

最近分離された百日咳菌の薬剤感受性

—piperazine β -lactam 剤に対する高感受性—

宋戸春美・渡辺貴和雄・松本慶蔵

長崎大学熱研内科

田崎啓介

田崎小児科医院

(昭和 54 年 8 月 20 日受付)

百日咳はワクチン接種率の低下により再び流行が認められる。一方、近年の β -lactam 剤の進歩は著しく、従来 ABPC が first choice とされたインフルエンザ菌感染症に対して次々と新たな PCs, CEPs, oxo-cephem が開発され臨床的にも成功を収めつつある。私共は、インフルエンザ菌に高い抗菌力を有する β -lactam 剤は百日咳菌にも抗菌力が優れているとの仮設のもとに、新合成 β -lactam 剤を中心として主に長崎市で分離された百日咳菌 23 株に対する抗菌剤 25 種類の MIC を測定した。

接種菌液、MIC 測定用培地、接種菌量について検討し、“BORDET-GENGOU broth” (自家製) にて接種菌液を調製し、BORDET-GENGOU Agar を測定用培地とする MIC 測定法を新たに確立した。 10^8 /ml 接種と 10^9 /ml 接種とで MIC の変動は、PIPC で最も大きい(8 倍以内)が、他は 2 倍以内であった。

百日咳菌に対する β -lactam 剤の *in vitro* 抗菌力では、piperazine β -lactams(PIPC, T-1551) が他剤を凌駕し、PCs で PIPC(10^8 /ml 接種時 MIC : $\leq 0.003 \sim 0.006 \mu\text{g/ml}$) \gg ABPC \gg PCG \equiv SBPC \gg MCIPC, CEPs で T-1551(10^8 /ml 接種時 MIC : $0.006 \sim 0.013 \mu\text{g/ml}$) \gg SCE-1365 \equiv 6059-S $>$ HR-756 $>$ CXM $>$ CTM \equiv CEZ \equiv CER \equiv FK-749 \gg CEX と測定された。MLs では JM(10^8 /ml 接種時 MIC : $0.05 \sim 0.2 \mu\text{g/ml}$) \gg EM, TCs では MINO(10^8 /ml 接種時 MIC : $0.1 \sim 0.2 \mu\text{g/ml}$) $>$ DOXY であった。

百日咳菌とインフルエンザ菌とを対比し、両菌種における β -lactam 剤の構造-抗菌力相関について考察を加えた。今後、百日咳の治療における新しい化学療法の展開が期待される。

緒言

本邦の百日咳患者は、環境衛生の向上、化学療法の進歩および百日咳ワクチン(2混, 3混ワクチン)の普及により、激減し、姿を消したかに見えたが、近年、百日咳ワクチンの副作用が問題となりワクチン接種率の低下を招いたことにより、再び、百日咳の流行が各地で報告され、ワクチン非接種幼児を中心とした患児の急増が疫学的ならびに臨床的に重要な問題となっている。一方、近年における抗菌化学療法剤の開発は著しく、とくに β -lactam 剤では新しい側鎖の導入、展開により抗菌スペクトラムの拡大と抗菌力の増強がめざましい。そこで、このような背景のもとに、私共は、百日咳に対する新しい化学療法の可能性を求めるため、その第1歩として、最近主として長崎市において百日咳患児から分離された百日咳菌(*Bordetella pertussis*, 以下 *B. pertussis* と

略)について薬剤感受性測定法の検討を行いつつ、最小発育阻止濃度(MIC)を測定し、従来の方法に比し容易かつバラツキの少ない MIC 測定法を確立すると共に、最近開発された β -lactam 剤、第1に piperazine β -lactams(piperacillin, T-1551)、次いで(syn)methoxyimino cephalosporins(cefotaxime, SCE-1365)および oxo-cephem(6059-S)の本菌に対する極めて高い *in vitro* 抗菌力が示されるなど、今後、本症に対する化学療法を考える上で非常に興味深い新知見が得られたので報告する。

方法

1. 供試菌株: 最近、主として長崎市在住の百日咳患児から分離された *B. pertussis* 23 株を用いた。なお、23 株中 19 株に PRESTON 血清型別を行い、いずれも 1-3-6 型であった。

2. 接種菌液：15% に脱繊維馬血液を加えた“BORDET-GENGOU broth”(自家製：溶性デンプン 2.5g, ペプトン 10g, NaCl 5g, グリセリン 10ml, 水 1,000ml) にて 37°C, 18 時間培養した菌液を原液として用いた。この原液の菌量は、繰り返し定量培養により 10⁸ cfu/ml のオーダーと一定していることが確認された。

3. 薬剤含有寒天平板培地：15% に脱繊維馬血液と 1% にグリセリンとを加えた BORDET-GENGOU Agar Base(Oxoid) に各濃度の薬剤を含有させた寒天平板培地(以下, BORDET-GENGOU Agar と略記), ならびに 10% に脱繊維馬血液を加えた感受性ディスク用培地(栄研) に各濃度の薬剤を含有させた寒天平板培地 (以下, Sensitivity Disk Agar と略記) を用い, 比較測定した。

4. 接種方法および判定：前記の接種菌液の原液を 10⁸ cfu/ml として, さらに接種菌液作製に用いた培地 (15% 脱繊維馬血液加“BORDET-GENGOU broth”) にて 10 倍, または 100 倍希釈し, 10⁷ cfu/ml, または 10⁶ cfu/ml となった 3 段階の 10 倍希釈系列の菌液を, タイピングアパラーツ D 型を用いて, 1 白金耳接種した。(以下, 10⁸ cfu/ml 1 白金耳接種を 10⁸/ml 接種と略記。10⁷/ml 接種, 10⁶/ml 接種についても同様。) 判定は, 37°C, 72 時間培養後 本菌の生育の有無について行った。

5. MIC 測定用培地として Sensitivity Disk Agar よりも BORDET-GENGOU Agar が優れていることを確認した後, β-lactam 剤を中心として下記 25 種類の抗菌化学療法剤の本菌に対する BORDET-GENGOU Agar を用いた 10⁸/ml, 10⁷/ml, 10⁶/ml 接種時の MIC を測定した。

penicillin 剤(PCs) : penicillin G(PCG), ampicillin (ABPC), cloxacillin(MCIPC), sulbenicillin(SBPC), piperacillin (PIPC)

cephalosporin 剤 (CEPs) : cephaloridine (CER), cefazolin(CEZ), cephalixin(CEX), cefuroxime(CXM), cefotiam(CTM), cefotaxime(HR-756), FK-749, SCE-1365, T-1551, 6059-S

aminoglycoside 剤 (AGs) : gentamicin(GM), dibekacin(DKB)

macrolide 剤 (MLs) : erythromycin(EM), josamycin (JM)

tetracycline 剤 (TCs) : doxycycline(DOXY), minocycline(MINO)

chloramphenicol(CP)

sulfamethoxazole-trimethoprim(ST)

nalidixic acid(NA)

miloxacin(MLX)

なお, ST は既報¹⁾に従って調製し, 本菌の栄養要求性を考慮して前述の培地を用いた。

成 績

1. MIC 測定用薬剤含有寒天平板培地の検討成績 (Fig. 1)

BORDET-GENGOU Agar と Sensitivity Disk Agar とを用いて MIC を測定し, この 2 種 Agar 間の測定成績を比較検討した。10⁷/ml 接種時, ABPC, CP とともに両 Agar ではほぼ同一の MIC 値を示し, かつ BORDET-GENGOU Agar の MIC 値のほうが Sensitivity Disk Agar のそれよりバラツキが少なかったため, 以後の MIC 測定は, すべて BORDET-GENGOU Agar を用いて行うこととした。

2. 接種菌量による MIC 値変動の検討成績 (Fig. 2, Fig. 3)

25 種類の抗菌化学療法剤について行った成績のうち, 代表として, β-lactams 4 剤の成績を, PCs(Fig. 2), CEPs(Fig. 3) に分け図示した。測定した 25 種類の薬剤のうち最も感受性の優れた PIPC は全薬剤の中で最も接

Fig. 1 Influence of culture medium containing antibiotics on MICs of ABPC and CP against 23 strains of *B. pertussis*; inoculum size, 1 loopful of 10⁷ cfu/ml

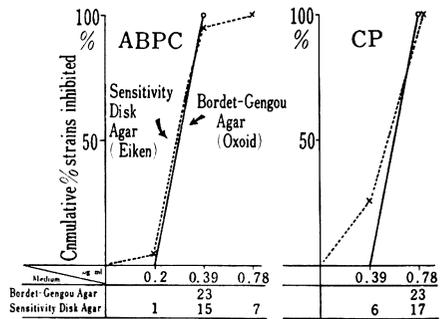
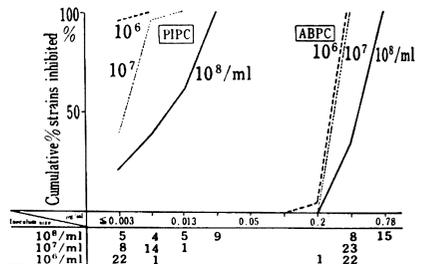
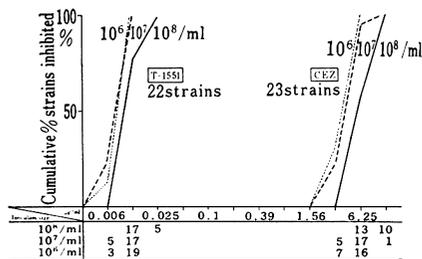


Fig. 2 Effect of inoculum size on MICs of PIPC and ABPC against 23 strains of *B. pertussis*.



“10⁸/ml” means 1 loopful of 10⁸ cfu/ml.

Fig. 3 Effect of inoculum size on MICs of T-1551 and CEZ against 22~23 strains of *B. pertussis*.



"10⁸/ml" means 1 loopful of 10⁸ cfu/ml.

種菌量による影響を受けやすく、10⁸/ml 接種時 MIC が、0.025 µg/ml の 9 株中 8 株は、10⁷/ml 接種時 0.006 µg/ml、10⁶/ml 接種時 ≤0.003 µg/ml の MIC 値を示した。このように Fig. 2, Fig. 3 に示した 4 剤ならびにその他の薬剤においても程度の差はあるが、接種菌量が増すに従い、MIC 値の上昇が認められ、とくに 10⁷/ml 接種時から 10⁸/ml 接種時への間に著しい。

3. 25 種類の薬剤の *B. pertussis* に対する抗菌力の比較検討成績

各薬剤について BORDET-GENGOU Agar を用いて 10⁸/ml, 10⁷/ml, 10⁶/ml 接種時の MIC 測定を行ったが、各薬剤間の抗菌力の優劣を比較する上で接種菌量による優劣の変動はなく、ここでは 10⁶/ml 接種時の MIC 測定成績により代表させた。以下に、各系統別に比較した成績を述べる。

(1) PCs の感受性 (Fig. 4)

PIPC の感受性が極めて優れ、23 株中 22 株が ≤0.003 µg/ml で発育を阻止された。次いで従来百日咳に対する first choice とされた ABPC (MIC : 0.2~0.39 µg/ml)、以下、PCG, SBPC がこれに次ぎ比較的感受性であり、MCIPC は MIC 6.25~12.5 µg/ml と低感受性であった。

(2) CEPs の感受性 (Fig. 5)

従来の CEPs である CEZ, CER, および CEX がすべて低感受性であるのに対し、最近開発された CEPs のうち、β-lactamase 安定性でかつ *Haemophilus influenzae* (以下、*H. influenzae* と略) に強い抗菌力を有する T-1551, SCE-1365, 6059-S (oxa-cephem 系抗生物質であるが、便宜上 CEPs に入れた)、および HR-756 が、本菌に比較的抗菌力が強い。中でも、T-1551 は MIC 0.006~0.013 µg/ml と CEPs 中最も優れた抗菌力を示した。PCs で最も高感受性である PIPC ならびにこれとほぼ同一の moiety を有する T-1551 とが β-

Fig. 4 MICs of PCs against 23 strains of *B. pertussis*; inoculum size, 1 loopful of 10⁸ cfu/ml.

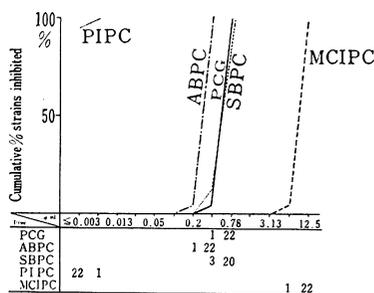
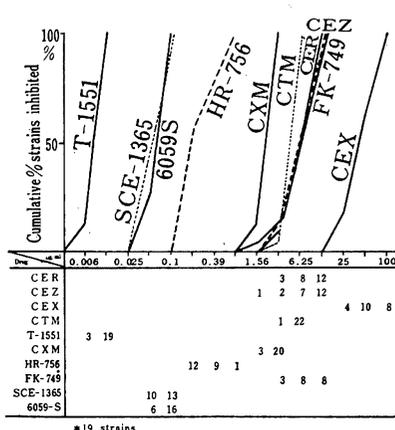


Fig. 5 MICs of CEPs against 22~23 strains of *B. pertussis*; inoculum size, 1 loopful of 10⁶ cfu/ml.



lactams の中で卓越した抗菌力を有することは注目される。また、*H. influenzae* に対して高感受性である (syn) methoxyimino CEPs のうち、前述の HR-756, SCE-1365 とは異なり、CXM, FK-749 の本菌に対する MIC が CEZ, CER とほぼ同程度で低感受性であるのは興味深い。

(3) MLs, CP, AGs の感受性 (Fig. 6)

MLs では、従来 ABPC と共に百日咳に対する first choice とされた EM より JM の抗菌力が MIC 値で約 4 倍優れ、JM の MIC は 0.05~0.2 µg/ml に分布した。CP の MIC は 0.39~0.78 µg/ml、AGs では GM が DKB より約 2 倍優れた MIC 分布を示した。

(4) TCs 合成抗菌剤の感受性 (Fig. 7)

TCs では MINO の抗菌力が DOXY より優れていた。NA と ST, MLX はほぼ同様の MIC 分布を示した。

考 察

H. influenzae と *B. pertussis* は、ともに栄養要求性

Fig. 6 MICs of MLs, CP, and AGs against 23 strains of *B. pertussis*; inoculum size, 1 loopful of 10^6 cfu/ml.

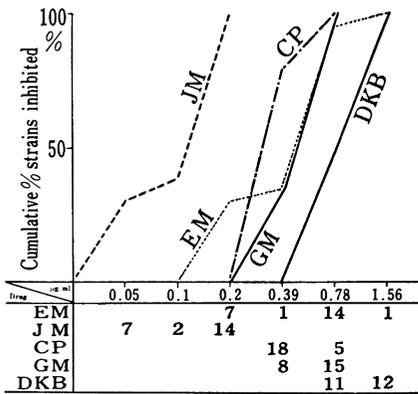
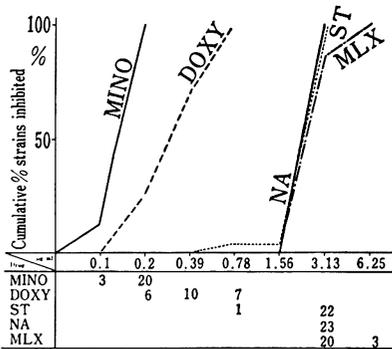


Fig. 7 MICs of TCs and synthetic antimicrobial agents against 23 strains of *B. pertussis*; inoculum size, 1 loopful of 10^6 cfu/ml.



る β -lactam 剤 6059-S⁹⁾ が、すべて ABPC とほぼ同一またはより優れた *in vitro* 抗菌力を有し、かつ臨床的にもその有効性が確認されていることから^{9)~10)}、これらの新 β -lactam 剤は ABPC に代り drug of choice となしうる薬剤である。以上のような β -lactam 剤の発展経過に鑑み、私共は、*H. influenzae* に抗菌力の増強された β -lactam 剤は *B. pertussis* に対しても ABPC より優れた抗菌力を有するとの仮設のもとに、今回の実験を進めてきた。

B. pertussis の *in vitro* 抗菌力を測定するに際し、私共は、日本化学療法学会標準法に近似し、測定が容易で、再現性が高く、判定が容観的で明瞭である MIC 測定法を確立するため、①接種菌液の調製法、②MIC測定用培地、③接種菌量による影響について検討を加え、方法ならびに成績に示したような MIC 測定系、すなわち、①15% 脱繊維馬血液加 “BORDET-GENGOU broth” (自家製) にて 37°C、18 時間培養し 10^8 /ml となった菌液および同 broth で 10^7 /ml、 10^6 /ml に希釈した菌液を用い、②15% 脱繊維馬血液・1% グリセリン加 BORDET-GENGOU Agar Base (Oxoid) に薬剤を含有させた寒天平板培地にて 37°C、72 時間培養後判定により、本菌の *in vitro* 抗菌力を測定した。本 MIC 測定系の最大の利点は、接種菌液の調製に自家製の “BORDET-GENGOU broth” を用いることにより、常に 10^8 /ml と一定の菌数の菌液が 18 時間という *B. pertussis* としては比較的短時間の培養にて得られることである。このような菌液調製法は、未だ報告がなく、従来本邦で常用されている BORDET-GENGOU 寒天平板で 37°C、48 時間培養後カザミノ酸溶液にて約 10^7 /ml となるように均一菌浮遊液を調製し接種菌液とする¹¹⁾、あるいは欧米で用いられている寒天平板で 72 時間培養後生理食塩水または液体培地に 1 白金耳浮遊させる方法^{12)~14)} に比し、菌液作製に要する時間は約 1/2~1/3 以下で済み、かつ菌数の調製法が極めて容易である。次いで、MIC 測定用培地として本邦でよく用いられている Sensitivity Disk Agar と、本菌の分離培地とほぼ同一組成である BORDET-GENGOU Agar とを比較検討したが、Fig. 1 に示すように、BORDET-GENGOU Agar のほうがバラツキが少なく、MIC 測定用培地として優れていると結論された。

接種菌量は、とくに β -lactam 剤においては、MIC 値を変動させる重要な因子の 1 つである。しかしながら、*B. pertussis* についてこの点を検討した成績は全く報告がなく、私共はこれを検討するため 10^6 /ml、 10^7 /ml、 10^8 /ml 接種時の MIC 値を測定したが、前述のとおり、 10^7 /ml 接種時の MIC 値は 10^8 /ml 接種時のそれとほぼ等しく、かつ 10^8 /ml 接種時 MIC 値が明確に上昇す

の厳格な (fastidious) グラム陰性桿菌であり、薬剤感受性の面でも共通点が多く、 β -lactam 剤としては両菌種とも ABPC が従来 first choice とされてきた。近年における抗生物質の開発は、作用機作上、化学療法係数に優れた β -lactam 剤に向けられ、一方で新骨核の β -lactam 剤の開発が進行している。また、従来からの β -lactam 剤である PCs と CEPs とに対し新側鎖の開発や構造-抗菌力相関の研究が進められているが、既に明らかにされた PCs の側鎖構造-抗菌力相関理論化の成果を CEPs に応用することなどにより、新合成 β -lactam 剤が新たに展開され、成功を収めてきている²⁾。この連続的な β -lactam 剤の開発により、*H. influenzae* に対する化学療法では、PCs での PIPC³⁾、apalcillin⁴⁾ に引き続き、CEPs の CTM⁵⁾、cefamandole⁶⁾、(syn) methoxyimino CEPs (CXM⁷⁾、HR-756⁸⁾、FK-749⁹⁾、SCE-1365⁹⁾、T-1551¹⁰⁾、さらには新たな構造の骨核を有す

る菌株が大部分であり、日本化学療法学会標準法に記載された 10^8 /ml 接種時と 10^7 /ml 接種時の各 MIC 値を測定すれば接種菌量の影響を評価できることが明らかになった。

以上のような MIC 測定法に関する基礎的検討を厳密に行った上で、当初の仮設に基づき、最近開発された β -lactam 剤を中心として MIC を測定し、各抗菌化学療法剤間の *in vitro* 抗菌力を比較した。この際、接種菌量の検討成績から 10^8 /ml と 10^7 /ml 接種時の MIC 値は、例外的に 8 倍となる PIPC 以外の薬剤では同一菌株で 2 倍以内の変動であり、また、どの接種菌量が臨床効果との相関性が高いかについては未だ検討されていないので、*in vitro* 抗菌力の比較検討には 10^8 /ml 接種時 MIC 値で代表させた。これまでに報告された薬剤については、MIC 測定系を異にするため直接比較することは必ずしも適切とはいえないが、今回の測定成績でも従来の報告とほぼ同一の *in vitro* 抗菌力であることが確かめられかつ耐性株はなかった。今回の実験の最大の目的である新 β -lactam 剤の本菌に対する *in vitro* 抗菌力は、Fig. 4, Fig. 5 に示すように、PCs で PIPC が、また CEPs では T-1551, SCE-1365, 6059-S, HR-756 が従来の同系薬剤より明らかに優れていた。ここで当初の仮設に沿って *H. influenzae* と対比しつつ β -lactam 剤の抗菌力を比較する。*H. influenzae* に対する抗菌力を ABPC を基点として考えると、ABPC より *H. influenzae* 感受性の劣る PCG, SBPC, MCIPC, CEZ, CER, CEX は *B. pertussis* にも低感受性であった。ところが一方、*H. influenzae* 感受性が ABPC より優れた新 β -lactam 剤(CEPs では ABPC とほぼ同等の薬剤を含む)である piperazine β -lactam 剤(PIPC, T-1551), CTM, (syn) methoxyimino CEPs(CXM, HR-756, FK-749, SCE-1365), および oxa-cephamycin 剤(6059-S)では、ABPC より非常に強い抗菌力を示す薬剤と ABPC より弱く従来の CEZ, CER と同程度の MIC 値を示す薬剤との 2 群に明確に分かれる。前者は、piperazine β -lactam 剤(PIPC, T-1551), (syn)methoxyimino CEPsのうち SCE-1365 と HR-756, および 6059-S であり、後者としては、CTM, および (syn) methoxyimino CEPsのうち CXM と FK-749 である。*H. influenzae* と *B. pertussis* との 2 菌種に対する β -lactam 剤の抗菌力-構造相関を考える上で注目されるのは次の 2 点である。第 1 は、PC と CEP とで骨核構造は異なるが、各々 PC 核の 6 位または CEP 核の 7 位にはほぼ同一の moiety が導入されている PIPC と T-1551 とが *B. pertussis* に対し最も優れた抗菌力を有すると同時に *H. influenzae* に対しても非常に優れていること、第 2 に、

同じ (syn)methoxyimino CEPs の構造を有する 4 剤は、 β -lactamase 安定性や *H. influenzae* 高感受性も含め *in vitro* 抗菌力に関してはほぼ同様の傾向を示すにもかかわらず、*B. pertussis* に対しては、対照的に高感受性と低感受性とに分かれることである。このような抗菌化学療法剤の化学構造とある特定の菌種の抗菌力との関連についての実験的解明とその理論的裏付けは、ほとんどなされていないのが現状であるが、 β -lactamase, penicillin-binding proteins(PBPs), 膜透過性ならびに細菌表層構造の研究などにより一部の菌種については明らかにされているので、*H. influenzae* や *B. pertussis* についても、今後、PBPs をはじめこの方面の研究が必要と考えられる。現段階では、この 2 菌種における抗菌力-構造の相関、解離の機作は、不明である。 β -lactam 剤以外では、MLs での本菌に対する EM より優れた JM の感受性と、TCs での MINO, 次いで DOXY の高感受性が臨床応用が期待されるものとして注目したい。また、全薬剤を通じ感受性の 2 峰性分布は全く認められず耐性の出現は未だないと考えられる。

一連の新 β -lactam 剤の *B. pertussis* に対する非常に優れた *in vitro* 抗菌力を考慮すれば、現在 drug of choice とされる ABPC, EM が本症の臨床効果に及ぼす影響については議論の分かれるところであるが¹⁵⁾¹⁶⁾、これらの新 β -lactam 剤についての *in vivo* での検討、さらには臨床応用へと今後の研究を進行させることが必要であろう。加えるに、臨床的には百日咳の場合、その病像、特に予後(死亡率)には *B. pertussis* 感染だけでなく、本症に特徴的な ciliated cells への選択的感染¹⁷⁾ が誘因と考えられる 2 次感染の起炎菌として他の普遍的な呼吸器病原菌が大きく関与していることと¹⁵⁾¹⁶⁾、前述の本菌に対して高感受性の β -lactam 剤に従来の薬剤よりも 2 次感染起炎菌に対し優れた細菌学的、臨床的效果を有していること³⁾⁸⁻¹⁰⁾を考え合わせれば、百日咳に対して臨床的に優れた効果が期待できよう。

(本論文の要旨は第 27 回日本化学療法学会総会で発表した。)

文 献

- 1) 松本慶蔵, 西岡きよ, 横山紘一, 荒井澄夫, 中村隆: Sulfamethoxazole-Trimethoprim 合剤に関する基礎的臨床的研究——インフルエンザ菌 *in vivo* 実験の新しい試み——。Chemotherapy 21: 254~259, 1973
- 2) PERLMAN, D., Ed.: Structure-activity relationships among the semisynthetic antibiotics. Academic Press, New York, 1977
- 3) 松本慶蔵, 宇塚良夫, 永武毅, 鈴木 寛, 渡辺貴和雄, 野口行雄, 今岡 誠, 玉置公俊, 羅士易, 岩崎温子, 井手政利: T-1220 の基礎的・臨床的

- 研究——緑膿菌性慢性呼吸器感染症を中心に——。Chemotherapy 25 : 1105~1120, 1977
- 4) 松本慶蔵, 野口行雄, 永武 毅, 宇塚良夫, 鈴木寛, 玉置公俊, 渡辺貴和雄, 羅士易, 井手政利: PC-904 に関する基礎的臨床的研究——呼吸器感染症を中心に——。Chemotherapy 26(S-2) : 383~393, 1978
 - 5) 松本慶蔵, 他(14 施設): 呼吸器感染症を対象とした Cefotiam(SCE-936) の基礎的, 臨床的研究。Chemotherapy 27(S-3) : 373~392, 1979
 - 6) 松本慶蔵, 鈴木 寛, 野口行雄, 玉置公俊, 宇塚良夫, 穴戸春美, 井手政利, 永武 毅, 土橋賢治, 田口幹雄, 渡辺貴和雄, 林 雅人, 木村久男: Cefamandole に関する基礎的・臨床的研究。Chemotherapy 27(S-5) : 321~333, 1979
 - 7) 松本慶蔵, 穴戸春美, 野口行雄, 宇塚良夫, 永武毅, 玉置公俊, 鈴木 寛, 渡辺貴和雄: Cefuroxime に関する基礎的・臨床的研究。Chemotherapy 27(S-6) : 450~461, 1979
 - 8) 松本慶蔵, 鈴木 寛, 井手政利, 永武 毅, 玉置公俊, 田口幹雄, 渡辺貴和雄, 土橋賢治, 木村久男: HR-756 に関する基礎的・臨床的研究。Chemotherapy(投稿中)
 - 9) 松本慶蔵: 未発表データ
 - 10) 松本慶蔵, 他(5 施設): 呼吸器感染症を中心とする T-1551 の臨床応用に関する基礎的・臨床的研究。Chemotherapy(投稿中)
 - 11) 渡辺 満, 関矢加智子, 中瀬安清, 山田光男: 最近分離した百日咳菌とパラ百日咳菌の薬剤感受性。日本細菌学雑誌 30 : 501~505, 1975
 - 12) WELLS, E. B.: S. CHANG, G. G. JACKSON & M. FINLAND: Antibiotic spectrum of *Hemophilus pertussis*. J. Pediatr. 36 : 752~757, 1950
 - 13) BASS, J. W.; F. W. CRAST, J. S. KOTHEIMER & I. A. MITCHELL: Susceptibility of *Bordetella pertussis* to nine antimicrobial agents. Amer. J. Dis. Child. 117 : 276~280, 1969
 - 14) SHIMON, V. C.; W. JUNK & V. MALERCZYK: Azidocillin: *In-vitro*-Aktivität, Pharmakokinetik und Behandlungsergebnisse bei Keuchhusten. Arzneim. Forsch. 26 : 424~427, 1976
 - 15) KRUGMAN, S.; R. WARD & S. L. KATZ: Infectious diseases of children. 6th Ed., C. V. Mosby Co., 17. Pertussis (whooping cough). pp. 206~215, 1977
 - 16) VAUGHAN, V. C., III & R. J. MCKAY, Ed.: Nelson textbook of pediatrics. 10th Ed., W. B. Saunders Co., Pertussis (FULGINITI, V. A. & O. F. SIEBER, Jr.) pp. 589~590, 1975
 - 17) COLLIER, A. M.; L. P. PETERSON & J. B. BASEMAN: Pathogenesis of infection with *Bordetella pertussis* in hamster tracheal organ culture, J. Infect. Dis. 136 : S 196~S 203, 1977
 - 18) HOEPRICH, P. D., Ed.: Infectious diseases. A guide to the understanding and management of infectious processes. 1st Ed., Harper & Row, Publishers, 28 Whooping cough(Morse, S. I.) pp. 303~307, 1972

SUSCEPTIBILITY OF RECENTLY ISOLATED STRAINS
OF *BORDETELLA PERTUSSIS* TO VARIOUS ANTIMICROBIAL
AGENTS: UNUSUALLY HIGH ANTI-*BODETELLA*
PERTUSSIS ACTIVITY OF PIPERAZINE BETA-LACTAMS

HARUMI SHISHIDO, KIWAO WATANABE and KEIZO MATSUMOTO
Department of Internal Medicine, Institute for Tropical Medicine,
Nagasaki University
KEISUKE TAZAKI
Tazaki Clinic

Pertussis, or whooping cough, has been reported to be increased with the decreased rate of pertussis vaccination. Antibacterial activities of β -lactams against both *Bordetella pertussis* (*B. pertussis*) and *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*) were restricted to ampicillin (ABPC) and its derivatives. Recently, β -lactams including an oxa-cephem have been developed, and found to be more active against *H. influenzae* than ABPC.

Assuming that β -lactams with high anti-*H. influenzae* activities have high activities against *B. pertussis*, minimum inhibitory concentrations (MICs) against 23 strains of *B. pertussis* isolated from the patients with whooping cough were determined by the agar dilution method, using "BORDET-GENGOU broth" as the inoculum and BORDET-GENGOU agar in which one of the twenty-five antimicrobial agents

was incorporated, that was established in this study. The inoculum size had almost no effect on MICs of antimicrobials against *B. pertussis* except for piperacillin (PIPC).

In vitro activities of piperazine β -lactams (PIPC, T-1551) against *B. pertussis* were much superior to the other antimicrobial agents. Anti-*B. pertussis* activity of penicillins examined in this experiment was in the order :

PIPC(MIC : $\leq 0.003 \sim 0.006 \mu\text{g/ml}$; inoculum size, 1 loopful of 10^6 cfu/ml) \gg ABPC $>$ penicillin G \doteq Sulbenicillin \gg Cloxacillin

Anti-*B. pertussis* activity of cephalosporins including an oxa-cephem was in the order :

T-1551 (MIC : $0.006 \sim 0.013 \mu\text{g/ml}$; inoculum size, 1 loopful of 10^6 cfu/ml) \gg SCE-1365 \doteq 6059-S $>$ Cefotaxime \gg Cefuroxime $>$ Cefotiam \doteq Cefazolin \doteq Cephaloridine \doteq FK-749 \gg Cephalexin

MICs of josamycin and minocycline were determined $0.05 \sim 0.2 \mu\text{g/ml}$ in the former and $0.1 \sim 0.2 \mu\text{g/ml}$ in the latter as the inoculum was 1 loopful of 10^6 cfu/ml, which were superior to erythromycin and doxycycline, respectively.

Structure-activity relationships of β -lactams against *B. pertussis* have been discussed as compared with those against *H. influenzae* with the special reference to piperazine β -lactams and (syn) methoxyimino-cephalosporins. Further *in vivo* and clinical studies of *B. pertussis* infection are warranted.