ断頭採血した血液をプールし, 分離した血清中の活性を *B. subtilis* ATCC-6633 を用いたカップ法で測定した。

II. 成績

1. In vitro 抗菌作用

i) 臨床材料由来の各菌種における感受性分布 (Fig. 1~14)

感受性分布の成績は接種菌量を 10⁸/ml と 10⁶/ml とした場合の MIC を累積分布表によって Fig. 1~14 にまとめた。

Fig. 1 Sensitivity distribution (*E. coli* 49 strains)

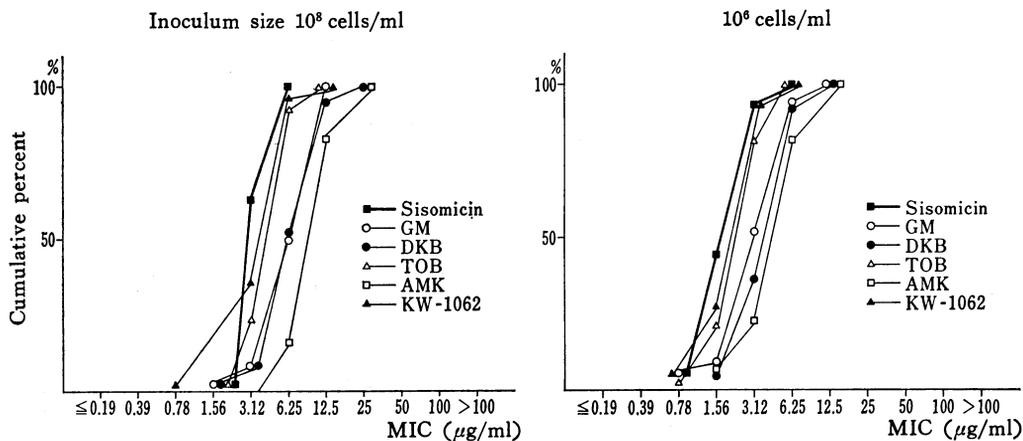


Fig. 2 Sensitivity distribution
(*K. pneumoniae* 25 strains)

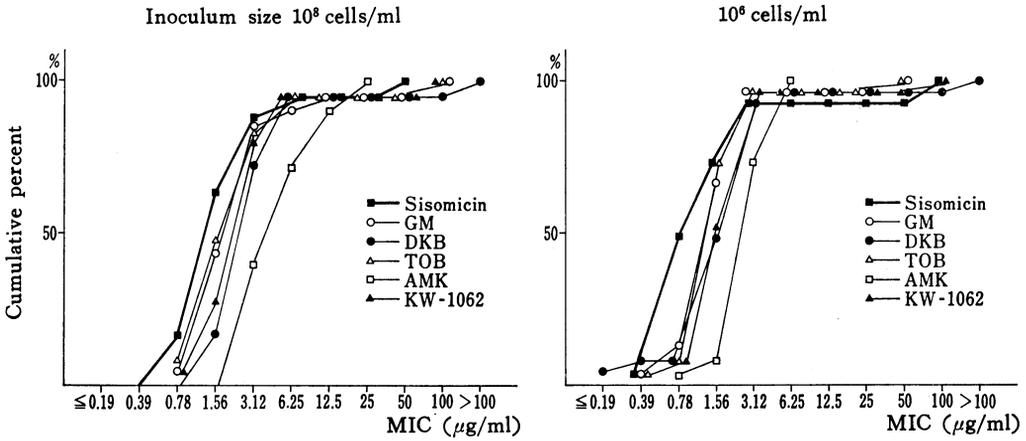


Fig. 3 Sensitivity distribution
(*P. mirabilis* 40 strains)

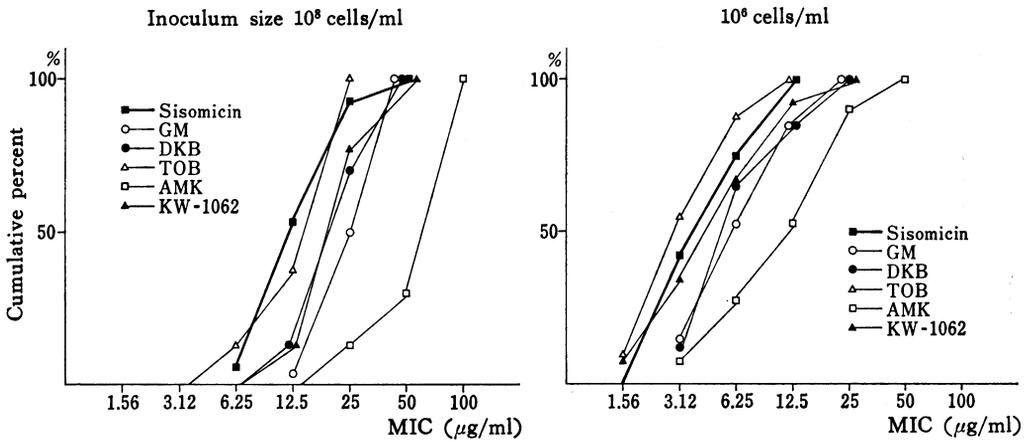


Fig. 4 Sensitivity distribution
(*P. morgani* 13 strains)

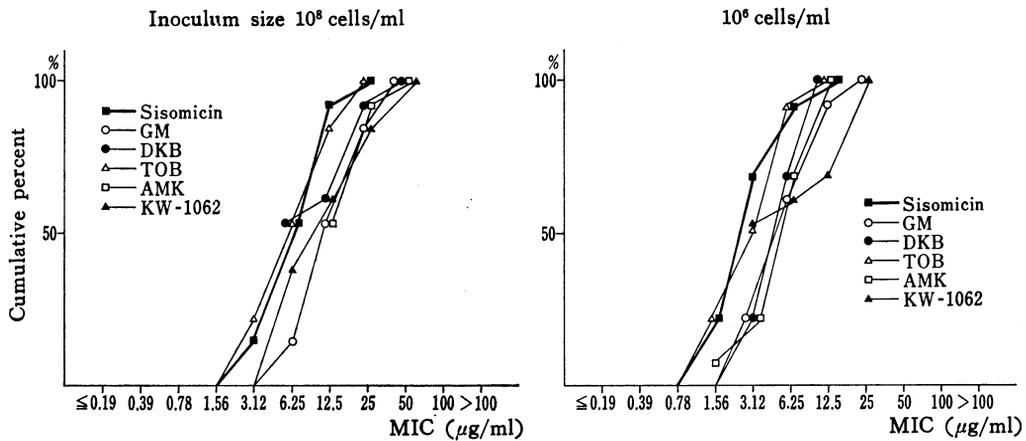


Fig. 5 Sensitivity distribution
(*P. rettgeri* 5 strains)

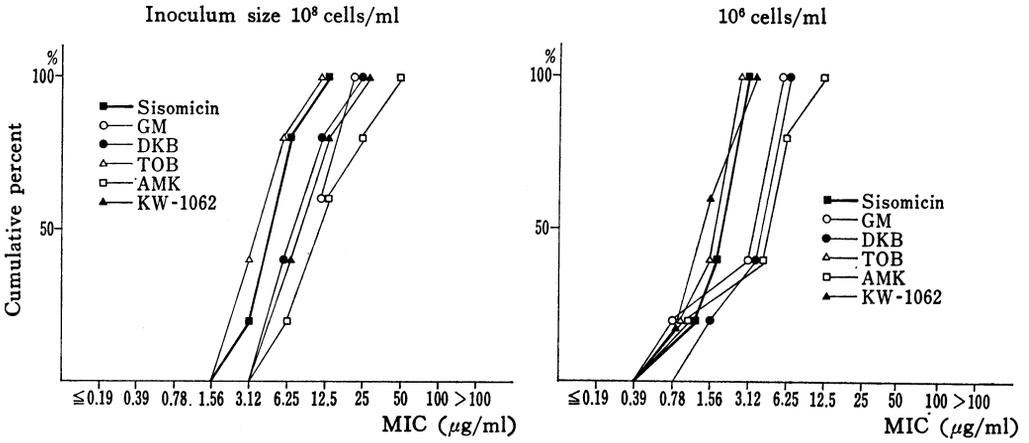


Fig. 6 Sensitivity distribution
(*P. inconstans* 13 strains)

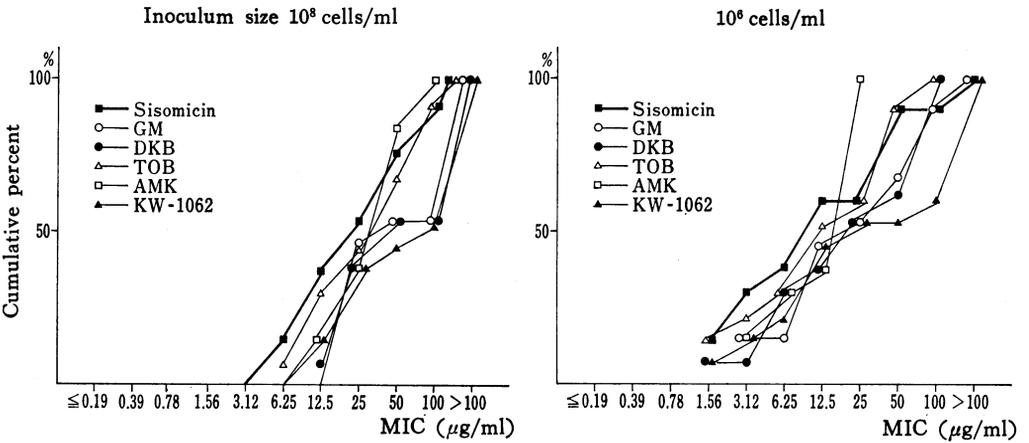


Fig. 7 Sensitivity distribution
(*Serratia* 34 strains)

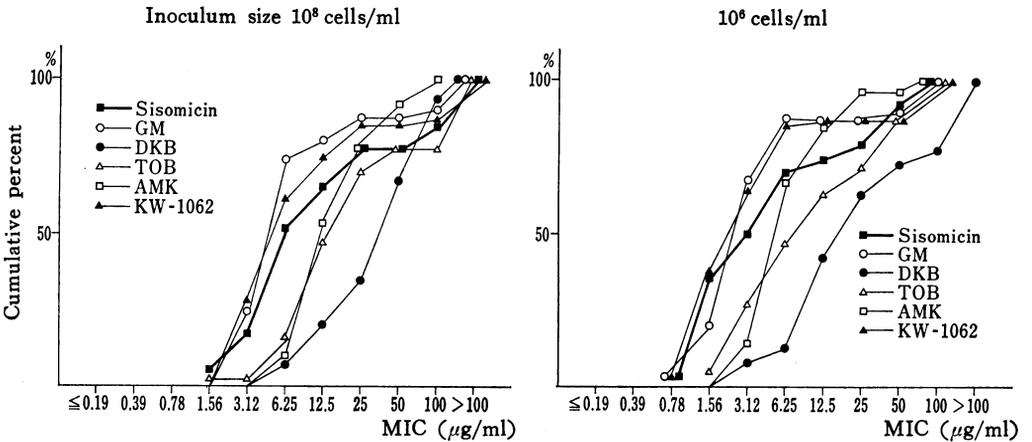


Fig. 8 Sensitivity distribution
(*E. cloacae* 34 strains)

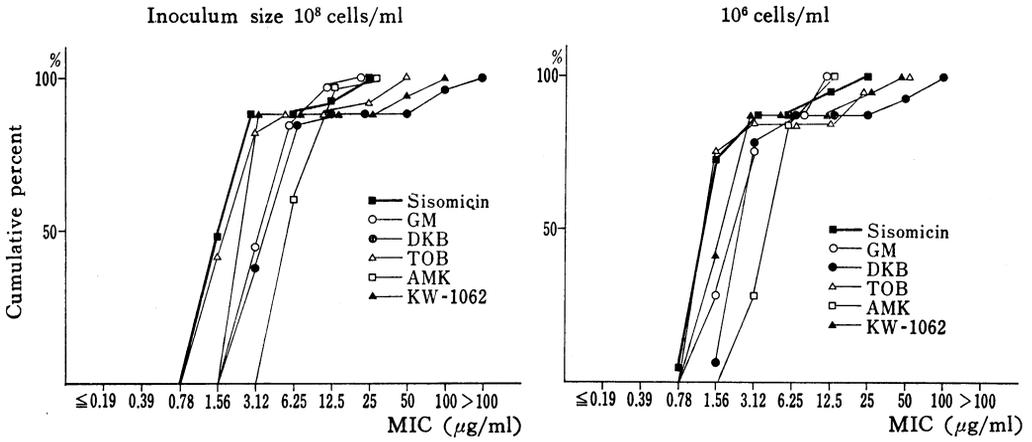


Fig. 9 Sensitivity distribution
(*P. aeruginosa* 597 strains)

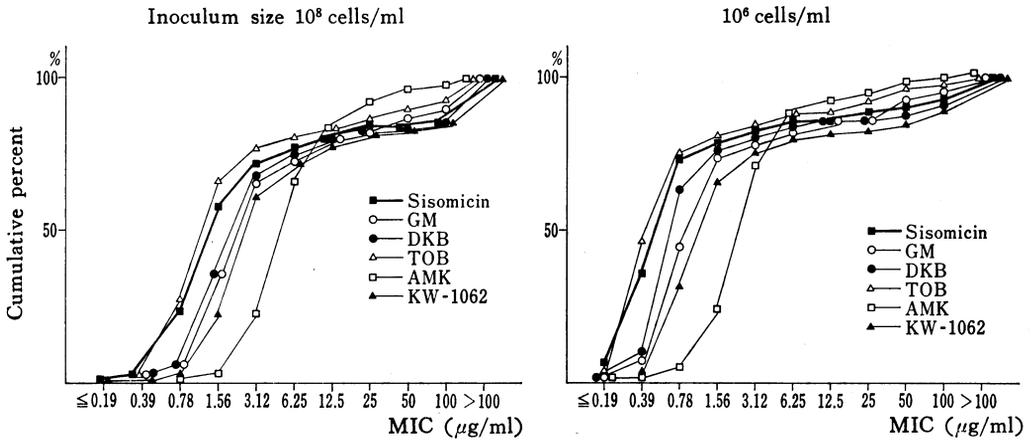


Fig. 10 Sensitivity distribution
(*P. cepacia* 21 strains)

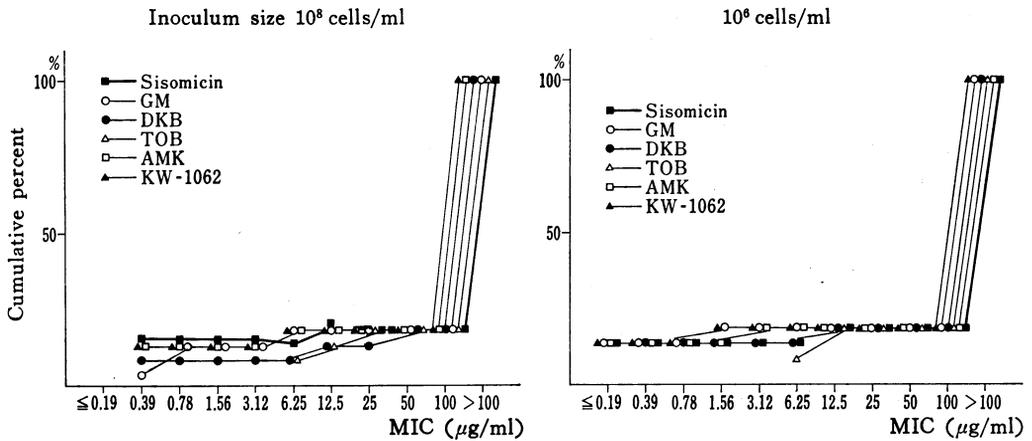


Fig. 11 Sensitivity distribution
(*P. maltophilia* 51 strains)

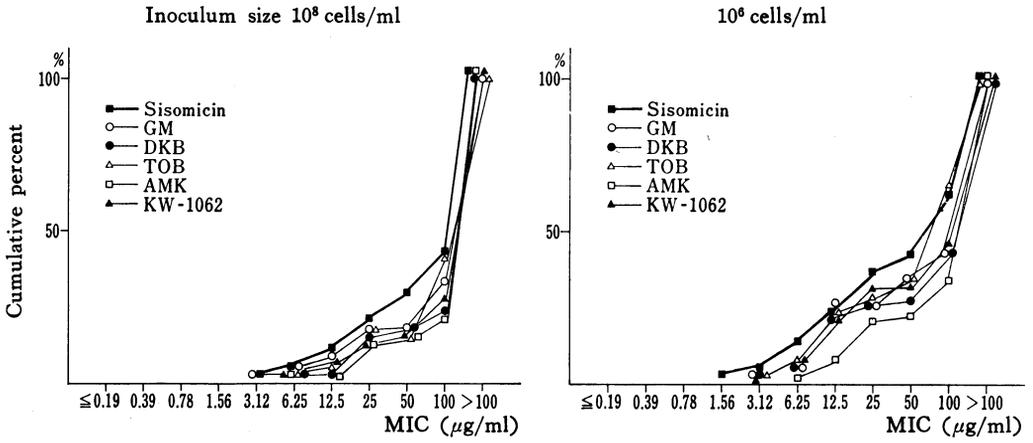


Fig. 12 Sensitivity distribution
(*A. calcoaceticus* 49 strains)

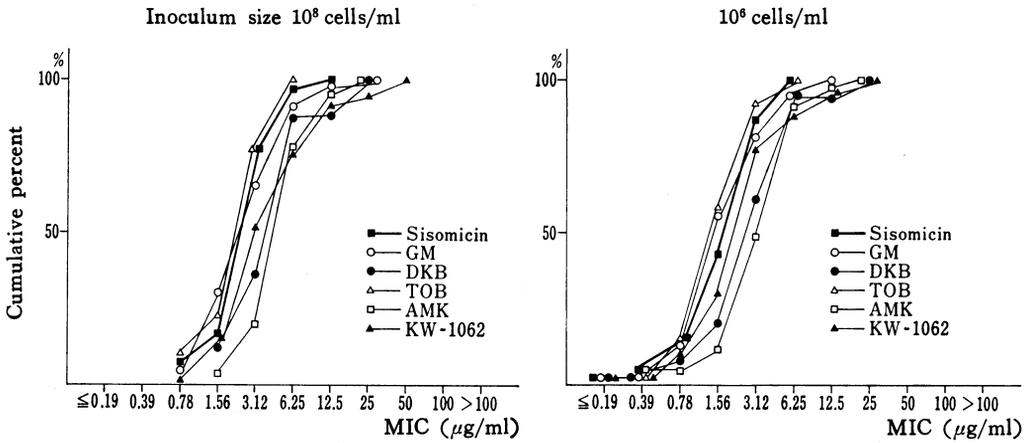


Fig. 13 Sensitivity distribution
(*A. xylosoxidans* 58 strains)

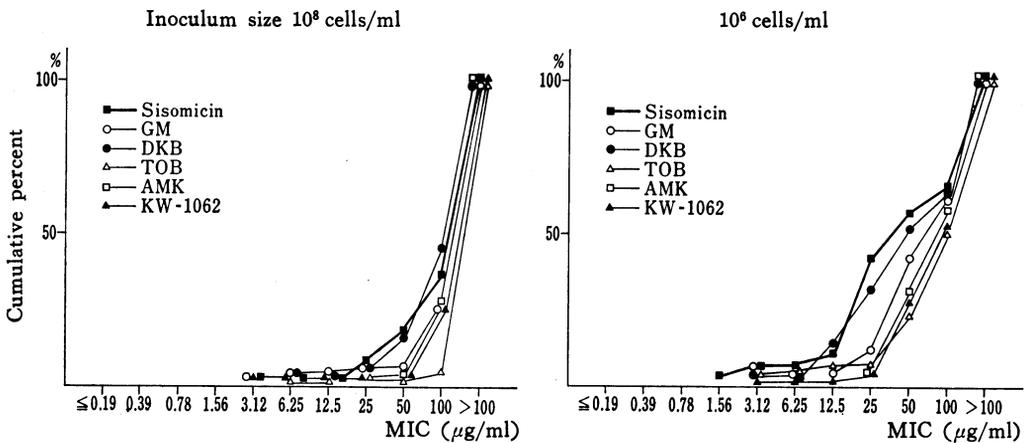
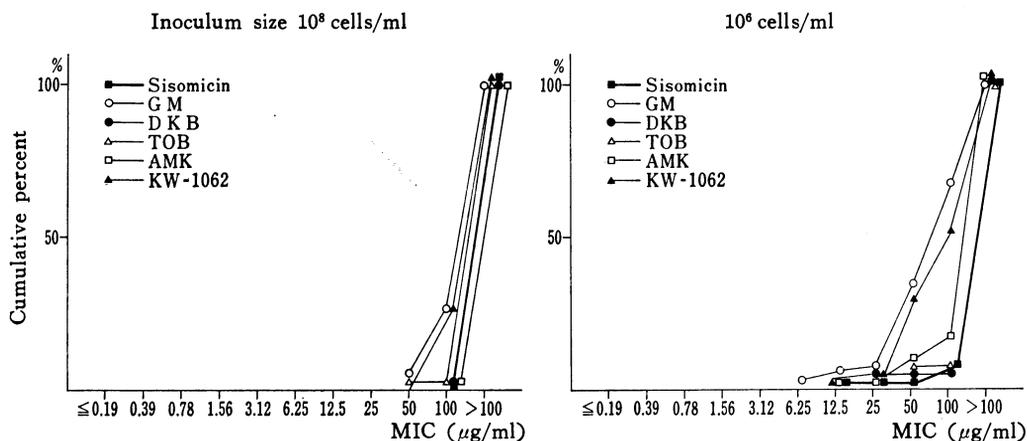


Fig. 14 Sensitivity distribution
(*F. meningosepticum* 40 strains)



E. coli の場合、わずかな差ではあるが、Sisomicin の MIC 分布はもっとも感性側にあり、MIC ピークは 10^8 接種で $3.12 \mu\text{g/ml}$ であった。次に KW-1062, TOB, GM, DKB, AMK の順に MIC 値は大きくなり、AMK はピークが $12.5 \mu\text{g/ml}$ であった (Fig. 1)。

Klebsiella においても Sisomicin に対する感受性がわずかに高く、TOB, GM, DKB, KW-1062, AMK の順に MIC 値が大きくなる (Fig. 2)。

P. mirabilis では、TOB に対する感受性が高く、AMK の抗菌力がもっとも弱い (Fig. 3)。

P. morgani では 6 剤間に大きな差はないが 10^8 接種では Sisomicin の MIC がやや小さい (Fig. 4)。

P. rettgeri は株数が少ないが $10^6/\text{ml}$ 接種で Sisomicin には TOB, KW-1062 と同程度の感受性を有し、GM, DKB, AMK よりややすぐれた MIC 分布を示した (Fig. 5)。

P. inconstans の感性株に対し Sisomicin の抗菌力は僅かにすぐれている、この菌株は GM, KW-1062, DKB 耐性株の出現率が多く、*Proteus* の中でもこの点で異なる菌株である。この実験成績でも 40%以上が耐性株であるが、Sisomicin はこれらの株に対しても、かなり有効であることがみとめられる (Fig. 6)。

Serratia は GM, KW-1062 が最も抗菌力が強く、TOB, DKB より高い感性値を示し、Sisomicin は両者の中間に分布している (Fig. 7)。

Enterobacter は Sisomicin と TOB が同程度の分布を示した (Fig. 8)。

P. aeruginosa では TOB, Sisomicin, DKB, GM,

KW-1062, AMK の順に MIC 値は大きくなり、Sisomicin は TOB にもっとも近い分布を示した (Fig. 9)。

P. cepacia は 80%以上が Aminoglycoside 耐性株である (Fig. 10)。

P. maltophilia は 90%以上が 6 剤すべてに耐性で効果は全く期待できない (Fig. 11)。

Acinetobacter には 6 剤とも抗菌力がすぐれており、 $6.25 \mu\text{g/ml}$ でほとんどの株が発育を抑制された (Fig. 12)。

Achromobacter xylosoxidans に対する 6 剤の抗菌力は弱く、すべて耐性を示した (Fig. 13)。

Flavobacterium meningosepticum においても、6 剤とも抗菌力は弱くほとんどが耐性を示した (Fig. 14)。

2) 感受性相関

主な菌種の感受性相関は $10^6/\text{ml}$ 接種の成績のみを収載した。

1. *E. coli* (Fig. 15)

E. coli では Sisomicin は GM, DKB, TOB, KW-1062 より感性側に分布している。

2. *Serratia* (Fig. 16)

Serratia では Sisomicin の MIC は GM, KW-1062 より大きく、DKB, TOB より小さい、AMK とは交差が明らかでない。

3. *P. aeruginosa* (Fig. 17)

Sisomicin は TOB に比べ感受性が低いが、KW-1062, DKB, GM より感性側へ分布する。AMK は Sisomicin 耐性株に感性を示すものが多くみとめられたが、AMK 耐性株で Sisomicin が感性となる株は少なかった。

Fig. 15 Sensitivity correlogram
(*E. coli* 14 strains)

Inoculum size 10^6 cells/ml

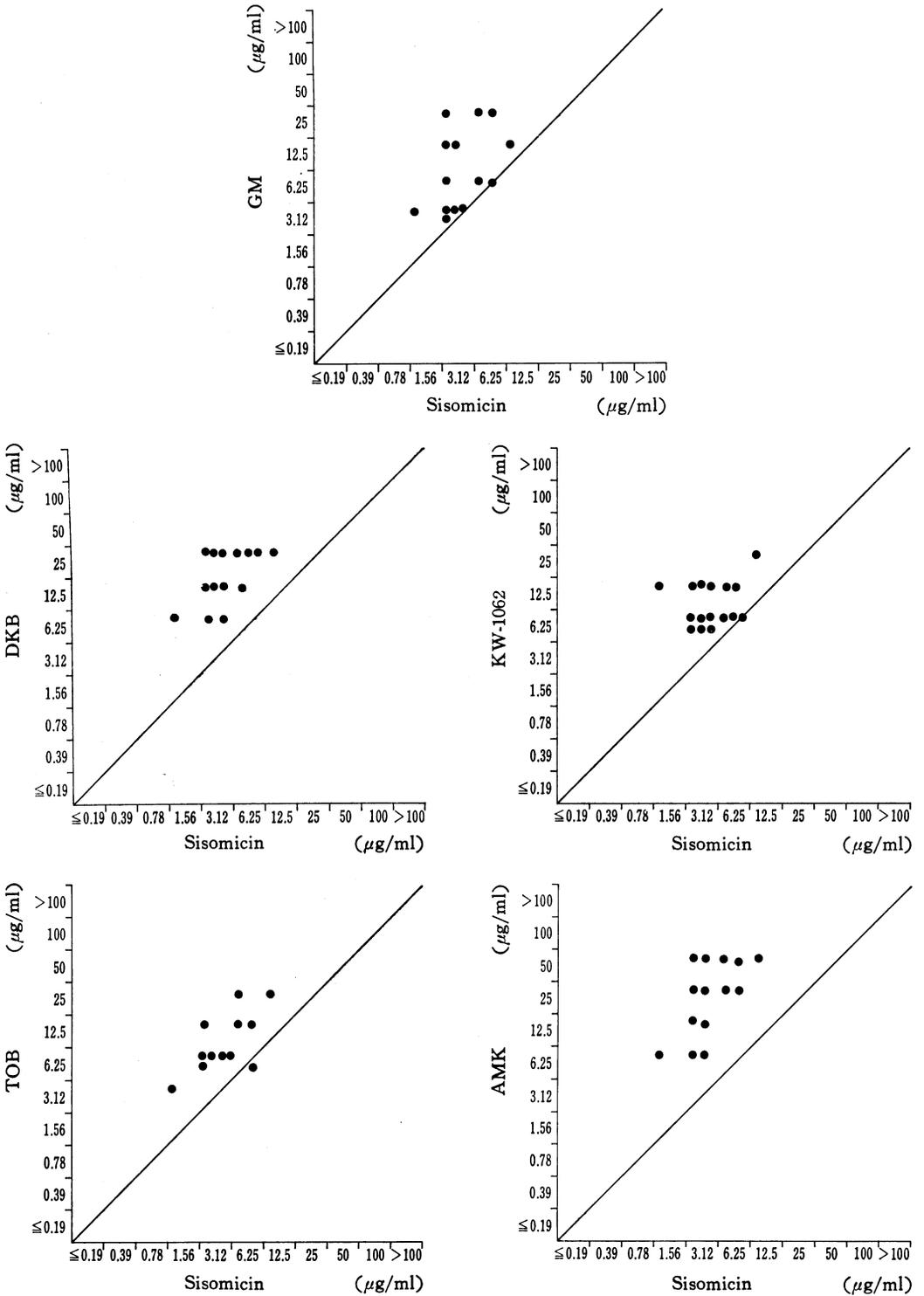


Fig. 16 Sensitivity correlogram
(*Serratia marcescens* 34 strains)

Inoculum size 10^6 cells/ml

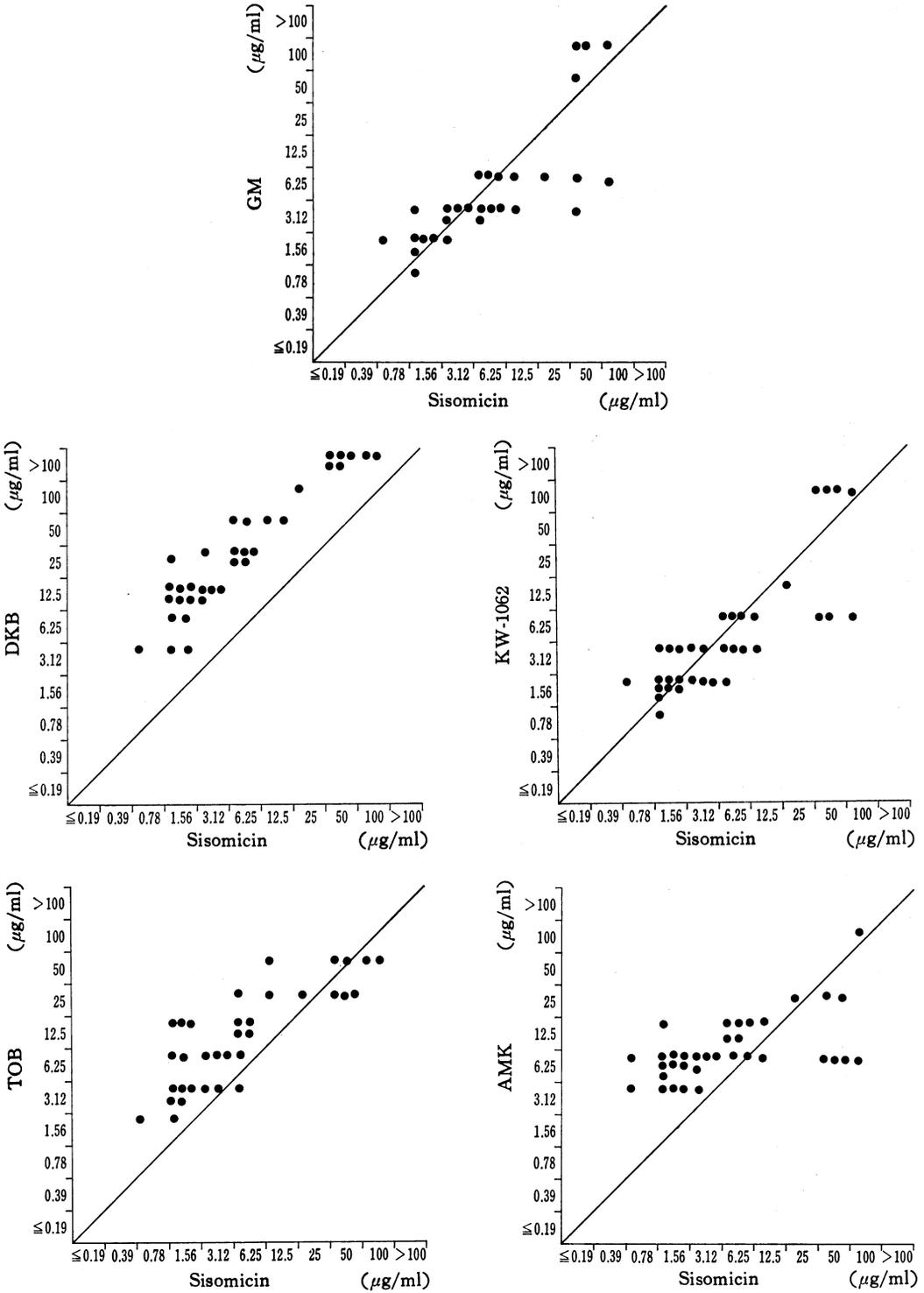
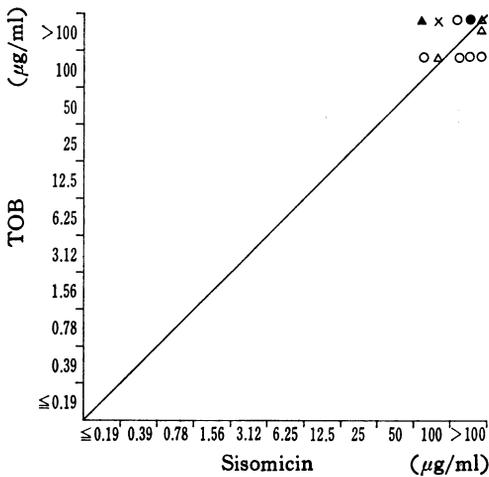
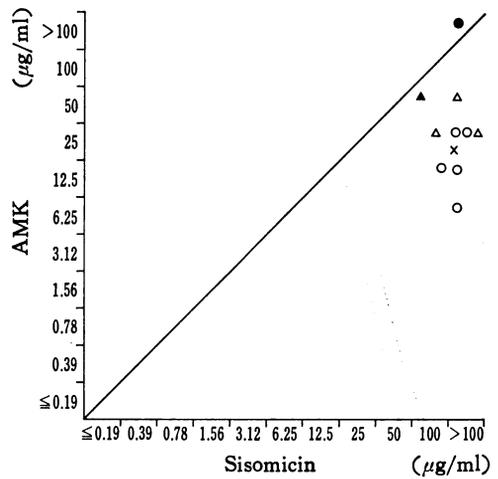
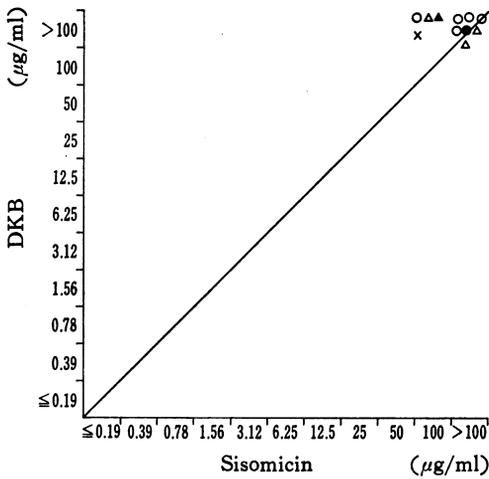
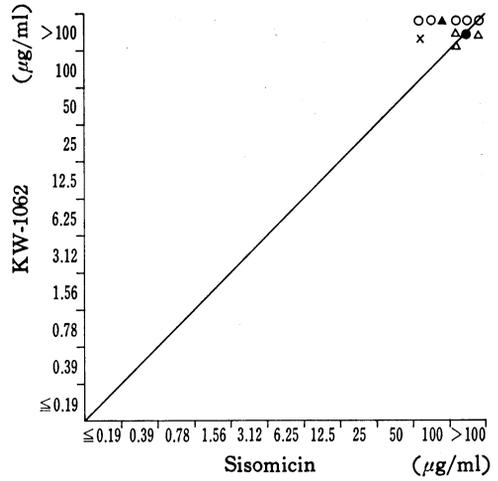
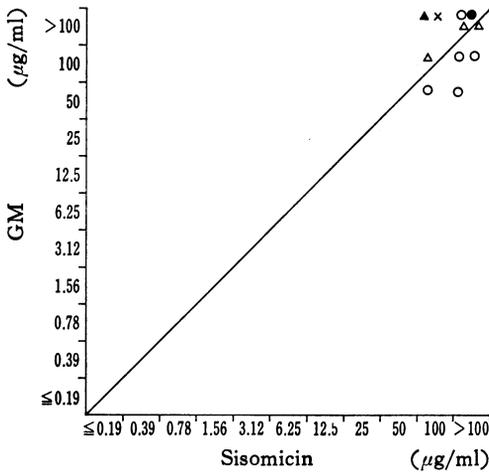


Fig. 18 Cross resistance
Inoculum size 10^6 cells/ml



Test organism	No. of strains
○ <i>P. aeruginosa</i>	5
● <i>Alcaligenes</i>	1
△ <i>P. inconstans</i>	3
▲ <i>P. rettgeri</i>	1
× <i>E. coli</i>	1

4. 各菌種の耐性株の感受性相関 (Fig. 18)

E. coli, *P. aeruginosa*, *Alcaligenes*, *P. rettgeri*, *P. inconstans* の GM, DKB, TOB, 耐性株は KW-1062, Sisomicin にも耐性を示したが, AMK には感性を示す株がみとめられた。

3) 緑膿菌における新旧分離株の感受性分布 (Fig.19)
 Fig. 19 は1968年に分離し、教室にて継代してある株
 と1975年の分離株の感受性を比較した成績である。GM,

DKB, TOB と同様 KW-1062, Sisomicin においても
 1975年分離株に耐性株が増加している傾向が認められて
 いる。

Fig. 19 Sensitivity distribution of *P. aeruginosa* to Aminoglycosides
 Inoculum size 10^6 cells/ml

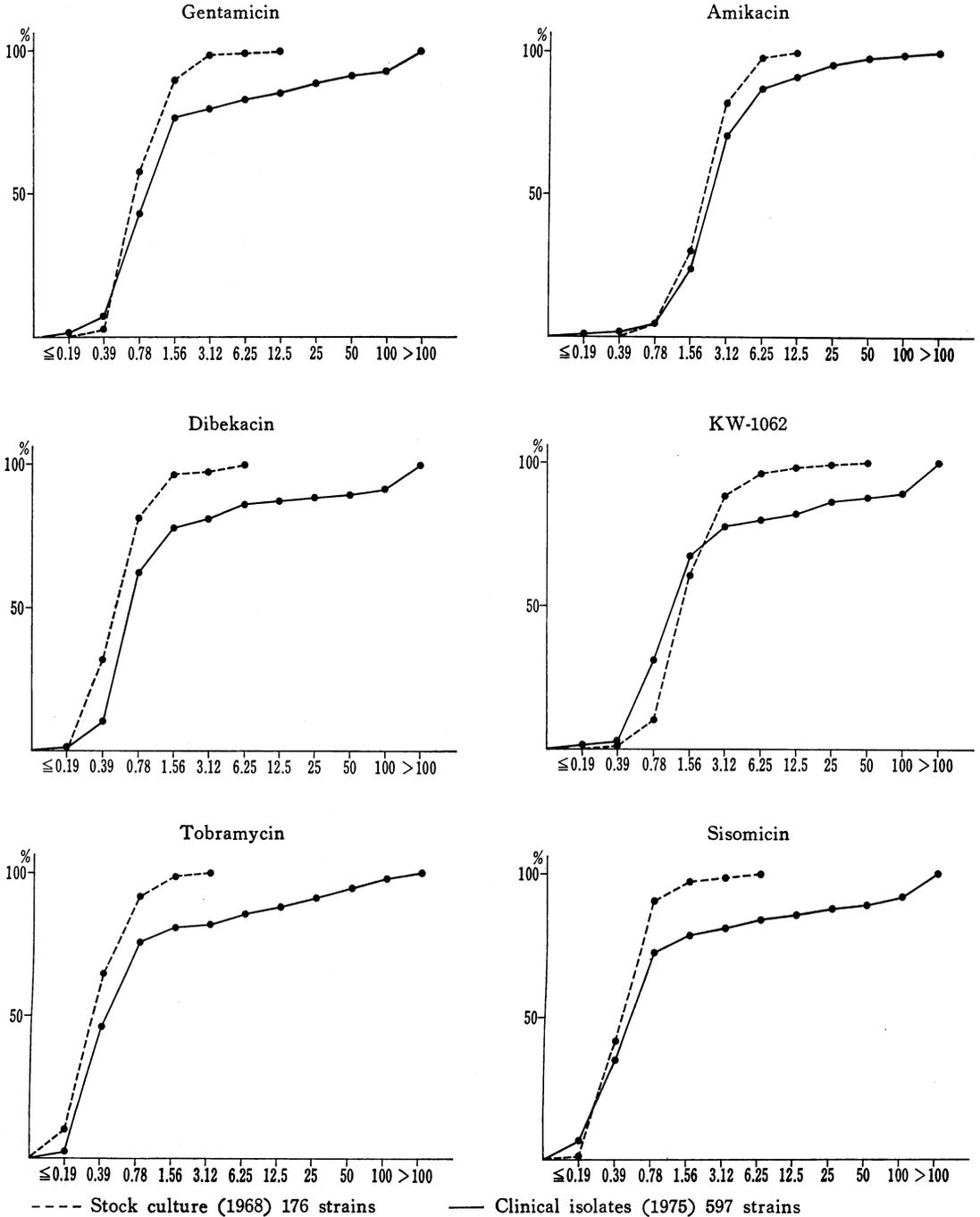
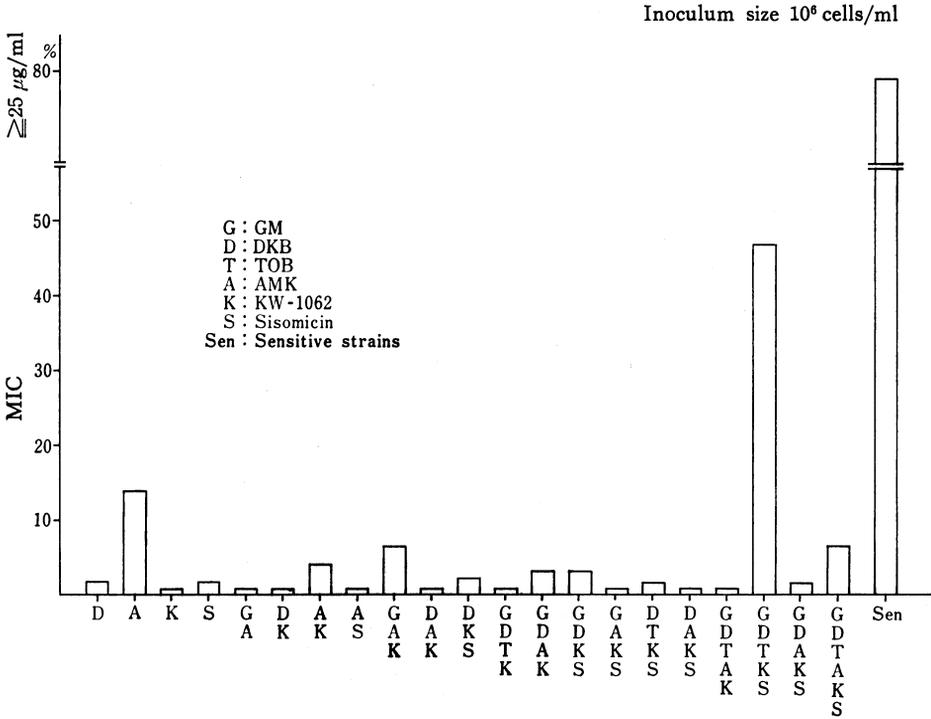


Fig. 20 Resistance pattern to aminoglycosides in *P. aeruginosa*
Clinical isolates (597 strains, 1975)



4) 緑膿菌の耐性パターン³⁾ (Fig. 20)

MIC, 25 µg/ml 以上の耐性株について 6 剤の耐性パターンを Fig. 20 に示した。

GM, DKB, TOB, KW-1062, Sisomicin の 5 剤耐性株がもっとも多く、50% 近くをしめ、次が AMK 単独耐性株 (13.6%) であった。

5) *Serratia* の耐性パターン (Fig. 21)

MIC, 25 µg/ml 以上の耐性株について 6 剤の耐性パターンをしらべた成績が Fig. 21 である。

GM, DKB, TOB, KW-1062, Sisomicin の 5 剤耐性株が多く、次いで DKB 単独耐性であった。

2. In vivo 抗菌作用

1) マウス実験感染における治療効果

i) 緑膿菌感染 (Fig. 22)

GM 耐性の PI-67 株は KW-1062, Sisomicin にも耐性を示し、in vivo においても無効であった。

GM, DKB, TOB 耐性で AMK 感性の C-39 株でも、KW-1062, Sisomicin は耐性を示し、感染防御効果も無効であった。

AMK にのみ耐性の E-7 株では、MIC に平行し Sisomicin, GM, DKB, TOB, KW-1062 には治療効果を

Fig. 21 Resistance patterns to aminoglycosides in *Serratia marcescens*
Clinical isolates (34 strains, 1975)

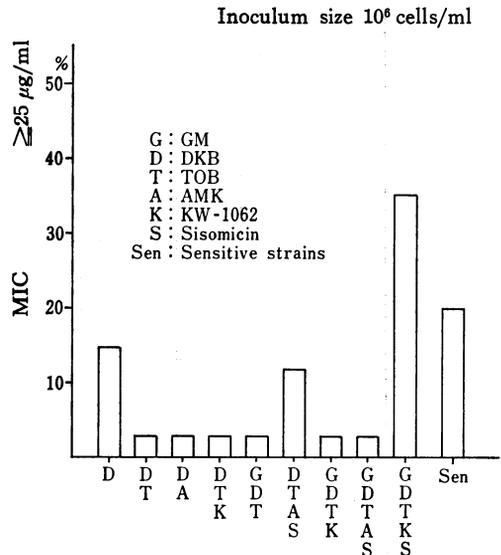


Fig. 22 Protective effect of aminoglycosides against *P. aeruginosa* infection in mice

<i>P. aeruginosa</i>	Challenge dose (cells/mouse)	5% mucin	Drug	** ED ₅₀ (mg/mouse)		MIC (μg/ml)	
				1	2	108	106
P I -67 GM resistant MLD 1 × 10 ⁸ ≤ 8 × 10 ⁴ (+)	1 × 10 ⁸	-	SISO*	→	→	>100	>100
			GM	→	→	>100	>100
			DKB	→	→	50	12.5
			TOB	→	→	6.25	6.25
			KW-1062	→	→	>100	>100
			AMK	→	→	25	>12
	2.7 × 10 ⁵	+	SISO*	→	→	>100	>100
			GM	→	→	>100	>100
			DKB	→	→	50	12.5
			TOB	→	→	6.25	6.25
			KW-1062	→	→	>100	>100
			AMK	→	→	25	12.5
C-39 MLD 1.7 × 10 ⁸ 2 × 10 ⁶ (+)	3.6 × 10 ⁸	-	SISO*	→	→	>100	>100
			GM	→	→	>100	>100
			DKB	→	→	>100	>100
			TOB	→	→	>100	100
			KW-1062	→	→	>100	>100
			AMK	→	→	12.5	6.25
	4.5 × 10 ⁶	+	SISO*	→	→	>100	>100
			GM	→	→	>100	>100
			DKB	→	→	>100	>100
			TOB	→	→	>100	100
			KW-1062	→	→	>100	>100
			AMK	→	→	12.5	6.25
E 7 AMK resistant MLD 1.6 × 10 ⁷ < 1.9 × 10 ¹⁰ (+)	6.2 × 10 ⁷	-	SISO*	→	→	12.5	1.56
			GM	→	→	12.5	3.12
			DKB	→	→	6.25	1.56
			TOB	→	→	6.25	1.56
			KW-1062	→	→	6.25	6.25
			AMK	→	→	50	25
	1.2 × 10 ³	+	SISO*	→	→	12.5	1.56
			GM	→	→	12.5	3.12
			DKB	→	→	6.25	1.56
			TOB	→	→	6.25	1.56
			KW-1062	→	→	6.25	6.25
			AMK	→	→	50	25
P I -21 MLD 1 × 10 ⁸ ≤ 8 × 10 ⁴ (+)	4 × 10 ⁸	-	SISO*	→	→	>100	>100
			GM	→	→	>100	>100
			DKB	→	→	>100	>100
			TOB	→	→	>100	>100
			KW-1062	→	→	>100	>100
			AMK	→	→	100	50
	2 × 10 ⁶	+	SISO*	→	→	>100	>100
			GM	→	→	>100	>100
			DKB	→	→	>100	>100
			TOB	→	→	>100	>100
			KW-1062	→	→	>100	>100
			AMK	→	→	100	50

Administration : S. C. 1 hr after infection

Mouse : ddN, ♂, 5 W, 16-18 g, 6 animals/group

*SISO : Sisomicin

**Von der Waerden method

Fig. 23 Protective effect of aminoglycosides against *Serratia marcescens* infection in mice

Serratia	Challenge dose (cells/mouse)	5% mucin	Drug	** ED ₅₀ (mg/mouse)			MIC (μg/ml)	
				0.1	0.2	0.3	108	106
NO. 8 MLD 1.9 × 10 ⁸ 1.3 × 10 ⁶ (+)	2.4 × 10 ⁸	-	SISO*	■			6.25	1.56
			GM	■			3.12	3.12
			DKB	■	■		25	12.5
			TOB	■	■	■	12.5	6.25
			KW-1062	■	■		6.25	3.12
			AMK	■	■	■	12.5	6.25
	3 × 10 ⁶	+	SISO*	■			6.25	1.56
			GM	■			3.12	3.12
			DKB	■	■	■	25	12.5
			TOB	■	■	■	12.5	6.25
			KW-1062	■	■	■	6.25	3.12
			AMK	■	■	■	12.5	6.25

Administration: S. C. 1 hr after infection

Mouse: ddN, 5 W, ♂, 16-18 g, 6 animals/group

*SISO: Sisomicin

**Van der Waerden method

示したが、大量菌攻撃の場合には、AMK, KW-1062 の 2 剤には無効であった。

6 剤すべてに耐性の PI-21 株では、6 剤すべて無効であった。

全体に MIC は大量菌接種と少量菌接種の 2 点を取り、感染防御効果も大量菌攻撃と少量菌攻撃で行なったが、それぞれの MIC と ED₅₀ はほぼ相関した値が得られた。

ii) *Serratia* 感染 (Fig. 23)

6 剤の比較成績を Fig. 23 に示した。

Serratia marcescens No. 8 株においては、Sisomicin, GM の治療効果が良好であった。また大量菌攻撃と少量菌攻撃の場合でも ED₅₀ が前者が低い値を示していることについてはアミノ配糖体系薬剤の特徴としてすでに発表した⁴⁾現象と同様である。

2) マウス血清中濃度 (Fig. 24)

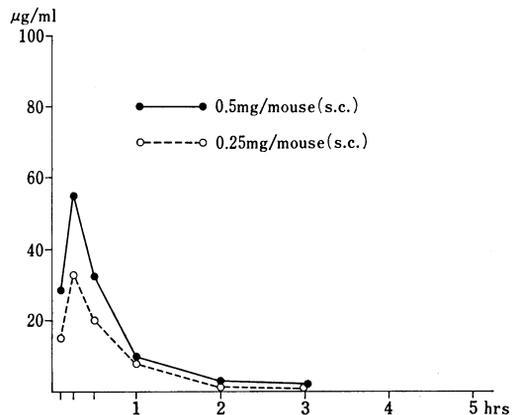
Sisomicin, KW-1062, TOB, DKB, GM, AMK をそれぞれ 0.5 mg, 0.25 mg 皮下投与したマウスの血清中濃度の平均を Fig. 24 に示した。

6 剤とも 15 分にピークがあり、最高血清中濃度は Sisomicin が高く、次に AMK, GM, KW-1062, TOB, DKB の順であった。

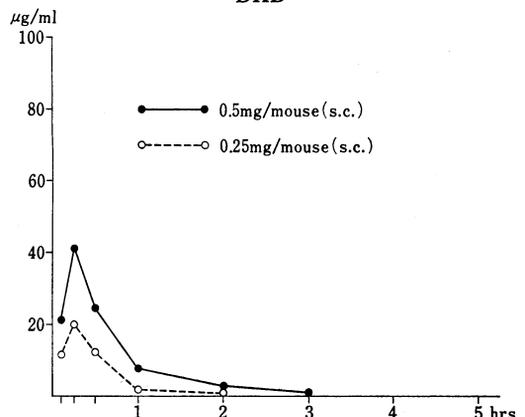
3) マウス毒性 (Table 1)

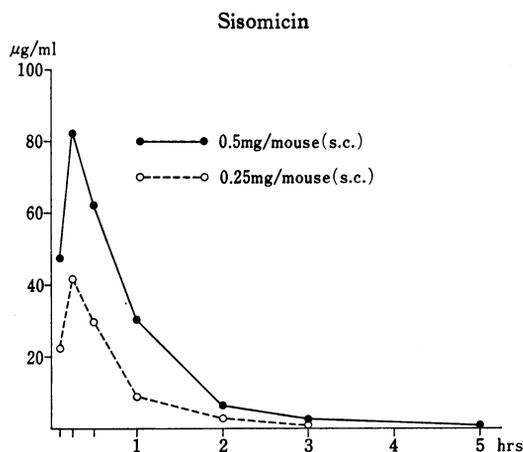
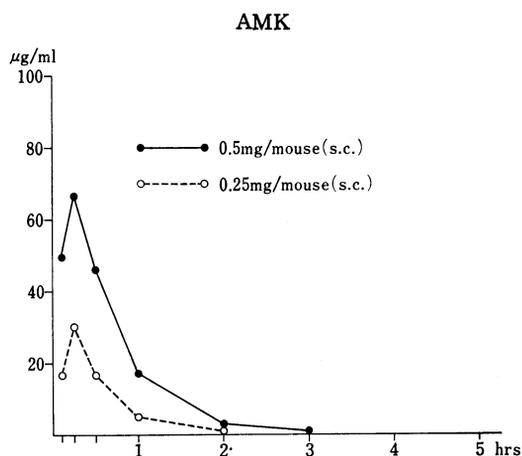
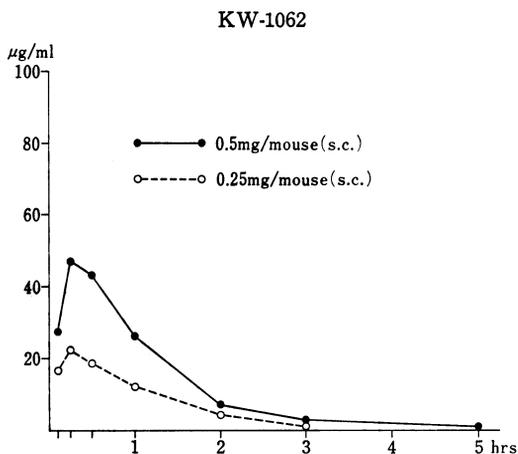
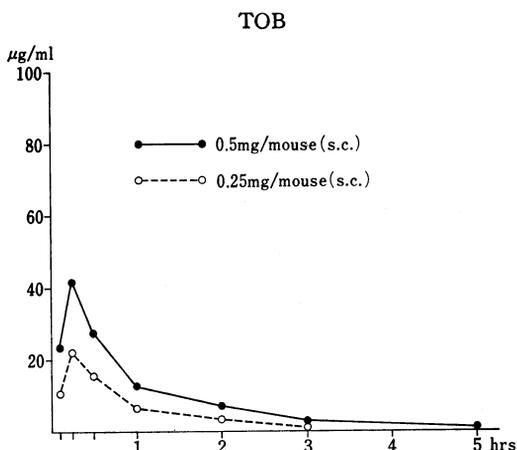
感染実験に用いた同条件のマウス 1 群 6 匹とし、KW-1062, Sisomicin, GM, DKB, TOB, AMK を皮下投与して 5 日間観察、マウスの生死により LD₅₀ を算出した。

致死毒性は Sisomicin が強く、次に DKB, GM, KW-1062, TOB, AMK の順に毒性が低いことが認められた。

Fig. 24 Serum level in mice (ddN mice)
GM

DKB





ddN mouse ♂, 5 W, 16-18 g, Cup method.
 B. subtilis PCI-219 HI agar (pH 7.2)

Table 1 Acute toxicity in Mice

Drug	LD ₅₀ (mg/mouse)
GM	8.25
DKB	7.07
TOB	20.0
AMK	≥40.0
KW-1062	10.0
Sisomicin	3.54

ddN, 5 W, ♂, 19-21 g 6 animals/group

III. 考察と結論

本実験では6種のアミノ配糖体系抗生物質の *in vitro*, *in vivo* の抗菌作用を比較した結果, 抗菌スペクトルは広範囲であり, 緑膿菌, 変形菌等のグラム陰性桿菌にも有効であった。

耐性株の多くは Sisomicin, GM, DKB, TOB, KW-1062 の5剤に交差耐性をみとめたが, AMK のみは異ったパターンを示した。

マウス実験感染における治療効果は, Sisomicin, GM, TOB, DKB では MIC とほぼ平行した結果が得られたが, AMK, KW-1062 においては攻撃菌量の多い場合の ED₅₀ はやや大きく, その作用が弱い傾向がみられた。

Sisomicin の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用は6剤中かなりすぐれていると判断されたが, 血清中濃度も最高を示す一方, マウスに対する致死毒性も高かった。

文 献

- 1) 日本化学療法学会 MIC 小委員会: 最小発育阻止濃度(MIC)測定法の標準化について。Chemotherapy 16 (1): 98~99, 1968
- 2) 日本化学療法学会 MIC 測定法改定委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改訂について。Chemo-

therapy 22 (6) : 1126~1128, 1974

- 3) 松本文夫, 大森雅久, 柴 孝也 : 1972年以降尿路感染症から分離したグラム陰性抗菌の薬剤感受性。
Chemotherapy 24 (6) : 1431~1435, 1976

- 4) 五島瑳智子, 上村利明, 堂ヶ崎勲, 一色義人, 野藤隆夫, 桑原章吾 : In vivo 抗菌作用—その適正な実験条件をどのように設定すべきか—。感染, 炎症, 免疫 2 : 428~429, 1972

BACTERIOLOGICAL EVALUATION OF SISOMICIN, GENTAMICIN, DIBEKACIN, TOBRAMYCIN, AMIKACIN, KW-1062, AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS ACTIVE AGAINST PSEUDOMONAS AERUGINOSA

SACHIKO GOTO, MASATOSHI OGAWA, YASUKO KANEKO

AKIYOSHI TSUJI, SHOGO KUWAHARA

Department of Microbiology, Toho University, School of Medicine

The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities of 6 aminoglycoside antibiotics were compared and the following results obtained :

1) Sisomicin has a broad antibacterial spectrum and bactericidal action against gram-negative bacilli such as *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus sp.* Especially against Gentamicin-resistant strains of *Proteus inconstans*, it is the most active of the 6 antibiotics tested. Most strains resistant to Gentamicin, Dibekacin and Tobramycin are cross-resistant to Sisomicin and KW-1062. Amikacin showed a different sensitivity pattern.

2) In experimental mice infections the therapeutic effects of Sisomicin, Gentamicin, Tobramycin and Dibekacin closely paralleled their *in vitro* antibacterial activities, but those of Amikacin and KW-1062 had a tendency to decline when the challenge dose was increased.

3) The antibacterial activity of Sisomicin was excellent, both *in vitro* and *in vivo*. The drug had the highest serum concentration of the 6 antibiotics compared, but its acute toxicity (mice) was highest of the compounds compared.