

Oxacephem 系抗生物質 6059-S の *in vitro* 抗菌作用

吉田 正・亀田 康雄・元川 清司

塩野義製薬株式会社研究所

6059-S は、Oxacephem 系の誘導体として新しく合成された注射用抗生物質であり、Cephalosporin 骨格の S 原子を O 原子に置換した特徴のある化学構造を持っている。

6059-S は、*E. coli*, *Klebsiella* はもとより indole positive *Proteus*, *Enterobacter*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa* などの菌種を含む腸内細菌群およびブドウ糖非酸酵性細菌、さらに *H. influenzae* などに対して幅広い抗菌スペクトルを示した。

1,068 株の臨床分離菌株に対して寒天希釈法による抗菌作用を調べ、CEZ, CMD, CMZ, CTM, CTX, SBPC および PIPC を対照薬として比較した。その結果、グラム陽性球菌の大部分は 6059-S の 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下で抑制されたが対照薬に比べて抗菌力が弱かった。腸内細菌群のほとんどの菌種については MIC の最頻値が 0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下にあり、従来の市販 β -lactam 薬の 10 倍程度強く、しかも β -lactamase を産生する耐性菌にも強い抗菌力を示した。*P. aeruginosa* に対する MIC の平均値は 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

6059-S の抗菌活性は接種菌量の影響を受けにくく、また血清蛋白の添加によって減弱しなかった。

作用菌の形態変化から、6059-S は MIC に相当する低濃度で filament から溶菌に移行する像の形成が観察された。

6059-S は β -lactamase に安定な性質を反映して *E. coli* に対する殺菌作用が β -lactamase 産生の有無に影響されなかった。一方、高菌量を用いると殺菌作用は低下した。しかしながら、家兔新鮮血液の添加によって、低菌量時と同等の強い殺菌効果が認められた。

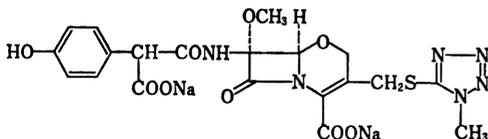
結 言

ものである。

I. 実験材料および方法

6059-S は、当研究所で創製された Oxacephem 系の注射用抗生物質である。化学名は (6R, 7R)-7-(2-carboxy-2-(4-hydroxyphenyl) acetamido)-7-methoxy-3-[(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)-thio] methyl]-8-oxo-5-oxa-1-azabicyclo (4,2,0) oct-2-ene-2-carboxylic acid disodium salt で、cephem 骨格の硫黄を酸素原子におきかえた基本構造の Oxacephem を化学修飾して導かれた誘導体である¹⁾(Fig. 1)。基本骨格は Peni-

Fig. 1 Chemical structure of 6059-S



-cillin から半合成的に合成される²⁾。Oxacephem 誘導体は、一般に対応構造のセファロスポリンよりも 4~16 倍強い抗菌活性を有することが見出され³⁾、これに β -lactamase に安定な性質を与え、抗菌スペクトルを拡大させるように修飾がなされて完成した⁴⁾。本薬の抗菌活性は、グラム陽性菌には比較的弱い、グラム陰性菌に対しては極めて強く、*P. aeruginosa* や偏性嫌気性菌にも抗菌力を発揮する特徴を有している⁵⁻⁷⁾。

本報は、偏性嫌気性菌⁸⁾を除く細菌種に対する試験管内抗菌作用を検討し、既存の β -lactam 抗生物質との比較を行なった

1. 使用薬剤

6059-S (6059-S, Shionogi, Lot No. FD-4, S009N, S017N, S079N), Cefotaxime (CTX, Hoechst-Roussel), Cefamandole (CMD, Eli Lilly), Cefotiam (CTM, Takeda), Cefazolin (CEZ, Fujisawa), Cefmetazole (CMZ, Sankyo), Cefoxitin (CFX, Merck Sharp-Dohme), Piperacillin (PIPC, Toyama), Ampicillin (ABPC, Banyu), Carbenicillin (CBPC, Fujisawa), Sulbenicillin (SBPC, Takeda) を力価濃度で使用した。

2. 試験菌株

標準菌株は、当研究所保存株を使用した。臨床材料由来の菌株は、塩野義製薬株式会社臨床検査室および研究所で分離同定されたものを用いた。

3. 抗菌力測定法

日本化学療法学会により定められた最小発育阻止濃度測定法⁹⁾にしたがって MIC 値を測定した。

増菌用培地には、Trypto-soy Broth (TSB, 栄研) を用いたが、*Streptococci* にはこれに非動化馬血清 (東洋血清 K.K.) を、*H. influenzae* には Bacto-FILDES en-

richment (Difco) をそれぞれ 1% 濃度に添加した培地を使用した。抗菌力測定用培地として、標準菌株の感受性測定には Sensitivity Test Agar (STA, 栄研) を使用したが、*Streptococci* にはこれに非働化馬血清を 5% 添加した。ブドウ糖非酵酵グラム陰性桿菌と臨床分離株の感受性測定には Heart Infusion Agar (HIA, 栄研) を使用した。*Streptococci* には馬血清を、*H. influenzae*

には Bacto-FILDES enrichment をそれぞれ 5% 添加した培地を使用した。接種菌液は増菌用培地で 37°C, 18~20 時間培養した菌液を、標準菌株は TSB で、臨床分離株は Heart Infusion Broth (HIB, 栄研) を用いて、次のように希釈して 10⁸ cells/ml および 10⁶ cells/ml の二段階に調整した。すなわち、グラム陽性菌は原液および 100 倍希釈液を、グラム陰性菌は 10 倍およ

Table 1 Antibacterial spectrum of 6059-S and other β -lactam antibiotics against Gram-positive bacteria by agar dilution test
Inoculum: One loopful of 10⁸ cells/ml

Organism	MIC (μ g/ml)							
	6059-S	CTX	CMD	CTM	CEZ	CMZ	PIPC	SBPC
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	6.25	0.78	0.1	0.2	0.05	0.39	0.39	1.56
<i>S. aureus</i> SMITH	6.25	0.78	0.39	0.78	0.2	0.78	1.56	3.13
<i>S. aureus</i> ATCC 9144	6.25	0.78	0.2	0.78	0.1	0.78	0.78	1.56
<i>S. aureus</i> ATCC 12600	3.13	0.39	0.2	0.39	0.1	0.78	0.39	1.56
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	6.25	0.39	0.2	0.39	0.1	0.78	0.39	1.56
<i>S. aureus</i> 077*	6.25	1.56	0.2	0.78	0.1	0.78	0.78	3.13
<i>S. aureus</i> C-14*	6.25	1.56	0.39	0.78	0.2	1.56	6.25	6.25
<i>S. epidermidis</i> ATCC 14490	6.25	0.78	0.39	0.78	0.2	1.56	0.78	1.56
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	1.56	0.05	0.05	0.39	0.39	0.39	0.05	0.78
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	3.13	0.2	0.025	0.2	0.1	0.39	0.1	0.2
<i>B. cereus</i> IFO 3001	6.25	6.25	6.25	50	1.56	6.25	0.78	0.78
<i>S. pyogenes</i> ATCC 10389	1.56	≤ 0.0125	0.05	0.1	0.1	0.78	0.1	0.39
<i>S. pyogenes</i> C-203	3.13	≤ 0.0125	0.05	0.1	0.1	0.78	0.1	0.78
<i>S. pneumoniae</i> Type I	3.13	≤ 0.0125	0.1	0.2	0.05	0.39	0.05	0.78
<i>S. pneumoniae</i> Type II	3.13	0.025	0.1	0.2	0.1	0.78	0.05	1.56
<i>S. pneumoniae</i> Type III	3.13	0.025	0.2	0.39	0.1	0.78	0.05	1.56
<i>S. faecalis</i>	>100	>100	50	>100	50	>100	3.13	100

Medium: Sensitivity test agar (STA, Eiken)
(*Streptococcus*: STA + 5% horse serum)

* : Clinical isolates

Table 2 Antibacterial spectrum of 6059-S and other β -lactam antibiotics against Gram-positive bacteria by agar dilution test
Inoculum: One loopful of 10⁸ cells/ml

Organism	MIC (μ g/ml)							
	6059-S	CTX	CMD	CTM	CEZ	CMZ	PIPC	SBPC
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	6.25	1.56	0.2	0.39	0.1	0.78	0.78	1.56
<i>S. aureus</i> SMITH	6.25	3.13	0.78	1.56	0.39	1.56	1.56	6.25
<i>S. aureus</i> ATCC 9144	6.25	1.56	0.39	0.78	0.2	1.56	0.78	1.56
<i>S. aureus</i> ATCC 12600	6.25	0.78	0.39	0.78	0.2	0.78	0.78	3.13
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	6.25	1.56	0.39	0.78	0.2	0.78	0.78	3.13
<i>S. aureus</i> 077*	6.25	3.13	0.78	1.56	0.39	1.56	1.56	6.25
<i>S. aureus</i> C-14*	6.25	1.56	0.78	1.56	0.39	1.56	>100	6.25
<i>S. epidermidis</i> ATCC 14490	12.5	0.78	0.78	0.78	0.39	1.56	12.5	3.13
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	1.56	0.05	0.05	0.39	0.39	0.39	0.1	1.56
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	3.13	0.78	0.025	0.39	0.1	0.78	0.78	0.39
<i>B. cereus</i> IFO 3001	50	12.5	12.5	100	3.13	12.5	1.56	1.56
<i>S. pyogenes</i> ATCC 10389	3.13	0.025	0.05	0.1	0.2	0.78	0.1	0.78
<i>S. pyogenes</i> C-203	3.13	0.025	0.1	0.1	0.1	0.78	0.1	0.78
<i>S. pneumoniae</i> Type I	3.13	0.025	0.1	0.2	0.1	0.78	0.05	1.56
<i>S. pneumoniae</i> Type II	3.13	0.025	0.2	0.2	0.1	0.78	0.05	1.56
<i>S. pneumoniae</i> Type III	6.25	0.025	0.2	0.39	0.2	0.78	0.1	1.56
<i>S. faecalis</i>	>100	>100	100	>100	100	>100	6.25	100

Medium: Sensitivity test agar (STA, Eiken)
(*Streptococcus*: STA + 5% horse serum)

* : Clinical isolates

び 1,000 倍稀釈液をそれぞれ使用した。ただし、*H. influenzae* は 100 倍稀釈液を 10^8 cells/ml の菌液とした。菌液は接種装置により、一白金耳 (約 1 μ l) 点滴塗抹し、37°C で 20~22 時間培養して MIC を判定した。

4. 抗菌力に及ぼす各種因子の影響

8 株の標準株を用いて、抗菌力に及ぼす各種因子の影響を寒天平板稀釈法および液体稀釈法により検討した。試験培地には、栄研製の Trypto-soy Agar および Broth, Heart Infusion Agar および Broth, Nutrient Agar および Broth, Sensivity Test Agar, Mueller

-Hinton Agar と Difco 製の Mueller - Hinton Broth を使用した。培地 pH は、滅菌後の HIA および HIB に 1N HCl および 1N NaOH を加えて、5.0, 6.0, 7.0, 8.0 にそれぞれ修正した。人血清 (Miles Lab. 製) は、56°C で 30 分非働化して HIA および HIB に添加した。

5. 殺菌作用の測定法

(*) 生菌数の変化: 37°C で一夜培養した菌を、HIB で 50 倍に稀釈して、更に 37°C で *E. coli* は 1.5 時間、*S. marcescens* および *P. aeruginosa* は 2 時間静置

Table 3 Antibacterial spectrum of 6059-S and other β -lactam antibiotics against Gram-negative bacteria by agar dilution test

Inoculum: One loopful of 10^8 cells/ml

Organism	MIC (μ g/ml)							
	6059-S	CTX	CMD	CTM	CEZ	CMZ	PIPC	SBPC
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.1	0.025	0.39	0.1	1.56	0.78	0.39	3.13
<i>E. coli</i> ATCC 1175	0.2	0.1	1.56	0.2	0.78	1.56	3.13	12.5
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0.2	0.1	1.56	0.2	0.78	1.56	1.56	12.5
<i>E. coli</i> H	0.05	≤ 0.0125	0.2	0.1	0.78	0.78	0.78	1.56
<i>E. coli</i> EC-14	0.1	0.05	0.78	0.2	0.78	0.78	1.56	6.25
<i>E. coli</i> 377*	0.1	0.39	1.56	0.39	6.25	3.13	3.13	25
<i>E. coli</i> 73*	0.2	0.1	25	0.78	25	1.56	>100	>100
<i>K. pneumoniae</i> SRL-1	0.1	0.025	0.39	0.1	0.78	0.78	0.78	1.56
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 27736	0.1	0.025	0.78	0.39	0.78	0.78	6.25	>100
<i>K. pneumoniae</i> IFO 3512	0.1	≤ 0.0125	0.2	0.1	0.39	0.39	1.56	>100
<i>Klebsiella</i> sp. 363*	0.05	0.78	>100	12.5	>100	0.39	>100	>100
<i>S. dysenteriae</i>	0.2	≤ 0.0125	0.2	0.2	0.78	0.78	0.78	3.13
<i>S. flexneri</i> variant Y	0.1	0.025	0.2	0.1	0.78	0.78	0.78	1.56
<i>S. sonnei</i> ATCC 11060	0.78	0.39	6.25	1.56	3.13	12.5	3.13	25
<i>S. sonnei</i> OHARA	0.1	≤ 0.0125	0.1	0.1	0.78	0.39	0.2	6.25
<i>S. typhi</i>	0.05	0.025	0.1	0.1	0.78	0.39	0.39	3.13
<i>S. paratyphi</i> A	0.05	≤ 0.0125	0.2	0.1	1.56	0.39	0.78	1.56
<i>S. typhimurium</i> ATCC 13311	0.025	0.025	0.2	0.1	0.39	0.2	0.78	1.56
<i>C. freundii</i> IFO 12681	0.05	0.2	1.56	0.78	6.25	1.56	3.13	6.25
<i>P. mirabilis</i> IFO 3849	0.2	0.1	3.13	0.78	3.13	3.13	1.56	1.56
<i>P. mirabilis</i> PR-4*	0.1	0.05	0.78	0.39	3.13	1.56	0.78	1.56
<i>P. morganii</i> IF 3848	0.05	≤ 0.0125	0.2	0.1	25	1.56	≤ 0.0125	0.39
<i>P. morganii</i> Mor-9*	0.2	0.1	3.13	0.78	>100	12.5	1.56	3.13
<i>P. vulgaris</i> ATCC 6380	0.2	≤ 0.0125	1.56	0.78	100	1.56	0.39	3.13
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	0.1	≤ 0.0125	0.39	0.2	12.5	1.56	0.025	0.78
<i>P. vulgaris</i> CN-329	0.2	0.025	1.56	1.56	>100	1.56	0.39	1.56
<i>P. vulgaris</i> Vul-3*	0.2	6.25	>100	>100	>100	6.25	6.25	>100
<i>P. rettgeri</i> Ret-6*	0.05	0.1	1.56	0.78	50	50	0.78	1.56
<i>P. inconstans</i> IFO 12930	0.05	≤ 0.0125	0.05	0.025	0.2	0.39	0.05	0.39
<i>E. cloacae</i> ATCC 13047	3.13	6.25	>100	>100	>100	>100	12.5	>100
<i>E. cloacae</i> 233*	0.2	0.2	6.25	12.5	>100	>100	3.13	12.5
<i>H. alvei</i> H-1	0.1	0.39	3.13	0.78	>100	3.13	0.78	1.56
<i>S. marcescens</i> ATCC 13880	0.39	0.39	50	12.5	>100	12.5	1.56	12.5
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9721	1.56	3.13	>100	>100	>100	>100	0.78	6.25
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 25619	6.25	1.56	>100	>100	>100	>100	0.78	1.56
<i>P. aeruginosa</i> Denken	25	50	>100	>100	>100	>100	12.5	50
<i>P. aeruginosa</i> Ps-24	25	25	>100	>100	>100	>100	6.25	50
<i>Y. enterocolitica</i> Knapp-1	0.2	0.025	1.56	0.78	6.25	1.56	1.56	>100
<i>H. influenzae</i> 88562	0.05	≤ 0.0125	0.39	0.78	25	1.56	ND	ND

Medium: Sensitivity test agar (STA, Eiken)

ND: Not done

*: Clinical isolates

(*H. influenzae*: Heart infusion agar + 5% enrichment)

培養し、対数増殖期の菌液を調整した。この菌液を、あらかじめ37°Cに温めた新鮮 HIB で適宜希釈して、所定の初菌数を得るようにした。2倍希釈系列の試験薬は、最終濃度の10倍濃度に調整し、その1容を培養菌液9容に加えて37°Cで静置培養した。一部の実験は振とう培養で検討した。薬物の添加時より経時的にその一部を採取し、通常の混釈法により生菌数の測定を行なった。

(b) 最小殺菌濃度 (MBC 値): Microtiter 用 U-plate (96 wells, Cooke 社製) 中で、HIB または家兔

の脱線維素新鮮血加 (60% v/v) HIB を用いて薬剤の2倍希釈系列 (50 μ l) を作製する。各 well に所定の初菌数を含む対数増殖期の菌液を50 μ l 添加して充分に混和したのち、37°Cで培養する。

培養中の U-plate は、各 well から定量的に約0.5 μ l 採取できるように工夫した装置を用いて、経時的に培養液の一部を採取し、Nutrient Agar (NA, ニッスイ) の寒天濃度を2%に調製した平板上に点滴塗抹した。移植後、平板は37°Cで20時間培養し、接種位置に発育してきた集落数が5個以下になる最低濃度を

Table 4 Antibacterial spectrum of 6059-S and other β -lactam antibiotics against Gram-negative bacteria by agar dilution test

Inoculum: One loopful of 10^8 cells/ml

Organism	MIC (μ g/ml)							
	6059-S	CTX	CMD	CTM	CEZ	CMZ	PIPC	SBPC
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.1	0.1	1.56	0.2	3.13	1.56	3.13	12.5
<i>E. coli</i> ATCC 1175	0.39	0.2	1.56	0.78	1.56	1.56	3.13	12.5
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0.78	0.2	3.13	0.39	1.56	3.13	6.25	50
<i>E. coli</i> H	0.05	0.025	0.39	0.1	0.78	0.78	1.56	1.56
<i>E. coli</i> EC-14	0.2	0.1	1.56	0.39	1.56	1.56	3.13	12.5
<i>E. coli</i> 377*	0.2	0.39	3.13	6.25	50	6.25	6.25	50
<i>E. coli</i> 73*	0.39	0.2	>100	25	>100	6.25	>100	>100
<i>K. pneumoniae</i> SRL-1	0.2	0.05	0.78	0.39	0.78	1.56	1.56	3.13
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 27736	0.2	0.05	1.56	0.39	0.78	1.56	12.5	>100
<i>K. pneumoniae</i> IFO 3512	0.1	≤ 0.0125	0.2	0.1	0.78	0.39	6.25	>100
<i>Klebsiella</i> sp. 363*	0.1	3.13	>100	>100	>100	0.78	>100	>100
<i>S. dysenteriae</i>	0.2	0.025	0.2	0.39	0.78	0.78	1.56	6.25
<i>S. flexneri</i> variant Y	0.2	0.05	0.39	0.2	1.56	0.78	1.56	3.13
<i>S. sonnei</i> ATCC 11060	1.56	0.39	6.25	1.56	3.13	12.5	6.25	50
<i>S. sonnei</i> OHARA	0.1	≤ 0.0125	0.1	0.2	0.78	0.78	0.78	12.5
<i>S. typhi</i>	0.1	0.025	0.2	0.1	0.78	0.39	0.39	6.25
<i>S. paratyphi</i> A	0.05	0.025	0.2	0.2	1.56	0.39	0.78	3.13
<i>S. typhimurium</i> ATCC 13311	0.025	0.05	0.2	0.1	0.78	0.39	0.78	1.56
<i>C. freundii</i> IFO 12681	0.1	0.39	3.13	6.25	100	6.25	6.25	12.5
<i>P. mirabilis</i> IFO 3849	0.2	0.1	3.13	1.56	3.13	3.13	1.56	3.13
<i>P. mirabilis</i> PR-4*	0.2	0.05	3.13	0.78	6.25	1.56	1.56	3.13
<i>P. morgani</i> IF 3848	0.1	≤ 0.0125	0.78	0.39	100	6.25	0.1	0.78
<i>P. morgani</i> Mor-9*	0.2	0.1	100	>100	>100	25	1.56	6.25
<i>P. vulgaris</i> ATCC 6380	0.2	0.025	>100	>100	>100	1.56	0.39	3.13
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	0.2	≤ 0.0125	12.5	0.39	>100	1.56	0.05	0.78
<i>P. vulgaris</i> CN-329	0.2	0.05	>100	>100	>100	3.13	1.56	25
<i>P. vulgaris</i> Val-3*	0.39	>100	>100	>100	>100	6.25	50	>100
<i>P. rettgeri</i> Ret-6*	0.1	0.2	6.25	>100	>100	>100	1.56	6.25
<i>P. inconstans</i> IFO 12930	0.1	≤ 0.0125	0.1	0.05	12.5	0.78	0.39	0.78
<i>E. cloacae</i> ATCC 13047	6.25	25	>100	>100	>100	>100	50	>100
<i>E. cloacae</i> 233*	0.39	1.56	100	>100	>100	>100	6.25	25
<i>H. alvei</i> H-1	0.2	1.56	25	>100	>100	6.25	1.56	3.13
<i>S. marcescens</i> ATCC 13880	0.39	0.39	>100	>100	>100	12.5	1.56	12.5
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9721	3.13	6.25	>100	>100	>100	>100	1.56	25
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 25619	25	25	>100	>100	>100	>100	6.25	3.13
<i>P. aeruginosa</i> Denken	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> Pa-24	100	>100	>100	>100	>100	>100	100	100
<i>Y. enterocolitica</i> Knapp-1	0.2	0.05	6.25	1.56	50	1.56	12.5	>100
<i>H. influenzae</i> 88562	0.05	≤ 0.0125	0.39	0.78	25	3.13	ND	ND

Medium: Sensitivity test agar (STA, Eiken)

ND: Not done

*: Clinical isolates

(*H. influenzae*: Heart infusion agar + 5% enrichment)

MBC として判定した。U-plate はそのまま 37°C で 20 時間培養し、肉眼的に菌の混濁を認めない最小濃度を MIC とした。この実験条件における最小の殺菌率は次式から求められる。

$$\text{殺菌率(\%)} = 100 \times \left\{ 1 - \left(\frac{\text{点滴中の集落数}}{\text{初菌数} \times 5 \times 10^{-4}} \right) \right\}$$

6. 位相差顕微鏡による作用菌の形態観察

試験薬の 2 倍希釈系列を含む HIA 平板を準備し、対数増殖期の菌液 ($\times 10^7$ cells/ml) 一白金耳を点滴接種する。塗布部に coverglass をのせて 37°C で培養し、*E. coli* と *K. pneumoniae* は 2 時間と 5 時間後に、*P. aeruginosa* は 3 時間と 5 時間後に位相差顕微鏡 (日本光学製、倍率 $\times 1,000$) で作用菌の形態を観察した。

II. 実験成績

1. 抗菌スペクトル

グラム陽性菌 17 株、グラム陰性菌 39 株に対する抗菌力を CTX, CMD, CTM, CEZ, CMZ, PIPC, SBPC と比較して Table 1~4 に示した。また、ブドウ糖非醗酵グラム陰性桿菌に対する抗菌力を CTX, CMZ, CBPC, SBPC, PIPC, GM と比較して Table 5 に示した。

6059-S はグラム陽性菌に対して抗菌力が弱く、7 種の対照薬に比べて劣り、多くの菌種で 3.13~6.25 μg /ml の MIC であった (Table 1, 2)。*S. faecalis* には抗菌力を示さない。グラム陰性菌では CTX より劣る傾向にあるが、その他の被検薬に比べて明らかに低い MIC 値を示した (Table 3, 4)。特に、従来の Cephalosporin に感受性の低いインドール陽性の *Proteus* 群、*Enterobacter*, *S. marcescens*, *C. freundii* に対して、*E. coli* と同程度の著るしく低い MIC 値を示した。さらにそのスペクトルは、*P. aeruginosa* をはじめとするブドウ糖非醗酵グラム陰性桿菌にも及び、*P. maltophilia* に対しては他の比較薬よりも強い抗菌力を示した (Table 5)。

2. 臨床分離株の感受性分布と交差感受性

臨床由来の *S. aureus* 94 株、*S. pneumoniae* 46 株、*S. pyogenes* 18 株、*E. coli* 114 株、*Klebsiella* sp. 132 株、*P. vulgaris* 63 株、*P. morgani* 75 株、*P. rettgeri* 32 株、*P. inconstans* 40 株、*P. mirabilis* 63 株、*E. cloacae* 58 株、*E. aerogenes* 27 株、*C. freundii* 47 株、*S. marcescens* 124 株、*P. aeruginosa* 112 株、*H. influenzae* 23 株の合計 1,068 株に対して、6059-S をはじめ、対照薬の MIC 値を測定し、その分布の成績

Table 5 Antibacterial activity of 6059-S and other antibiotics against glucose-nonfermenting Gram-negative bacteria by agar dilution test

Organism	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)						
	6059-S	CTX	CMZ	CBPC	SBPC	PIPC	GM
Inoculum: One loopful of 10^8 cells/ml							
<i>P. maltophilia</i> TB-127*	6.25	400	400	200	400	>400	>400
<i>P. putrefaciens</i> IAM 1509	50	6.25	25	50	12.5	6.25	1.56
<i>P. stutzeri</i> ATCC 11607	12.5	6.25	12.5	25	50	1.56	0.39
<i>P. pseudoalcaligenes</i> ATCC 17440	50	6.25	200	100	50	25	0.78
<i>P. pseudomallei</i> NCTC 1699	100	12.5	400	>400	>400	3.13	200
<i>P. cepacia</i> ATCC 15416	50	100	100	>400	>400	100	100
<i>A. faecalis</i> NCTC 655	≤ 0.1	1.56	12.5	50	100	12.5	3.13
<i>A. anitratus</i> NCTC 7844	200	50	>400	50	50	>400	3.13
<i>F. meningosepticum</i> NCTC 0925	100	100	>400	>400	>400	100	3.13
Inoculum: One loopful of 10^6 cells/ml							
<i>P. maltophilia</i> TB-127*	6.25	25	200	25	25	50	200
<i>P. putrefaciens</i> IAM 1509	25	3.13	12.5	25	12.5	6.25	0.78
<i>P. stutzeri</i> ATCC 11607	6.25	3.13	12.5	12.5	25	1.56	0.2
<i>P. pseudoalcaligenes</i> ATCC 17440	25	3.13	200	25	25	12.5	0.78
<i>P. pseudomallei</i> NCTC 1699	50	6.25	200	400	400	1.56	100
<i>P. cepacia</i> ATCC 15416	25	25	50	>400	>400	12.5	50
<i>A. faecalis</i> NCTC 655	≤ 0.1	0.78	1.56	12.5	25	1.56	0.78
<i>A. anitratus</i> NCTC 7844	100	50	400	25	50	400	1.56
<i>F. meningosepticum</i> NCTC 0925	50	50	25	>400	>400	25	3.13

Medium: Heart infusion agar (Eiken)

*: Clinical isolates

Table 6-a Susceptibility distribution of clinical isolates

Organisms (No. of strains)	Inoculum size (cells/ml)	Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$)															
			≤ 0.0125	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
<i>Staphylococcus aureus</i> (94)	10^8	6059-S										17	76				1	
		CTX									33	41	19				1	
		CMD						8	16	21	34	13	1	1				
		CTM							5	51	18	19					1	
		CEZ							15	31	21	4	13	8	1		1	
		CMZ									90	3				1	1	
	ABPC					12	4	1				1	1	2	6	10	57	
	10^6	6059-S										55	38					
		CTX								1	60	27	5			1	1	
		CMD					1	44	39	9	9	1						
		CTM							46	44	3					1		
		CEZ						57	27	9						1		
CMZ						16	1	13	16	18	7	10	7	6				
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (46)	10^8	6059-S	8	29	9					2	6	28	9			1		
		CTX			2	4	36	3	1									
		CMD			1	2	15	25	2	1								
		CTM			2	25	18	1	1									
		CEZ			9	31	5	1	5	36	3		1					
		ABPC							1									
	10^6	6059-S	10	36						2	11	28	4	1				
		CTX			2	18	24	2										
		CMD			1	2	27	14	2									
		CTM			4	32	9											
		CEZ	1	10	32	2	1			13	29	1	1					
		ABPC																
<i>Streptococcus pyogenes</i> (18)	10^8	6059-S	11	4	3						11	5	2					
		CTX			9	7	1	1										
		CMD			9	5	2	1				1						
		CTM			9	5	2	1				1						
		CEZ				11	6	1										
		CMZ						10	5	3								
	ABPC	1	11	4		2												
	10^6	6059-S	11	6	1					1	15		2					
		CTX			1													
		CMD		1	13	3		1										
		CTM			12	3	1	1	1									
		CEZ			2	12	3	1	1									
CMZ		1	15		2		12	5	1									
ABPC																		

を Table 6 (a~h) に示した。また、グラム陰性菌については菌種ごとに累積百分率及び対照薬剤との感受性相関を、接種菌量を変えて比較して Fig. 2~43 に示した。Fig. 44, 45 に全被検株の 6059-S に対する感受性分布をまとめた。

(a) *S. aureus* 94 株 (Table 6-a)

6059-S の MIC 値は、 10^6 cells/ml 接種で 99% が 6.25~12.5 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、その最頻値は 6.25 $\mu\text{g/ml}$ にあった。*S. aureus* に対する本薬の抗菌力は他薬に比べて弱く、CTX より 4 倍、CMD、CEZ よりおよそ 16 倍程度高い MIC 値を示している。 10^8 cells/ml 接種でも、99% の株が 6.25~12.5 $\mu\text{g/ml}$ に分布し最頻値も 6.25 $\mu\text{g/ml}$ でみられ、接種菌量を大きくしても MIC 値に変化は認められなかった。

(b) *Streptococcus sp.* 64 株 (Table 6-a)

S. pneumoniae 46 株 および *S. pyogenes* 18 株に対する 6059-S の MIC 値は、 10^6 cells/ml 接種で 0.39~12.5 $\mu\text{g/ml}$ に分布するが、両菌種ともに 80% 以上が 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 以下に分布した。最頻値はそれぞれ 3.13 $\mu\text{g/ml}$ と 1.56 $\mu\text{g/ml}$ に認められた。他薬と同様に菌量の影響は小さいが、抗菌力は被検薬中最も弱い。

(c) *E. coli* 114 株 (Fig. 2~4)

6059-S の 10^6 cells/ml 接種時の MIC 値は、0.1~3.13 $\mu\text{g/ml}$ に分布するが、被検株の 90% 以上が 0.1~0.39 $\mu\text{g/ml}$ に集まり、最頻値は 0.2 $\mu\text{g/ml}$ であった。6059-S の MIC 値は CTX より 2 倍高いが、CTM とほぼ同等であり CEZ より 1/16 も低い値を示した (Table 6-b)。接種菌量を 10^8 cells/ml にしても 6059

Fig. 2 Susceptibility distribution of clinical isolates
E. coli: 114 strains

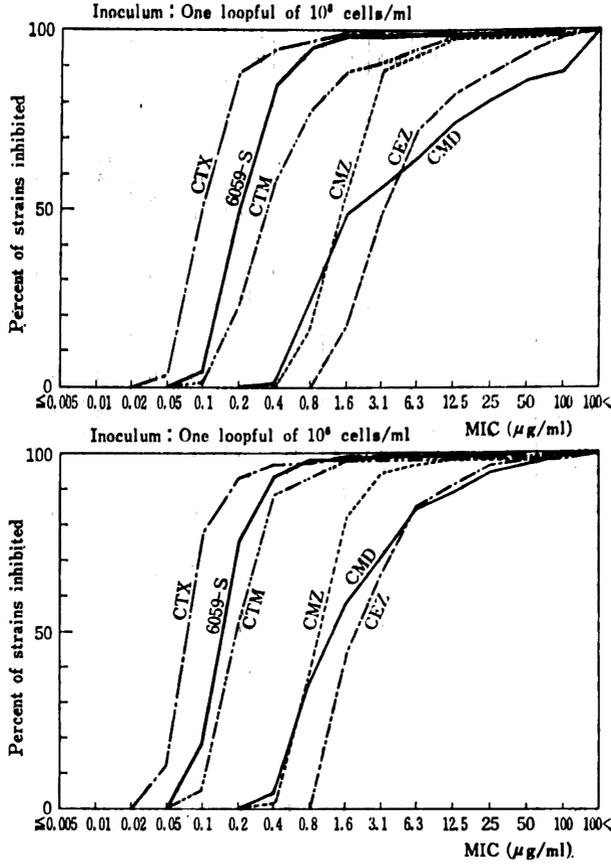


Table 6-b Susceptibility distribution of clinical isolates

Organisms (No. of strains)	Inoculum size (cells/ml)	Antibiotics	MIC (µg/ml)														
			≤0.0125	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
<i>Escherichia coli</i> (114)	10 ⁸	6059-S			5	52	42	11	2		1					1	
		CTX		3	56	43	6	3	2				1				
		CMD				1	29	27	8	9	11	9	5	3	12		
		CTM			1	26	40	23	11	4	5	2		1	1		
		CEZ							19	37	27	12	6	6	5	2	
		CMZ						19	46	38	4	5			1	1	
	10 ⁶	6059-S			14	21	65	21	5		1				1		
		CTX				74	18	5	2		1						
		CMD					4	37	25	15	16	5	6	3	2	1	
		CTM				7	55	40	5	5			1		1		
		CEZ							50	26	22	7	6	1			
		CMZ						1	43	49	15	3	1			2	
<i>Klebsiella sp.</i> (132)	10 ⁸	6059-S			2	46	62	16	5	1							
		CTX		3	25	71	22	7	2	1		1					
		CMD					3	19	50	19	8	9	4	3	7	10	
		CTM				25	53	28	11	5	3	2	3	4	1	1	
		CEZ							19	53	13	14	4	16	3	10	
		CMZ						15	73	33	4	6	1				
	10 ⁶	6059-S			6	55	15	86	24	3	3	1					
		CTX					10	4	4	2							
		CMD					2	5	45	40	15	5	4	8	1	2	
		CTM				8	42	62	5	8	4		1	2			
		CEZ							5	56	32	13	14	10	3	2	
		CMZ							54	64	8	3	2	1			

Fig. 3 Cross susceptibility of 6059-S and CTX
E. coli: 114 strains

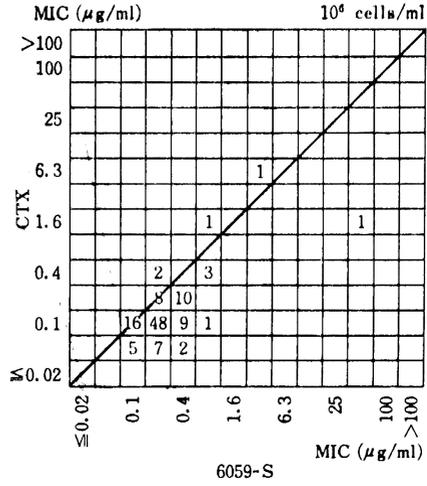
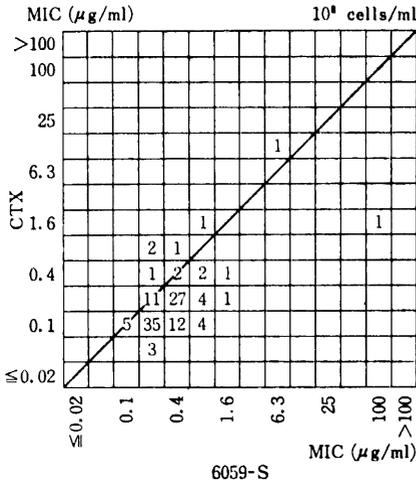
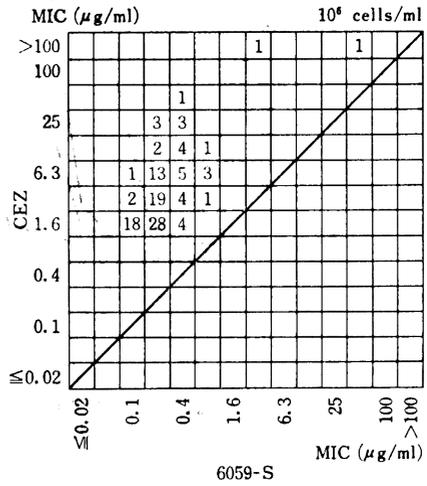
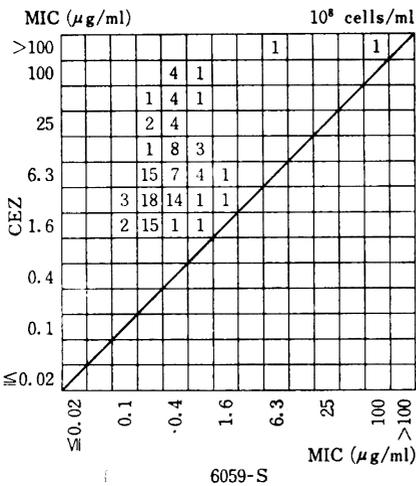


Fig. 4 Cross susceptibility of 6059-S and CEZ
E. coli: 114 strains



-S の MIC 値は 2 倍程度の上昇にとどまり、4 倍以上に上昇した株は 0.9% 認めたとすぎない。これを他剤に比べると、CTM は 18%, CMD は 30%, CEZ は 12% であり、6059-S は接種菌量の影響を受けにくいことが明らかである。

交差感受性は、低菌量、高菌量接種ともに CTX に強い感受性を示しているが、概して良い相関を示した (Fig. 3)。CEZ とでは明らかに 6059-S に強い感受性を示しており、CEZ よりも分布域がせまい。高菌量接種では CEZ に 25~100 μg/ml の MIC 値を示す 17 株についても、6059-S は 0.2~0.78 μg/ml を示し、相関性はみられなくなる (Fig. 4)。

(d) *Klebsiella sp.* 132 株 (Fig. 5~7)

6059-S の 10⁶ cells/ml 接種の MIC 値は、0.1~3.13 μg/ml に分布するが、被検株の 90% 以上が 0.1~0.39 μg/ml に集まり、最頻値は 0.2 μg/ml に集中した (Table 6-b)。6059-S の MIC 値は CTX より 4 倍程度高いが、CTM と同程度であり、CMZ より 1/4、CEZ より 1/8 低い値を示した。接種菌量を 10⁸ cells/ml にしても、83% が 0.1~0.39 μg/ml に集まり、MIC 値は 2 倍程度の上昇にとどまった。高菌量により MIC が 4 倍以上に上昇する株が 7% にみられ、CTX の 6% と同程度であるが、CTM の 18%、CEZ の 20% に比べて接種菌量の影響は少ない。6059-S と CTX との交

Fig. 5 Susceptibility distribution of clinical isolates
Klebsiella sp.: 132 strains

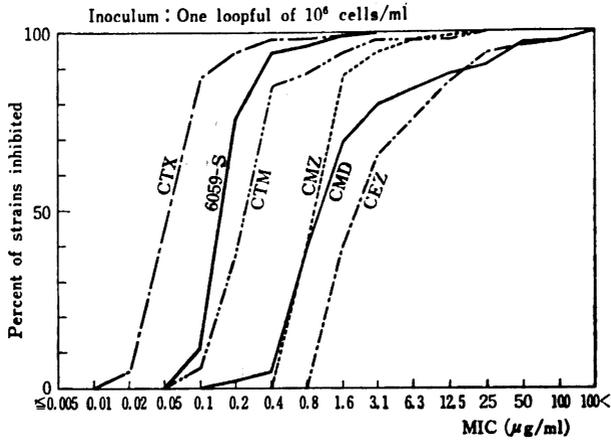
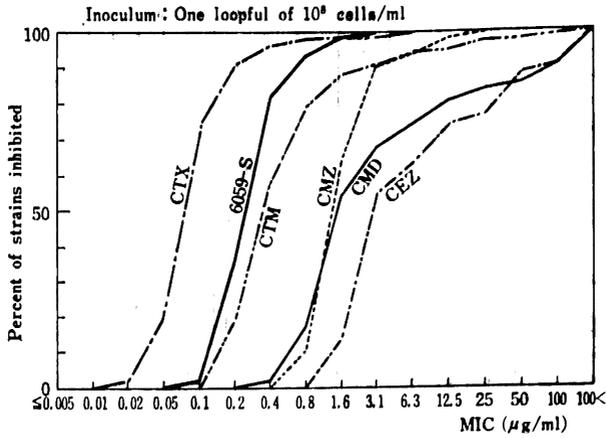
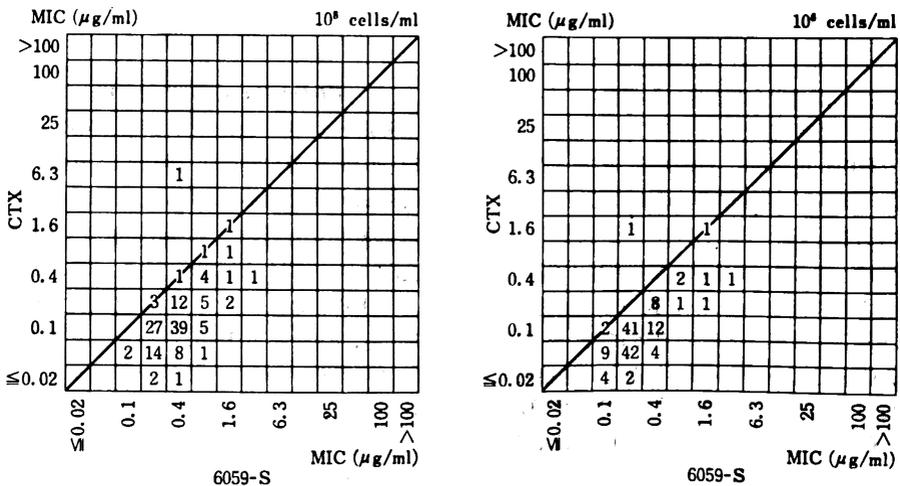


Fig. 6 Cross susceptibility of 6059-S and CTX
Klebsiella sp.: 132 strains



差感受性については、CTX に強い感受性を示しているが、4 倍の差でおおむね良く相関している (Fig. 6)。CEZ との交差感受性では、すべての菌株が 6059-S に強い感受性を示した。CEZ に 25 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示す株 (低菌量 17 株, 高菌量 33 株) に対しても 6059-S は 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 以下の MIC を示し、相関性が見られなかった (Fig. 7)。

(e) Indole positive *Proteus* 210 株 (Fig. 8~22) 6059-S は indole positive *Proteus* の 4 菌種いずれに対しても著しく強い抗菌力を示し、接種菌量の影響も認めない点是他薬と極めて異なる特徴である (Table 6-c, d, e)。すなわち、 10^8 cells/ml 接種の MIC 値は 0.05~3.13 $\mu\text{g/ml}$ に分布するが、その 98% が 0.39 $\mu\text{g/ml}$ 以下に集まり、最頻値は 0.2 $\mu\text{g/ml}$ の鋭い峰

Fig. 7 Cross susceptibility of 6059-S and CEZ *Klebsiella* sp.: 132 strains

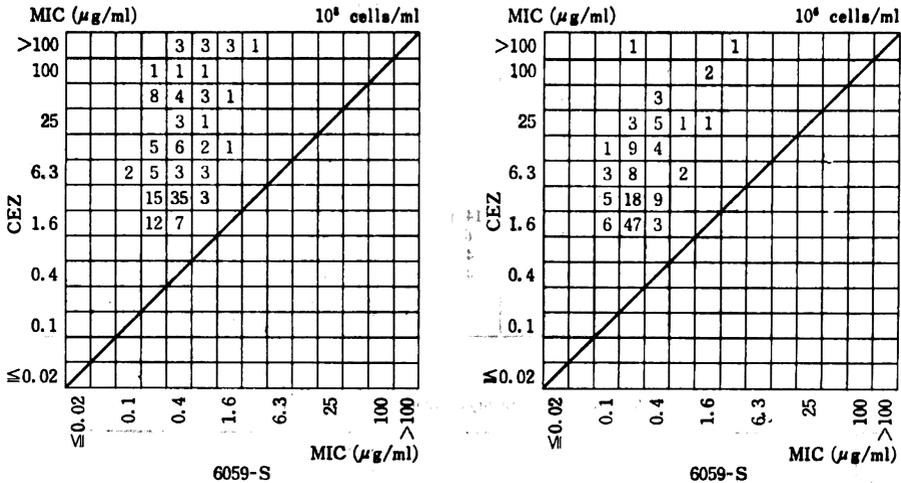


Table 6-c Susceptibility distribution of clinical isolates

Organisms (No. of strains)	Inoculum size (cells/ml)	Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$)															
			≤ 0.0125	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
Indole (+) <i>Proteus</i> (210) (Including <i>P. vulgaris</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. morganii</i> , and <i>P. inconstans</i>)	10^8	6059-S																
		CTX	9	7	3	28	92	74	7	3	3							
		CMD			2	2	2	5	1	6	14	6	11	12	26	33	89	
		CTM		1	5	1	1	6	3	6	4	3	4	5	3	11	157	
		CEZ						3	2			1		1	4	3	196	
		CMZ						1	6	9	33	41	54	46	9	8	3	
	10^4	6059-S	17	5	24	32	111	38	1	1	3							
		CTX			32	47	39	26	14	10	7	5	5		3			
		CMD			2	4	7	5	11	22	30	25	12	14	31	16	31	
		CTM		4	2	7	9	12	31	34	18	6	6	18	17	16	30	
		CEZ					3	2	3	3	2	3	8	5	14	18	149	
		CMZ						6	12	29	50	65	28	8	6	4	2	
<i>Proteus</i> <i>vulgaris</i> (63)	10^8	6059-S					13	47	2	1								
		CTX				3	11	15	5	4	3			1	3	6	6	
		CMD									2						61	
		CTM									2						61	
		CEZ										1					62	
		CMZ								2	23	19	6	13				
	10^4	6059-S					34	28		1								
		CTX			1	18	12	13	8	5	3	2	1				25	
		CMD								2			2	6	14	14	19	
		CTM							1	2	1			14	12	12	19	
		CEZ										1		2	5	5	55	
		CMZ								15	32	10	6					

Table 6-d Susceptibility distribution of clinical isolates

Organisms (No. of strains)	Inoculum size (cells/ml)	Antibiotics	MIC (μg/ml)															
			≤0.0125	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
<i>Proteus morganii</i> (75)	10 ⁸	6059-S CTX CMD CTM CEZ CMZ		2	4	9	50	20	2	1	2	1	7	4	4	1	2	18
	10 ⁶	6059-S CTX CMD CTM CEZ CMZ	2	1	19	2	63	8	1	3	2	1	3	4		3		4
<i>Proteus retigeri</i> (32)	10 ⁸	6059-S CTX CMD CTM CEZ CMZ	8	3	2	13	10	4	2		1	3	1					7
	10 ⁶	6059-S CTX CMD CTM CEZ CMZ	11	1	9	14	6	2	3		1	1	2	1				1

Table 6-e Susceptibility distribution of clinical isolates

Organisms (No. of strains)	Inoculum size (cells/ml)	Antibiotics	MIC (μg/ml)																	
			≤0.0125	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100			
<i>Proteus inconstans</i> (40)	10 ⁸	6059-S CTX CMD CTM CEZ CMZ	1	2	1	15	19	3	1	1	4	2	4	2	1	5	5	1	3	3
	10 ⁶	6059-S CTX CMD CTM CEZ CMZ	4	3	15	16	8	7	2	2	2	2	3	3	2	2	2	4	4	4
<i>Proteus mirabilis</i> (63)	10 ⁸	6059-S CTX CMD CTM CEZ CMZ		1	16	43	16	44	2		6	34	17	5	1					1
	10 ⁶	6059-S CTX CMD CTM CEZ CMZ		2	35	25	47	15		24	29	7	2	1				1		1

性を示した。10⁸ cells/ml 接種でも MIC 値の分布は低菌量とはほぼ同様であり、被検株中 90% 以上が 0.39 μg/ml 以下の値を示し、菌量による MIC の変動は少ない (Fig. 8)。CTX は 6059-S に次いで強い抗菌力を示す

が、CTX で 80% の株を阻害するには、低菌量で 0.78 μg/ml、高菌量で 6.25 μg/ml を要し接種菌量の影響が強くみられる。CMZ は接種菌量による MIC 値変動の少ない抗菌薬であるが、MIC 値は 3.13~6.25 μg/ml に

Fig. 10 Cross susceptibility of 6059-S and CMZ
Indole positive *Proteus*: 210 strains

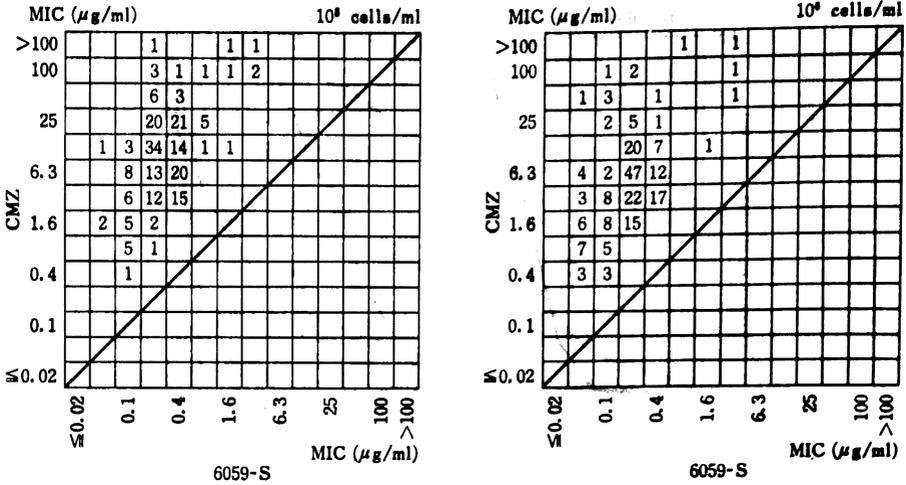


Fig. 11 Susceptibility distribution of clinical isolates
P. vulgaris: 63 strains

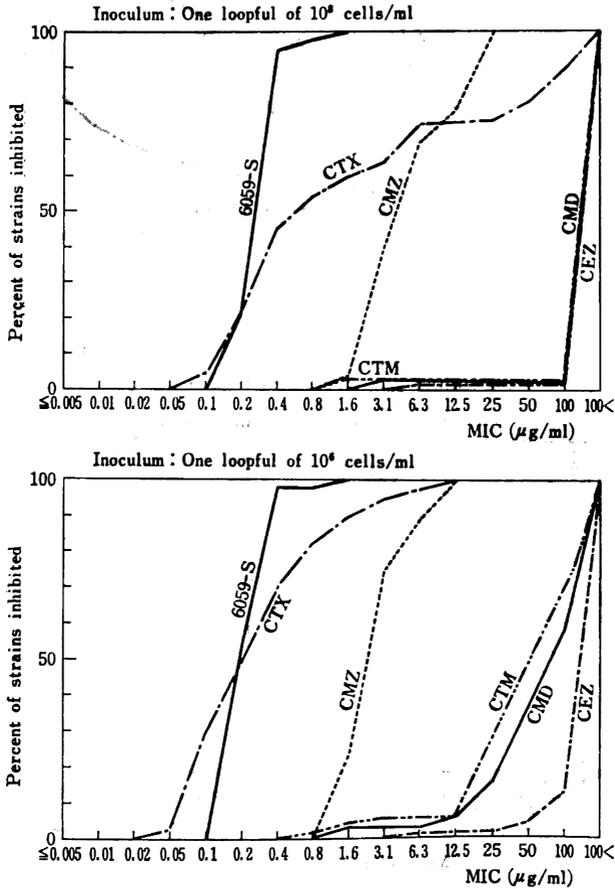


Fig. 14 Susceptibility distribution of clinical isolates *P.morganii*: 75 strains

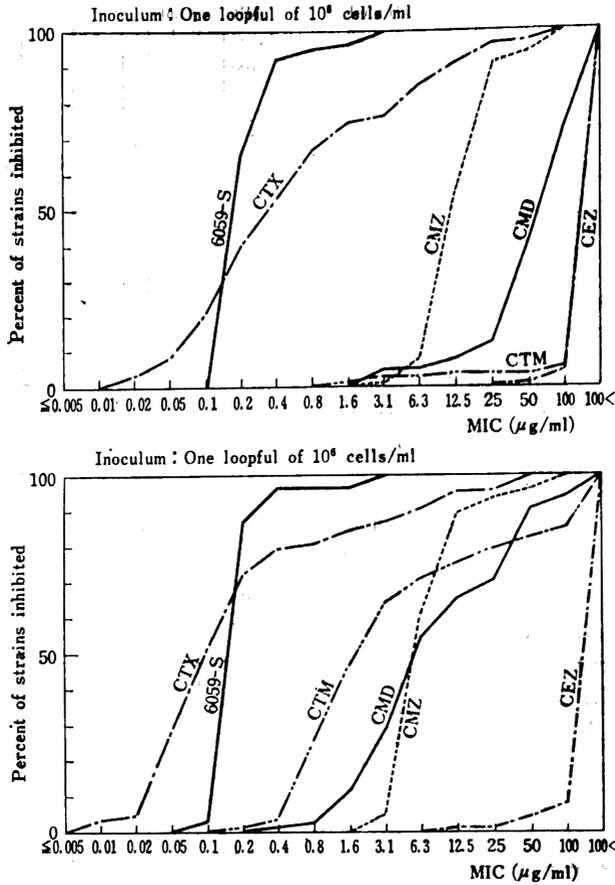


Fig. 15 Cross susceptibility of 6059-S and CTX *P.morganii*: 75 strains

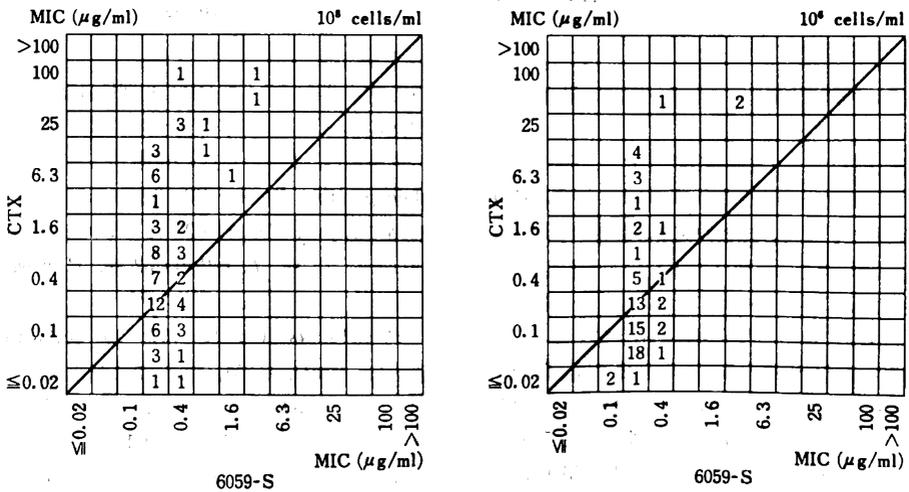


Fig. 16 Cross susceptibility of 6059-S and CMZ
P. morgani: 75 strains

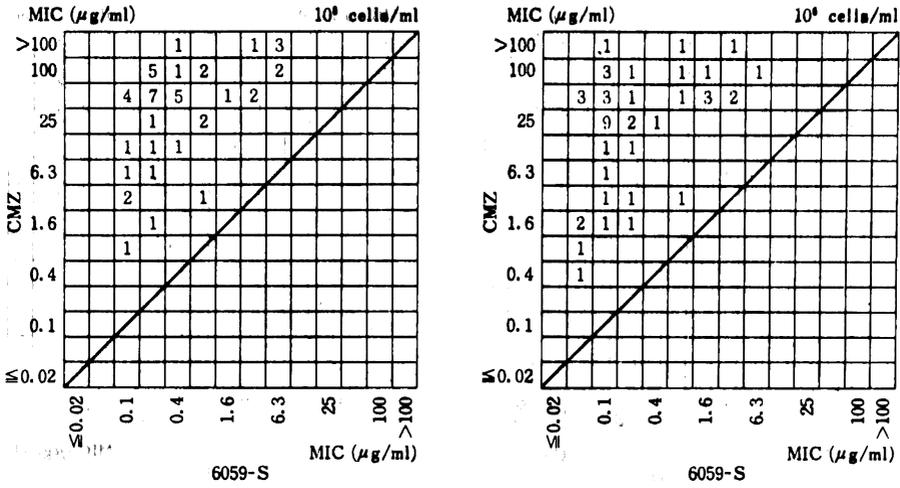


Fig. 17 Susceptibility distribution of clinical isolates
P. rettgeri: 32 strains

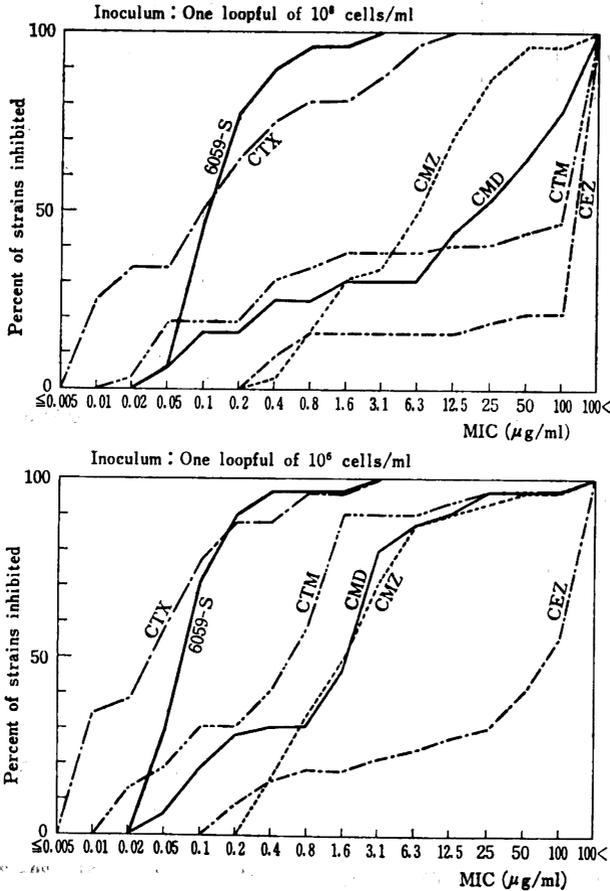


Fig. 18 Cross susceptibility of 6059-S and CTX
P. rettgeri: 32 strains

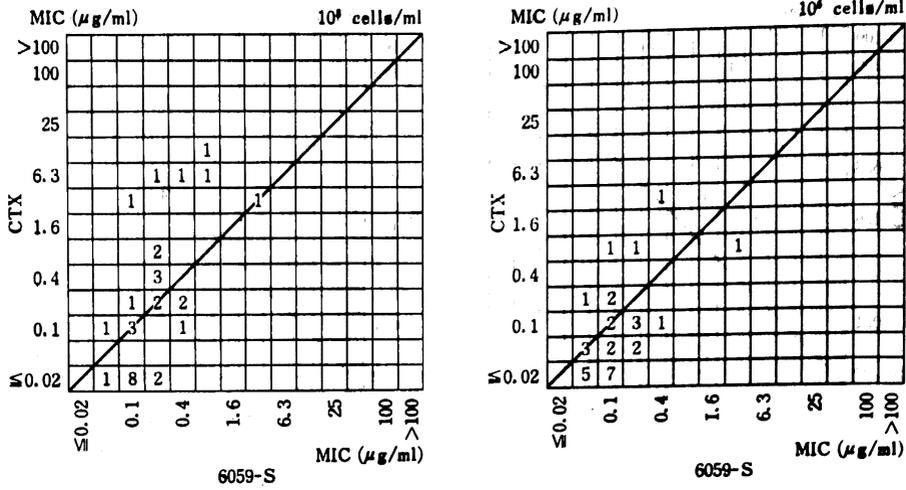
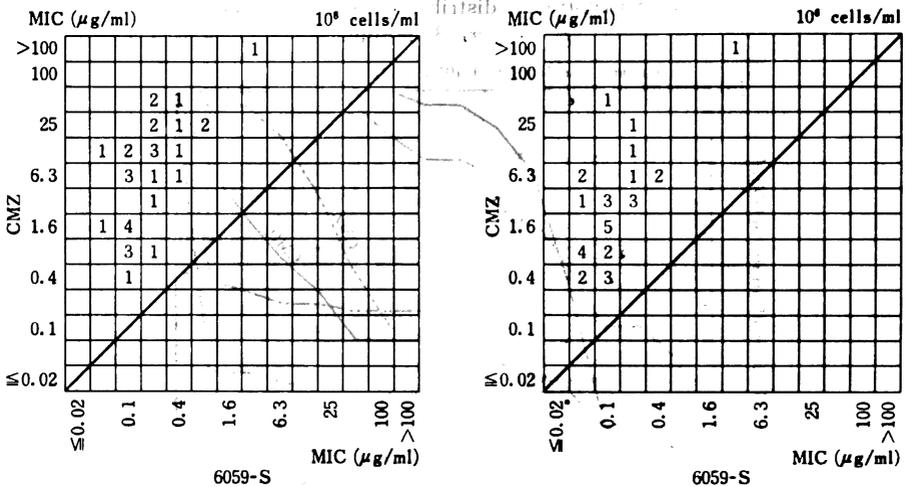


Fig. 19 Cross susceptibility of 6059-S and CMZ
P. rettgeri: 32 strains



株 (95%) が集まり、分布範囲の拡がらないのが本薬の特徴で、CTX との交差相関性は認められなかった。

P.morganii (Fig. 14~16): 10^4 cells/ml 接種の抗菌力は、CTM, CEZ でほとんど抗菌力を示さず、CMD は 25 µg/ml 以下の分布株数は 13% であり抗菌力は弱い、CMZ は 92% の株が 25 µg/ml 以下に分布した。6059-S はこの CMZ よりなお 1/64 も低い MIC 値を示している。CTX は $\leq 0.025 \sim 100$ µg/ml に広く分布するが、6059-S は 0.2~0.39 µg/ml に 93% の株が集まり、CTX との交差感受性に相関性は認められなかった。

P. rettgeri (Fig. 17~19): 6059-S は CTX ととも

に強い抗菌力を示すが、本群他菌種に比べると感受性分布幅が広がる傾向がみられた。この現象は CTX や他薬で一層顕著であり、CMD, CTM, CEZ で二峰性の分布を示した。CTX との交差感受性では、6059-S に強い感受性を示す株が 5 株 (16%)、CTX に強い感受性を示す株が 10 株 (31%) にみられ、MIC 値が逆転するものが多く、相関性は認められない。また、本薬は CMZ との交差感受性にも相関性は認められなかった。すなわち、CMZ は 0.78~50 µg/ml に 94% が広く分布するが、6059-S は 0.1~0.39 µg/ml に 84% の株が集まっている。

P. inconstans (Fig. 20~22): 6059-S の MIC 値は

Fig. 24 Cross susceptibility of 6059-S and CTX
P. mirabilis: 63 strains

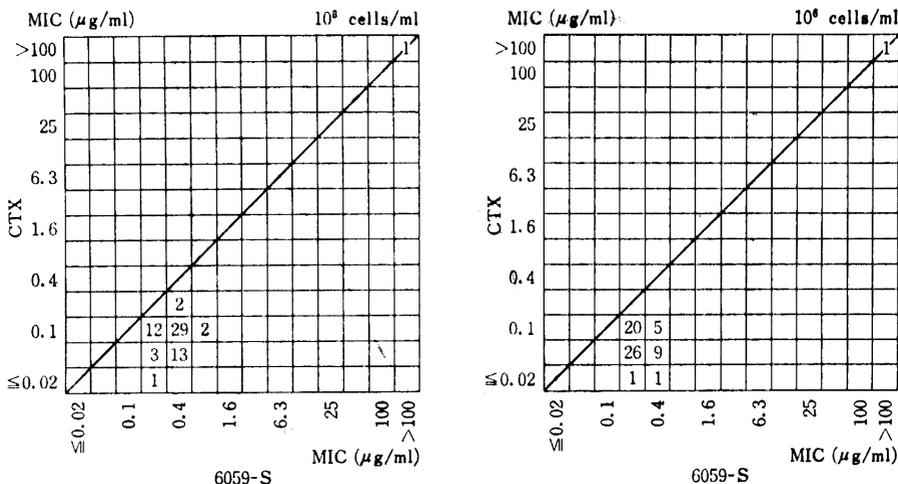
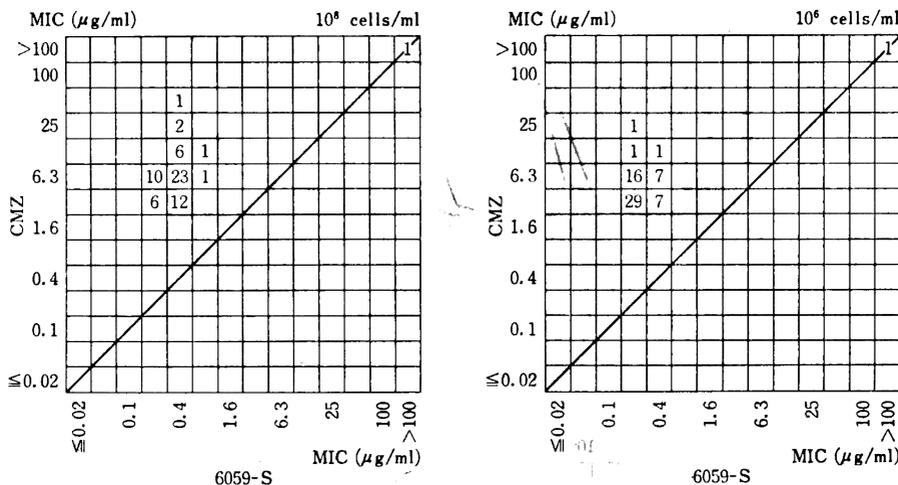


Fig. 25 Cross susceptibility of 6059-S and CMZ
P. mirabilis: 63 strains



CTX より 2 倍低く、その他の対照薬はこれに比べて著しく高い MIC 値を示した。CTX の感受性分布は $\leq 0.025 \sim 12.5 \mu\text{g/ml}$ に、CMZ は $0.78 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ に広く分布するが、6059-S は $0.1 \sim 0.39 \mu\text{g/ml}$ に大部分の株 (93%) が集まり、本剤は CTX、CMZ との MIC 交差相関性は認められなかった。

(f) *P. mirabilis* 63 株 (Fig. 23~25)

6059-S の感受性分布は、 $0.2 \sim 0.39 \mu\text{g/ml}$ に鋭い一峰を示した。MIC 値は CTX より 4 倍高いが、CTM より 1/4、CEZ より 1/32~1/64 低い値を示した。この菌種では、どの被検薬に対しても接種菌量による

MIC 値の変動が少なかった。なお、1 株にはどの被検薬にも高度耐性が認められた。

(g) *Enterobacter* sp. 85 株 (Fig. 26~31)

6059-S の感受性分布は明確な二峰性を示すが、82% の株が感受性の高い群に属し、 10^6 cells/ml 接種の場合、 $0.39 \mu\text{g/ml}$ の MIC 値を示した。これらの株の他被検薬に対する MIC の上限をみると、CTX、CTM、CMD でそれぞれ、 $0.78, 6.25, 12.5 \mu\text{g/ml}$ である。CTX との間では交差性が認められた。 10^8 cells/ml 接種にすると、6059-S では菌量の影響がみられ、80% 阻害濃度は 4 倍上昇した。CMD では 8 倍上昇するが、

Fig. 26 Susceptibility distribution of clinical isolates
E. cloacae: 58 strains

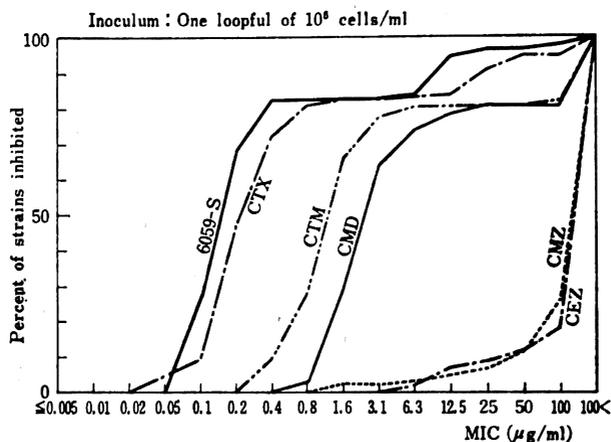
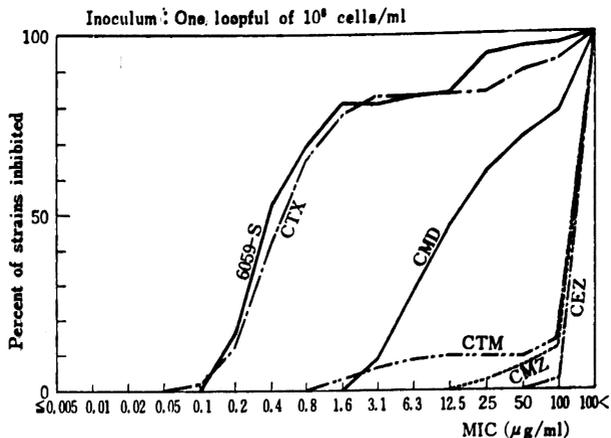


Fig. 27 Cross susceptibility of 6059-S and CTX
E. cloacae: 58 strains

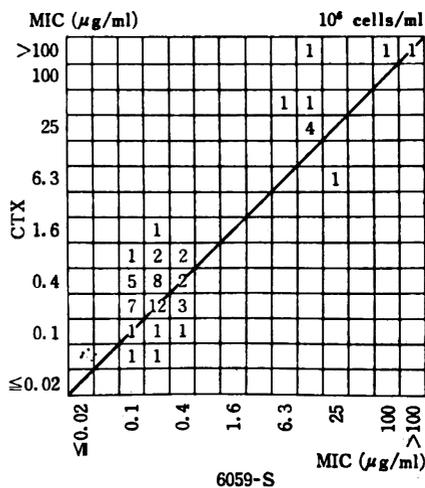
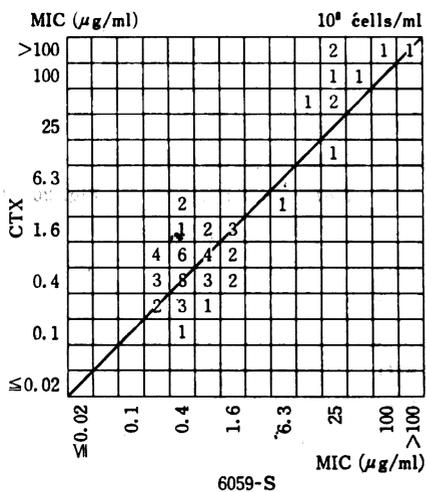


Fig. 28 Cross-susceptibility of 6059-S and CMD

E. cloacae: 58 strains

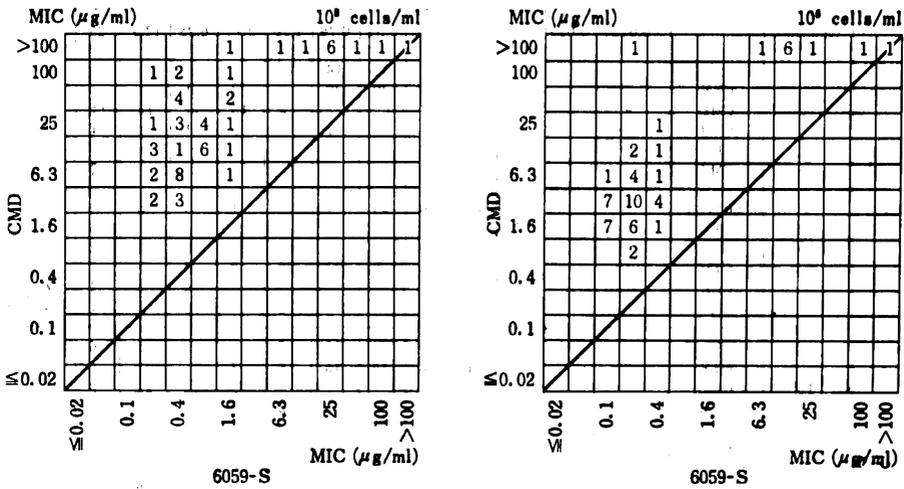


Fig. 29 Susceptibility distribution of clinical isolates

E. aerogenes: 27 strains

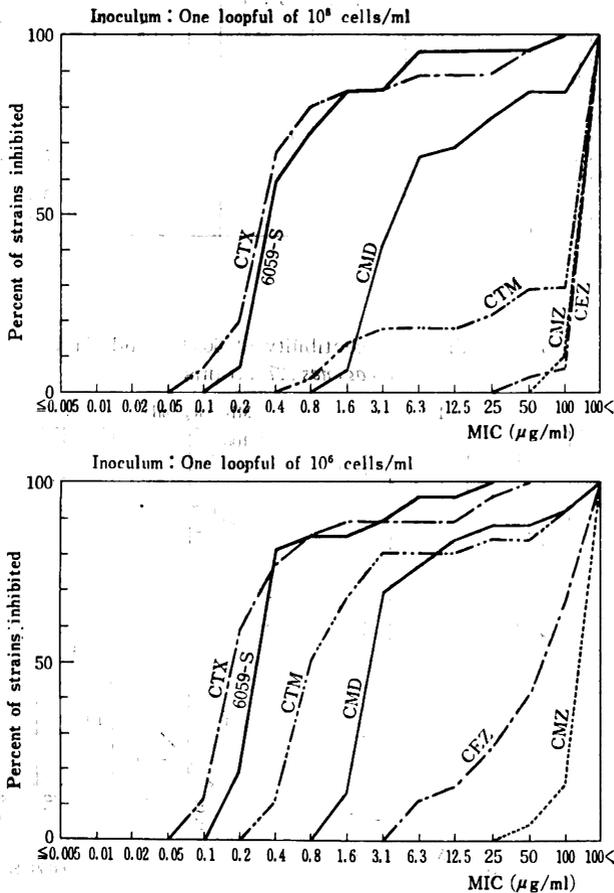


Table 6-f Susceptibility distribution of clinical isolates

Organisms (No. of strains)	Inoculum size (cells/ml)	Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$)															
			≤ 0.0125	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
<i>Enterobacter</i> sp. (85) (Including <i>E. cloacae</i> and <i>E. aerogenes</i>)	10^8	6059-S CTX CMD CTM CEZ CMZ				3	11	35	14	10	7	3	4	1	6	1	2	1
	10^6	6059-S CTX CMD CTM CEZ CMZ			2	15	30	25	1	7	2	1	3	6	2	3	1	1
<i>Enterobacter</i> <i>cloacae</i> (58)	10^8	6059-S CTX CMD CTM CEZ CMZ				1	9	21	10	7	6	3	1	1	6	1	1	1
	10^6	6059-S CTX CMD CTM CEZ CMZ			2	15	25	8	5	1	2	21	1	6	1	2	1	1
<i>Enterobacter</i> <i>aerogenes</i> (27)	10^8	6059-S CTX CMD CTM CEZ CMZ				2	3	14	4	3	1	3	3	1	2	2	1	4
	10^6	6059-S CTX CMD CTM CEZ CMZ				3	5	17	1	2	4	1	2	1	2	1	1	2

Fig. 30 Cross susceptibility of 6059-S and CTX
E. aerogenes: 27 strains

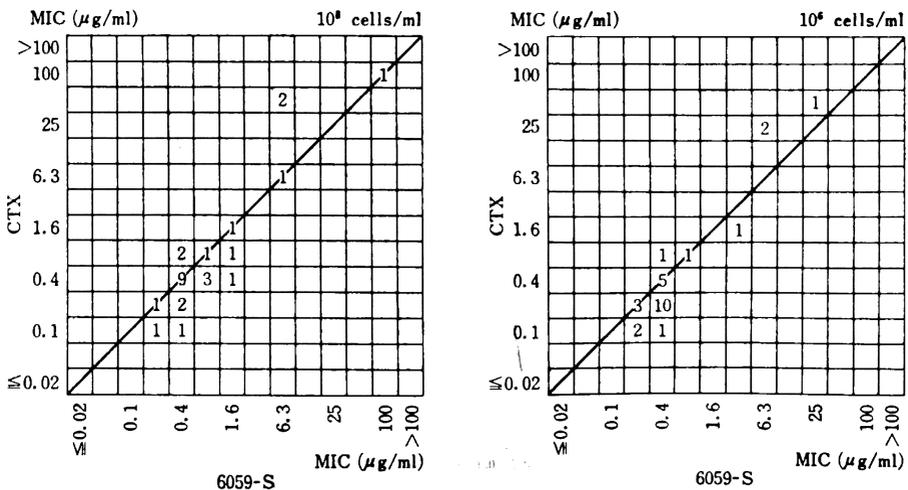


Fig. 31 Cross susceptibility of 6059-S and CMD
E. aerogenes: 27 strains

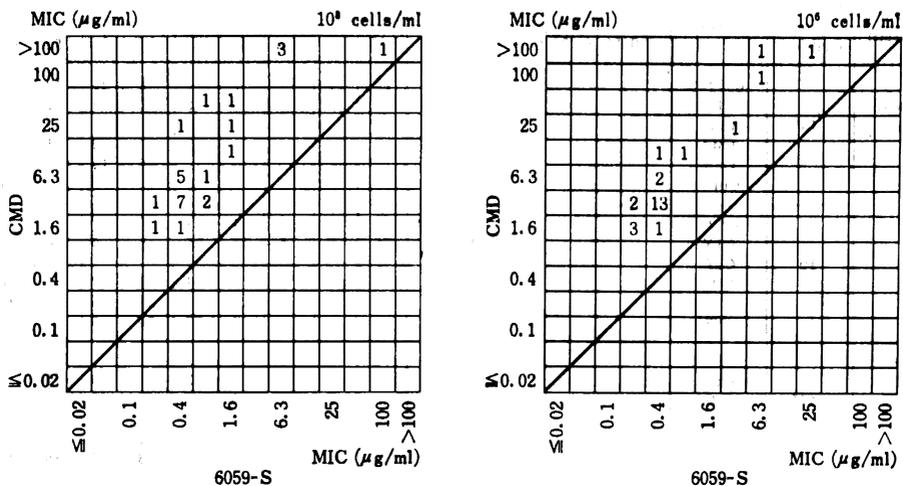


Fig. 32 Susceptibility distribution of clinical isolates
C. freundii: 47 strains

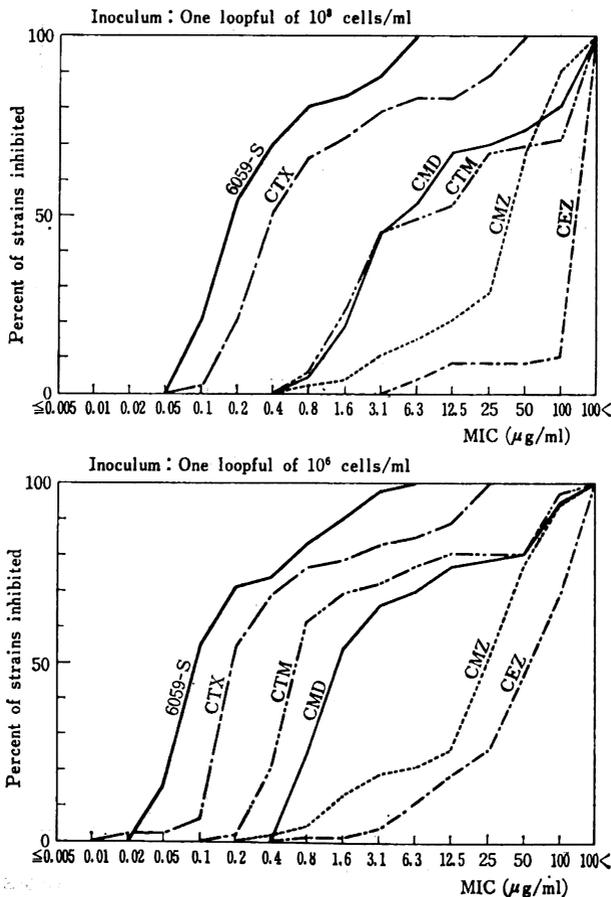


Table 6-g Susceptibility distribution of clinical isolates

Organisms (No. of strains)	Inoculum size (cells/ml)	Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$)															
			≤ 0.0125	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
<i>Serratia marcescens</i> (124)	10^8	6059-S CTX CEZ CMZ CFX CBPC						4	15 35	32 15	14 9	5 9	4 8	8 10	20 19	19 7	3 3	4 5 124 59 63 78
	10^6	6059-S CTX CEZ CMZ CFX CBPC				1	12 16	40 36	10 9	3 8	4 11	11 26	14 6	17 4	8 4	4 1	1 2 124 52 52 75	
<i>Citrobacter freundii</i> (47)	10^8	6059-S CTX CMD CTM CEZ CMZ				9 1	16 9	8 14	5 7 2 3	1 3 8 10	3 3 4 2	5 2	7 7	3 3	5 2	3 1	9 13 42 5	
	10^6	6059-S CTX CMD CTM CEZ CMZ	1	7 20	7 23	1 7	4 7	4 3	4 11 15 4	3 1 2 1	2 2 3 3	1 1	2 3	5 1	1 1	7 8 11 7	2 1 14 3	
<i>Haemophilus influenzae</i> (23)	10^8	6059-S CTX CMD CTM CEZ CMZ ABPC	2	7 8	3 8	11 5	2 1	1 6	5 8 6	1 6 12 2	2 2 11	1 1 2	2 2	8 7	7 3			
	10^6	6059-S CTX CMD CTM CEZ CMZ ABPC	4	2 9	2 7	11 3	3 4	1 10 3	4 7 13	4 3 4 2 2 6	1 2 10 4	2 1 3 2	2 1	10 6				

Fig. 33 Cross susceptibility of 6059-S and CTX *C. freundii*: 47 strains

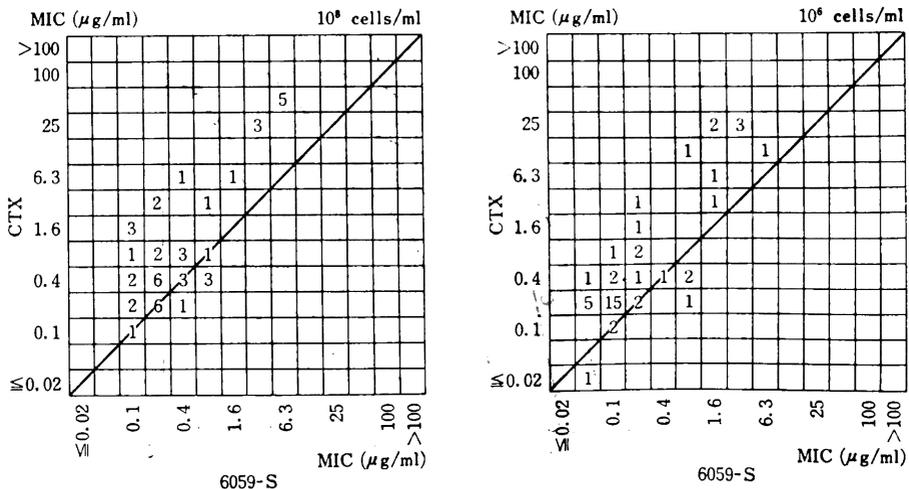


Fig. 34 : Cross susceptibility of 6059-S and CMZ
C. freundii: 47 strains

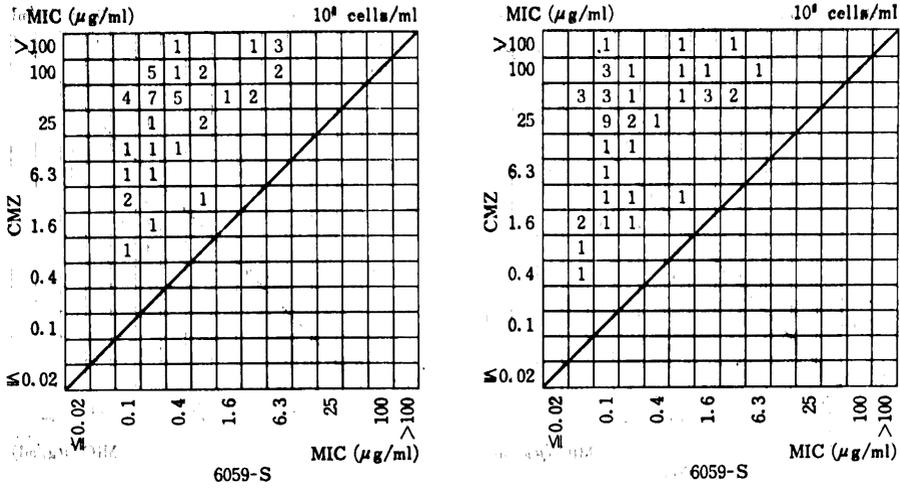


Fig. 35 Susceptibility distribution of clinical isolates
S. marcescens: 124 strains

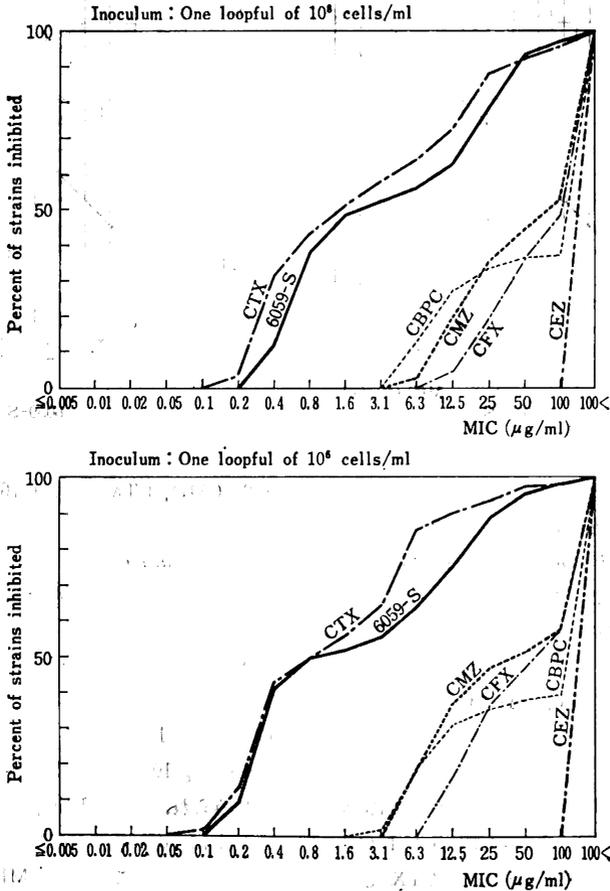


Fig. 36 Cross susceptibility of 6059-S and CTX
S. marcescens: 124 strains

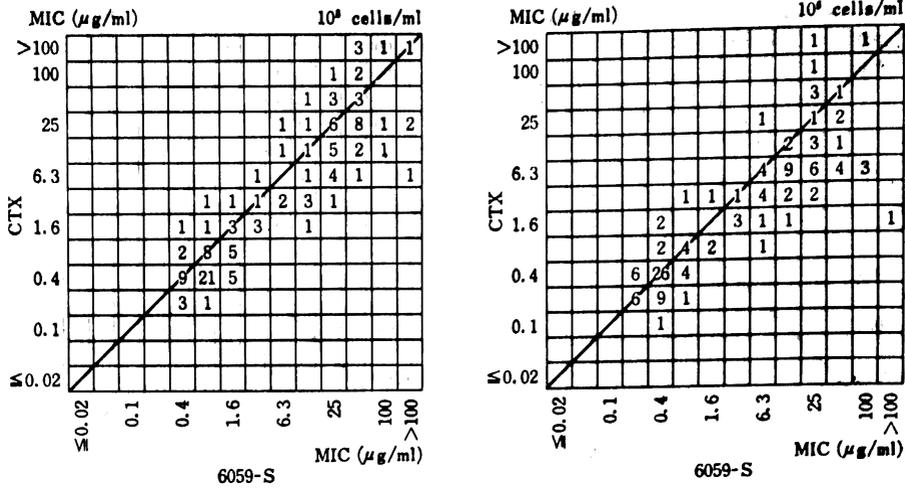
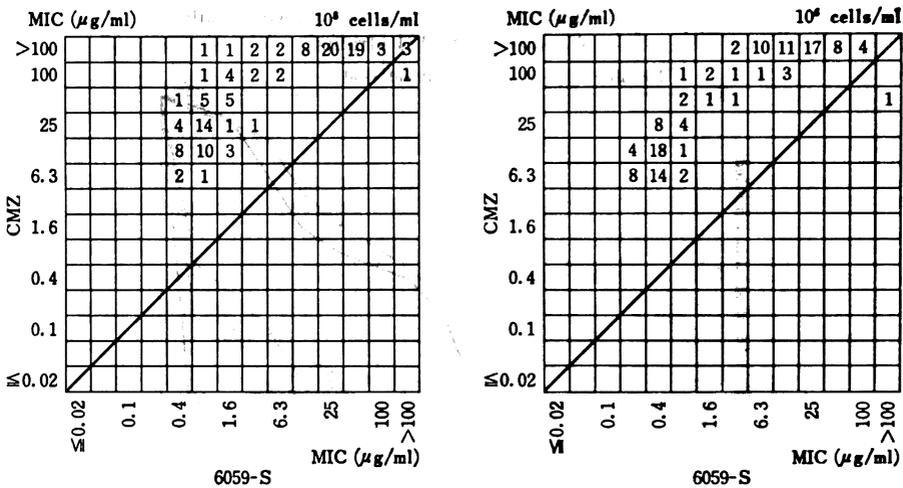


Fig. 37 Cross susceptibility of 6059-S and CMZ
S. marcescens: 124 strains



CTM では 16 倍以上に上昇し、抗菌力が急激に低下した (Table 6-f)。以上は、*Enterobacter* 群 2 菌種をまとめた成績であるが、*E. cloacae* 58 株 (Fig. 26~28)、*E. aerogenes* 27 株 (Fig. 29~31) に分けて、それぞれの成績を示したが、両菌種の感受性分布に大きな差を認めなかった。

(h) *C. freundii* 47 株 (Fig. 32~34)

6059-S は *C. freundii* に対しても二峰性の分布を示すが、 10^6 cells/ml 接種では、 $0.05\sim 0.2$ $\mu\text{g/ml}$ に最頻値を示し、70% の株がこの濃度域に含まれる (Table 6-g)。 10^8 cells/ml 接種では、 $0.1\sim 0.78$ $\mu\text{g/ml}$ に最頻値を示し MIC 値は 2~4 倍上昇するが、CTX より

1/2, CMD, CTM より 1/16 低い濃度に MIC が分布した。

(i) *S. marcescens* 124 株 (Fig. 35~37)

6059-S の感受性分布は明確な二峰性を示し、 10^6 cells/ml 接種では $0.2\sim 0.78$ $\mu\text{g/ml}$ に 50% の株が、 $6.25\sim 25$ $\mu\text{g/ml}$ に 34% の株がそれぞれに分布した。この成績は CTX とほぼ同程度の抗菌力であり、CMZ, CFX より 1/32~1/64 低い MIC 値を示している (Table 6-g)。 10^8 cells/ml 接種にしても二峰生の現象は同様にみられ、 $0.39\sim 1.56$ $\mu\text{g/ml}$ に 49% が、 $12.5\sim 50$ $\mu\text{g/ml}$ に 38% の株がそれぞれ分布し、低菌量接種とほぼ同率を示したことから、MIC 値の上昇は 2 倍程度に

Fig. 38 Susceptibility distribution of clinical isolates
P. aeruginosa: 112 strains

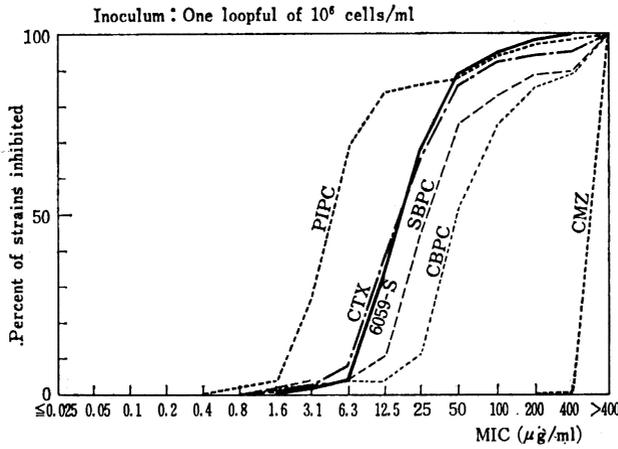
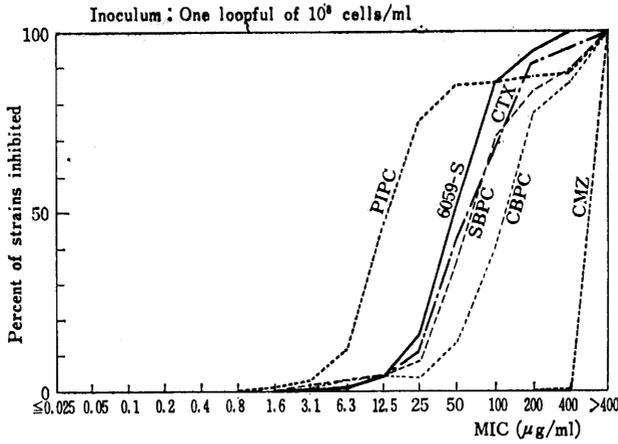


Fig. 39 Cross susceptibility of 6059-S and CTX
P. aeruginosa: 112 strains

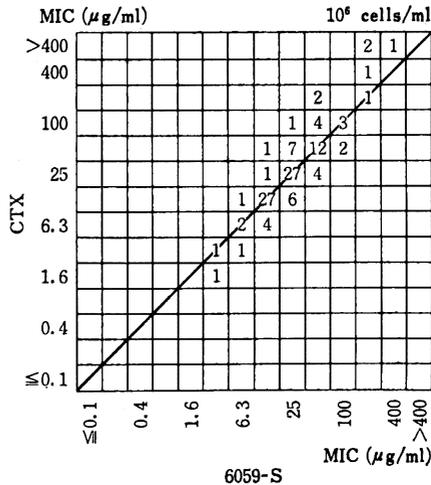
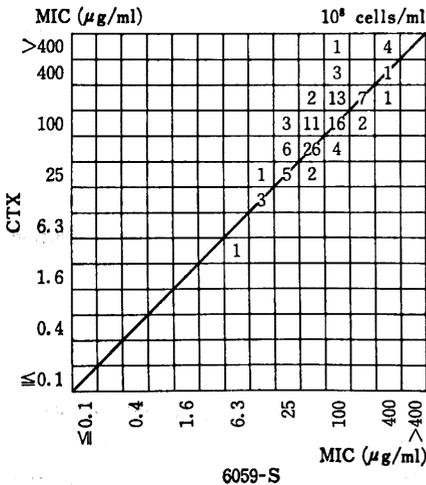


Fig. 40 Cross susceptibility of 6059-S and SBPC
P. aeruginosa: 112 strains

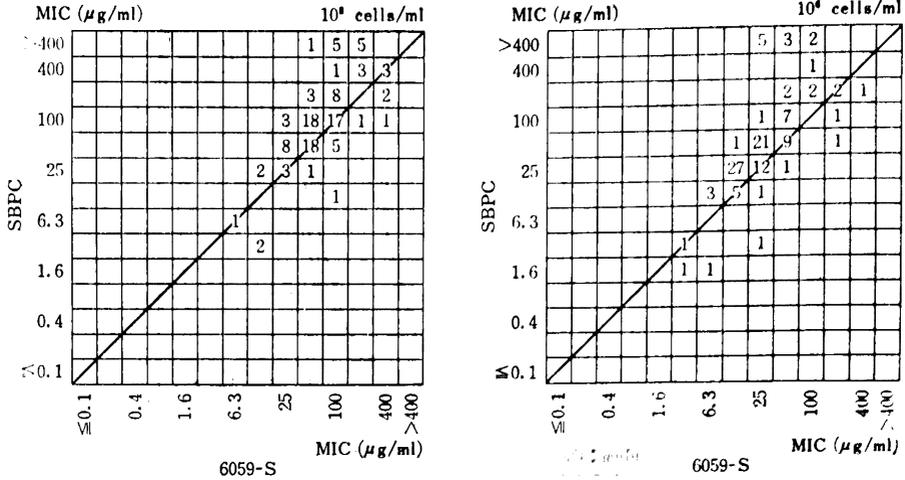


Table 6-h Susceptibility distribution of clinical isolates

Organisms (No. of strains)	Inoculum size (cells/ml)	Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$)																	
			≤ 0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400	>400			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (112)	10^8	6059-S																		
		CTX								1	4	14	41	37	9	6			111	
		CMZ									3	8	36	32	23	4			4	
		CBPC								1	2	1	1	10	31	41	11		14	
		SBPC								2	1	1	6	31	40	13	7		11	
	PIPC								1	2	11	38	33	11	2	2	1		11	
	10^6	6059-S									2	4	33	41	22	5	4	1		
		CTX								1	2	6	34	32	22	8	3	1		3
		CMZ									2	1	1	9	47	24	11	5		111
		CBPC								2	1	1	9	47	24	11	5		11	
SBPC									2	2	9	40	32	9	7	1		10		
PIPC								2	2	27	48	16	3	1	7	4	1	1		

とどまり、菌量による MIC 値の変動は少ないといえる。CTX との交差感受性は良い相関を示した。

(j) *P. aeruginosa* 112 株 (Fig. 38~40)

低菌量接種時の 6059-S MIC 値は 3.13~400 $\mu\text{g/ml}$ に広く分布するが、最頻値は 12.5~50 $\mu\text{g/ml}$ にみられ、大部分の株 (91%) で 50 $\mu\text{g/ml}$ 以下の MIC 値を示した (Table 6-h)。6059-S の MIC 分布は PIPC より 4 倍高いが、CTX と同等であり、SBPC の 1/2, CBPC より 1/4 低い値を示している。高菌量接種時の最頻値は 50~100 $\mu\text{g/ml}$ にみられ、菌量により MIC 値が 2~4 倍上昇した。CTX との交差感受性はよく相関したが、SBPC 高度耐性の 10 株に 100 $\mu\text{g/ml}$ 以下の MIC 値を示した。

(k) *H. influenzae* 23 株 (Fig. 41~43)

6059-S の 10^7 cells/ml 接種時の MIC 値は 0.05~1.56 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、0.1 $\mu\text{g/ml}$ と 0.78 $\mu\text{g/ml}$ にピ

ークを示す二峰性がみられた。6059-S の MIC 値は CTX より 4~8 倍高いが、ABPC, CMD より 4~8 倍低い値を示し、ABPC より 4 倍以上強い抗菌力が認められた。なお、ABPC に 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC 値を示す耐性株にも、6059-S は感受性株と同等の MIC を示し交差耐性は認められなかった。

3. 抗菌力に及ぼす各種因子の影響

(a) 培地の種類の影響 (Table 7, 8)

Agar dilution 法で 5 種, Broth dilution 法で 4 種の培地を使用して、8 菌種に対する 6059-S の MIC を測定して培地の影響を調べた。各試験菌ともいずれの培地においても、MIC 値の変動は 2 倍以内に収まり、有意の差は認めなかった。

(b) 培地 pH の影響 (Table 9, 10)

培地 pH を 5.0, 6.0, 7.0 および 8.0 に修正した HI 培地を用いて、Agar dilution 法および Broth dilu-

Fig. 41 Susceptibility distribution of clinical isolates
H. influenzae: 23 strains

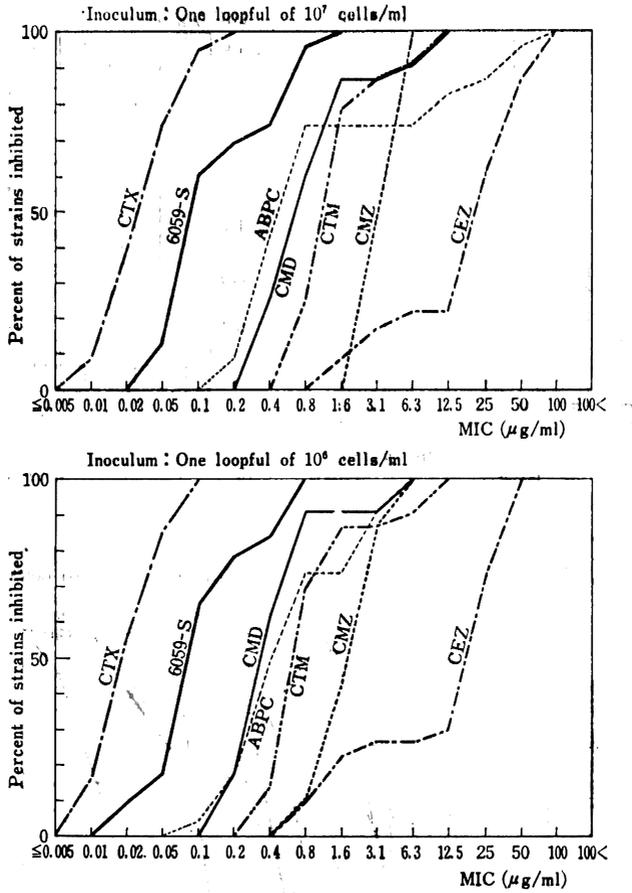


Fig. 42 Cross susceptibility of 6059-S and CTX
H. influenzae: 23 strains

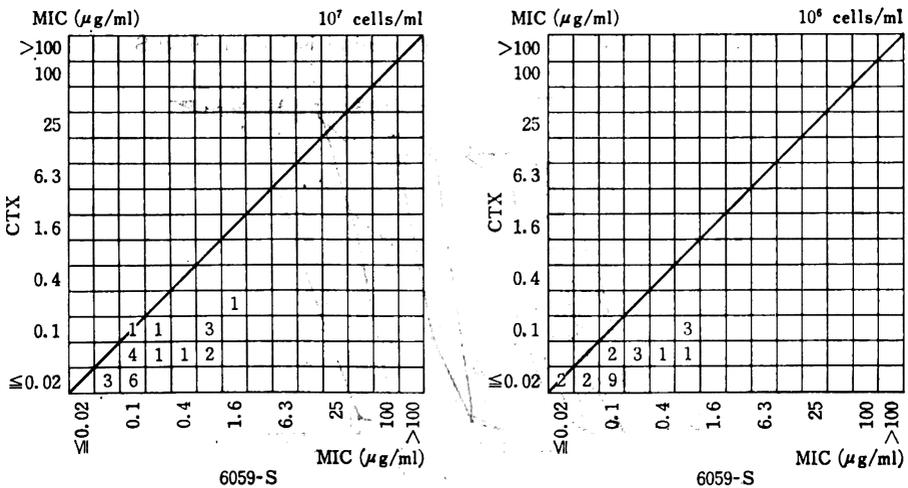


Fig. 43 Cross susceptibility of 6059-S and ABPC
H. influenzae: 23 strains

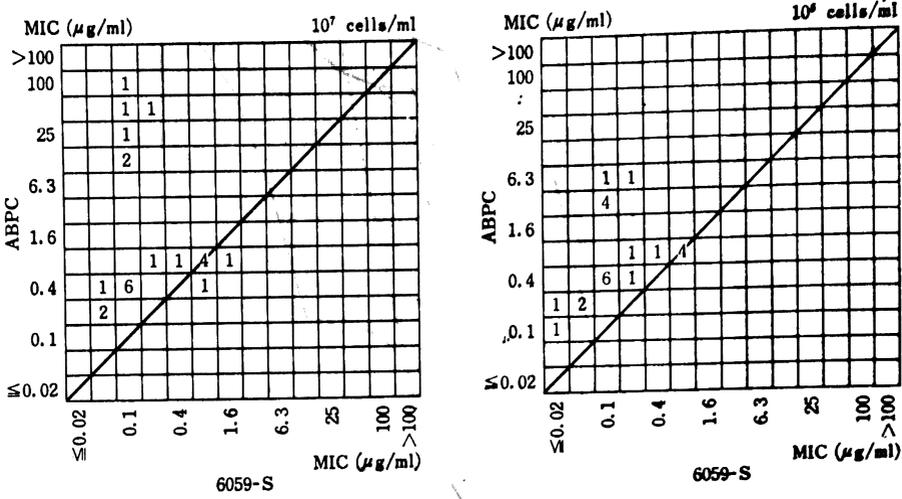


Fig. 44 Sensitivity distribution of clinical isolates to 6059-S

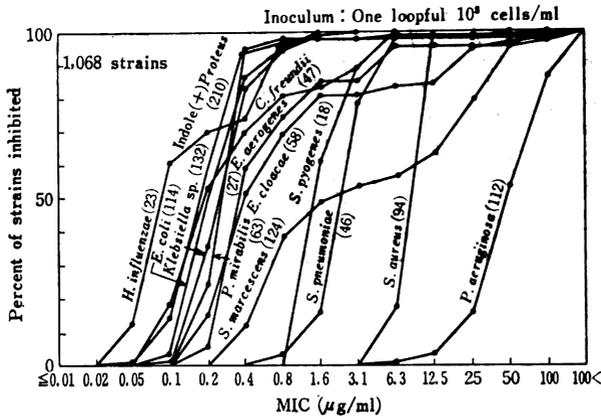


Fig. 45 Sensitivity distribution of clinical isolates to 6059-S

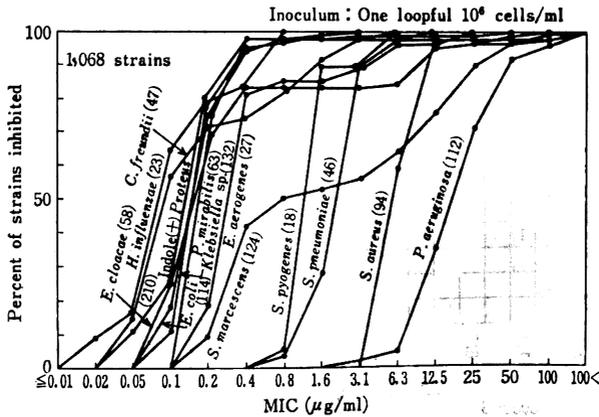


Table 7 Effect of the kind of media on antibacterial activity of 6059-S by agar dilution method

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)									
	Inoculum size 10^6 cells/ml					Inoculum size 10^8 cells/ml				
	STA	HIA	TSA	MHA	NA	STA	HIA	TSA	MHA	NA
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25	12.5	12.5	12.5	6.25	6.25
<i>E. coli</i> NHJ JC-2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.39	0.2	0.39
<i>K. pneumoniae</i> SRL-1	0.05	0.1	0.1	0.05	0.1	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2
<i>P. mirabilis</i> PR-4	0.1	0.2	0.2	0.1	0.1	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39
<i>P. vulgaris</i> CN-329	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
<i>E. cloacae</i> 233	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2	0.39	0.1	0.2
<i>S. marcescens</i> ATCC 13880	0.2	0.39	0.2	0.2	0.2	0.78	1.56	0.78	0.78	0.39
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 25619	6.25	6.25	12.5	6.25	6.25	12.5	25	25	12.5	12.5

Medium STA : Sensitivity test agar (Eiken)

HIA : Heart infusion agar (Eiken)

TSA : Trypto-soy agar (Eiken)

MHA : Mueller-Hinton agar (Eiken)

NA : Nutrient agar (Eiken)

Table 8 Effect of the kind of media on antibacterial activity of 6059-S by broth dilution method

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	TSB	HIB	MHB	NB
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	6.25	6.25	6.25	6.25
<i>E. coli</i> NHJ JC-2	0.1	0.1	0.2	0.1
<i>K. pneumoniae</i> SRL-1	0.1	0.05	0.1	0.1
<i>P. mirabilis</i> PR-4	0.1	0.1	0.1	0.2
<i>P. vulgaris</i> CN-329	0.1	0.1	0.2	0.2
<i>E. cloacae</i> 233	0.2	0.39	0.2	0.2
<i>S. marcescens</i> ATCC 13880	0.2	0.39	0.2	0.2
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 25619	3.13	3.13	3.13	3.13

Medium TSB : Trypto-soy broth (Eiken)

HIB : Heart infusion broth (Eiken)

MHB : Mueller-Hinton broth (Difco)

NB : Nutrient broth (Eiken)

Inoculum size = 10^5 cells/ml

Table 9 Effect of medium pH on antibacterial activity of 6059-S by agar dilution method

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)							
	Inoculum size 10^6 cells/ml				Inoculum size 10^8 cells/ml			
	pH 5.0	6.0	7.0	8.0	5.0	6.0	7.0	8.0
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	0.2	3.13	6.25	6.25	0.39	3.13	6.25	6.25
<i>E. coli</i> NHJ JC-2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.39	0.39	0.2	0.2
<i>K. pneumoniae</i> SRL-1	N.G*	0.2	0.2	0.1	N.G*	0.39	0.2	0.1
<i>P. mirabilis</i> PR-4	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
<i>P. vulgaris</i> CN-329	0.39	0.1	0.2	0.2	0.39	0.2	0.2	0.2
<i>E. cloacae</i> 233	0.78	0.39	0.2	0.2	3.13	0.78	0.39	0.39
<i>S. marcescens</i> 13880	25	0.39	0.39	0.39	50	1.56	0.78	0.78
<i>P. aeruginosa</i> 25619	0.78	3.13	3.13	3.13	1.56	12.5	12.5	25

Medium : Heart infusion agar (Eiken)

* : No growth

Table 10 Effect of medium pH on antibacterial activity of 6059-S by broth dilution method

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	pH 5.0	6.0	7.0	8.0
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	N.G*	3.13	3.13	6.25
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.2	0.2	0.2	0.1
<i>K. pneumoniae</i> SRL-1	N.G	0.1	0.1	0.05
<i>P. mirabilis</i> PR-4	0.1	0.1	0.1	0.1
<i>P. vulgaris</i> CN-329	N.G	0.1	0.1	0.2
<i>E. cloacae</i> 233	>3.13	0.39	0.2	0.1
<i>S. marcescens</i> ATCC 13880	>3.13	0.39	0.39	0.39
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 25619	N.G	1.56	3.13	3.13

Medium : Heart infusion broth (Eiken)

Inoculum size : 10^8 cells/ml

* : No growth

Table 11 Effect of inoculum size on antibacterial activity of 6059-S by agar dilution method

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)					
	10^9 *	10^8	10^7	10^6	10^5	10^4
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	—	12.5	6.25	6.25	6.25	6.25
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1
<i>K. pneumoniae</i> SRL-1	—	0.39	0.2	0.2	0.1	0.1
<i>P. mirabilis</i> PR-4	0.78	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1
<i>P. vulgaris</i> CN-329	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1
<i>E. cloacae</i> 233	3.13	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1
<i>S. marcescens</i> ATCC 13880	0.78	0.78	0.78	0.39	0.39	0.2
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 25619	25	12.5	12.6	6.25	3.13	3.13

Medium : Heart infusion agar (Eiken)

* : A loopful bacterial suspension (10^9 , 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 cells/ml) was inoculated.

— : Not done

Table 12 Effect of inoculum size on antibacterial activity of 6059-S by broth dilution method

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	10^6 *	10^5	10^4	10^3	10^2
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	12.5	6.25	3.13	3.13	3.13
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1
<i>K. pneumoniae</i> SRL-1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1
<i>P. mirabilis</i> PR-4	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1
<i>P. vulgaris</i> CN-329	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
<i>E. cloacae</i> 233	0.39	0.1	0.1	0.1	0.1
<i>S. marcescens</i> ATCC 13880	0.78	0.2	0.2	0.2	0.1
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 25619	12.5	6.25	6.25	3.13	3.13

Medium : Heart infusion broth (Eiken)

* : Inoculum size: cells/ml

Table 13 Effect of human serum on antibacterial activity of 6059-S by agar dilution method

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)					
	10 ⁶ cells/ml			10 ⁸ cells/ml		
	0%	10%	50%	0%	10%	50%
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	6.25	6.25	6.25	6.25	12.5	12.5
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2
<i>K. pneumoniae</i> SRL-1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2
<i>P. mirabilis</i> PR-4	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.39
<i>P. vulgaris</i> CN-329	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.39
<i>E. cloacae</i> 233	0.1	0.2	0.1	0.39	0.39	0.39
<i>S. marcescens</i> ATCC 13880	0.78	0.39	0.39	0.78	0.78	0.39
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 25619	6.25	6.25	3.13	25	25	12.5

Medium : Heart infusion agar (Eiken)

Table 14 Effect of human serum on antibacterial activity of 6059-S by broth dilution method

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
	0%	10%	50%
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	6.25	6.25	6.25
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.1	0.1	0.1
<i>K. pneumoniae</i> SRL-1	0.05	0.05	0.05
<i>P. mirabilis</i> PR-4	0.1	0.1	N.G*
<i>P. vulgaris</i> CN-329	0.1	0.2	N.G
<i>E. cloacae</i> 233	0.2	0.1	0.1
<i>S. marcescens</i> ATCC 13880	0.2	0.2	0.39
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 25619	3.13	6.25	6.25

Medium : Heart infusion broth (Eiken)

Inoculum size : 10⁵ cells/ml

* : No growth

tion 法で 6059-S の MIC 値を測定した。培地 pH が 6.0~8.0 では、各試験菌に対する MIC 値の変動は 2 倍以内に収まり、有意の差は認めなかったが、pH 5.0 では、*S. aureus*、*K. pneumoniae*、*P. aeruginosa* の 3 菌種で正常な発育が抑制され、活性の増強がみられた。*E. cloacae*、*S. marcescens* では逆に活性低下を示した。

(c) 接種菌量の影響 (Table 11, 12)

Agar dilution 法では 10⁹~10⁴ cells/ml、Broth dilution 法では 10⁶~10² cells/ml で 6059-S の MIC 値を測定した。MIC 値の変動は一般に 2 倍以内に収まっているが、*E. cloacae*、*S. marcescens*、*P. aeruginosa* で 4~8 倍の変動を認めた。これらの菌種では、すでに前述した臨床分離株の感受性分布において、接種菌量によ

り MIC 値の変動する性質を認めている。

(d) 人血清添加の影響 (Table 13, 14)

人血清を 10% および 50% 添加した HI 培地を用いて、Agar dilution 法および Broth dilution 法で 6059-S の MIC 値を測定した。Broth dilution 法で 50% 添加すると *Proteus* sp. の発育が阻害された。各試験菌に対して、人血漿を 50% に上げて MIC 値の変動は 2 倍以内に収まり、有意の差は認めなかった。

4. 殺菌作用

(a) 生菌数変化による殺菌作用

HI broth に培養した対数増殖期の *E. coli* NIHJ JC-2、*S. marcescens* ATCC 13880 および *P. aeruginosa* PS-24 に対する殺菌作用を、生菌数の経時変化を測定す

ることにより調べた。とくにことわらない場合、静置培養下に測定したが、*E. coli* については振とう培養したときの生菌数変化もあわせて検討した。

1) *E. coli* NIHJ JC-2

初菌数 10^6 cells/ml に作用させた時の、生菌数変化を Fig. 46 に示した。6059-S の 0.1 $\mu\text{g/ml}$ で生菌数は低下したが、0.1 および 0.2 $\mu\text{g/ml}$ では 4 時間以後に再増殖を始めた。0.39 $\mu\text{g/ml}$ 以上では生菌数は減少

し続け、24 時間後には 10^2 cells/ml まで低下した。CEZ は 1.56 $\mu\text{g/ml}$ では 6 時間まで静菌的であり、殺菌作用は 3.13 $\mu\text{g/ml}$ でみられるが、再増殖は起きなかった。この killing curve から、作用 2 時間後における作用濃度と殺菌率の関係をプロットして Fig. 48 に示した。各試験薬剤の殺菌活性を比較すると、6059-S の活性の強さは CTX の約 1/4 であるが、CTM と同等、CMD の 2 倍、CMZ の 4 倍、CEZ の 16 倍と考えら

Fig. 46 Bactericidal activity of 6059-S, CEZ and CMZ on *E. coli* NIHJ JC-2

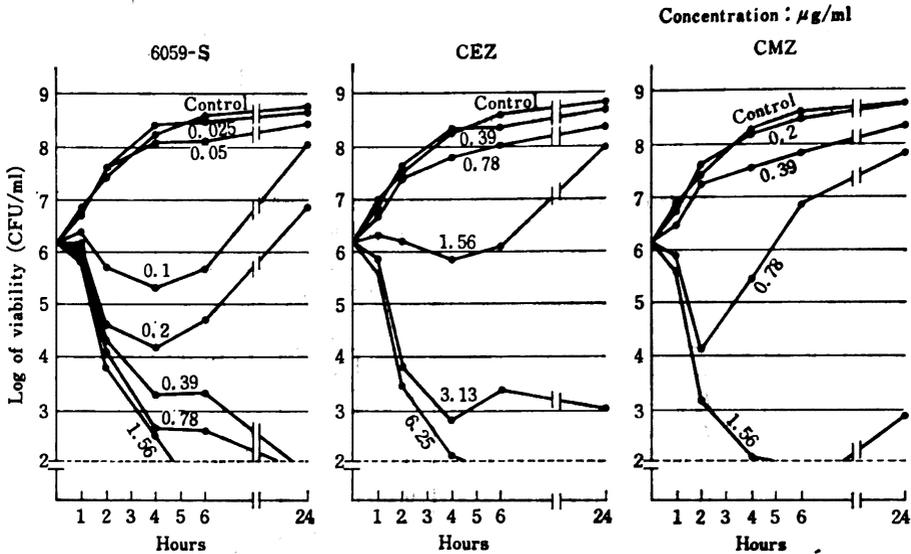


Fig. 47 Bactericidal activity of 6059-S, CEZ and CMZ on *E. coli* NIHJ C-2

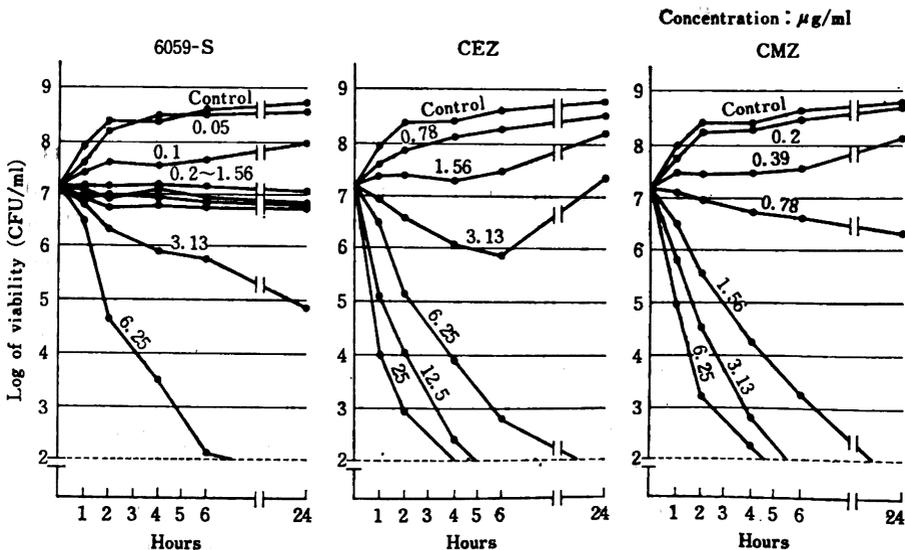


Fig. 48 Bactericidal action on *E. coli*

Organism : *E. coli* NIHJ JC-2
 Inoculum size: 1.5×10^8 CFU/ml
 Contact time : 2 hours

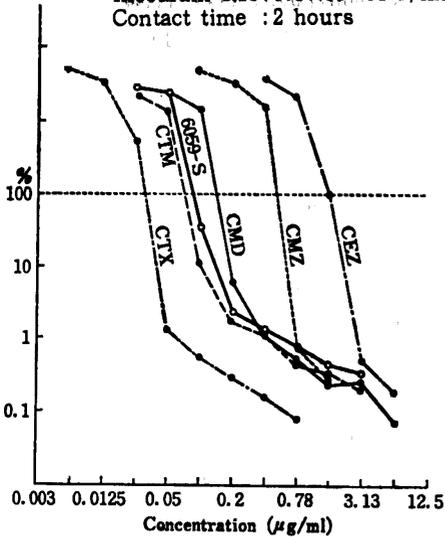


Fig. 49 Bactericidal action on *E. coli*

Organism ; *E. coli* NIHJ JC-2
 Inoculum size; 1.5×10^7 CFU/ml
 Contact time ; 2 hours

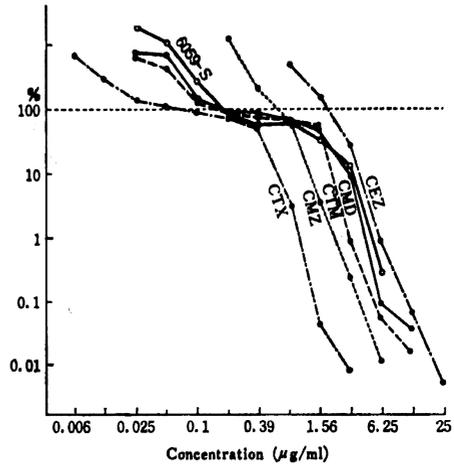
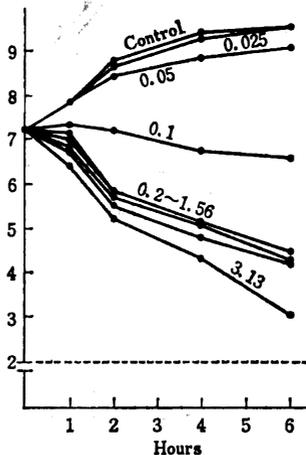
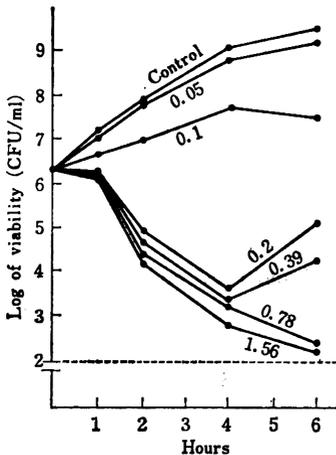


Fig. 50 Bactericidal activity of 6059-S on *E. coli* NIHJ JC-2

Condition : Shaking culture
 Medium : Heart infusion broth
 Concentration : µg/ml



れる。

初菌数を 10 倍増やして 10^7 cells/ml に作用させた場合 (Fig. 47), 6059-S が生菌数を低下させる最小濃度は $3.13 \mu\text{g/ml}$ に上昇し, 殺菌作用は初菌数に大きく影響されることを示した。0.2~1.56 $\mu\text{g/ml}$ 濃度域では, 少なくとも 24 時間まで生菌数の有意の増減がなく, この時, 作用菌は filament 状に伸張した形態を呈した。このように, 生菌数に有意の変化を示さない範囲を仮に「静菌濃度域」として, これに注目して他薬と比較する

と, このような現象は 6059-S に特有の性質ではなく, 後述する作用菌の形態変化の観察で, 広い濃度域にわたって filament を形成する試験薬に共通して認められた。すなわち, 作用 2 時間後の殺菌率と作用濃度の関係図を Fig. 49 に示したように, CTX は 0.025~0.39 $\mu\text{g/ml}$, CTM, CMD では 0.1~1.56 $\mu\text{g/ml}$ で静菌濃度域が認められた。これらの試験薬は, Agar dilution 法の 10^6 cells/ml 接種の MIC 値の 8~32 倍高い濃度まで殺菌することができなかった。これらの試験

薬に比べると、CMZ, CEZ は、殺菌濃度は高くなるが、静菌濃度域が極めて狭く、初菌数が 10^7 cells/ml でも、 10^6 cells/ml の場合とほとんど変わらない殺菌作用を示した。

次に、振とう培養条件下で *E. coli* NIHJ JC-2 株に 6059-S を作用させて生菌数変化を測定した (Fig. 50)。振とう培養下では、初菌数にかかわらず生菌数は顕著に低下し、前述の静置培養下でみられた作用と相違した。すなわち、静置培養条件でみられた静菌濃度域 0.2

~1.56 $\mu\text{g/ml}$ でも振とうすると 2 時間で 90%、4 時間で 99% の強い殺菌率を与えた。

2) *S. marcescens* ATCC 13880

6059-S, CMZ の 2 試験薬を初菌数 10^6 cells/ml に作用させた時の生菌数変化を Fig. 51 に示した。6059-S では 0.2 $\mu\text{g/ml}$ の低濃度から生菌数は低下し、CMZ の 3.13~6.25 $\mu\text{g/ml}$ に比べて 1/16~1/32 低い濃度から殺菌作用を示した。6059-S で、6 時間後 99% 殺菌率を与える濃度 0.39~0.78 $\mu\text{g/ml}$ は、CMZ の 50 $\mu\text{g/ml}$

Fig. 51 Bactericidal activity of 6059-S and CMZ on *S. marcescens* ATCC 13880

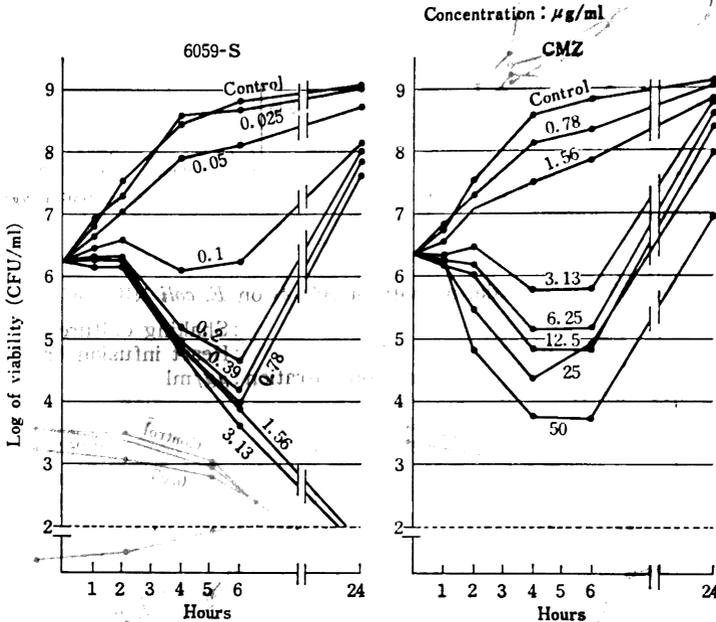


Fig. 52 Bactericidal activity of 6059-S, SBPC and PIPC on *P. aeruginosa* Ps-24

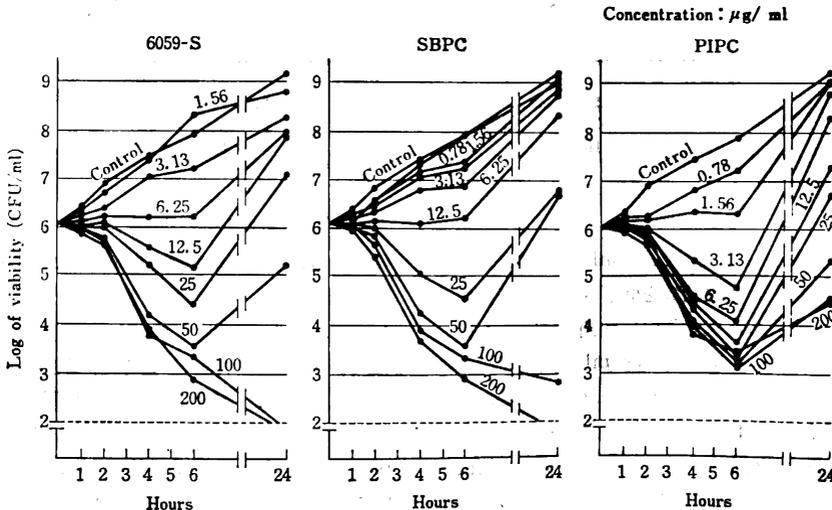


Fig. 53 Time course of MBC against clinical isolates of *E. coli*

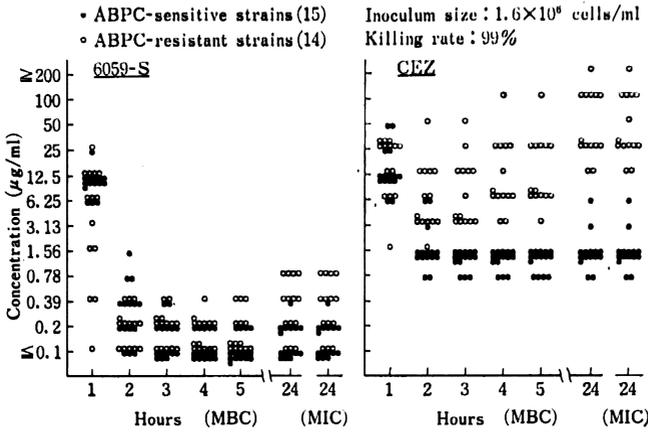
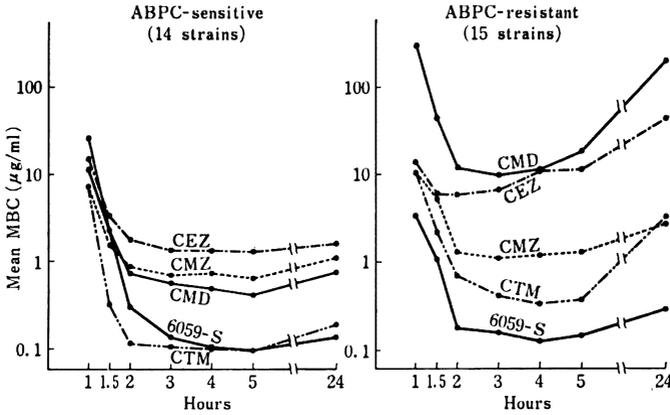


Fig. 54 Time course of mean MBC values against ABPC-sensitive and resistant *E. coli*



ml に比べて $1/63 \sim 1/125$ 低い濃度である。一方、CMZ は $50 \mu\text{g/ml}$ の作用でも再増殖を示すのに対し、6059-S は $1.56 \mu\text{g/ml}$ で 24 時間まで再増殖は認められなかった。

3) *P. aeruginosa* PS-24

6059-S, SBPC, PIPC の 3 剤を初菌数 10^6 cells/ml に作用させた時の生菌数変化を Fig. 52 に示した。これらは、Agar dilution 法の $1/2$ MIC に相当する $12.5 \mu\text{g/ml}$, $25 \mu\text{g/ml}$, $3.13 \mu\text{g/ml}$ で、それぞれ生菌数は低下した。6059-S の 6 時間後 99% 殺菌率を示す濃度は $50 \mu\text{g/ml}$ となり、SBPC と同等であるが、これは PIPC の $6.25 \mu\text{g/ml}$ に比べて 8 倍高い濃度である。24 時間後、6059-S と SBPC は $100 \mu\text{g/ml}$ の作用で再増殖はみられず、99.9% 以上の殺菌率を示すのに対し、PIPC は $200 \mu\text{g/ml}$ の作用でも再増殖がみられた。

(b) MBC の経時変化

ABPC 感性菌 (MIC < $6.25 \mu\text{g/ml}$) と耐性菌 (MIC

Fig. 55 Time course of mean MBC values against clinical isolates of *E. coli* (15 strains)

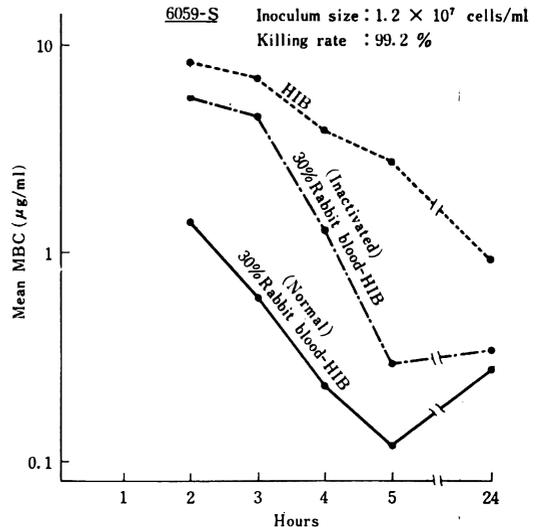
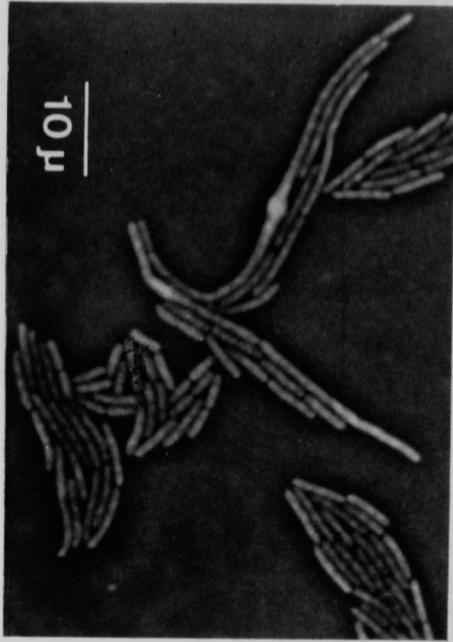


Fig. 56 Phase contrast micrographs of *E. coli* NIHJ JC 2
at 2 hours after treatment with 6059 S

Concentration: $\mu\text{g/ml}$

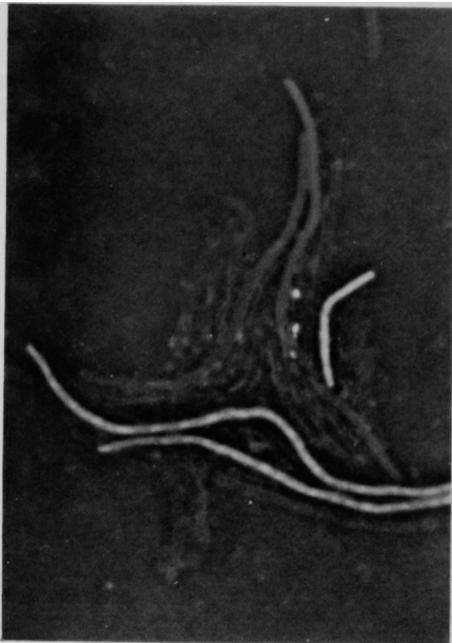
0.05



0.39



12.5



25.



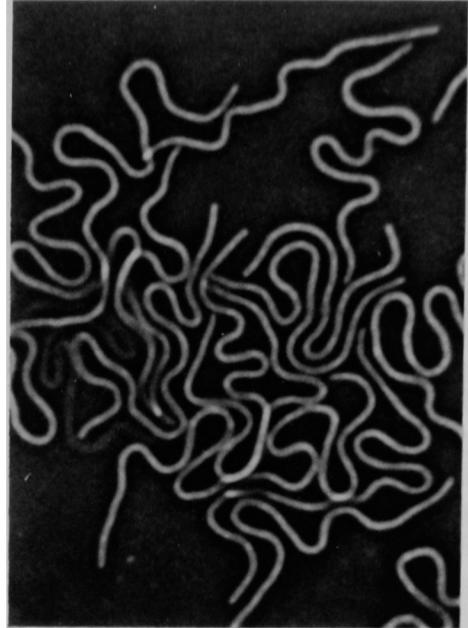
Fig. 57 Phase contrast micrographs of *K. pneumoniae* SRI. 1 at 2 hours after treatment with 6059 S

Concentration ; $\mu\text{g/ml}$

0.1



3.1



25.



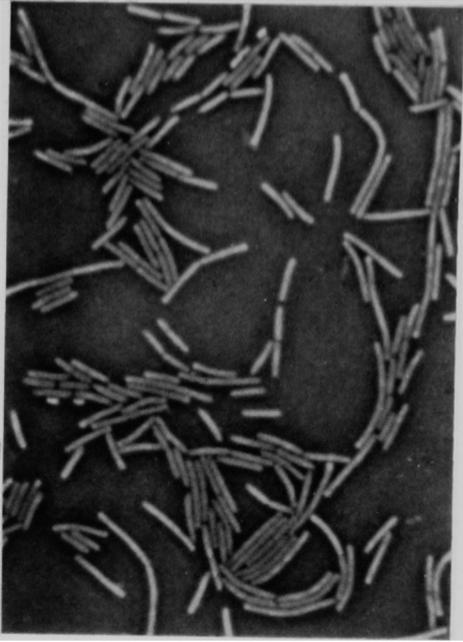
50.



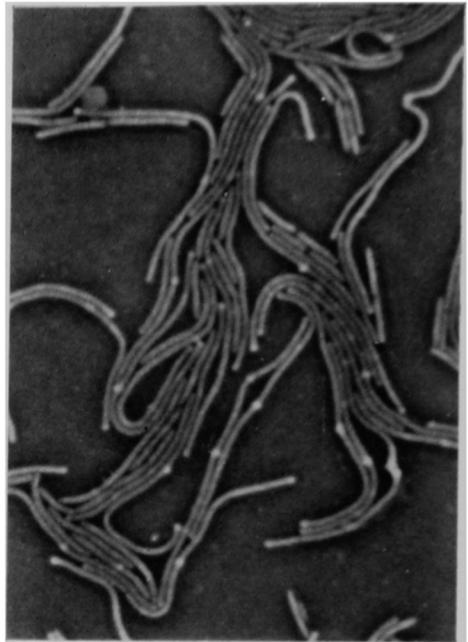
Fig. 58 Phase contrast micrographs of *P. aeruginosa* Ps-24 at 3 hours after treatment with 6059-S

Concentration ; $\mu\text{g/ml}$

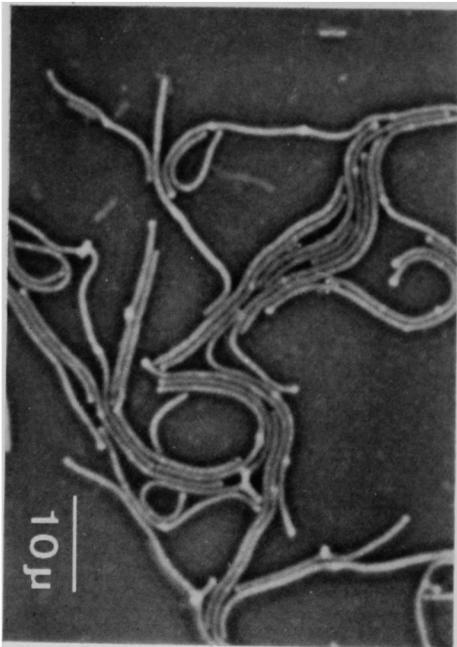
0.4



3.1



50.



200.



>100 µg/ml) を含む臨床分離大腸菌 29 株に対する 6059-S の MBC 値を、作用時間を変えて測定した (Fig. 53)。大腸菌 29 株に対する 6059-S の MIC 値は $\leq 0.1 \sim 0.78$ µg/ml に分布し、ABPC に対する感受性にはほとんど影響されなかった。一方、CEZ は ABPC とある程度の交差を示し、ABPC 感受性菌で 0.78~6.25 µg/ml 耐性菌で 12.5~>200 µg/ml に MIC が分布した。平均殺菌率 99% を示す 6059-S の MBC 値は 2~3 時間で MIC 値と同等の濃度に分布し、ABPC 感受性の差にほとんどかかわりなく同等の殺菌活性を示した。CEZ は、ABPC 感受性菌に対しては、作用 2 時間で MBC 値が 1.56 µg/ml に達し、MIC 値と一致した。しかしながら、耐性菌に対する CEZ の MBC 値は 2 時間で、1.56 µg/ml~50 µg/ml に分布し、経時的に増加する傾向を示した。同種の実験を CMZ, CTM, CMD について行ない、MBC の幾何平均値を ABPC 感受性株と耐性株それぞれについて測定したものを Fig. 54 に示した。感受性株では、6059-S は CTM とともに他薬に比べて低い MBC 値が得られたが、CTM より活性発現がやや遅れる傾向を示した。耐性菌では、6059-S が最も強く作用し、感受性菌と同等の MBC 変化を示すのに対し、CMD, CEZ は 6059-S より 100 倍、CMZ は 10 倍、CTM は 2 倍高い MBC 値を示した。耐性菌では、各試験薬の短時間の MBC 値は、MIC 値に比べて低くなる傾向が認められながら、6059-S は CMZ とともに 2 倍程度の低下にとどまり、経時変化は小さかった。

6059-S の殺菌作用に対する補体の作用を調べるために、家兔新鮮血液添加培地において MBC の経時変化を調べた。臨床分離大腸菌に対する 6059-S の MBC 値を、前述の実験 (Fig. 53) より高い初菌数 10^7 cells/ml を用いて、新鮮血液、非働化血液および血液無添加で検討し、幾何平均した値を Fig. 55 に示した。血液無添加の HIB における MBC 値は、2 時間で 8.3 µg/ml、5 時間で 2.8 µg/ml を示し、先の 10^6 cells/ml 接種に比べて 50~100 倍高い濃度であり、初菌数による影響は生菌数変化の成績 (Fig. 47) と良く一致している。新鮮血液を 30% 添加すると、2 時間で 1.4 µg/ml、5 時間では 0.12 µg/ml まで低下し、新鮮血液を 30% 添加すると、無添加に比べて $1/10 \sim 1/20$ 低い値を示し、殺菌作用の増強が認められた。しかしながら、非働化血液の添加では、その発現が遅れる傾向を示し、殺菌活性の亢進は易熱性の補体因子によるものと考えられる。

5. 作用菌の形態観察

6059-S の 2 倍希釈系列濃度を含む HIA 平板上に、対数増殖期の *E. coli* NIHJ JC-2, *K. pneumoniae* SRL-1 および *P. aeruginosa* PS-24 を作用させ、2 時間 (*P.*

aeruginosa は 3 時間) と 5 時間後に形態変化を位相差顕微鏡下で観察した。Fig. 56, 57, 58 に示した形態変化の特徴から filament 形成濃度、溶菌が始まる濃度および filament 像がなくなり溶菌像のみを認める濃度の 3 段階に分けて、作用発現濃度と時間の関係を帯グラフ

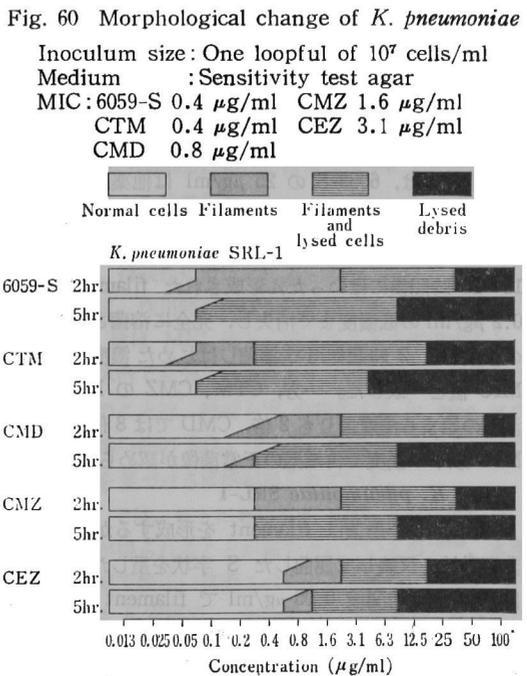
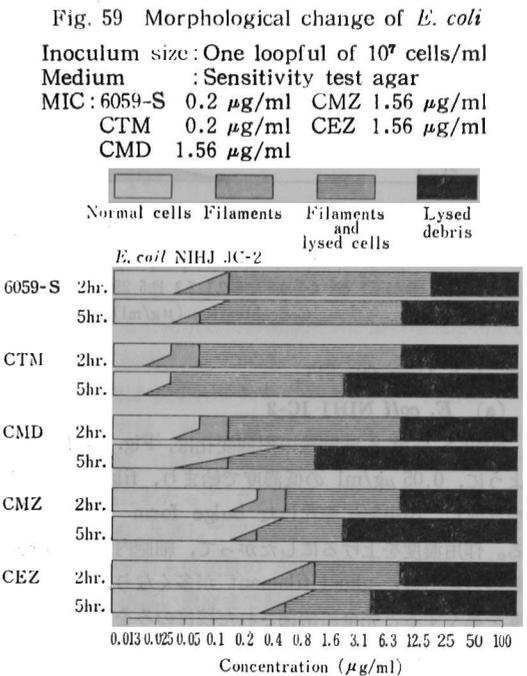
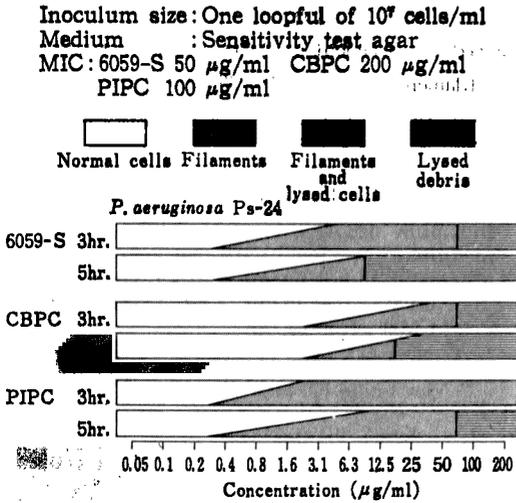


Fig. 61 Morphological change of *P. aeruginosa*

に示した (Fig. 59~61).

(a) *E. coli* NIHJ JC-2

6059-S 作用 2 時間後の形態変化は, Fig. 56 に示すように, 0.05 $\mu\text{g/ml}$ の低濃度で始まり, filament cell を形成し, 中央部に膨化した bulge form が観察される。作用濃度を上げるにしたがって, 細胞内容が bulge 部から漏出した ghost filament が多くなり, さらに濃度を高くすると完全に溶菌された残滓のみを認めるようになる。これらの変化があらわれる薬剤濃度の推移を Fig. 59 に示した。作用 2 時間後, 6059-S の filament を形成し始める濃度 0.05 $\mu\text{g/ml}$ は, CTM の 0.025 $\mu\text{g/ml}$ より 2 倍高いが, CMD と同等であり, CMZ の 1/4, CEZ の 1/8 の低濃度であった。また, 溶菌の始まる濃度は, 各試験薬ともに filament form を作る 4 倍高い濃度で観察された。しかしながら, 溶菌像のみを認める濃度では, 6059-S の 25 $\mu\text{g/ml}$ は他薬に比べて僅かに高く, 5 時間作用時ではこの差が大きくなる傾向がみられた。しかし, 6059-S の作用はその後も進行して, 18~20 時間後にはいったん形成された filament 像が 0.2 $\mu\text{g/ml}$ の低濃度まで消失し, 完全に溶菌された。この濃度は, 2 時間作用で溶菌しはじめた濃度であり, MIC 値と一致した。一方, CTM, CMZ の MIC 値は溶菌の始まる濃度よりも 2 倍, CMD では 8 倍上昇し, MIC 以下の濃度で再増殖の正常菌像が認められた。

(b) *K. pneumoniae* SRL-1

6059-S の作用菌は filament を形成するが, 本菌の非運動性を反映して屈曲した S 字状を呈した。6059-S は, 作用 2 時間後 0.05 $\mu\text{g/ml}$ で filament を形成し, 3.13 $\mu\text{g/ml}$ で溶菌が始まり, 50 $\mu\text{g/ml}$ で完全に溶菌した残滓のみを認めた (Fig. 57)。6059-S 作用 2 時間

後の filament 形成開始濃度は, CTM と同等で最も低く, CMD, CMZ, CEZ に比べて, それぞれ 1/4, 1/8, 1/16 低濃度であった。溶菌開始濃度でみると, 2 時間後の作用では CTM より劣るものの, 他剤と同等である。5 時間作用後, 溶菌濃度は低下して CTM と同等になり, 他薬より明らかにすぐれた溶菌効果を示した (Fig. 60)。

(c) *P. aeruginosa* PS-24

6059-S 作用菌の形態変化は Fig. 58 に示すように, filament が伸張するに従って中央部と両端が膨化して, 次いで, 中央部の bulge から spheroplast 化して溶菌に移行する順序をとった。0.39 $\mu\text{g/ml}$ の低濃度で filament が観察されるが, 溶菌は 50 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で始まる。しかし, 200 $\mu\text{g/ml}$ の作用でも溶菌しない filament 像が残った。これらの変化があらわれる薬剤濃度の推移を Fig. 61 に示した。6059-S は, filament を形成し始める濃度では, PIPC と同等で, CBPC より 8 倍優れ, 溶菌が始まる濃度では, CBPC と同等で, PIPC より 4 倍以上優れていた。

Ⅷ. 考 察

近年, 抗菌スペクトルの拡大を目標に, 抗菌力が増強された新しい Cephalosporin 系誘導体が種々報告されている。CMD, CTM, CXM 等は, 従来の CET, CEZ が弱点とする腸内細菌のうち, indole positive *Proteus* 群, *Enterobacter* 等に抗菌力を拡大した。しかしながら, スペクトルは未だ完全に広範囲でなく, 一部の β -lactamase 産生の *Enterobacteriaceae* は, なお抵抗性を有し, 接種菌量の影響を受けやすい。また, CFX, CMZ 等の Cephamycin 系は, β -lactamase に抵抗性であり, *Serratia* 等にも抗菌力を有するが, 抗菌力を示す濃度は, それほど低下していない。以上の β -lactam 抗生物質は *P. aeruginosa* 等のブドウ糖非酵菌種にほとんど抗菌力を示さず, いまだ, 抗菌スペクトルは不完全である。

6059-S は, これらの Cephalosporin 剤と異なり, 耐性菌を含めて多くの *Enterobacteriaceae* に, *E. coli* や *K. pneumoniae* に対するのと同程度に著しい抗菌力を示し, スペクトルを *Pseudomonas* にまで拡大した抗生物質として特徴づけられた。本薬のグラム陽性菌に対する抗菌力は, 従来の Cephalosporin 剤よりも劣るが, グラム陰性菌には CTX と同等か, もしくは僅かに劣る程度で, 他薬より著しく強い抗菌力を示し, *P. aeruginosa* に対しても抗菌力が認められた。同様のことは, 諸家の成績にも確認されている^{5,7,10-12}。また, indole positive *Proteus* 群に対しては CTX よりも優れた成績が得られた。

6059-S に対する各種の臨床分離株 (1,068株) に対する感受性分布の検討では、グラム陽性菌に対しては概してその抗菌力は弱く、低菌量接種の MIC 値では *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* で 90% 以上の株が 1.56 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上、*S. aureus* で 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を示した。一方、グラム陰性菌の *E. coli*, *Klebsiella* sp., *Proteus* sp. は被検株の 90% 以上が 0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下、*Enterobacter* sp., *C. freundii*, *H. influenzae* は 70% 以上が 0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の MIC 値を示した。しかし、*S. marcescens*, *P. aeruginosa* の 70% 以上を発育阻止するには、それぞれ 12.5, 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を必要とした。

S. marcescens のうち、6059-S に 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の MIC を示した 58 株中 40 株の多くは、最近分離した尿路感染症患者由来の菌株であり、1976 年以前の分離株では 70% 以上が 0.78 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の MIC 値を示していた。6059-S を効果的に加水分解する酵素がいずれの菌種にもみつかっていない¹¹⁾ ことを考慮すると、これらの感受性の低い菌種の耐性には β -lactamase 以外の要因が関与しており、非透過型の耐性菌と推測される。

6059-S の抗菌力はいずれの菌種においても接種菌量の影響を受けにくく、高菌量の MIC 値は低菌量に比べ 2~4 倍の上昇にすぎなかった。PC-ase に比較的不安定な CMD などは、*E. coli*, *Klebsiella* などに菌量の影響をうけやすい株が多く、PC-ase 産生がこれに関与している¹⁰⁾。6059-S は各種の β -lactamase に極めて安定な性質を有しており、これが菌量の影響を受けにくい性質と抗菌スペクトルの拡大に反映していると考えられる⁹⁾。このことは、さらに、殺菌作用の実験で、大腸菌に対する MBC 値が ABPC 耐性に影響されないことにも寄与している (Fig. 53)。CMD, CTM および CEZ では、ABPC 耐性菌に対して MIC 値のみならず MBC 値も有意に高かった。ここに用いた ABPC 耐性大腸菌は R-plasmid 由来の PC-ase 型の β -lactamase を産生している¹²⁾。6059-S は、CMZ と同様に PC-ase によって加水分解されず、この安定な性質が ABPC 耐性菌にも強い殺菌活性を与えていると考えられる。

6059-S の強い殺菌活性は生菌数変化の実験からも明らかとなった。初菌数を 10^6 cells/ml にした *E. coli* NIHJ JC-2 株に対して、6059-S の Agar dilution の MIC 濃度は、4 時間まで生菌数を低下させた (Fig. 46)。また、*S. marcescens* (Fig. 51), *P. aeruginosa* (Fig. 52) では 1/2 MIC 濃度で生菌数の低下が認められた。4 MIC 濃度にすれば、いずれの菌種に対しても再増殖はみられなかった。このとき、*E. coli* NIHJ JC-2 株に対する MIC 値は、Agar dilution (0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) と殺菌作用を調べた Broth dilution (0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$) とで 4 倍の開きが認められるが、この現象は他剤についても同様に

認められ、*E. coli* に強い抗菌力を示す CTX や CTM でも 4 倍の差がみられた。

しかしながら、初菌数を高くして 10^7 cells/ml の *E. coli* に 6059-S を作用させると、殺菌活性は著しく低下した。すなわち、0.2~1.56 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の幅広い静菌濃度域を示し、3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上で始めて生菌数の低下がみられた (Fig. 47)。6059-S を作用させたときの作用菌の形態変化を観察すると、低濃度域で filament を形成した後、徐々に溶菌し、その濃度は MIC 値に近似した。この実験から、2 時間の観察で溶菌の始まる濃度 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ は MIC 値に一致し、この濃度では 24 時間まで再増殖を起こさなかった。

BARZA⁹⁾ や Neu¹⁰⁾ によると、6059-S の MIC 値は接種菌量を 10^7 cells/ml 以上にすると、急上昇することを指摘している。彼等は Broth dilution 法で測定しており、ここに示した静菌濃度域が菌の増殖と判定し得ることに起因するものである。

殺菌作用は初菌数に大きく影響され、初菌数 10^7 cells/ml では、幅広い濃度で静菌的に作用する現象は CTX, CTM, CMD でも認められ、*E. coli* 形態観察で広い濃度域にわたって filament 像がみられる Cephalosporin 剤に共通して認められる特徴と考えられる。これらは、いずれも低菌量の Agar dilution による MIC 値より 32 倍高い濃度まで殺菌活性を示さないが、これに比べて MIC 値の比較的高い CEZ や CMZ は、この静菌濃度域が観察されず、2~4 MIC 濃度で殺菌的に作用した。Fig. 55 に示した実験から、 10^7 cells/ml 菌に作用したときの MBC 値は 10^6 cells/ml 菌に比べて明らかに上昇したが、新鮮ウサギ血液を 30% 添加することにより高菌量接種条件で現われる静菌濃度域はなくなり、低菌量の場合と同等の殺菌力に復した。Spheroplast 様の filament form は補体因子により溶菌が促進されることを示唆した。

6059-S は動物において CEZ と同程度の高い血中濃度を与え、持続性に優れた性質を有している¹⁶⁾。先に述べたように、作用時間が短い時点では 99% を殺菌する MBC 値は MIC 値と一致することを考慮すると、本剤は生体内で十分な殺菌濃度を持続することが示唆される。このことは、松浦ら¹⁷⁾ の報告する *in vivo* マウス実験の感染症の ED₅₀ 値から、6059-S による治療効果にそれを裏づける成績が得られている。

6059-S では、ヒトにおいても CEZ と同程度の高い血中濃度が得られることが報告されているので¹⁸⁾、本薬が低濃度域で幅広い抗菌スペクトルを持ち、各種の β -lactamase に安定で、かつ短い作用時間でみられた MIC 値に相当する低濃度の殺菌効果は、ヒトの感染症の治療上優れた成績を与える要因となることが期待され

る。

文 献

- 1) NARISADA, M.; T. YOSHIDA, H. ONOUE, M. OHTANI, T. OKADA, T. TSUJI, I. KIKKAWA, N. HAGA, H. SATOH, H. ITANI & W. NAGATA: Synthetic studies on β -lactam antibiotics. Part 10. Synthesis of 7 β -[2-carboxy-2-(4-hydroxyphenyl)acetamido]-7 α -methoxy-3-(((1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thio)-methyl)-1-oxa-1-dethia-3-cephem-4-carboxylic acid disodium salt (6059-S) and its related 1-oxacephems. J. Med. Chem. 22:757~759, 1979
- 2) NAGATA, W.: Straightforward Synthesis of 7 α -methoxy-1-oxacephems from penicillins. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B 289:225~230, 1980
- 3) NARISADA, M.; H. ONOUE & W. NAGATA: Synthetic studies on β -lactam antibiotics part 5, A synthesis of 7 β -acylamino-3-methyl-1-oxa-1-dethia-3-cephem-4-carboxylic acids. Heterocycles 7:839~849, 1977
- 4) YOSHIDA, T.: Structural requirements for antibacterial activity and β -lactamase stability of 7 β -arylmalonyl-amino-7 α -methoxy-1-oxacephems. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B 289:231~237, 1980
- 5) YOSHIDA, T.; M. NARISADA, S. MATSUURA, W. NAGATA & S. KUWAHARA: 6059-S, a new parenterally active 1-oxa-cephalosporin (1) Microbiological studies. 18th ICAAC, Oct. 2, 1978 (Atlanta)
- 6) BARZA, M.; F. P. TALLY, N. V. JACOBUS & S. L. GORBACH: *In vitro* activity of LY 127935. Antimicrob. Agents & Chemoth. 16:281~292, 1979
- 7) TRAGAR, G. M.; G. W. WHITE, V. M. ZIMELIS & A. P. PANWALKER: LY-127935: a novel beta-lactam antibiotic with unusual antibacterial activity. Antimicrob. Agents & Chemoth. 16:297~300, 1979
- 8) 真山三賀雄, 永田 弘, 大瀬満寿代: 6059-S の嫌気性菌に対する *in vitro* 抗菌作用. Chemotherapy 28(S-7):189~192, 1980
- 9) MIC 測定法改訂委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改訂について. Chemotherapy 22:1126~1128, 1974
- 10) NEU, H. C.; N. ASWAPOKKE, K. P. FU & P. ASWAPOKKE: Antibacterial activity of a new 1-oxa cephalosporin compared with that of other β -lactam compounds. Antimicrob. Agents & Chemoth. 16:141~149, 1979
- 11) WISE, R.; J. M. ANDREWS & K. A. BEDFORD: LY 127935, a novel oxa β -lactam: an *in vitro* comparison with other β -lactam antibiotics. Antimicrob. Agents & Chemoth. 16:341~345, 1979
- 12) FASS, R. J.: *In vitro* activity of LY 127935. Antimicrob. Agents & Chemoth. 16:502~509, 1979
- 13) YOSHIDA, T.; S. MATSUURA, M. MATYAMA, Y. KAMEDA & S. KUWAHARA: Moxalactam (6059-S), a novel 1-oxa- β -lactam with an expanded antibacterial spectrum: Laboratory evaluation. Antimicrob. Agents & Chemoth. 17 (3):302~312, 1980
- 14) 吉田 正, 元川清司, 龜田康雄, 村上和久, 中野雅夫: Cefamandole の *in vitro* 抗菌作用. Chemotherapy 27(S-5):70~106, 1979
- 15) 村上和久, 吉田 正: Oxacephem 系抗生物質 6059-S のグラム陰性菌由来 β -lactamase に対する安定性とその抗菌活性に及ぼす影響. Chemotherapy 28(S-7):132~138, 1980
- 16) 吉田 正, 木村靖雄, 榎野義博: Oxacephem 系抗生物質 6059 S の各種動物における体内動態. Chemotherapy 28 (S-7):194~206, 1980
- 17) 松浦真三, 三和秀明, 深尾 孝: 6059-S の *in vivo* 抗菌作用. Chemotherapy 28 (S-7):171~177, 1980
- 18) KURIHARA, J.; K. MATSUMOTO, Y. UZUKA, H. SHISHIDO, T. NAGATAKE, H. YAMADA, T. YOSHIDA, T. OGUMA, Y. KIMURA & Y. TOCHINO: Human pharmacokinetics of 6059-S. 19th ICAAC, Oct. 1, 1979 (Boston)

IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF 6059-S, A NEW OXACEPHEM DERIVATIVE ANTIBIOTIC

TADASHI YOSHIDA, YASUO KAMEDA and KIYOSHI MOTOKAWA
Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.

6059-S is a new semisynthetic oxacephem derivative antibiotic for parenteral use, which was developed from a unique chemical structure substituted with oxygen atom in place of sulphur in the cephalosporin nucleus. It was highly active against a broad range of gram-negative microorganisms, including those resistant to other β -lactam antibiotics. Moreover, it had widely expanded antibacterial spectra against *Enterobacteriaceae* and glucose-nonfermentative bacteria which included *Haemophilus influenzae*, indole positive *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia marcescens* and *Pseudomonas aeruginosa*. When the susceptibility of 1,068 clinical isolates of pathogenic bacteria was tested by the agar dilution method, and compared with those of cefazolin (CEZ), cefamandole (CMD), cefmetazole (CMZ), cefotiam (CTM), cefotaxime (CTX), sulbenicillin (SBPC) and piperacillin (PIPC). A majority of the tested strains of gram positive cocci other than *Enterococci* were inhibited at below 6.25 $\mu\text{g/ml}$ of 6059-S. Most of the *Enterobacteriaceae* including the above named bacilli were very susceptible to 6059-S and the mode of MIC values found to be less than 0.39 $\mu\text{g/ml}$. Against *Pseudomonas aeruginosa*, the median MIC of 6059-S was 25 $\mu\text{g/ml}$.

Its activity appeared to be independent of inoculum size and addition of serum protein. Morphological response of the exposed bacterial cells revealed that the bacteriolytic effect of 6059-S was initiated by a concentration equivalent to the minimal inhibitory concentration.

6059-S was markedly bactericidal to both β -lactamase-producing and -nonproducing strains of *Escherichia coli*; this was well reflected by its extraordinary stability to microbial β -lactamase hydrolysis. Bactericidal action of 6059-S tended to be quenched by increasing bacterial density, but this effect was easily restored by complement factors in fresh serum.