

## CS-1170による *Escherichia coli*, *Proteus morganii*, *Serratia marcescens* の形態変化について

西野武志・宇津井 幸男・後藤直正・故中沢昭三

京都薬科大学 微生物学教室

### 緒 論

CS-1170 は三共株式会社において開発された新しい cephamycin 系抗生物質<sup>1)</sup>である。本薬剤は 7 位の  $\alpha$  位に methoxy 基を有しており、グラム陽性菌群、陰性菌群に対し幅広い抗菌力を示すのみならず各種細菌の産生する penicillinase, cephalosporinase に対して非常に強い抵抗性を示し<sup>2,3)</sup>、他の  $\beta$ -lactam 系抗生剤に耐性の *Escherichia coli*, indole 陽性の *Proteus* および *Serratia* などに有効である<sup>4)</sup>。

Penicillin や cephalosporin 等の  $\beta$ -lactam 系抗生物質をグラム陰性桿菌に作用させた場合、菌体が filament 化し spheroplast が形成されるという研究はすでに数多く報告されている<sup>5,6,7,8,9)</sup>。私どもも Cephalexin, Carbenicillin, Ticarcillin, Piperacillin, Apalcillin 等の薬剤をグラム陰性桿菌に作用させた場合の形態変化について研究し、filament 形成が認められると報告してきた<sup>10,11,12,13)</sup>。

今回、私どもは新しく開発された cephamycin 系抗生物質 CS-1170 による *Escherichia coli*, *Proteus morganii*, *Serratia marcescens* の形態変化を染色標本、位相差顕微鏡および走査電子顕微鏡を用いて検討を行ったので報告する。

### I. 実験材料および実験方法

#### 1. 使用菌株および使用薬剤

菌株は臨床分離の大腸菌 *Escherichia coli* No.29, indole 陽性の変形菌 *Proteus morganii* 101, 霊菌 *Serratia marcescens* T-55 を用い、薬剤は CS-1170, Cefazolin (CEZ) のいずれも力価の明確なものを用いた。なお MIC は *E.coli* No.29 の場合 CS-1170 は 1.56  $\mu\text{g/ml}$ , CEZ は 3.13  $\mu\text{g/ml}$  であり、*Proteus morganii* 101 および *Serratia marcescens* T-55 の場合は CS-1170 は 6.25  $\mu\text{g/ml}$ , CEZ は >800  $\mu\text{g/ml}$  であった。

#### 2. 染色標本による観察

Tryptosoy Broth (TSB: Nissan) を用いて前培養を行い、これを Heart Infusion Broth (HIB: Nissan) に接種し 37°C で振とう培養を行った。培養約 3 時間後の対数期途上の菌液 (約  $10^7$  cells/ml) に薬剤を作用させ 1, 2, 4 時間後にスライドガラス上に菌液を塗抹し、メチ

レンブルー液で染色し光学顕微鏡で視野中の約 100 個の菌の形態を観察した。

#### 3. 位相差顕微鏡による観察

スライドガラス上で薬剤を含ませたフィルム寒天を作製し、一方約 3 時間振とう培養を行った対数期途上の菌液をカバーガラスに塗抹し、これを寒天上にかぶせパラフィンで封入した。この標本を 37°C の恒温培養装置付の位相差顕微鏡 (日本光学) により経時的に観察と写真撮影を行った。

#### 4. 走査電子顕微鏡による観察

TSB を用いて前培養を行い、これを HIB に接種し 37°C で振とう培養を行った。培養約 3 時間後の対数期途上に薬剤を作用させ、1, 2, 4 時間後に生菌数を測定すると同時に菌体を集菌し電子顕微鏡の試料とした。すなわち 1.5% glutaraldehyde 溶液にて前固定後、数回 buffer にて洗浄し、KELLENBERGER らの方法<sup>14)</sup>に従って 1% OsO<sub>4</sub> で本固定を行った。これをアルコール系列にて脱水し酢酸イソアミルに置換後、臨界点乾燥法により乾燥を行った。その後カーボン、金にて蒸着し走査電子顕微鏡 JSM-35 (日本電子) で菌体表面構造の観察を行った。

## II. 実験結果

### 1. *E. coli* No.29 の形態変化

#### A) 染色標本による観察

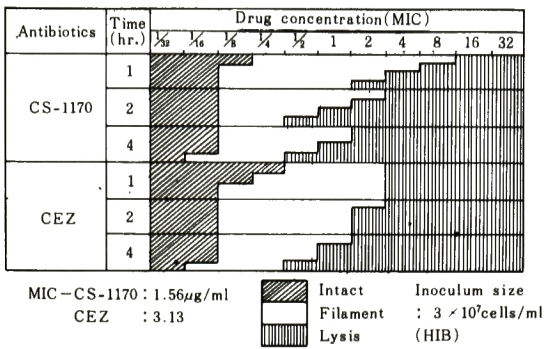
CS-1170 や CEZ を *E.coli* No.29 に作用させた場合どのような形態変化が見られるか、まず全体的な分布を知るために染色標本により検討を行った。Fig. 1 は CS-1170, CEZ とともに MIC 濃度を中心に作用させた時の形態変化をまとめたもので、両薬剤ともに 1/8 MIC ~ 1 MIC の間で著しい filament 化が見られ 4 MIC 以上ではほとんどすべて溶菌していた。また filament 化した菌体も時間の経過とともに溶菌していくようであった。

このような形態変化の過程をさらに詳細に観察するために、次に位相差顕微鏡や走査電子顕微鏡を用いて観察を行った。

#### B) 位相差顕微鏡による観察

Fig.2a は正常な *E.coli* No.29 の分裂増殖している様子を観察したもので培養 150 分後の像である。Fig.2b は

Fig. 1 Morphological alterations of *E. coli* No. 29

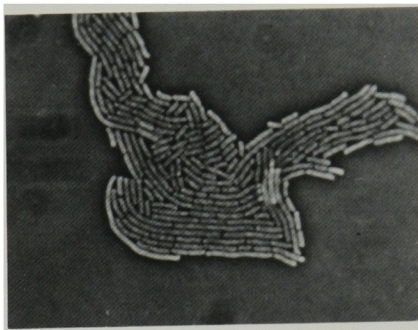


(c) Cells after 120 min. of exposure to CS-1170 (15.6 $\mu$ g/ml)



Fig. 2 Phase contrast micrographs of *E. coli* No. 29

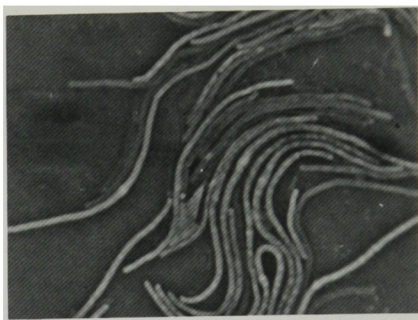
(a) Untreated *E. coli* No. 29 cells observed after 150 min. of incubation



(d) Cells after 150 min. of exposure to CEZ (3.13 $\mu$ g/ml)



(b) Cells after 150 min. of exposure to CS-1170 (1.56 $\mu$ g/ml)



(e) Cells after 60 min. of exposure to CEZ (31.3 $\mu$ g/ml)



CS-1170の1.56 $\mu$ g/mlを150分作用させた時の像で、菌体のfilament化と一部に桿状形態のままで溶菌する像が見られた。また Fig.2cはCS-1170の15.6 $\mu$ g/mlを120分作用させた時の像で、spheroplast様構造や溶菌像を多数観察することができた。Fig.2dはCEZの3.13 $\mu$ g/ml

を150分作用させた時の像で、菌体のfilament化やspheroplast様構造が見られ一部は溶菌していた。また Fig.2eはCEZの31.3 $\mu$ g/mlを60分間作用させた時の像で菌体はほとんどfilament化せずspheroplast様構造を形成し、溶菌していく様子を観察することができた。

C) 走査電子顕微鏡による観察

Fig. 3は走査電子顕微鏡試料作製時の生菌数の変化を示したものである。すなわちCS-1170, CEZの両薬剤ともdose responseのある著明な殺菌作用が認められた。このような殺菌作用時の形態変化をFig. 4~Fig.16に示した。Fig. 4は正常な*E.coli* No.29の走査電顕像で表面構造はsmoothであり桿状の形態を呈しているのを立体的に捉えることができた。

Fig. 5, 6, 7はCS-1170の1.56 $\mu$ g/mlをそれぞれ1, 2, 4時間作用させた時の走査電顕像で作用時間の経過とともに非常に長くなったfilament状の形態を観察することができた。

Fig. 3 Effect of CS-1170 and CEZ on viability of *E.coli* No. 29

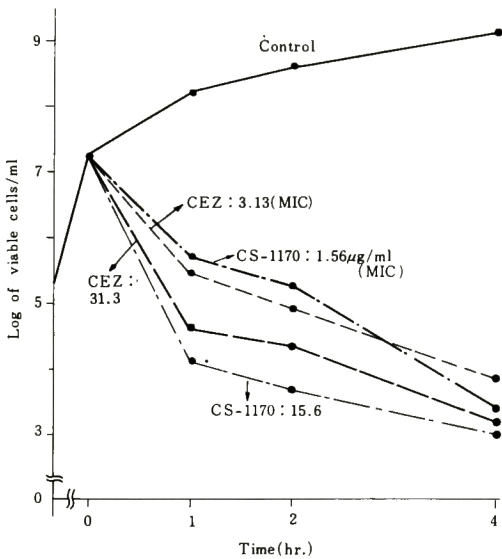


Fig. 4 Untreated *E.coli* No. 29 cells observed by scanning electron microscope

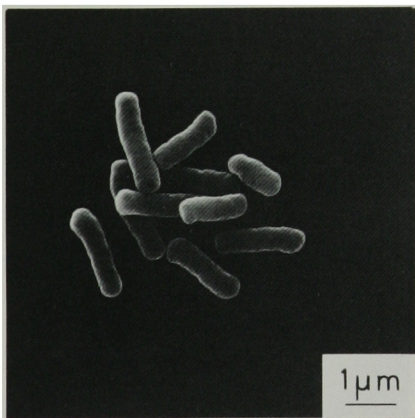


Fig. 5 Scanning electron micrograph of *E.coli* No. 29 exposed to 1.56 $\mu$ g/ml of CS-1170 for 1 hour

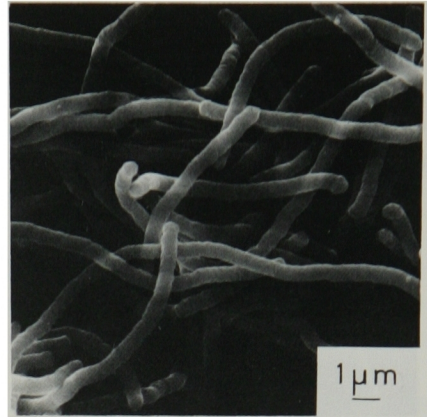


Fig. 6 Scanning electron micrograph of *E.coli* No. 29 exposed to 1.56 $\mu$ g/ml of CS-1170 for 2 hours

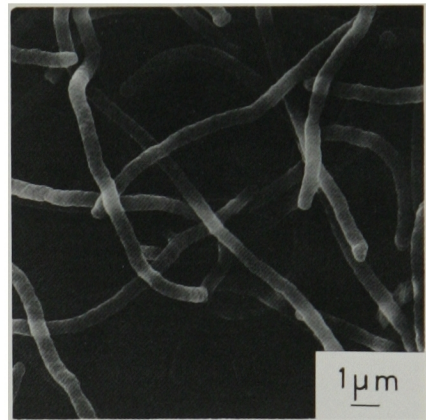


Fig. 7 Scanning electron micrograph of *E.coli* No. 29 exposed to 1.56 $\mu$ g/ml of CS-1170 for 4 hours

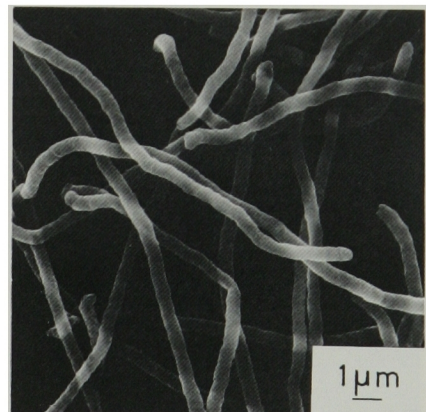




Fig. 8 Scanning electron micrograph of *E.coli* No. 29 exposed to 15.6 $\mu$ g/ml of CS-1170 for 1 hour

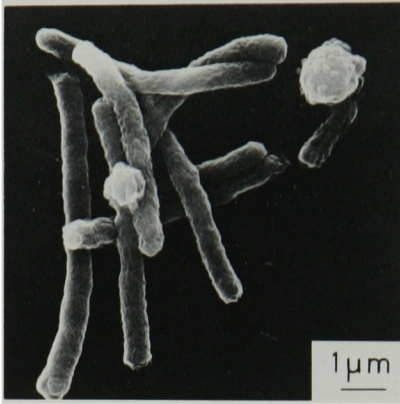


Fig. 11 Scanning electron micrograph of *E.coli* No. 29 exposed to 3.13 $\mu$ g/ml of CEZ for 1 hour

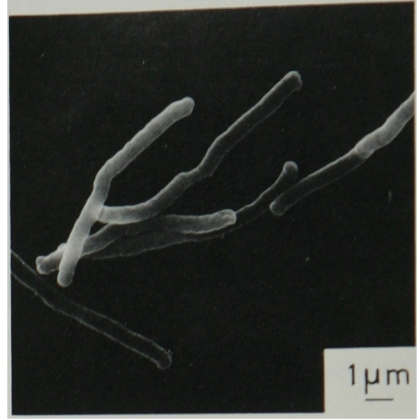


Fig. 9 Scanning electron micrograph of *E.coli* No. 29 exposed to 15.6 $\mu$ g/ml of CS-1170 for 2 hours



Fig. 12 Scanning electron micrograph of *E.coli* No. 29 exposed to 3.13 $\mu$ g/ml of CEZ for 2 hours



Fig. 10 Scanning electron micrograph of *E.coli* No. 29 exposed to 15.6 $\mu$ g/ml of CS-1170 for 4 hours

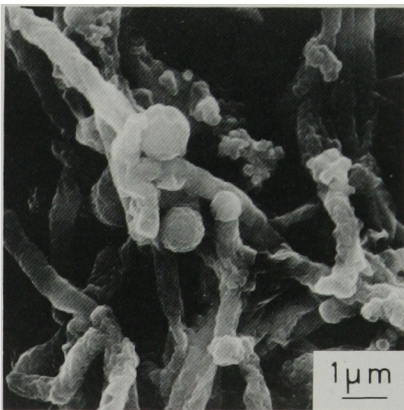


Fig. 13 Scanning electron micrograph of *E.coli* No. 29 exposed to 3.13 $\mu$ g/ml of CEZ for 4 hours

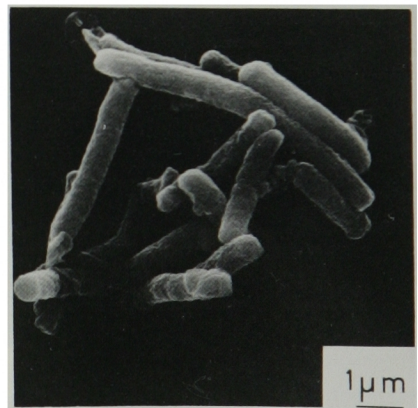




Fig. 14 Scanning electron micrograph of *E.coli* No. 29 exposed to 31.3 $\mu$ g/ml of CEZ for 1 hour



Fig. 15 Scanning electron micrograph of *E.coli* No. 29 exposed to 31.3 $\mu$ g/ml of CEZ for 2 hours

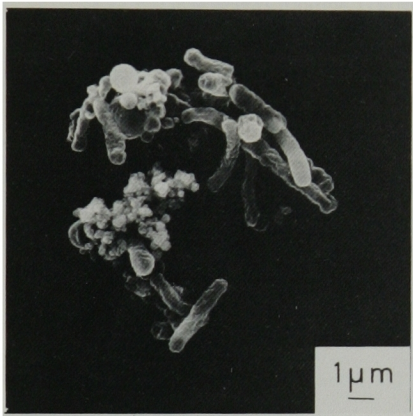


Fig. 16 Scanning electron micrograph of *E.coli* No. 29 exposed to 31.3 $\mu$ g/ml of CEZ for 4 hours

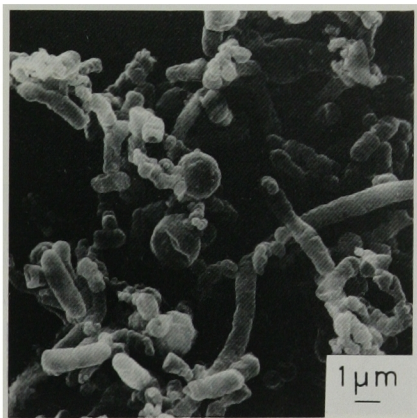


Fig. 8, 9, 10はCS-1170の15.6 $\mu$ g/mlをそれぞれ1, 2, 4時間作用させた時の走査電顕像で菌体表面に凹凸が見られる細胞や spheroplast 様構造を立体的に捉えることができた。また溶菌が起こり菌体内内容物の流出したと思われる像も観察することができた。

Fig. 11, 12, 13はCEZの3.13 $\mu$ g/mlをそれぞれ1, 2, 4時間作用させた時の走査電顕像で菌体はやや filament 化し、表面に凹凸が見られ spheroplast 様構造も若干観察することができた。

Fig. 14, 15, 16はCEZの31.3 $\mu$ g/mlをそれぞれ1, 2, 4時間作用させた時の走査電顕像で菌体はほとんど filament 化せず、多くの spheroplast 様構造が見られ菌体内内容物の流出したと思われる像も観察することができた。

以上の形態観察よりCS-1170を*E.coli* No.29に作用させた場合、1 MICでは菌体は filament 化し spheroplast 様構造はあまり見られず桿状形態のまま溶菌し、10MICでは spheroplast 様構造が見られはげしく溶菌した像も観察できた。一方CEZ作用の場合、1 MICでは菌体はやや filament 化し spheroplast 様構造が若干見られ、10MICでは菌体はほとんど filament 化せずに spheroplast 様構造や溶菌像を観察することができた。

次にCEZ耐性の*Proteus morgani*i 101ではどのような形態変化が見られるか検討を行った。

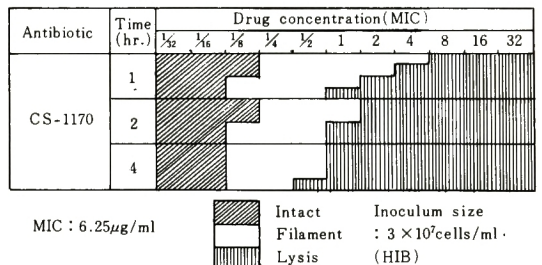
2. *Proteus morgani*i の形態変化

A) 染色標本による観察

CS-1170を作用させた場合どのような形態変化が見られるか、まず染色標本により検討した。Fig.17はCS-1170をMIC濃度を中心に作用させた場合の形態変化をまとめたもので、1/8 MIC~1/2 MICで著しい filament 化が見られるが、2 MIC以上ではほとんど溶菌し経時的な変化はあまり見られず、短時間内に溶菌作用が認められた。

次にこのような形態変化を位相差顕微鏡により観察した。

Fig. 17 Morphological alterations of *P.morgani*i 101

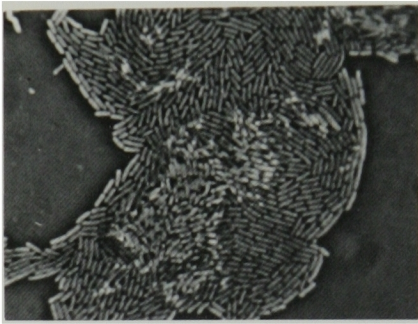


## B) 位相差顕微鏡による観察

Fig.18aは正常な *Proteus morganii* 101の増殖している様子を観察したもので培養後150分目の像である。Fig.18b, 18c, 18dはCS-1170の6.25 $\mu$ g/ml, 31.3 $\mu$ g/ml, 62.5 $\mu$ g/mlをそれぞれ60分作用させた時の像である。いずれも菌体はほとんど filament 化せずに sphero-

Fig. 18 Phase contrast micrographs of *P.morganii* 101

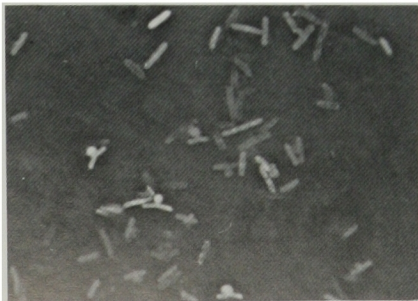
(a)Untreated *P.morganii* 101 cells observed after 150 min. of incubation



(b)Cells after 60 min. of exposure to CS-1170 (6.25 $\mu$ g/ml)



(c)Cells after 60 min. of exposure to CS-1170 (31.3 $\mu$ g/ml)



plast 様構造を示し短時間で溶菌する像が観察された。Fig.18eはCEZの100 $\mu$ g/mlを150分作用させた時の像で、一部に溶菌した像や filament 化した菌体が見られるがほとんどは正常な形態を示し培養時間の経過とともに分裂増殖した。以上のように CEZ に耐性の *Proteus morganii* に対してもCS-1170は優れた抗菌作用を示したので、さらに走査電子顕微鏡を用いて菌体表面の形態変化を観察した。

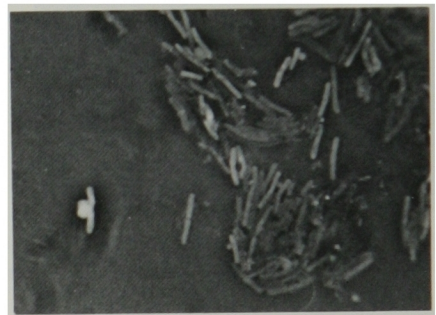
## C) 走査電子顕微鏡による観察

Fig.19は走査電子顕微鏡試料作製時の生菌数の変化を示したものである。CS-1170を6.25 $\mu$ g/mlおよび62.5 $\mu$ g/ml作用させた場合には、いずれの濃度においても殺菌作用が認められた。しかしCEZを100 $\mu$ g/ml作用させた場合、1時間ではCS-1170を6.25 $\mu$ g/ml作用させた場合と同程度に生菌数は減少したがそれ以後は著しく再増殖が認められた。このような殺菌作用時の形態変化をFig.20~25に示した。

Fig.20は正常な *Proteus morganii* 101の走査電顕像で表面構造は smooth な形態を示している。

Fig.21, 22はCS-1170の6.25 $\mu$ g/mlをそれぞれ1, 4時間作用させた時の走査電顕像で、spheroplast 様構造

(d)Cells after 60 min. of exposure to CS-1170 (62.5 $\mu$ g/ml)



(e)Cells after 150 min. of exposure to CEZ (100 $\mu$ g/ml)

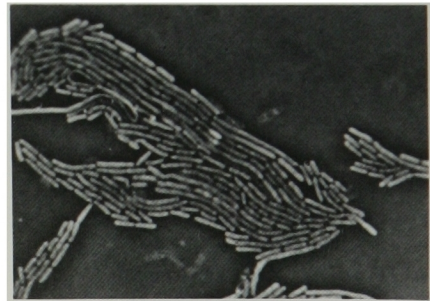




Fig. 19 Effect of CS-1170 and CEZ on viability of *P. morgani* 101

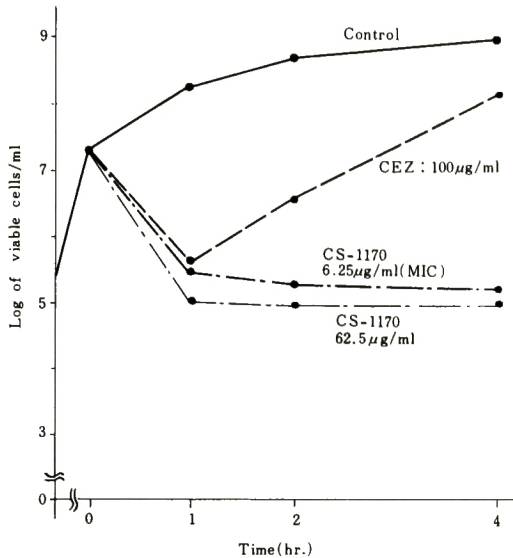
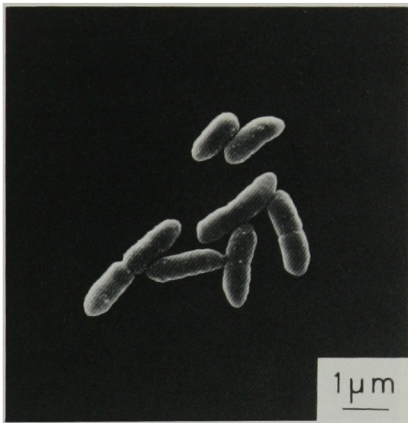


Fig. 20 Untreated *P. morgani* 101 cells observed by scanning electron microscope



が見られた溶菌がおこり菌体内内容物の流出したような像も観察できた。

Fig. 23, 24はCS-1170の62.5 µg/mlをそれぞれ1, 4時間作用させた時の走査電顕像でspheroplast様構造や、溶菌がおこり菌体内内容物の流出したと思われる像を観察することができた。

Fig. 25はCEZの100 µg/mlを4時間作用させた時の走査電顕像で一部菌体内内容物が流出したような像も認めら

Fig. 21 Scanning electron micrograph of *P. morgani* 101 exposed to 6.25 µg/ml of CS-1170 for 1 hour

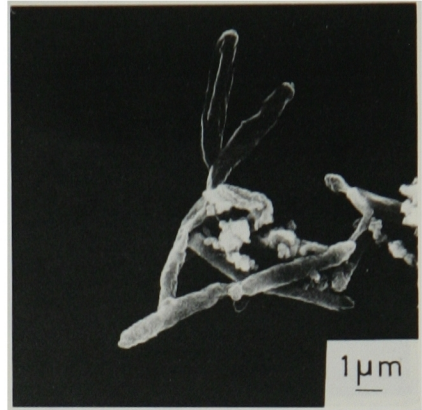


Fig. 22 Scanning electron micrograph of *P. morgani* 101 exposed to 6.25 µg/ml of CS-1170 for 4 hours



れるがほとんどの菌体が正常な形態を示しており、生菌数の推移とよく一致していると思われる。

以上の観察結果よりCS-1170を*Proteus morgani* 101に作用させた場合、菌体はほとんどfilament化せずspheroplast様構造を形成し短時間内に溶菌することがわかった。またCEZを作用させるといったん溶菌するものもあるがほとんどは再増殖し、正常菌と同様の形態を示した。

このようにCEZ耐性菌に対してもCS-1170は優れた抗菌作用を示したのでさらに*Serratia marcescens* T-55を用い検討した。



Fig. 23 Scanning electron micrograph of *P.morganii* 101 exposed to 62.5 $\mu$ g/ml of CS-1170 for 1 hour



Fig. 24 Scanning electron micrograph of *P.morganii* 101 exposed to 62.5 $\mu$ g/ml of CS-1170 for 4 hours

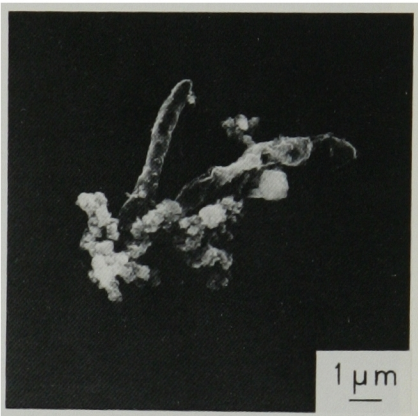
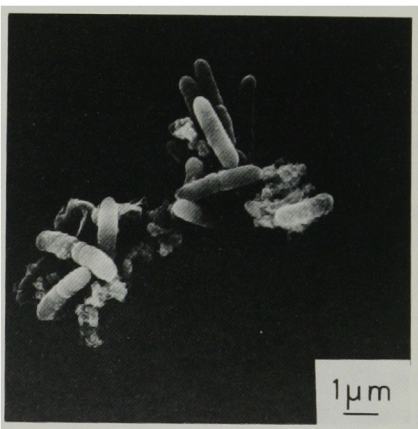


Fig. 25 Scanning electron micrograph of *P.morganii* 101 exposed to 100 $\mu$ g/ml of CEZ for 4 hours



3. *Serratia marcescens* T-55 の形態変化

A) 染色標本による観察

CS-1170 を作用させた場合どのような形態変化が見られるかまず染色標本により観察した。Fig.26はCS-1170をMIC濃度を中心に作用させた場合の形態変化をまとめたもので、1/8 MIC~4 MICで著しい filament 化が見られ時間が経過すると溶菌作用が徐々にあらわれるように思われた。

次に位相差顕微鏡により経時的に観察した。

B) 位相差顕微鏡による観察

Fig.27 aは正常な *Serratia marcescens* T-55の増殖している様子を観察したもので培養後120分目の像である。Fig.27b, 27c, 27dはCS-1170の6.25 $\mu$ g/ml, 31.3 $\mu$ g/ml, 62.5 $\mu$ g/mlをおのおの120分作用させた時の像である。すなわち6.25 $\mu$ g/ml作用では菌体は著しく filament 化し中央部がやや膨化した像も観察できた。31.3 $\mu$ g/ml作用ではやや filament 化するが spheroplast 様構造が認められた。62.5 $\mu$ g/ml作用ではあまり filament 化せずに数多くの spheroplast 様構造が見られ、一部には溶菌した像も観察することができた。Fig.27eはCEZの100 $\mu$ g/mlを120分作用させた時の像で filament 化した菌体や spheroplast 様構造も観察できるが、正常な形態の細胞も多数観察できた。このような形態変化をさらに詳細に観察するために次に走査電子顕微鏡を用いて検討した。

C) 走査電子顕微鏡による観察

走査電子顕微鏡試料作製時の生菌数の変化を Fig.28に示した。CS-1170を作用させた場合6.25 $\mu$ g/ml以上の濃度で殺菌作用を示したが、CEZの100 $\mu$ g/ml作用では1時間後まで、静菌作用が見られ、それ以後は再増殖が認められた。

このような殺菌作用時の形態変化を Fig.29~41に示した。Fig.29は正常な *Serratia marcescens* T-55の走査電顕像で表面構造は比較的 smooth な桿状形態を示して

Fig. 26 Morphological alterations of *S. marcescens* T-55

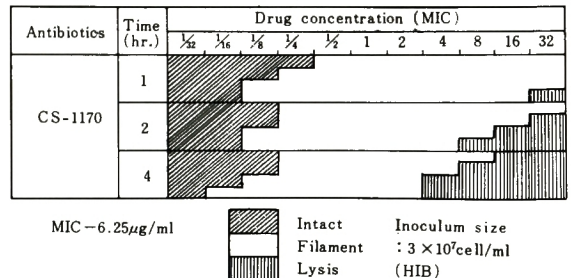
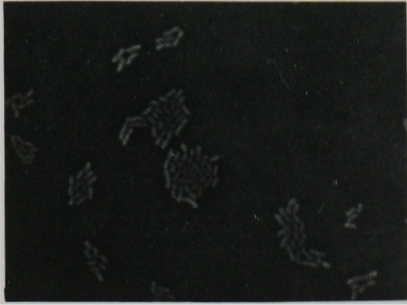
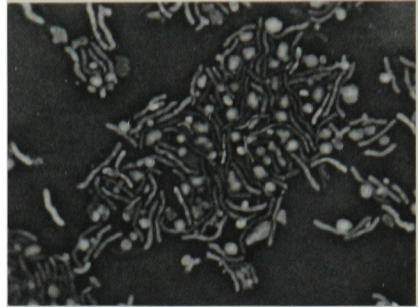
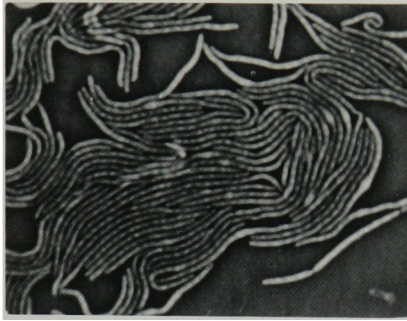


Fig. 27 Phase contrast micrographs of *S.marcescens* T-55(a) Untreated *S.marcescens* T-55 cells observed after 120 min. of incubation

(d) Cells after 120 min. of exposure to CS-1170 (62.5 μg/ml)



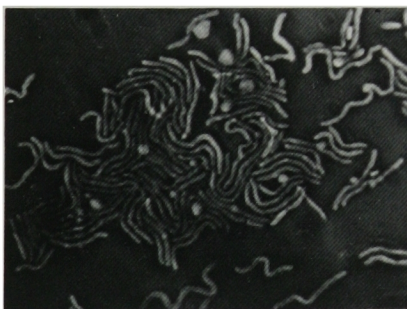
(b) Cells after 120 min. of exposure to CS-1170 (6.25 μg/ml)



(e) Cells after 120 min. of exposure to CEZ (100 μg/ml)



(c) Cells after 120 min. of exposure to CS-1170 (31.3 μg/ml)



いる。

Fig.30, 31, 32は CS-1170 の6.25 μg/ml をそれぞれ1, 2, 4時間作用させた時の走査電顕像で菌体は filament 化し spheroplast 様構造を観察することができた。

Fig.33, 34, 35は CS-1170 の31.3 μg/ml をそれぞれ1, 2, 4時間作用させた時の走査電顕像で、菌体の filament

化と spheroplast 様構造が観察でき、一部には溶菌像も見られた。

Fig.36, 37, 38は CS-1170 の62.5 μg/ml をそれぞれ1, 2, 4時間作用させた時の走査電顕像で菌体は filament 化し spheroplast 様構造が観察され溶菌像も見られた。

Fig.39, 40, 41は CEZ の100 μg/ml をそれぞれ1, 2, 4時間作用させた時の走査電顕像で1, 2時間後では菌体の filament や spheroplast 様構造も見られるが時間が経過すると正常な形態を示す像が多数観察できた。

以上の観察結果より CS-1170 は *Serratia marcescens* T-55 に対しても優れた抗菌作用を示し、菌体の filament 化や spheroplast 様構造を形成するのが観察された。また CEZ では一部の菌体は filament 化や spheroplast 様構造を示したが時間の経過とともにこのような菌体は観察できなくなり、正常な形態をした細胞を観察することができるようになった。



Fig. 28 Effect of CS-1170 and CEZ on viability of *S.marcescens* T-55

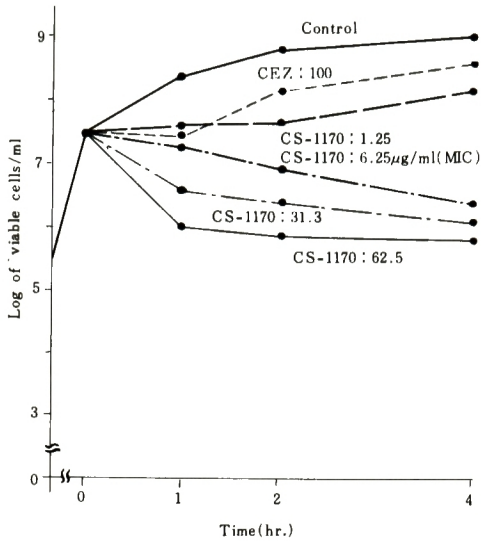


Fig. 29 Untreated *S.marcescens* T-55 cells observed by scanning electron microscope

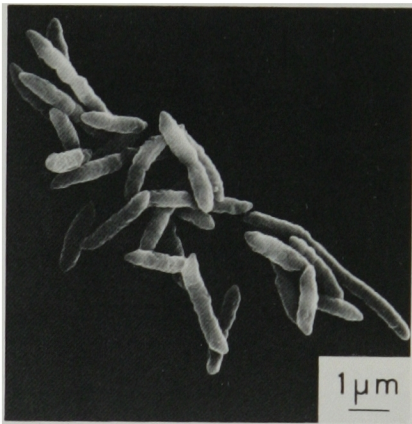


Fig. 30 Scanning electron micrograph of *S.marcescens* T-55 exposed to 6.25  $\mu\text{g/ml}$  of CS-1170 for 1 hour

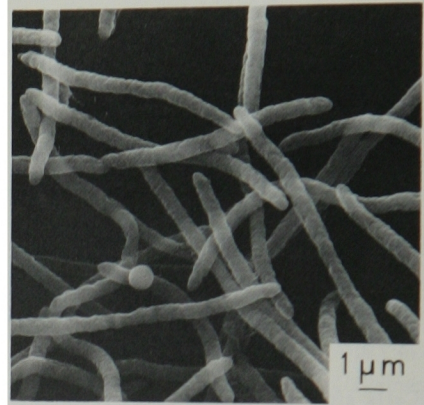


Fig. 31 Scanning electron micrograph of *S.marcescens* T-55 exposed to 6.25  $\mu\text{g/ml}$  of CS-1170 for 2 hours

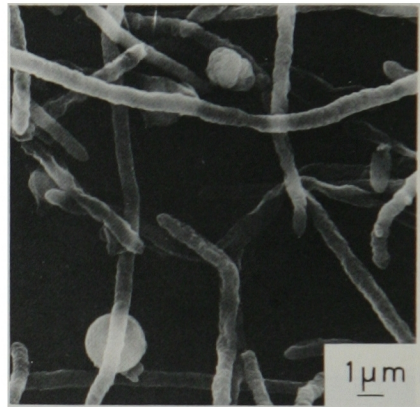


Fig. 32 Scanning electron micrograph of *S.marcescens* T-55 exposed to 6.25  $\mu\text{g/ml}$  of CS-1170 for 4 hours

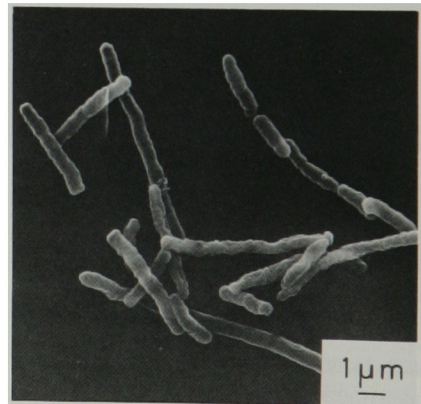




Fig. 33 Scanning electron micrograph of *S.marcescens* T-55 exposed to 31.3 $\mu$ g/ml of CS-1170 for 1 hour

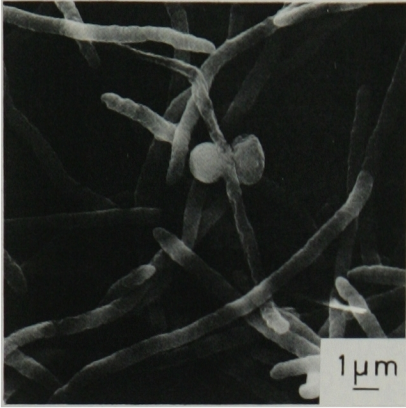


Fig. 36 Scanning electron micrograph of *S.marcescens* T-55 exposed to 62.5 $\mu$ g/ml of CS-1170 for 1 hour

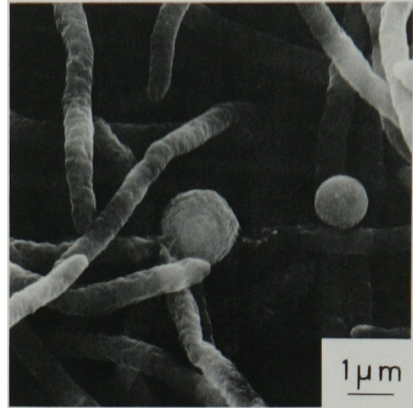


Fig. 34 Scanning electron micrograph of *S.marcescens* T-55 exposed to 31.3 $\mu$ g/ml of CS-1170 for 2 hours

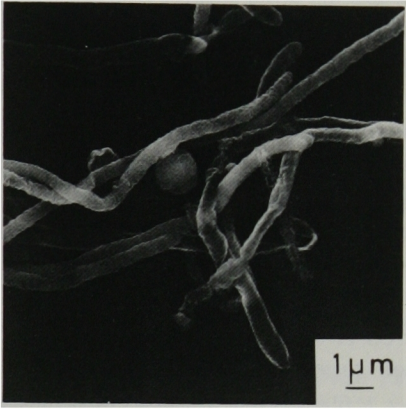


Fig. 37 Scanning electron micrograph of *S.marcescens* T-55 exposed to 62.5 $\mu$ g/ml of CS-1170 for 2 hours



Fig. 35 Scanning electron micrograph of *S.marcescens* T-55 exposed to 31.3 $\mu$ g/ml of CS-1170 for 4 hours



Fig. 38 Scanning electron micrograph of *S.marcescens* T-55 exposed to 62.5 $\mu$ g/ml of CS-1170 for 4 hours

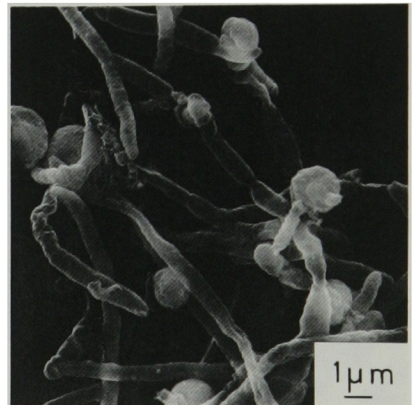


Fig. 39 Scanning electron micrograph of *S.marcescens* T-55 exposed to 100 $\mu$ g/ml of CEZ for 1 hour



Fig. 40 Scanning electron micrograph of *S.marcescens* T-55 exposed to 100 $\mu$ g/ml of CEZ for 2 hours

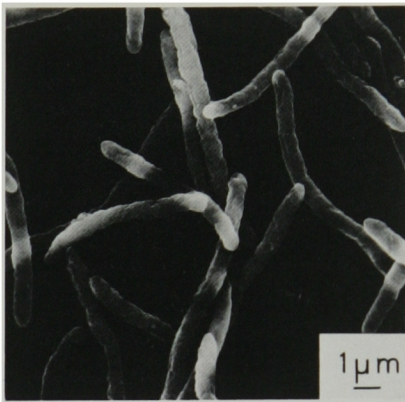
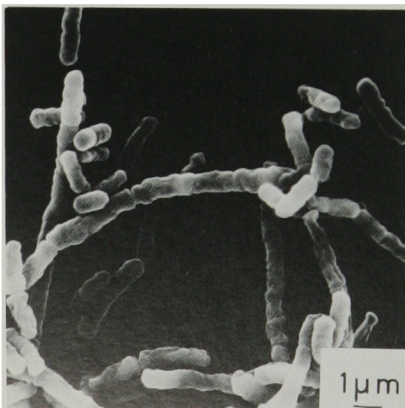


Fig. 41 Scanning electron micrograph of *S.marcescens* T-55 exposed to 100 $\mu$ g/ml of CEZ for 4 hours



### III. 考 察

S. B. ZIMMERMAN and E. O. STAPLEY<sup>17)</sup>らはすでに Cefoxitin による *Enterobacter cloacae* の形態変化について報告しており、Cefoxitin 作用による菌体の filament 化は Cephalexin, Cephadrine, Cephapirin, Carbenicillin, Ticarcillin を作用させた時よりも短いと報告している。また 7 位あるいは 6 位に芳香性の置換基を持たない Cephloridine, Cephacetrile, Cephalosporin C, 6-aminopenicillanic acid, 7-aminocephalosporanic acid, FL-1060 などでは菌体の filament 化が認められなかったと報告している。今回私どもは新しく開発された cephamycin 系抗生物質 CS-1170 による *E.coli* No.29 の形態変化について CEZ を比較薬剤として検討したところ、CS-1170 による菌体の filament 化は CEZ とほぼ同様であったが CS-1170 の場合その溶菌過程において特に 1 MIC 濃度では CEZ に比べ spheroplast 様構造が出現しにくく、桿状形態のまま溶菌する菌体も認められた。最近 B. G. SPRATT<sup>18,19)</sup>らは penicillin 作用時における *E.coli* の形態変化を決定する因子として、penicillin binding protein の存在を挙げている。すなわち binding protein 1 は cell elongation に影響を与え、また binding protein 2, 3 はそれぞれ cell shape および cell division に影響するとしており、それ以外にも binding protein が存在することを報告している。上記のように形態面での差が *E.coli* で見られるのは CS-1170 と CEZ で binding protein に対する親和性に少し相異があるのではないかとも考えられるので、今後それらについても検討を試みたいと考えている。

また CS-1170 による cephalosporin 耐性の *Proteus morganii* 101 の形態変化について検討したところ菌体はほとんど filament 化せず短時間に spheroplast 様構造を形成して溶菌していく様子を観察できた。また同様に *Serratia marcescens* T-55 の形態変化についても検討したところ CS-1170 の 1 MIC 作用では菌体は filament 化し、10MIC 作用ではあまり filament 化せず spheroplast 様構造を形成し溶菌する様子を観察することができた。一方 CEZ は両菌株に対して非感受性であるため作用後短時間内では一部の菌体に変化が見られたが、時間の経過とともに分裂、増殖し正常な形態を示した。以上のように CS-1170 は cephalosporinase を産生する *Proteus morganii* 101, *Serratia marcescens* T-55 に対しても優れた抗菌作用を示すことが形態的に確かめられた。

### 要 約

今回私どもは三共株式会社で新しく開発された CS-1170 による *Escherichia coli* No.29, *Proteus morganii*

nii 101, *Serratia marcescens* T-55 の形態変化について、比較薬剤として Cefazolin (CEZ) を用い染色標本、位相差顕微鏡および走査電子顕微鏡により検討を行った結果、次のような成績が得られた。

1) *E. coli* No.29 に対し CS-1170 を作用させた場合、1 MIC では菌体が filament 化し桿状形態のまま溶菌するが、10MIC ではあまり filament 化せずに spheroplast 様構造を形成し溶菌した。CEZ の場合には、1 MIC では菌体が filament 化し spheroplast 様構造を形成し溶菌するが、10MIC では菌体はほとんど filament 化せず spheroplast 様構造を形成して溶菌した像を観察することができた。

2) *Proteus morgani* 101 では CS-1170 の作用により菌体はほとんど filament 化せず spheroplast 様構造を形成し短時間に溶菌した。一方、CEZ ではほとんど変化が認められなかった。

3) *Serratia marcescens* T-55 に対し CS-1170 を作用させた場合、1 MIC では菌体が著しく filament 化し中央部がやや膨化するが、10MIC では菌体はあまり filament 化せず spheroplast 様構造を形成し溶菌した。CEZ の場合には、一部に filament 化や spheroplast 様構造も見られたがほとんどは正常な形態を示した。

#### 文 献

- NAKAO, H. ; H. YANAGISAWA, B. SHIMIZU, M. KANEKO, M. NAGANO & S. SUGAWARA : A new semisynthetic 7 $\alpha$ -methoxycephalosporin, CS-1170: 7 $\beta$ -[[[(cyanomethyl)thio]acetamido]-7 $\alpha$ -methoxy-3-[[[(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thio] methyl]-3-cephem-4-carboxylic acid. J. Antibiotics 29 : 554~558, 1976
- 第25回日本化学療法学会西日本支部総会 新薬シンポジウム II CS-1170. 1977, 岡山
- ONISHI, H. R. ; D. R. DAOUST, S. B. ZIMMERMAN, D. HENDLIN & E. O. STAPLEY : Cefoxitin, a semisynthetic cephamycin antibiotic : Resistance to  $\beta$ -lactamase inactivation. Antimicrob. Agents & Chemoth. 5 : 38~48, 1974
- 西野武志, 宇津井幸男, 中沢昭三 : CS-1170 に関する細菌学的研究 Chemotherapy 26 (S-5) : 40~56, 1978
- DIENES, L. : The development of *Proteus* cultures in the presence of penicillin. J. Bacteriol. 57 : 529~546, 1949
- FLEMING, A. ; A. VOUREKA, I. R. H. KRAMER & W. H. HOGHES . The morphology and motility of *Proteus vulgaris* and other organisms cultured in the presence of penicillin. J. Gen. Microbiol. 4 : 257~269, 1950
- LEDERBERG, J. : Bacterial protoplasts induced by penicillin. Proc. N. A. S. 42 : 574~577, 1956
- BURDASH, N. M. ; M. A. EHRlich, H. G. EHRlich & J. T. PARISH : Electron microscopy of *Proteus vulgaris* exposed to cephalothin. J. Bacteriol. 95 : 1956~1960, 1968
- PRIOR, R. B. & J. F. WARNER : Morphological alterations of *Pseudomonas aeruginosa* by Ticarcillin : A scanning electron microscope study. Antimicrob. Agents & Chemoth. 6 : 853~855, 1974
- NISHINO, T. & S. NAKAZAWA : Cephalixin-induced morphological alterations in the surface structure of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* demonstrated by scanning electron microscopy. Jpn. J. Microbiol. 17 : 383~392, 1973
- 西野武志, 山岸純一, 渡辺泰雄, 中沢昭三 : 緑膿菌に対する T-1220 の抗菌像について。Chemotherapy 25 : 755~764, 1977
- 西野武志, 尾花芳樹, 後藤直正, 山岸純一, 中沢昭三 : 緑膿菌に対する Ticarcillin の抗菌像について。Chemotherapy 25 : 2428~2436, 1977
- 西野武志, 山岸純一, 平井芳美, 中沢昭三 : 緑膿菌に対する PC-904 の抗菌像について。Chemotherapy 26 (S-2) : 79~110, 1978
- KELLENBERGER, E. ; A. RYTER & J. SECHAUD : Electron microscope study of DNA-containing plasmas. II. Vegetative and mature phage DNA as compared with normal bacterial nucleoids in different physiological states. J. Biophys. Biochem. Cytol. 4 : 671~678, 1958
- ANDERSON, T. F. : Techniques for the preservation of three-dimensional structure in preparing specimens for the electron microscope. Trans. N. Y. Acad. Sci. 13 : 130~134, 1951
- HORIDGE, G. A. & S. L. TAMM : Critical point drying for scanning electron microscopic study of ciliary motion. Science 163 : 817~818, 1969
- ZIMMERMAN, S. B. & E. O. STAPLEY : Relative morphological effects induced by cefoxitin and other beta-lactam antibiotics *in vitro*. Antimicrob. Agents & Chemoth. 9 : 318~326, 1976
- SPRATT, B. G. : Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation and shape of *Escherichia coli* K-12. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 72 : 2999~3003, 1975
- SPRATT, B. G. & A. B. PARDEE : Penicillin binding proteins and cell shape in *E. coli*. Nature 254 : 516~517, 1975



MORPHOLOGICAL ALTERATIONS IN *ESCHERICHIA COLI* NO.29,  
*PROTEUS MORGANII* 101 AND *SERRATIA MARCESCENS* T-55  
EXPOSED TO CS-1170

TAKESHI NISHINO, YUKIO UTSUI, NAOMASA GOTO and SHOZO NAKAZAWA  
Department of Microbiology, Kyoto College of Pharmacy

The effects of CS-1170 and cefazolin (CEZ) on the morphology of *Escherichia coli* No.29, *Proteus morganii* 101 and *Serratia marcescens* T-55 were examined with light microscope, phase contrast microscope and scanning electron microscope. The following results were obtained.

1) Exposure of *E. coli* No.29 to CS-1170 revealed the formation of long filaments and spheroplast-like structures. The degree of morphological change was related to the concentrations of CS-1170 used. The filamentous forms were observed when the concentration of CS-1170 was low. Where the concentration of CS-1170 was high, the cells formed spheroplasts.

It seemed that these morphological alterations of *E. coli* No.29 treated with CS-1170 were similar to that seen with CEZ.

2) The filamentous forms, spheroplast-like structures, and cell lysis were observed when CS-1170 was allowed to act on *Proteus morganii* 101 and *Serratia marcescens* T-55 ( $\beta$ -lactam antibiotics resistant strains)

When effected with CEZ, most cells grew similarly to untreated controls in *Proteus morganii* 101 and *Serratia marcescens* T-55.