

CS-1170 に関する免疫学的研究

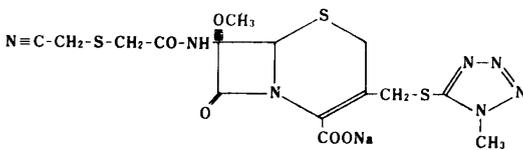
岩田正之・勝田光大・谷井孝光
三共株式会社生産技術研究所

緒 言

CS-1170 は下記の化学構造を有する cephamycin 系の新抗生物質である。

cephalosporin 系抗生物質の 7- α 位水素をメトキシ基で置換することにより得られる本系統の抗生物質は一般に β -lactamase に対し抵抗性を増すといわれ¹⁾, CS-1170 も幾つかの細菌学的な特徴が見出されている²⁾。

本研究の目的は CS-1170 の免疫学的な挙動を明らかにすることであり、その抗原性と交差反応性をウサギを用いて検討し、またクームス反応について他剤と比較した。



実験の材料と方法

1. 抗原

CS-1170(三共), Cephalothin(CET, 塩野義), Cephaloridine(CER, 鳥居), Cefazolin(CEZ, 藤沢), Cephalexin(CEX, 塩野義), Cephadrine(CED, 三共), Benzylpenicillin(PCG, 明治), Ampicillin(ABPC, 三共), Carbenicillin(CBPC, 藤沢), 6-aminopenicillenic acid(6-APA, Boehringer), 7-aminocephalosporanic acid(7-ACA, Squibb). ウシ血清アルブミン(BSA, 結晶, Sigma). ウサギ血清アルブミン(RSA, 結晶, Pentex), フロイントの完全アジュバント(FCA, Difco).

2. 抗生物質-蛋白結合物(以下 H-C 結合物と略)の調製

BSA または RSA を 2% の濃度に炭酸緩衝液 ($\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-NaHCO}_3$, 0.1M pH10.5) に溶解し、その 10ml に抗生物質 400mg を加えた。IN-NaOH で pH10.5 に補正し、37°C で 24 または 48 時間放置した。反応溶液を水に対して 2 日間透析し、さらにセファデックス G-25 のカラムクロマトグラフィーで未反応の抗生物質を除去した。

蛋白に結合した抗生物質モル数は LITTLE³⁾ の方法を応用して測定した。H-C 結合物溶液に蛋白量と等量の

trinitrobenzene sulfonate(TNBS), sodium carbonate を加えて trinitrophenyl (TNP) 化した。37°C で 24 時間反応後、Dowex 1 \times 4 のカラムクロマトグラフィーにより遊離の TNP を除去した。TNP 化 H-C 結合物を 6N-HCl で 110°C, 24 時間加水分解後、アミノ酸分析により残存する遊離リジン残基を求めた。同様の TNP 化を Native 蛋白についても行いリジン残基を求めた。H-C 結合物の抗生物質結合モル数は次式から求めた。

H-C 結合物の抗生物質結合モル数 = TNP 化 H-C 結合物のリジン残基数 - TNP 化 Native 蛋白のリジン残基数

3. 抗生物質被覆赤血球(以下感作血球と略)の調製
感作血球は glutaraldehyde を結合剤に用いる AVRAMEAS⁴⁾ の方法で調製した。リン酸緩衝生理食塩液(PBS, $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$, 0.01M pH7.2 に NaCl 0.15M 含有) で 3 回洗浄したヒツジ赤血球沈澱 1ml に PBS 25ml, H-C 結合物 25mg および 2.5% glutaraldehyde 溶液 5ml を加え、スターラーで攪拌しながら室温で 1 時間反応させた。反応溶液を PBS で 3 回遠沈洗浄を行ったのち、窒化ソーダを 0.1% 含有した PBS で 1% の血球浮遊液とした。

4. 実験動物

日本在来種ウサギ、体重 2.5~3.0kg の雄を用いた。

5. 感作方法

a) 静注感作: 5% CS-1170 または CEZ 水溶液を 2ml/animal で隔日に週 3 回、4 週間連続的に静脈注射した。最終投与から 2 週間休養した後、同用量で 1 回ブースター注射した。動物は 7, 14, 21, 28, 35 および 49 日目に耳静脈から採血し、血清の凝集反応を測定した。1 群 5 匹の動物を用いた。

b) アジュバンド加感作: CS-1170 と CEZ を用い JOSEPHSON⁵⁾ の方法に準じて感作した。おのおの 10% 水溶液 1ml と FCA 1.5ml をポリトンホモゲナイザー(Kinematica GMBH) で water in oil のエマルジョンを調製した。エマルジョンを第 1 日目にウサギの四肢足蹠に約 0.6ml ずつ皮下注射した。第 7 日目に第 14 日目に同様に調製したエマルジョンを背部の皮下に数ヵ所に分けて注射した。第 31, 33, 35, 37 および 39 日目に 10% 水溶液を 1ml ずつ耳静脈よりブースター注射した。動

物は第7, 14, 21, 28, 35, 42および49日目に耳静脈より採血した。各群5匹の動物を用いた。

6. 血清免疫学的方法

a) 間接血球凝集反応：マイクロプレートを用いた2倍希釈法による間接血球凝集反応で被検血清の凝集価を測定した。1%に正常ウサギ血清を含有するPBS (NRS-PBS) 25 μ lをマイクロプレートの全管へ滴下し、被検血清の25 μ lを第1管へ加えてからオートマチックタイリユーター (Cooke Engineering) で2倍希釈系列を作った。全管へ1%感作血球浮遊液25 μ lを滴下し、内容をよく攪拌した後、1夜室温に静置し、沈降血球の管底像から凝集反応を判定した。凝集価は陽性反応を示す最大希釈倍数で示した。

b) 間接血球凝集ハブテン阻止反応：6-a)項と同様にハブテン溶液の希釈系列を作った。次いで抗血清の4単位希釈液(陽性反応を示す最大希釈濃度を1単位とし、これより4倍濃い濃度の希釈液) 25 μ lを全管に滴下し、内容を攪拌した後、室温で1時間反応させ、1%感作血球浮遊液25 μ lを全管に滴下した。内容を攪拌後室温で1夜静置し、沈降血球の管底像から阻止反応を判定した。阻止価は阻止反応陽性を示すハブテンの最小濃度(mM)で示した。

c) 定量沈降ハブテン阻止反応：常法⁷⁾に従って、あらかじめ被検血清と抗原(抗生物質-蛋白結合物)との沈降反応において、当量域で約100 μ gの沈降物を得るよう、抗血清と抗原との量比を決めた。被検血清に段階希釈濃度のハブテンを加え、37°Cで1時間反応させた後、あらかじめ決めた抗原量を加え、さらに37°Cで1時間、4°C1夜静置した。抗原抗体沈降物をPBSで3回遠沈洗淨したのちFOLIN-CIOCALTEU法⁸⁾でタンパク量を測定した。ハブテンの阻止価は沈降物形成を50%阻止するに要するハブテン濃度(mM)で示した。

7. クームス試験法

a) 洗淨血球を用いる方法：GRALNICK⁹⁾の方法に従った。人O型血球をPBSで3回洗淨し、最終濃度2%血球浮遊液を作った。抗生物質の段階希釈系列各1mlに2%血球浮遊液1mlを加え、37°Cで2時間インキュベートしたのちPBSで3回遠沈洗淨した。沈渣にPBS1mlを加えて2%血球浮遊液とし、その2滴をパスツールピペットで試験管に取り、これに正常ヒト血清を2滴加え、37°Cで2時間反応させた。PBSで3回遠沈洗淨を行い沈渣にクームス試薬を2滴加えた。振り混ぜたのちただちに1000rpmで1分間遠沈した。沈渣をゆるやかに振り混ぜながら凝集の判定をした。

b) 全血液を用いる方法：MOLTHAN¹⁰⁾の方法に従った。抗生物質の段階希釈系列各1mlにクエン酸加ヒト

O型血液を1mlずつ加えた。37°Cで3時間インキュベートし、PBSで3回遠沈洗淨をしたのち沈渣にPBSを加えて2%の血球浮遊液を調製した。この2滴を試験管に取り、クームス試薬を2滴加え、以下7-a)項と同様に操作して判定した。

実験結果

1. 抗体産生

Fig. 1はCS-1170とCEZを静注免疫した場合とアジュバントとともに皮下免疫した場合の血中抗体産生の推移を示してある。

静注免疫では両薬剤とも全期間を通して抗体産生は認められなかった。

一方、アジュバントを併用した皮下注免疫では両薬剤ともに抗体産生が認められた。検出された抗体活性は2-メルカプトエタノール処理により失活し、したがってIgMクラスの抗体と思われた。両薬剤の抗体産生の推移には差が見られなかった。

2. 交差反応性

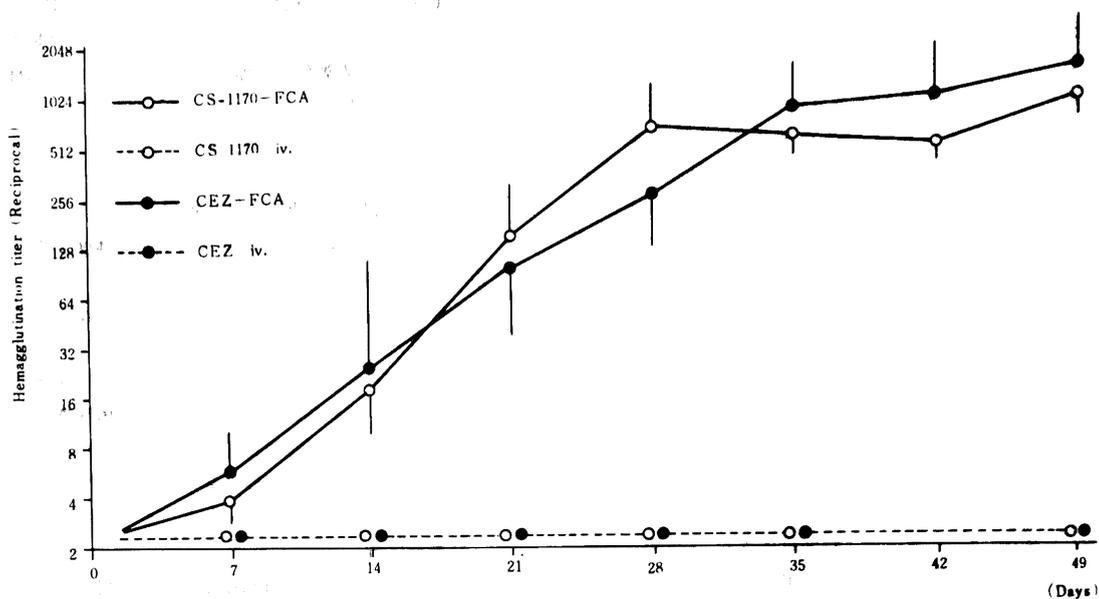
Table 1はアジュバント併用皮下注免疫で得られた各抗血清を用い、間接血球凝集ハブテン阻止反応における各種ハブテンとの交差反応を示してある。

対応ハブテンであるCS-1170の平均阻止濃度が0.48mMであったのに対して、非対応ハブテンでは最も交差反応の強いCETで16mMであり、CEZでは35mMであった。CER, CED, CEXなどのcephalosporin系抗生物質、PCGなどのpenicillin系抗生物質との交差性はさらに弱かった。Table 2は同様の実験系で抗CEZ血清について検討した結果を示してある。対応ハブテンのCEZに対する平均阻止濃度は0.016mMであった。非対応ハブテンの場合、抗CEZも抗CS-1170と同様、Tableに示したハブテンのなかではCETに対する交差性がやや強かったが、その交差反応性は対応ハブテンのそれに対して0.18%であった。他のハブテンとの交差性はさらに弱かった。

Fig. 2は抗CS-1170と抗CEZとで、それぞれに対応するハブテン-キャリア結合物との間の定量沈降反応系のハブテン阻止曲線を示してある。Table 3に50%阻止するに要する各ハブテン濃度を示した。抗CS-1170の抗原抗体反応系(A)ではCS-1170ハブテンの1.5mMによって阻止された。CEZ, CETでは20mM, CERとCEDで75mM要した。PCG, ABPC, 7-ACAでは100mMでも50%阻止は達せられなかった。一方、抗CEZの反応系(B)ではCEZハブテン0.025mMによって阻止された。

CS-1170ハブテンでは6mM, CETでは35mMで阻止した。他のハブテンは100mM以上要するものと思われた。

Fig. 1 Antibody responses to antibiotic in rabbits



Antibody responses to antibiotic. Groups of 5 rabbits were immunized on days 0, 7 and 14 sc. with CS-1170 incorporated to FCA emulsion (—○—), with CEZ incorporated to FCA emulsion (—●—). Another groups of 5 rabbits were immunized 3 times per week for 4 weeks successively iv with CS-1170 in aqueous solution (----○----), with CEZ in aqueous solution (----●----). FCA groups of rabbits were boosted by aqueous solution iv 5 times at intervals of 2 days from 17th days following last immunization. Intravenous groups were boosted by the same solution once on day 42. Bars indicate standard errors.

Table 1 Hapten inhibition of hemagglutination of anti-CS-1170 against SRBC coated with CS-1170-RSA

Hapten	Individual antiserum					Mean	SE
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5		
CS-1170	0.2	0.2	0.8	0.8	0.4	0.48	± 0.14
CEZ	25	12.5	100	25	12.5	35	± 16.5
CET	6.3	12.5	25	25	12.5	16	± 3.8
CER	50	50	100	100	50	70	± 12.5
CEX	>100	>100	>100	>100	>100	>100	
CED	25	100	100	100	25	70	± 18.4
PCG	50	100	100	100	100	90	± 10
ABPC	>100	>100	>100	>100	>100	>100	
CBPC	100	100	100	100	100	100	
7-ACA	25	100	100	100	100	85	± 15
6-APA	>100	>100	>100	>100	>100	>100	

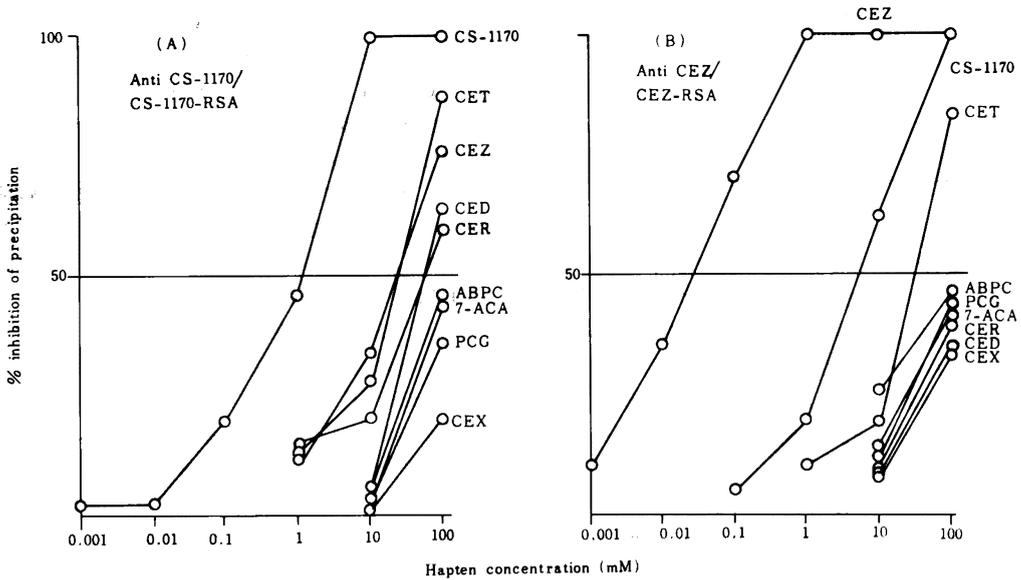
Data represent the lowest concentration (mM) of hapten required for the inhibition of hemagglutination.

Table 2 Hapten inhibition of hemagglutination of anti-CEZ against SRBC coated with CEZ-RSA

Hapten	Individual antiserum					Mean	SE
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5		
CS-1170	3.1	100	1.6	25	1.6	26	± 19
CEZ	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.016	± 0
CET	12.5	12.5	1.6	12.5	6.3	9.1	± 2.2
CER	100	50	3.2	100	12.5	53	± 21
CEX	100	100	25	100	12.5	68	± 22
CED	100	100	25	100	25	70	± 18
PCG	100	100	12.5	100	50	73	± 18
ABPC	100	100	50	100	50	80	± 12
CBPC	100	100	25	100	25	70	± 18
7-ACA	100	100	12.5	25	12.5	40	± 17
6-APA	100	100	100	100	100	100	

Data represent the lowest concentration (mM) of hapten required for the inhibition of hemagglutination.

Fig. 2 Hapten inhibition of precipitation with antibiotics



Hapten inhibition of precipitation with antibiotic. To a precipitation system of anti-CS-1170/CS-1170-RSA (A) or anti-CEZ/CEZ-RSA (B), was added indicated concentration of hapten. The mixtures were allowed to stand overnight at 4 °C. Protein contents in the precipitate were determined by Folin-Ciocalteu method. Percent inhibition of precipitation was calculated by following equation.

$$\text{Percent inhibition} = \left(1 - \frac{\text{AgAb system with hapten}}{\text{AgAb system without hapten}} \right) \times 100$$

Table 3 Hapten concentrations needed for 50% inhibition of precipitation against anti-CS-1170 and anti-CEZ

Hapten	Ag-Ab reaction system	
	anti-CS-1170 CS-1170-RSA	anti-CEZ CEZ-RSA
CS-1170	1.5	6
CEZ	20	0.025
CET	20	35
CER	75	>100
CEX	>100	>100
CED	75	>100
PCG	>100	>100
ABPC	>100	>100
7-ACA	>100	>100

Data represent mM hapten required for 50% inhibition of precipitation.

Table 4 Covalent binding of hapten to carrier protein

Hapten	Hapten mol/BSA mol bound
CS-1170	0.5
CEZ	0.6
CET	5.7

3. 蛋白結合

Table 4 は BSA に対し CS-1170, CEZ および CET をおのおの100倍 mole 加え, 37°C pH 7 で24時間インキュベートしたのち, BSA に共有結合した各ハプテンのモル数を測定した結果を示してある。CS-1170 と CEZ はそれぞれ 1 mole 以下の結合に対し, CET では約 6 mole 結合した。

4. 直接クームス試験

2名の volunteer 血液を用い, CS-1170, CEZ および CET のクームス陽性化能を4種のクームス試薬で検討した。Table 5 は洗浄血球を用いた結果を示しており, CS-1170は100mg/ml でも陰性であった。CEZは100mg/ml の濃度で Tokyo Standard の試薬で2名共陽性, 50mg/ml 以下の濃度で陰性であった。一方, CET のクームス陽性化能は強く, 50mg/ml の濃度ではすべての試薬において陽性, 25mg/ml でも Kokusai の試薬を除き陽性であった。6.25mg/ml で陰性であった。Table 6 は全血を用いた結果を示しており, CS-1170 と CEZ は100mg/ml で自家製試薬により1例の陽性例が認められた。一方

CET は低濃度でも陽性例が見られた。CS-1170 のクームス陽性化作用は CEZ と同様に弱かった。

考 察

penicillin と体液タンパクとの結合によってハプテン-キャリア-結合物を生成し, その結果ペニシリンアレルギーが起こることが多くの研究によって明らかにされている^{11,12,13}。この場合の主要抗原は Penicilloyl-protein conjugate¹⁴ であるとされているが, Cephalosporin も Penicillin とよく似た母核構造を有することから, 同様の結合物を生成してアレルギー原性を発揮することが推定されている^{15,16}。

CS-1170は cephamycin 系の抗生物質であり, Cephalosporin とは7- α 位の methoxy 基置換により異なり, アシル側鎖も特異な構造を有する。

本報ではCS-1170の抗原性の検討を行った。まず免疫原性であるが, われわれは抗生物質をそのまま, 単に FCA と併用して免疫する方法で行った。あらかじめハプテン-キャリア-結合物を *in vitro* で作成し, これを免疫すれば例外なく抗体産生は起こるが, この方法ではその物質の体内での免疫原性を的確に反映するとは思われないからである。抗生物質と FCA 併用免疫における抗体産生は BATCHELOR¹⁷ が記載したほど再現性に乏しくはなく, CS-1170, CEZ とともに5例中全例が抗体産生を認めた。抗体は IgM クラスに属し, IgG クラスの抗体は全期間を通じて認められなかった。一方, アジュバントを用いず, 単に抗生物質を静注する免疫方法では, 頻回の免疫によっても全期間にわたり抗体産生は CS-1170, CEZ とともに認められなかった。以上のごとく, CS-1170 と CEZ はそれぞれ免疫原性を有するが, CET や CER¹⁸ に比較して弱いように思われた。このことは *in vitro* でのタンパク結合の成績 (Table 4) と一致していた。

Penicillin の交差性についての多くの研究から, アシル側鎖の類似性が交差性に密接に関与することが知られている^{19,20}。CS-1170は cyanomethylthioacetyl 基を側鎖に有し, 従来の penicillin および cephalosporin 系抗生物質で類似の構造を有するものはない。したがって CS-1170の他剤との交差性は弱くこの点ユニークな特性を具えていると考えられる。

β -lactam 系抗生物質の免疫学的副作用として他によく知られているのが溶血性貧血であり, この際, クームス反応がしばしば陽性化するといわれている²¹。CS-1170の直接クームス試験の成績は本物質の陽性化能が比較的弱いことを示している。penicillin および cephalosporin 系薬剤によるクームス陽性化の機序は十分に解明されていない。抗生物質が赤血球を直接傷害し, または抗生物質が赤血球と結合したのち血清タンパクを結合

Table 5 Direct coombs' reaction of antibiotics tested by GRALNICK's method

Antibiotic	Coombs' reagent	Concentration of antibiotic (mg/ml)				
		100	50	25	12.5	6.25
CS-1170	Ortho	- -	- -	- -	- -	- -
	Tokyo Standard	- -	- -	- -	- -	- -
	Kokusai reagent	- -	- -	- -	- -	- -
	Author's	- -	- -	- -	- -	- -
CEZ	Ortho	- -	- -	- -	- -	- -
	Tokyo Standard	+ +	- -	- -	- -	- -
	Kokusai reagent	- -	- -	- -	- -	- -
	Author's	- -	- -	- -	- -	- -
CET	Ortho	NT ^{a)}	+ +	+ +	- -	- -
	Tokyo Standard	NT	+ +	+ +	- +	- -
	Kokusai reagent	NT	+ +	- -	- -	- -
	Author's	NT	+ +	+ +	- -	- -

a) NT : Not tested

Table 6 Direct coombs' reaction of antibiotics tested by MOLTHAN's method

Antibiotic	Coombs' reagent	Concentration of antibiotic (mg/ml)				
		100	50	25	12.5	6.25
CS-1170	Ortho	- -	- -	- -	- -	- -
	Tokyo Standard	- -	- -	- -	- -	- -
	Kokusai reagent	- -	- -	- -	- -	- -
	Author's	- +	- -	- -	- -	- -
CEZ	Ortho	- -	- -	- -	- -	- -
	Tokyo Standard	- -	- -	- -	- -	- -
	Kokusai reagent	- -	- -	- -	- -	- -
	Author's	- +	- -	- -	- -	- -
CET	Ortho	NT ^{a)}	NT	+ +	+ +	- -
	Tokyo Standard	NT	NT	- -	- -	- -
	Kokusai reagent	NT	NT	+ +	- -	- -
	Author's	NT	NT	+ +	- -	- -

a) NT : Not tested

する機序などが推定されているが、今回の成績から CS-1170は、これらの作用が少ない抗生物質の一つと思われる。

結 論

1. CS-1170の免疫原性をウサギを用いて CEZ と比較した。CS-1170, CEZ とともにフロイントの完全アジュバントとともに投与すると抗体産生が認められた。抗体産生のパターンは両者同様であった。

2. 抗 CS-1170または抗 CEZ を用い、各種の penicillin および cephalosporin 系抗生物質との交差性を検討し

た。CS-1170は CEZ と同様に他種抗生物質との免疫学的交差性が弱かった。

3. CS-1170の *in vitro* クームス陽性化能は弱かった。

文 献

- 1) ONISHI, H.R. ; D. R. DAOU. & S. B. ZIMMERMAN : Cefoxitin, a semisynthetic cephamycin antibiotic : Resistance to beta-lactamase inactivation. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 5 : 38~48, 1974

- 2) KURIYAMA, Y. ; M. YAMAMOTO & S. SUGAWARA : Purification and properties of beta-lactamase from *Proteus morganii*. J. Bacteriol. 131:726~734, 1977
- 3) 菅原眞一, 田島政三, 五十嵐勇, 宇津井幸男, 大屋哲, 中原正城 : 新セファマイシン系抗生物質 CS-1170 の抗菌活性 : Chemotherapy
- 4) LITTLE, J. R. & H. N. EISEN : Preparation and characterization of antibodies specific for the 2, 4, 6-trinitrophenyl group. Biochem. 5 : 3385~3395, 1966
- 5) AVRAMEAS, S. ; B. TAUDOU & S. CHUILON : Glutaraldehyde, Cyanuric chloride and tetrazotized o-dianisine as coupling reagents in the passive hemagglutination test. Immunochemistry 6 : 67~76, 1969
- 6) JOSEPHSON, A. L. : The development of antibodies to penicillin in rabbits. J. Exp. Med. 111 : 611~620, 1960
- 7) KABAT, E. A. & M. M. MAYER : Experimental immunochemistry. 2nd Ed. 22~96 Thomas, Springfield, Illinois, U. S. A., 1961
- 8) FOLIN, O. & V. CIOCALTEU : Tyrosine and tryptophane determination in protein. J. Biol. Chem. 73 : 627~650, 1927
- 9) GRALNICK, H. R. ; L. D. GR. WRIGHT & M. H. MCGINISS : Coombs' positive reactions associated with sodium cephalothin therapy. J. Am. Med. Assoc. 199 : 725~726, 1967
- 10) MOLTHAN, L. ; M. M. REIDENBERG & M. T. EICHMAN : Positive direct Coombs' test due to cephalothin. New Eng. J. Med. 277 : 123~125, 1967
- 11) LEVINE, B. B. & Z. OVARY. : Studies on the mechanism of the formation of the penicillin antigen. III. The N-(D- α -Benzylpenicilloyl) Group as an antigenic determinant responsible for hypersensitivity to penicillin. G. J. Exp. Med. 114 : 875~904, 1961
- 12) PARKER, C. W. ; A. L. DEWECK, M. KERN, & H. N. EISEN. : The preparation and some properties of penicillenic acid derivatives relevant to penicillin hypersensitivity. J. Exp. Med. 115 : 803~819, 1962
- 13) DEWECK, A. L. : Studies on penicillin hypersensitivity. I. The specificity of rabbit 'anti-penicillin' antibodies. Int. Arch. Allergy 21 : 20~37, 1962
- 14) DEWECK, A. L. & G. BLUM. : Recent clinical and immunological aspects of penicillin allergy. Int. Arch. Allergy 27 : 221~256, 1965
- 15) BRANDNISS, M. W. ; J. W. SMITH & H. G. STELMAN : Common antigenic determinants of penicillin G, Cephalothin and 6-aminopenicillanic acid in rabbits. J. Immunol. 95 : 696~704, 1965
- 16) GIRARD, J. P. : Common antigenic determinants of penicillin G, Ampicillin and the cephalosporins demonstrated in men. Int. Arch. Allergy. 33 : 428~438, 1968
- 17) BATCHELOR, F. R. ; J. M. DEWDNEY, R. D. WESTON & A. W. WHEELER : The immunogenicity of cephalosporin derivatives and their cross reaction with penicillin. Immunology 10 : 21-33, 1966
- 18) 岩田正之, 勝田光大 : セフラジンに関する免疫学的研究. Chemotherapy 23 (1) : 69~76, 1975
- 19) MINE, Y. ; M. NISHIDA, S. GOTO & S. KUWAHARA : Cefazolin, a new semisynthetic cephalosporin antibiotic. IV. Antigenicity of cefazolin and its cross reactivity with benzylpenicillin, ampicillin and cephaloridine. J. Antibiotics 23 : 195~203, 1970
- 20) PETERSEN, B. H. & J. GRAHAM : Immunologic cross-reactivity of cephalexin and penicillin. J. Lab. Clin. Med. 83 : 860~870, 1974
- 21) GARRATTY, G. : Drug-induced hemolytic anemia. Am. J. Med. 58 : 398~407, 1975

IMMUNOLOGICAL STUDIES ON CS-1170

MASAYUKI IWATA, MITSUO KATSUTA and TAKAMITU TANI
Products Development Laboratories. Sankyo Co., Ltd.,

CS-1170 was studied in rabbits on its immunogenicity and cross-reactivity with the related antibiotics. It was shown that CS-1170 and cefazolin (CEZ) stimulate the production of hemagglutination antibody by immunization of respective antibiotic with Freund's complete adjuvant, while not by multiple intravenous immunization of each antibiotic without adjuvant. CS-1170 showed the cross-reactivity with other beta-lactam antibiotics to a minimal extent, as it was with CEZ. No positive Coombs' reaction was induced by CS-1170.