Enterobacter cloacae に対する β-lactam 剤の抗菌作用 第二報

Penicillin 系薬剤の抗菌活性と β-lactamase 誘導

南新三郎・四辻 彰・荒木春美・中島博美
渡辺泰雄・保田 隆・才川 勇
富山化学工業株式会社綜合研究所

三 橋 進
群馬大学医学部微生物学教室

(昭和 58 年 9 月 12 日受付)

E. cloacae に対する Penicillin 系薬剤の抗菌活性, Cephalosporinase (CSase) 誘導活性, CSase に対する安定性および親和性について検討を加えた。

Piperacillin (PIPC), Mezlocillin (MZPC), Apalcillin (APPC) は低い CSase 誘導活性を有し, かつ, 他剤に比べ高い抗菌活性を示した。一方, Ampicillin (ABPC), Carbenicillin (CBPC), Sulbenicillin(SBPC) や Penicillin G(PCG) は比較的よく CSase を誘導し, 抗菌活性は前記薬剤に比べ劣っていた。

ABPC, PIPC, APPC, MZPC の4薬剤は *E. cloacae* 産生の CSase に対して類似した安定性および親和性を示した。一方, CBPC, SBPC, Methicillin (DMPPC) はこれら4剤に比べ, より安定で比較的高い親和性を示した。

CSase を誘導的に産生する株の培養液中では CSase 誘導活性の低い PIPC, APPC, MZPC, DMPPC が安定に存在し, 次いで CSase に加水分解されにくいが誘導活性の高い CBPC, SBPC が安定であった。誘導活性も高く CSase に比較的不安定な PCG や ABPC は速やかに不活化された。この不活化は CSase による加水分解に基づくと考えられた。またこの培養液中での安定性と MIC 値とは比較的良く相関していた。

以上の結果から, PIPC, MZPC, APPC の *E. cloacae* に対する高い抗菌活性の一因としてその低い CSase 誘導活性が考えられた。

グラム陽性菌において Penicillinase が Penicillin によって誘導されることが見出されて以来[1], グラム陰性菌の多くの菌種でも β-lactamase が β-lactam 剤で誘導されることが明らかにされている[2~5]。腸内細菌科に属する菌種の中にも β-lactam 剤によって β-lactamase が誘導されるものがあり, そのすべては Cephalosporinase (CSase) タイプである[2,3]。この誘導型の CSase の産生は耐性と密接な関係にあることはすでに良く知られているが, いまだ不明な点が多々あるようである[2,3]。さらに最近 β-lactam 剤間の拮抗現象が CSase を誘導的に産生している菌種で多く認められ, 拮抗作用に誘導型の CSase の存在が関与していることが指摘されている[6,7]。

我々はすでに前報において誘導型 CSase 産生株である *E. cloacae* を用い, セファロスポリン剤耐性と CSase 誘導活性との関係について検討し, 薬剤のもつ CSase 誘導活性がその薬剤の抗菌力と密接な関係にあることを明らかにした[8]。

今回, Penicillin 系薬剤の CSase 誘導活性, CSase に対する安定性, および抗菌活性についても検討を行ない興味ある知見を得たので報告する。

I. 材料と方法

1. 使用菌株

実験に使用した *E. cloacae* 27 株は臨床材料 (1978~1982 年) より分離された当綜合研究所保存株の中から無作為に選んだ。また, β-lactamase 誘導実験に用いた *E. cloacae* H-27 は β-lactamase 産生を支配する伝達可能なプラスミドを保有せず, ただ1種類の β-lactamase を誘導的に産生する株である。

2. 使用薬剤

Ampicillin (ABPC, 富山化学工業), Apalcillin (APPC, 住友化学工業), Carbenicillin (CBPC, 藤沢薬品工業), Cefazolin (CEZ, 藤沢薬品工業), Cefmetazole (CMZ, 三共), Cephaloridine (CER, 鳥居薬品), Cephalothin (CET, 塩野義製薬), Methicillin (DMPPC, 萬有製薬), Mezlocillin (MZPC, ビーチャム薬品), Penicillin G (PCG, 萬有製薬), Piperacillin (PIPC, 富山化学工業), Sulbenicillin (SBPC, 武田薬品工業) を使用した。なお薬液は用時調製した。

3. *E. cloacae* H-27 産生 CSase の精製

CSase の精製はすでに報告した方法に従って行なった[8,9]。すなわち, CMZ (10 μg/ml) で誘導した *E. cloacae* H-27 の菌体から粗酵素液を得, これを CM-Sephadex カラム (C=50 Pharmacia) を用いて精製した。

4. β-lactamase 活性測定法

β-lactamase 活性の測定は penicillin を基質とする場合はミクロヨード法[10]で行ない, cephalosporin を基質とする場合は UV 法[11]で行なった。なお酵素活性は unit で表わし, 基質濃度 100 μM の時, 30℃, 0.05 M phosphate buffer (pH 7.0) 中で1分間に 1 μmole の基質を分解するのに必要な酵素量を 1 unit とした。

5. β-lactamase の誘導[4]

Brain heart infusion (BHI, Difco) broth で一夜培養した *E. cloacae* H-27 を新鮮な BHI broth に 10% 接種し坂ロフラスコで 37℃, 2時間振盪培養を行ない, この培養液 (1×10^9 cells/ml) をL字管に分注した後, 各薬剤を 1 μg/ml, 10 μg/ml, および 100 μg/ml になるように加えさらに振盪培養を行なった。2時間後, 直ちに培養液を冷却し 4℃, 3,000 rpm, 15 分間の遠心分離により集菌を行なった。菌体は 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) で1回洗浄し, 同 buffer に懸濁した後, 超音波で破砕した (4℃, 1分間)。破砕液を 4℃, 12,000 rpm, 30 分間遠心分離し得られた上清を酵素液とした。蛋白濃度は Lowry 法[12], β-lactamase 活性は CER (100 μM) を基質とし UV 法で測定し, 比活性 (unit/mg of protein) で表示した。また 100 μg/ml 添加時の生菌数変化および薬剤残存活性も同時に測定した。残存活性は各培養液 0.5 ml にメタノールを等量加え遠心上清中の薬剤濃度を Bioassay 法で測定した。

6. *E. cloacae* H-27 培養液中での薬剤の安定性

BHI-broth で一夜培養した *E. cloacae* H-27 を新鮮な BHI-broth に 10% 接種し 37℃ 2時間振盪培養を行なった後, 各薬剤を 50 μg/ml になるように加えてさらに振盪培養を行なった。薬剤添加し, 1, 2, 3, 4 時間後に培養液を 0.5 ml 採取し, 冷却した等量のメタノールを加えて遠心分離し (3,000 rpm, 15 分), 上清中の薬剤濃度を Bioassay 法で測定した。

7. Bioassay 法

ABPC, CBPC および SBPC は *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を, 他の薬剤は *Micrococcus luteus* ATCC 9341 を検定菌とするペーパーディスク法で測定した。標準曲線は 100 μg/ml からの2倍希釈系列を BHI-broth で作製し, これに冷却した等量のメタノールを加えたものを用いた。なおメタノールを除去するためにディスクを 37℃ のフラン器中で 30 分間放置し, その後寒天平板上に張りつけた。

8. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

日本化学療法学会の標準法に準じて行なった[13]。なお接種菌液はペプトン水で一夜培養した菌液を 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) で 100 倍希釈したものを用いた。

II. 実験結果

1. 臨床分離株の薬剤感受性および β-lactamase 産生

E. cloacae 27 株に対する Penicillin 系8薬剤の MIC 分布を累積百分率で示した (Fig. 1)。PIPC および MZPC の2剤は類似した抗菌活性を有し, 共に 3.13 μg/ml で約 50% の菌の発育を阻止し, 比較薬剤中最も強い抗菌力を示した。APPC はこの2剤より約1管程度抗菌力は劣り, 50% 発育阻止濃度はおよそ 6.25 μg/ml であった。CBPC, SBPC はほぼ同程度の抗菌力を示し, APPC より約1管程度, 劣っていた。また ABPC は CBPC や SBPC に比べさらに抗菌力は劣り, MIC 値が 50 μg/ml 以上を示す株が全体の 70% を超えていた。PCG および DMPPC は *E. cloacae* にはほとんど抗菌活性を示さず多くの株が 100 μg/ml 以上の MIC 値を示した。

次に感受性を測定した 27 株の β-lactamase 産生量を

Fig. 1 Antibacterial activity of penicillins against *E. cloacae* (27 strains)

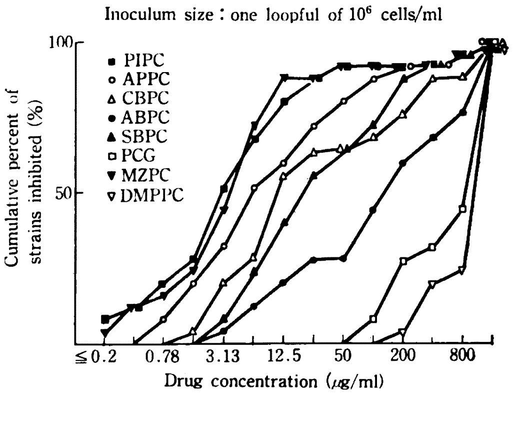


Table 1 β-Lactamase activity of *E.cloacae* isolates (27 strains)

Condition	Numbers of strain producing β-lactamase with specific activity* (unit/mg of protein)*			
	<0.01	0.01~0.10	0.10~1.00	>1.00
Without inducer	6	15	0	6
Induced by CMZ	0	6	12	9

CMZ (10 μg/ml) was added to the culture of *E.cloacae* strains at Mid-log phase (about 10^9 cells/ml), and then the incubation was continued for 2 hr. The β lactamase activity of the sonic extract from cells was determined by spectrophotometric method using CER (100μM) as substrate.

Table 2 Kinetics of hydrolysis of penicillins by the purified CSase from *E.cloacae* H-27

Penicillins	Relative rates[a] of hydrolysis (V_{max},%)	K_i (μM)[b]	V_{max}/K_i	MIC (μg/ml)[c]
Piperacillin	5.0	1.0	5.0	6.25
Apalcillin	2.5	0.8	3.1	25
Mezlocillin	5.0	3.3	1.5	12.5
Ampicillin	5.0	0.6	8.3	1,600
Penicillin G	100	1.3	76.9	>1,600
Carbenicillin	0.5	0.2	2.5	100
Sulbenicillin	<0.05	0.3	<0.2	200
Methicillin	<0.05	0.06	<0.8	1,600
Cephaloridine	2,400 (11.5)[d]	—	—	—

a: Relative rates of hydrolysis are expressed as the percentage of penicillin G, and were determined by microiodometry at 100 μM.
b: K_i values were determined by spectrophotometric method using cephalothin as a substrate.
c: MICs were determined at about 10^4 CFU (one loopful of 10^6 cells/ml).
d: Value in the parenthesis is a specific activity (unit/mg of protein) of the enzyme used.

調べた (Table 1)。Inducer である CMZ を加えないで培養した場合では 27 株中 21 株が 0.1 unit/mg of protein 以下の低い β-lactamase 活性を示し，6株が 1.0 unit/mg of protein 以上であった。この活性の低い 21 株のすべては CMZ 10 μg/ml の添加で最高 150 倍以上の β-lactamase 活性の上昇が認められた。一方，他の 6 株は CMZ 添加によってもその活性に大きな差は認められなかった。この 6 株中 3 株は PIPC, MZPC 等に対して 100 μg/ml 以上の高度耐性であった。

2. CSase に対する安定性および親和性

CM-Sephadex (C=50) カラムによって部分精製した *E.cloacae* H-27 の CSase を用い各薬剤の加水分解速度 (V_{max}) および K_i 値を求め V_{max}/K_i 値を算出した (Table 2)。なお K_i 値は CET を基質として用い LINEWEAVER-BURK plot から求めた。加水分解速度は PCG の値を 100 とした相対値で示し，基質濃度 100 μM の時の加水分解速度を近似的な V_{max} 値とした。

E.cloacae H-27 産生 CSase に対して PCG が最も不安定であり，PIPC, APPC, ABPC, MZPC は PCG より 20 倍から 40 倍程度安定であった。この4剤は CSase による加水分解に対して類似した抵抗性を示した。CBPC は PIPC などよりさらに安定でありその加水分解速度は PIPC などの 1/5~1/10 の値であった。また SBPC, DMPPC の加水分解速度は検出限界以下であり最も安定であった。

PIPC, APPC, ABPC, MZPC, PCG の K_i 値は 0.6~3.3 μM であった。CBPC, SBPC はこれら5剤より親和性はやや高く，その K_i 値は各々 0.2 μM, 0.3 μM であった。DMPPC の K_i 値は試験した Penicillin 系薬剤の中で最も小さく (0.06 μM), 高い親和性を有していた。

各薬剤の V_{max} を，酵素に対する各薬剤の親和性を示す factor(K_m or K_i) で除した値が，耐性レベルと良く相関することが POLLOCK ら[14]によって報告されている

Table 3 Induction of CSase by penicillins in *E.cloacae* H-27

Penicillins	Enzyme activity[a] (unit/ml)			Protein concentration[b] (mg/ml)			Specific activity (unit/mg of protein)		
	1 μg/ml	10 μg/ml	100 μg/ml	1 μg/ml	10 μg/ml	100 μg/ml	1 μg/ml	10 μg/ml	100 μg/ml
Without drug		0.025			1.26			0.02	
Piperacillin	0.017	0.017	0.027	0.86	0.71	0.66	0.02	0.02	0.04
Apalcillin	0.015	0.014	0.015	0.76	0.68	0.48	0.02	0.02	0.03
Mezlocillin	0.025	0.024	0.119	1.25	1.22	1.19	0.02	0.02	0.10
Ampicillin	0.018	0.135	1.31	0.70	0.91	0.72	0.03	0.15	1.82
Penicillin G	0.020	0.017	0.910	1.00	0.85	0.70	0.02	0.02	1.30
Carbenicillin	0.014	0.047	0.402	0.72	0.68	0.15	0.02	0.07	2.65
Sulbenicillin	0.017	0.029	0.374	0.83	0.33	0.19	0.02	0.09	1.95
Methicillin	0.022	0.019	0.036	1.12	0.95	0.90	0.02	0.02	0.04

a: Enzyme activity was determined by UV method using CER (100 μM) as substrate.
b: Protein concentration was measured by LOWRY method.

Table 4 Cell viability of *E.cloacae* H-27 and the residual activity of penicillins in the culture of *E.cloacae* H-27

Penicillins	Cell viability[a] (cells/ml)	Residual activity[b] (%)
Without drug	6×10^9 (0 hr; 1×10^9)	–
Piperacillin	2×10^9	100
Apalcillin	2×10^9	96
Mezlocillin	1×10^9	100
Ampicillin	3×10^9	0.5
Penicillin G	7×10^9	0.3
Carbenicillin	6×10^8	60
Sulbenicillin	6×10^8	81
Methicillin	7×10^9	100

a: Numbers of viable cells were counted at 2 hr. of incubation after the addition of drugs.
b: Drug concentration was determined by bioassay and values are expressed as the percentage of the initial drug concentration (100 μg/ml)

ので V_{max}/K_t 値を求めた。V_{max}/K_t の値は PCG が 76.9 で最も大きな値を示し，一方，SBPC, DMPPC は各々 <0.2, <0.8 と最も低値を示した。PIPC, APPC, ABPC, MZPC, PCG の値はほぼ同じレベルで 1.5～8.3 の値であった。各薬剤の MIC 値と V_{max}/K_t 値との間には相関性は認められなかった。また，V_{max} および K_t 値そのものとも同様に相関は認められなかった。

3. CSase 誘導活性

E. cloacae H-27 を用い Penicillin 8 薬剤をそれぞれ 1, 10, 100 μg/ml 添加した時の CSase 誘導活性を調べ，比活性で表わした (Table 3)。

PIPC, APPC, MZPC および DMPPC でそれぞれ処理した場合，菌体中の CSase 活性はいずれの濃度でも control 値とほとんど差が認められなかった。すなわち，control の CSase 活性が 0.02 unit/mg of protein であったのに対し，誘導した場合でも 0.03～0.10 unit/mg of protein であった。一方，ABPC, PCG, CBPC, SBPC では 100 μg/ml の濃度で処理した菌体の CSase 活性は control に比べ 65～130 倍程度上昇していた。各薬剤 100 μg/ml 添加時の CSase 誘導活性を比較すると CBPC, SBPC, ABPC, PCG は誘導活性が高く MZPC, APPC, PIPC, DMPPC のそれは低いものであった。

さらに上記実験の各薬剤 100 μg/ml 添加時の生菌数変化および薬剤残存活性を調べた (Table 4)。

PCG および DMPPC 添加時には生菌数は control とほとんど同程度に増加し，7×10^9 cells/ml に達した。PIPC, APPC, MZPC, ABPC 添加時にはやや菌の増殖

が抑制され，2時間後で 1～3×10^8 cells/ml であった。一方，CBPC，SBPC 添加時では2時間後には菌数の減少が認められ，共に 6×10^8 cells/ml であった。

2時間後の薬剤残存活性は PIPC，APPC，MZPC，SBPC，DMPPC が高く，CBPC がやや低値を示した。ABPC および PCG は2時間後では検出限界以下となており，速やかに不活化された。

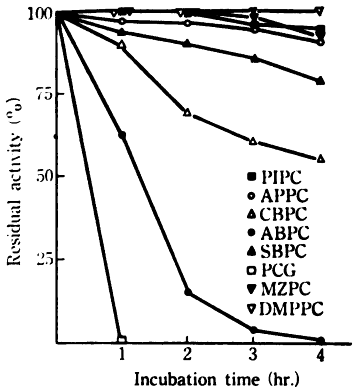
100 μg/ml の濃度においてもほとんど CSase 活性を上昇させなかった PIPC，APPC，MZPC，および DMPPC の場合でも特に著しい生菌数の減少や薬剤の速やかな不活化は認められなかった。

4. *E. cloacae* H-27 培養液中における薬剤の安定性

CSase 誘導活性測定時に行なった薬剤残存活性の検討結果から，薬剤の培養液中安定性に差が認められることが明らかになったので Penicillin 系8薬剤の培養液中残存活性を経時的に測定した (Fig. 2)。また同時に生菌数変化も測定した (Fig. 3)。

PIPC，APPC，MZPC，および DMPPC の4剤は4時間後においてもほとんど活性を失わず安定であった。SBPC はこれら4剤よりやや不安定で，次いで CBPC で4時間後には約 70% に減少した。ABPC は前記薬剤に比べ不安定で2時間後で約 15%，4時間後にはほとんど活性が残存していなかった。PCG は ABPC よりさらに不安定で，1時間後にすでに検出限界以下であった。低い CSase 誘導活性を示した PIPC，APPC，MZPC，DMPPC や CSase に抵抗性の強い CBPC，SBPC が培養液中で比較的安定に存在した。なお同時に行なった生菌数の測定ではいずれの薬剤の場合も特に著しい生菌数の減少は認められなかった。

Fig. 2 Residual activity of penicillins in the culture of *E. cloacae* H-27

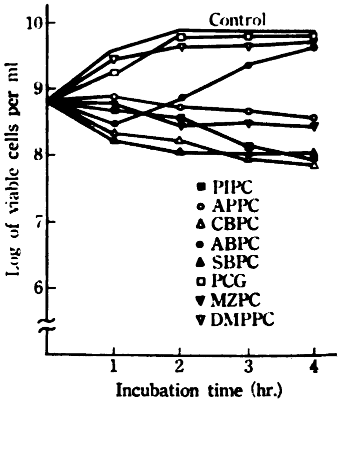


The residual amount of penicillins in the culture of *E. cloacae* H-27 was determined by bioassay. The initial concentration of penicillin was 50 μg/ml.

III. 考　　察

一般に Penicillin 剤は CSase に対して安定であることはよく知られた事実である[2,9]。今回の我々の成績からもこのことが確認され PCG を除いた7種の Penicillin 剤は *E. cloacae* H-27 由来の CSase には安定で CER に比べその加水分解速度は 1/500 あるいはそれ以下の値であった。ところで実測された加水分解速度の値は小さいながらも比較した penicillin 剤間に安定性の差が認められた。すなわち，SBPC，DMPPC が最も安定で次いで CBPC であった。ABPC，PIPC，APPC，MZPC は PCG より約 20 倍程度安定であったが CBPC，SBPC などより安定性は劣った。この *E. cloacae* H-27 産生の CSase に対する安定性と各薬剤の H-27 株に対する抗菌力との間には相関は認められなかった。そこで耐性レベルと良く相関するといわれている V_{max}/K_t 値を算出し抗菌力との関係について さらに検討したが抗菌力と V_{max}/K_t 値との間にも相関は認められなかった。このことは Penicillin の抗菌活性に対して CSase が一見全く関与していないように思われるが，この考えは PCG を除いた Penicillin 剤の CSase に対する加水分解速度が CER に比べはるかに小さいことからも強く支持されるようである。しかしながら，DMPPC を除いた Penicillin 7 剤中では CSase 誘導活性の低い薬剤が抗菌力が強く，培養液中でも安定であった。つづいて誘導活性は高いが CSase に安定な薬剤が培養液中で安定で比較的強い抗菌力を示した。また誘導活性も高く CSase にも不安定な薬剤が培養液中では最も不安定であった。すなわち ABPC は CSase に対して PIPC，APPC，MZPC と同様な安定性，親和性を示すが，CSase 誘導活性は PIPC，APPC，MZPC に比べ明らかに高値を示した。これは培養液中安定性に反映し PIPC，APPC，MZPC が

Fig. 3 Growth curve of *E. cloacae* H-27 in the presence of 50 μg/ml of penicillins



その活性を充分に維持していたのに対し，ABPC では容易に不活化された。また CSase には安定であるが誘導活性の高い CBPC や SBPC は培養液中では PIPC などよりやや安定性は劣るが ABPC よりも優れていた。CSase に不安定でしかも誘導活性の高い PCG は培養液中では速やかに不活化された。この培養液中での安定性は抗菌力と相関しているように思われた。これらのことが CSase に対する安定性や V_{max}/K_i 値と抗菌力の間に直接的な相関が認められなかった原因と考えられる。

Cephalosporin 剤を用いた前報[8]の結果や今回の成績から，誘導的に β-lactamase を産生する菌に対する β-lactam 剤の抗菌活性は β-lactamase に対する安定性や親和性はもとより β-lactamase を誘導しない（低い CSase 誘導活性）という性質に大きく影響されるものと考えられる。ところで DMPPC は CSase に極めて安定で誘導活性も低く，さらに培養液中でも安定であったが，それにもかかわらず *E. cloacae* に対しては抗菌活性は極めて低いものであった。このような DMPPC の特異な性質はグラム陰性菌の外膜透過性の低さ[15]に起因するものと考えられる。したがって DMPPC は *E. cloacae* の外膜を通過しにくいために CSase も誘導しないし，また抗菌活性も示さなかったものと考えられる。

以上，Penicillin 系薬剤の *E. cloacae* に対する抗菌活性には CSase を誘導しないことが重要な因子の一つと思われるが，さらに各薬剤の Penicillin binding proteins に対する親和性ならびに外膜透過性に関する検討がなされれば CSase 誘導活性と抗菌活性の関係がより一層明らかになるであろう。

文　献

1) DUTHIE, E. S.: The production of penicillinase by organisms of the *Subtilus* group. Br. J. Exp. Pathol. 25 : 96～100, 1947
2) SYKES, R. B. & M. MATTHEW : The β-lactamases of Gram-negative bacteria and their role in resistance to β-lactam antibiotics. J. Antimicrob. Chemother. 2 : 115～157, 1976.
3) MITSUHASHI, S. & M. INOUE : Mechanisms of resistance of β-lactam antibiotics, pp. 195～254, *In* S. MITSUHASHI (ed) Beta-lactam antibiotics, Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 1981
4) MINAMI, S.; A. YOTSUJI, M. INOUE, & S. MITSUHASHI : Induction of β-lactamase by various β-lactam antibiotics in *Enterobacter cloacae.* Antimicrob. Agents Chemother. 18 : 382～385, 1980
5) YOTSUJI, A.; S. MINAMI, Y. ARAKI, M. INOUE, & S. MITSUHASHI : Inducer activity of β-lactam antibiotics for the β-lactamases of *Proteus rettgeri* and *Proteus vulgaris.* J. Antibiotics 35 : 1590～1593, 1982
6) SANDERS, C. C.; W. E. SANDERS, JR. & R. V. GOERING : *In vitro* antagonism of beta-lactam antibiotics by cefoxitin. Antimicrob. Agents Chemother. 21 : 968～975, 1982
7) 池田文昭，高梨 仁，西田 実，五島瑳智子，桑原章吾：Cephem 系薬剤間の antagonism とグラム陰性菌における β-lactamase 誘導について。Chemotherapy 31 : 304～308, 1983
8) 南新三郎，松原信之，四辻 彰，岡本直子，渡辺泰雄，保田 隆，才川 勇，三橋 進：*Enterobacter cloacae* に対する β-lactam 剤の抗菌作用 第一報 Cephem 系薬剤の抗菌活性と β-lactamase 誘導。Chemotherapy 31 : 909～915, 1983
9) MINAMI, S.; M. INOUE, & S. MITSUHASHI : Purification and properties of a cephalosporinase from *Enterobacter cloacae.* Antimicrob. Agents Chemother. 18 : 853～857, 1980
10) NOVICK, R. P.: Micro-iodometric assay for penicillinase. Biochem. J. 83 : 236～240, 1962
11) WALEY, S. G.: A spectrophotometric assay of β-lactamase action on penicillins. Biochem. J. 139 : 780～781, 1974
12) LOWRY, O. H.; N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR, & R. J. RANDALL : Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193 : 265～275, 1951
13) MIC 測定法改訂委員会：最小発育阻止濃度（MIC）測定法再改訂について。Chemotherapy 29 : 776～779, 1981
14) POLLOCK, M. R.: Purification and properties of penicillinase from two strains of *Bacillus licheniformis*: a chemical, physicochemical and physiological comparison. Biochem. J. 94 : 666～675, 1965
15) 澤井哲夫，山岸三郎：病原細菌における抗生物質耐性の遺伝生化学的研究―特に β-ラクタマーゼによる β-ラクタム抗生物質耐性について。日細菌誌 36 : 663～683, 1981

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF β-LACTAM ANTIBIOTICS AGAINST *ENTEROBACTER CLOACAE* (II)

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PENICILLINS AND THEIR INDUCER ACTIVITY FOR β-LACTAMASE PRODUCTION.

SHINZABUROU MINAMI, AKIRA YOTSUJI, HARUMI ARAKI, HIROMI NAKASHIMA,
YASUO WATANABE, TAKASHI YASUDA, ISAMU SAIKAWA,
and SUSUMU MITSUHASHI[1].
Research Laboratory of Toyama Chemical Co. Ltd., Toyama, and
[1]Department of Microbiology, School of Medicine, Gumma University, Maebashi.

Antibacterial activity of eight penicillins against *Enterobacter cloacae* was investigated using clinical isolates. The inducer activity of the penicillins for cephalosporinase (CSase) production, their stability and affinity for the CSase, and their stability in the growing culture of an inducible *E. cloacae* strain were also studied.

Piperacillin (PIPC), mezlocillin (MZPC), and apalcillin(APPC) showed rather low inducer activity for CSase production and had higher antibacterial activity against *E. cloacae* than other penicillins which were good inducers for CSase production.

PIPC, MZPC, APPC, and ampicillin (ABPC) were stable to *E. cloacae* CSase. Their rates of hydrolysis were very similar to each other and were larger than those of carbenicillin (CBPC), sulbenicillin (SBPC), and methicillin (DMPPC). CBPC, SBPC, and DMPPC showed higher affinity for *E. cloacae* CSase than PIPC, MZPC, APPC, and ABPC whose K_i values for CSase were similar to each other.

PIPC, MZPC, APPC, and DMPPC, which had low inducer activity for CSase production, were very stable in the growing culture of an inducible strain, *E. cloacae* H-27. CBPC and SBPC, which were very stable to CSase but had rather hihg inducer activity, were less stable in the growing culture of this strain than PIPC, MZPC, APPC, and DMPPC. Penicillin G(PCG) and ABPC were very rapidly inactivated in this culture. The stability of penicillins in the culture of the inducible strain was well corresponded to their MIC values to *E. cloacae* H-27.

Our results strongly suggest that inducer activity of penicillins for CSase production and their stability to CSase are part of critical factors that define antibacterial activity of penicillins against *E. cloacae*.