

TA-058 に関する細菌学的検討

恩田 時男・井上 松久・三 橋 進

群馬大学医学部微生物学教室薬剤耐性菌実験施設

新しい penicillin 系抗生物質である TA-058 は、グラム陽性、グラム陰性菌に対し、幅広い抗菌スペクトルを有していた。臨床分離株に対する感受性分布を 21 菌種 1412 株を用いて検討した。その結果、*in vitro* 効果で TA-058 は、グラム陽性球菌に対しては、ampicillin (ABPC), piperacillin (PIPC), グラム陰性桿菌に対しては、*P. mirabilis* を除いて、PIPC より劣る成績であった。

殺菌力について、MIC と MBC の比較により検討した結果、両者間に差はほとんど認められなかった。*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* の増殖曲線に及ぼす影響では、TA-058 は、ABPC, PIPC と同程度ないしは、ある菌株に対してはよりすぐれた効果を示した。特に、TA-058 は、*S. aureus* で 4 MIC, *E. coli* で 1 MIC, *P. aeruginosa* では 1 MIC で 24 時間目の菌の再増殖を認めず、優れた殺菌力を示した。

TA-058 は、 β -lactamase のうち、プラスミド支配の penicillinase (PCase) には不安定であったが、cefuroxime (CXase), cephalosporinase (CSase) には、PCase と比べ安定であった。

マウス感染治療実験において、TA-058 は、ABPC, PIPC と同程度ないしは、より優れた治療効果を示した。中でも、*E. coli* に対して、PIPC より TA-058 の MIC は高いにもかかわらず、*in vivo* 効果は PIPC より優る治療効果を示した。

序 文

TA-058((2S, 5R, 6R)-6-[(2R-2-(2R-2-amino-3-N-methylcarbamoylpropionamido)-2-(4-hydroxyphenyl)acetamido]-3, 3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3. 2. 0]heptane-2-carboxylic acid trihydrate) は田辺製薬株式会社で開発された広域スペクトラムを有する新しい penicillin 系抗生物質である。

今回、標準菌株に対する抗菌力、臨床分離株に対する抗菌力、殺菌作用、 β -lactamase に対する安定性、およびマウス感染治療効果について検討を行ったので報告する。なお、比較薬剤として主に ampicillin (ABPC), piperacillin (PIPC) を用いた。

材料と方法

1. 使用薬剤

TA-058 は田辺製薬株式会社から提供された粉末を用いた。ABPC は、ビーチャムから、PIPC は、富山化学から、penicillin G (PCG) は明治製薬から、carbenicillin (CBPC) は、藤沢薬品から、cephaloridine (CE R) は、鳥居薬品から分与を受けた。

2. 使用菌株

各種病巣由来細菌は、群馬大学医学部薬剤耐性菌実験施設の stock culture を用いた。対照としてグラム陽

性、陰性の標準菌株に対する抗菌活性も測定した。

3. 使用培地

感受性測定には、Sensitivity test (ST) 寒天培地 (日水), Proteose No. 3 寒天培地 (Difco) および GAM 寒天培地 (日水) を使用した。Minimum bactericidal concentration (MBC) の測定と殺菌曲線の検討には、ST ブイヨン培地を使用した。菌液の希釈には、buffered saline gelatin (BSG) 溶液を用いた。酵素調整のための細菌の培養には、Brain heart infusion (BHI) ブイヨン培地と Medium B 培地を使用した。

4. 抗菌力測定

日本化学療法学会標準法¹⁾に準じた寒天平板希釈法に従った。即ち、被検菌の ST ブイヨン培地 37°C 18 時間培養液 ($10^8 \sim 10^9$ cells/ml) を約 10^6 cells/ml になるように BSG 溶液で希釈し、マイクロプランター (佐久間, 5 μ l) を用い、薬剤含有 ST 寒天培地に接種し、37°C 18 時間培養後、被検菌の発育が認められない最少濃度をもって minimum inhibitory concentration (MIC) とした。*H. influenzae* は、10 μ g/ml の hemin と 2 μ g/ml の nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) 添加 ST ブイヨン培地を前培養液とし、hemin と NAD 添加 ST 寒天培地にて感受性測定を行った。*N. gonorrhoeae* の場合は、1% hemoglobin (Difco),

1% defined supplement 加 Proteose No. 3 寒天培地で培養後、薬剤含有同寒天培地に接種し、MIC を求めた。嫌気性菌は、GAM ブイヨン培地を前培養液とし、感受性測定には GAM 寒天培地を用いた。また、*Pseudomonas* spp. の前培養には、0.3% KNO₃ 添加 ST ブイヨン培地を使用した。

5. 殺菌力測定

殺菌効果の判定には、MBC および増殖曲線に及ぼす影響を検討した。

MBC の測定には次の方法を用いた。ST ブイヨン培地にて一夜培養した菌液を希釈して、薬剤添加同培地に最終細菌濃度が 10⁴ cells/ml となるように接種した。37 °C 18 時間培養後 MIC を求め、これらの薬剤を含有する培地からマイクロプランターを用い、薬剤無添加の ST 寒天培地に接種し、37 °C 18 時間培養後、菌の全く認められない最少薬剤濃度を MBC とした。

増殖曲線に及ぼす影響では ST ブイヨン培地を用い、試験菌の overnight culture を新しい培地に接種し、振盪培養した。菌数が 10⁴ cells/ml になったとき薬剤を添加し、以後経時的に生菌数を測定した。

6. MIC に及ぼす接種菌量の影響

被験菌を ST ブイヨン培地で一夜培養後、10 倍希釈系の菌懸濁液を調整し、それぞれの菌量において、寒天平板希釈法にて MIC を求めた。

7. β -lactamase の調整

Medium B ブイヨン培地にて培養した菌体を 0.05 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) にて洗浄後、同緩衝液に懸濁し、超音波破砕した。その後 10,000×g, 30 分間冷却遠心して得た上清をストレプトマイシン処理、イオン交換クロマトグラフィーおよびゲル濾過等を用いて精製し、 β -lactamase sample とした。なお、*B. fragilis* の培養には、GAM ブイヨン培地を使用した。

Table 1 Antibacterial activity of TA-058, ABPC, and PIPC against standard strains of bacteria

Strains	MIC (μ g/ml)		
	TA-058	ABPC	PIPC
<i>S. aureus</i> FAD 209P JC-1	3.13	≤ 0.2	0.78
<i>S. aureus</i> Terajima	0.39	≤ 0.2	≤ 0.2
<i>S. aureus</i> MS353	1.56	≤ 0.2	0.39
<i>S. pyogenes</i> Cook	≤ 0.2	≤ 0.2	≤ 0.2
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	1.56	3.13	1.56
<i>E. coli</i> K12 C600	0.78	3.13	0.78
<i>K. pneumoniae</i> PCI-602	12.5	6.25	≤ 0.2
<i>S. typhimurium</i> IID971	≤ 0.2	0.78	0.78
<i>S. typhi</i> 901	≤ 0.2	≤ 0.2	0.78
<i>S. paratyphi</i> 1015	≤ 0.2	≤ 0.2	≤ 0.2
<i>S. schottmuelleri</i> 8006	≤ 0.2	≤ 0.2	0.78
<i>S. enteritidis</i> G14	≤ 0.2	≤ 0.2	≤ 0.2
<i>S. marcescens</i> IAM1184	3.13	50	0.78
<i>B. subtilis</i> ATCC6633	≤ 0.2	≤ 0.2	≤ 0.2
<i>P. aeruginosa</i> IFO3445	12.5	>100	3.13
<i>P. aeruginosa</i> NCTC10490	1.56	50	0.78
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	25	>100	3.13
<i>P. morgani</i> IFO3848	1.56	1.56	≤ 0.2
<i>P. mirabilis</i> IFO3849	≤ 0.2	1.56	≤ 0.2
<i>P. vulgaris</i> OX-19	3.13	12.5	≤ 0.2
<i>P. vulgaris</i> HX-19	≤ 0.2	1.56	≤ 0.2
<i>P. rettgeri</i> IFO3850	0.39	0.78	0.39
<i>E. aerogenes</i> ATCC13048	3.13	>100	3.13
<i>E. cloacae</i> ATCC13048	1.56	>100	1.56
<i>M. luteus</i> ATCC9341	≤ 0.2	≤ 0.2	≤ 0.2

Inoculum size : 10⁶ cells/ml

Table 2 Antibacterial activity of TA-058, ABPC, and PIPC against clinical isolates of bacteria (1)

Strains	No. of strains	Drug	Range of MIC ($\mu\text{g/ml}$)	($\mu\text{g/ml}$)		
				MIC ₂₅	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>S. aureus</i>	100	TA-058	1.56 - 12.5	2.4	3.8	5.8
		ABPC	≤ 0.2 - 12.5	0.042	0.63	1.5
		PIPC	0.39 - 50	0.98	1.65	3.8
<i>S. epidermidis</i>	39	TA-058	0.39 - 25	0.48	1.25	8.4
		ABPC	0.05 - 25	0.078	0.26	6.6
		PIPC	0.05 - 50	0.25	0.7	9.6
<i>S. pyogenes</i>	83	TA-058	0.025 - 0.2	0.052	0.064	0.092
		ABPC	0.007 - 0.05	0.014	0.017	0.023
		PIPC	0.013 - 0.1	0.029	0.035	0.048
<i>N. gonorrhoeae</i>	46	TA-058	0.025 - 12.5	0.027	0.044	0.19
		ABPC	0.1 - 3.13	0.16	0.29	0.95
		PIPC	≤ 0.0063 - 0.2	0.007	0.012	0.11
<i>E. coli</i>	100	TA-058	≤ 0.2 - >100	0.68	1.2	>100
		ABPC	0.39 - >100	1.9	3.0	>100
		PIPC	≤ 0.2 - >100	0.62	1.1	25.0
<i>K. pneumoniae</i>	100	TA-058	0.39 - >100	15.5	27.0	>100
		ABPC	0.39 - >100	13.0	22.0	>100
		PIPC	0.39 - >100	1.05	1.9	25.0
<i>S. marcescens</i>	102	TA-058	1.56 - >200	>200	>200	>200
		ABPC	25 - >200	>200	>200	>200
		PIPC	0.78 - >200	8.6	84.0	>200
<i>P. aeruginosa</i>	100	TA-058	6.25 - >100	34.0	74.0	>100
		ABPC	>100	>100	>100	>100
		PIPC	1.56 - >100	1.5	2.2	9.1
<i>P. cepacia</i>	54	TA-058	12.5 - >800	78.0	700	>800
		ABPC	50 - >800	270	540	>800
		PIPC	≤ 1.56 - 25	≤ 1.56	4.0	10.1
<i>P. maltophilia</i>	52	TA-058	≤ 1.56 - >800	90.0	380	>800
		ABPC	12.5 - >800	74.0	160	720
		PIPC	≤ 1.56 - 800	18.0	54.0	180
<i>A. calcoaceticus</i>	81	TA-058	3.13 - 200	26.0	36.0	80.0
		ABPC	6.25 - 100	15.0	20.5	42.0
		PIPC	0.78 - 200	13.5	20.0	49.0
<i>P. mirabilis</i>	99	TA-058	≤ 0.2 - >100	0.24	0.31	0.68
		ABPC	0.78 - >100	1.0	1.4	2.8
		PIPC	≤ 0.2 - 100	0.24	0.32	0.68
<i>P. rettgeri</i>	48	TA-058	≤ 0.2 - >100	0.78	8.6	>100
		ABPC	≤ 0.2 - >100	4.2	42.0	>100
		PIPC	≤ 0.2 - 100	0.41	0.72	17.0
<i>P. vulgaris</i>	81	TA-058	≤ 0.2 - >100	70.0	>100	>100
		ABPC	3.13 - >100	>100	>100	>100
		PIPC	≤ 0.2 - 50	0.66	1.1	3.6

Table 2 (continued)

Strains	No. of strains	Drug	Range of MIC ($\mu\text{g/ml}$)	($\mu\text{g/ml}$)		
				MIC ₂₅	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>P. morganii</i>	53	TA-058	6.25 - >100	>100	>100	>100
		ABPC	100 - >100	>100	>100	>100
		PIPC	≤ 0.2 - 50	0.9	1.7	3.8
<i>E. cloacae</i>	100	TA-058	0.39 - >100	2.35	>100	>100
		ABPC	0.39 - >100	88.0	>100	>100
		PIPC	0.39 - >100	1.4	6.8	>100
<i>C. freundii</i>	95	TA-058	1.56 - >100	3.4	7.4	>100
		ABPC	6.25 - >100	31.0	84.0	>100
		PIPC	0.39 - >100	1.1	1.8	>100
<i>H. influenzae</i>	27	TA-058	≤ 0.05 - 6.25	≤ 0.05	0.053	1.2
		ABPC	0.1 - 12.5	0.14	0.19	2.3
		PIPC	≤ 0.05 - 1.56	≤ 0.05	≤ 0.05	0.23
<i>C. perfringens</i>	17	TA-058	0.013 - 0.2	0.044	0.062	0.095
		ABPC	≤ 0.0063 - 0.05	0.0074	0.0098	0.022
		PIPC	≤ 0.0063 - 0.1	0.017	0.026	0.046
<i>C. difficile</i>	25	TA-058	1.56 - 25	2.2	3.8	11.0
		ABPC	0.78 - 6.25	0.73	1.2	4.0
		PIPC	1.56 - 25	1.3	3.3	10.0
<i>B. fragilis</i>	10	TA-058	6.25 - 25	7.0	8.8	12.5
		ABPC	6.25 - 25	13.0	16.0	23.0
		PIPC	3.13 - 50	2.2	3.13	42.0

8. β -lactamase 活性の測定

β -lactamase 活性は, spectrophotometric method^{2),3)}によって測定し,酵素液の蛋白量は, Lowry 法⁴⁾により求めた。各薬剤の基質濃度は 100 μM で, 用いた緩衝液は, 0.05 M リン酸緩衝液 (pH 7.0), 反応温度は 30°C で測定を行った。Penicillinase (PCase)⁵⁾では PCG を 100 とし, cefuroximase (CXase)⁵⁾, cephalosporinase (CSase)⁵⁾では CER を 100 とした相対加水分解速度で各薬剤の加水分解速度を表示した。

9. マウス感染治療実験

ICR 系雄マウス 22 $\pm$ 2 g, 1 薬剤 1 濃度あたり 1 群 10 匹を使用した。試験菌には, *E. coli* ML 4707 2.0 $\times$ 10⁶ cells/mouse (100 LD₅₀), *K. pneumoniae* GN 6445 5.0 $\times$ 10⁴ cells/mouse (100 LD₅₀), *S. marcescens* GN 7577 7.0 $\times$ 10² cells/mouse (100 LD₅₀), *P. aeruginosa* GN 12814 1.3 $\times$ 10⁴ cells/mouse および *P. mirabilis* GN 4754 1.2 $\times$ 10⁶ cells/mouse を用い, 腹腔内感染後, 2 時間目に薬剤を筋肉内注射した。なお, *E. coli* ML 4707 は mucin 無添加, 他菌種は 5% mucin に懸濁し用いた。感染 7 日後の生存率から ED₅₀ 値を LITCHFIELD-

WILLCOXON 法⁵⁾に基づき算定した。

成 績

1. 抗菌スペクトラム

グラム陽性, 陰性菌群に対する TA-058 の抗菌スペクトラムを ABPC, PIPC と比較検討した結果を Table 1 に示した。TA-058 は, グラム陽性, 陰性菌群に対し, 広い抗菌スペクトラムを有していた。しかし, 一部の *P. aeruginosa* に対する MIC は, 12.5~25 $\mu\text{g/ml}$ を示した。

2. 臨床分離株に対する感受性分布

臨床分離株に対する TA-058 の抗菌力を検討し, Table 2 に各菌種の 25%, 50%, 90% の株の発育を阻止する薬剤濃度 MIC₂₅, MIC₅₀, MIC₉₀ をそれぞれ示した。

TA-058 は, 3 菌種のグラム陽性球菌に対して, 対照薬剤と比べ, その抗菌力はやや劣った。しかし, *S. aureus* では, 12.5 $\mu\text{g/ml}$ で, *S. pyogenes* では, 0.2 $\mu\text{g/ml}$ で 100% の菌の発育を阻止した。*S. epidermidis* に対する TA-058 の MIC 分布は, 他の対照薬剤と同

様の傾向であった。グラム陰性球菌の、*N. gonorrhoeae* に対する MIC は、 $\text{PIPC} < \text{TA-058} < \text{ABPC}$ の順であったが、TA-058 の MIC_{90} は、 $0.19 \mu\text{g/ml}$ とすぐれた値を示した。

次に、グラム陰性桿菌について述べる。

E. coli に対して、TA-058 は対照薬と同程度の抗菌力を示した。しかし、MIC が $3.13 \mu\text{g/ml}$ 以上の耐性菌が約 30 % 存在し、これらは、同時に ABPC 耐性を示した。

K. pneumoniae に対する TA-058 の抗菌力は ABPC のそれと同程度であった。

S. marcescens, *P. aeruginosa*, *P. cepacia*, *P. maltophilia*, *A. calcoaceticus* に対する TA-058 の抗菌力は、PIPC に比べ弱く、ABPC のそれと同程度であった。

インドール産生マイナスの *P. mirabilis* に対する TA-058 の抗菌力は、ABPC, PIPC いずれの対照薬よりも強く、 MIC_{90} は、 $0.68 \mu\text{g/ml}$ であった。

インドール産生プラスの *Proteus* 属のうち、*P. rettgeri* に対する抗菌力は、TA-058 および対照薬いづれも同程度で、その抗菌力は、 $\text{PIPC} > \text{TA-058} > \text{ABPC}$ の順であった。しかし、*P. vulgaris*, *P. morganii* に対する TA-058 の抗菌力は、PIPC に比べ弱く、ABPC と同程度であった。

E. cloacae, *C. freundii* に対する抗菌力は、TA-058, PIPC いずれも同程度であったが、ABPC のそれは、かなり劣った。

H. influenzae に対して、TA-058 の抗菌力は、PIPC

より、やや劣っていたが、ABPC と比べると、すぐれた抗菌力を示し、 MIC_{90} は、 $1.2 \mu\text{g/ml}$ であった。

嫌気性菌のうち、グラム陽性桿菌の *C. perfringens*, *C. difficile*, グラム陰性桿菌の *B. fragilis* に対し、TA-058, ABPC, PIPC いずれも強い抗菌力を示し、特に、*C. perfringens* に対する TA-058 の MIC_{90} は、 $0.095 \mu\text{g/ml}$ であった。しかし、これら *Clostridium* 属に対する抗菌力は $\text{ABPC} > \text{PIPC} > \text{TA-058}$ の順であった。

3. 殺菌効果

データは示さないが、*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *E. cloacae*, *C. freundii* などの 20 株の臨床分離株を用いて、TA-058 の MIC と MBC を ABPC, PIPC を対照薬として比較検討した。各菌種に対し、TA-058 および対照薬ともに MIC, MBC はほとんど一致しており、殺菌的に作用していることがわかった。

次に、殺菌力を、細菌の増殖曲線に及ぼす影響から検討した (Fig. 1~3)。*S. aureus* Smith は、4 MIC の TA-058 で、24 時間後も再増殖が認められなかったが、ABPC は、4 MIC で再増殖が認められた (Fig. 1)。

E. coli ML 4707 に対して、TA-058 は、1 MIC で、24 時間後も再増殖を認めなかったが、ABPC は、1 MIC, PIPC では 4 MIC でも再増殖を認めた (Fig. 2)。

P. aeruginosa GN 12814 に対して、TA-058 は、1 MIC で 24 時間後も再増殖を認めなかったが、PIPC は、1 MIC で再増殖を認めた (Fig. 3)。

Fig. 1 Bactericidal activity of TA-058, ABPC, and PIPC against *S. aureus* Smith

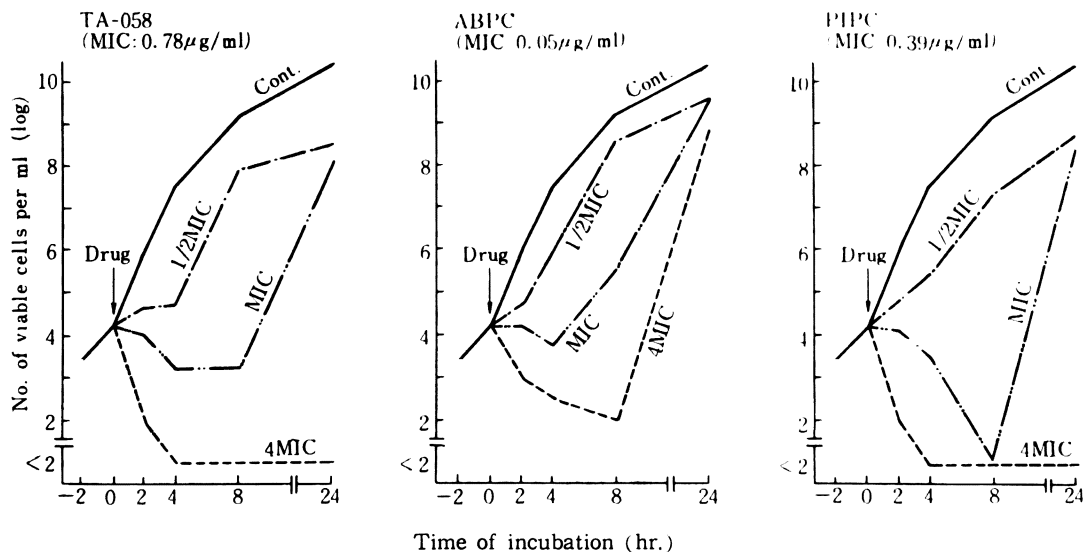


Fig. 2 Bactericidal activity of TA-058, ABPC, and PIPC against *E. coli* ML4707

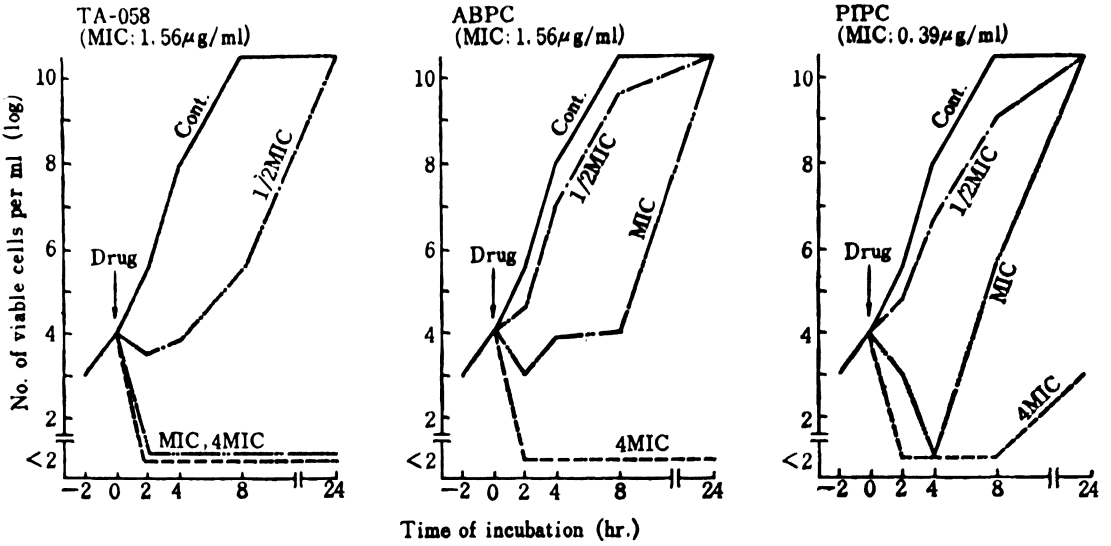


Fig. 3 Bactericidal activity of TA-058 and PIPC against *P. aeruginosa* GN12814

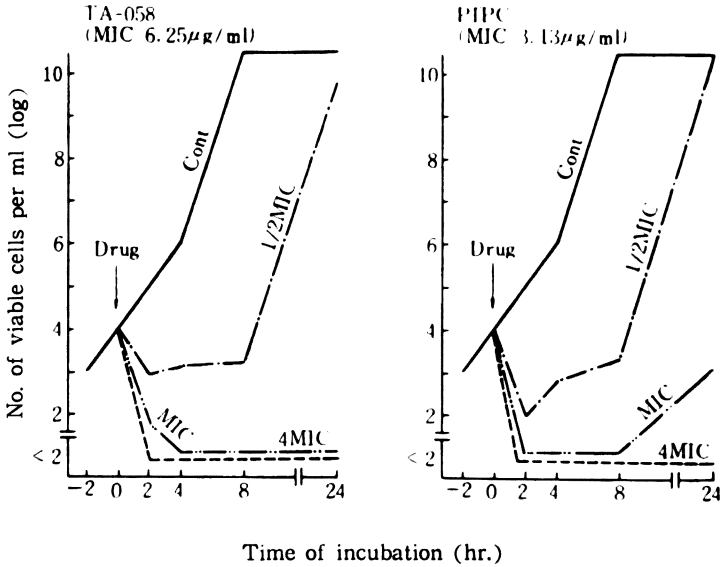


Table 3 Effect of inoculum size on antibacterial activities of TA-058, ABPC, and PIPC

Strains	Inoculum size (cells/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		TA-058	ABPC	PIPC
<i>S. aureus</i> Smith	10^7	1.56	0.1	0.78
	10^6	1.56	0.1	0.78
	10^5	0.78	0.1	0.39
	10^4	0.78	0.1	0.39
	10^3	0.78	0.05	0.39
	10^2	0.78	0.025	0.39
<i>E. coli</i> ML4707	10^8	1.56	3.13	0.78
	10^7	1.56	3.13	0.78
	10^6	0.78	1.56	0.39
	10^5	0.78	1.56	0.39
	10^4	0.78	1.56	0.39
	10^3	0.78	1.56	0.39
	10^2	0.78	1.56	0.39
<i>P. aeruginosa</i> GN12814	10^8	6.25	100	3.13
	10^7	6.25	100	3.13
	10^6	3.13	100	3.13
	10^5	3.13	50	1.56
	10^4	3.13	50	1.56

Table 4 β -Lactamase hydrolysis of TA-058 compared with other known β -lactam antibiotics

Enzyme source	Type of β -lactamases	Specific **a)	Relative rate of hydrolysis *b)					
			PCG	CER	TA-058	ABPC	PIPC	CBPC
<i>E. coli</i> W3630 Rms212+	PCase type I	1.8	100	130	131	127	89	11
<i>E. coli</i> W3630 Rms213+	PCase type II	0.18	100	263	453	755	118	60
<i>E. coli</i> W3630 Rte16+	PCase type III	186	100	23	93	147	90	54
<i>E. coli</i> X1037 Rms433+	PCase type IV	797	100	20	54	63	10	110
<i>P. vulgaris</i> GN7919	CXase	11.2	20	100	11	43	25	<1
<i>P. cepacia</i> GN11164	CXase	15.5	124	100	25	145	14	39
<i>B. fragilis</i> GN11478	CXase	3.6	4.9	100	<1	<1	<1	<1
<i>E. cloacae</i> GN7471	CSase	7.8	10	100	<1	<1	<1	<1
<i>E. coli</i> GN5482	CSase	0.24	52	100	<1	<1	<1	<1
<i>P. aeruginosa</i> GN10362	CSase	3.6	24	100	<1	<1	<1	<1
<i>P. morganii</i> GN5407	CSase	9.6	98	100	<1	<1	<1	<1
<i>P. rettgeri</i> GN4430	CSase	20.6	5	100	32	<1	<1	<1
<i>S. marcescens</i> GN10857	CSase	14.6	5	100	<1	<1	<1	<1

*a) Hydrolysis of each substrate (100 μM) by PCase is expressed as relative rate of hydrolysis taking the absolute rate of PCG hydrolysis as 100. Hydrolysis of each substrate (100 μM) by CXase and CSase is expressed as relative rate of hydrolysis taking the absolute rate of CER hydrolysis as 100.

*b) Units per mg of proteins.

Table 5 Chemotherapeutic effects of TA-058 on experimental infections in mice

Organisms	LD ₅₀ (cells/ml)	Challenge dose	Drug	MIC (μg/ml)	ED ₅₀ (mg/kg)	95% Confidence limit
<i>S. aureus</i> Smith	2.0 × 10 ⁴	100 LD ₅₀	TA-058	0.78	3.7	2.0— 6.4
			ABPC	0.05	3.6	1.4— 7.1
			PIPC	0.39	4.8	3.3— 7.4
<i>K. pneumoniae</i> GN6445	5.0 × 10 ²	100 LD ₅₀	TA-058	25	319.3	198.3—695.9
			ABPC	12.5	232.1	138.4—569.8
			PIPC	1.56	350.0	166.6—735.0
<i>E. coli</i> ML4707	9.0 × 10 ⁶	10 LD ₅₀ *	TA-058	1.56	44.7	18.6— 73.3
			ABPC	1.56	57.2	26.4— 95.2
			PIPC	0.39	147.8	110.1—208.0
<i>S. marcescens</i> GN7577	7.0	100 LD ₅₀	TA-058	12.5	238.4	192.8—296.7
			ABPC	50	101.7	79.5—129.5
			PIPC	1.56	117.2	80.2—186.3
<i>P. aeruginosa</i> GN12814	1.3 × 10 ²	100 LD ₅₀	TA-058	6.25	31.3	21.6— 40.9
			PIPC	3.13	49.9	37.0— 67.7
<i>P. mirabilis</i> GN4754	1.2 × 10 ⁴	100 LD ₅₀	TA-058	0.39	7.6	4.1— 14.0
			ABPC	0.78	10.0	4.9— 19.2
			PIPC	0.39	38.0	22.5— 64.2

*: Mucin (—)

4. MIC に及ぼす接種菌量の影響

接種菌量の変動が、TA-058 の抗菌力に与える影響を検討した (Table 3)。TA-058 の MIC は、各菌種共、接種菌量の影響をほとんど受けなかった。それに比し、ABPC の MIC は、*S. aureus* Smith で、接種菌量の影響が認められ、特に低接種菌量で比較的大きな変動が認められた。しかし、他菌種に於いては、あまり影響は認められなかった。

5. β-lactamase に対する安定性

TA-058 の PCase, CXase, CSase に対する安定性を PCG, ABPC, PIPC, CBPC および CER を対照薬として検討した (Table 4)。TA-058 は、PCase I, II, III および IV 型に対して不安定であった。CXase のうち、TA-058 は、*P. vulgaris* と *P. cepacia* が産生する CXase には分解を受けたが、*B. fragilis* の産生する CXase には安定であった。これは、ABPC, PIPC でも同様であった。CSase のうち、TA-058 は、*P. rettgeri* が産生する CSase には分解されたが、他菌種が産生する CSase には安定であった。

6. マウス感染治療実験

S. aureus Smith, *E. coli* ML 4707, *K. pneumoniae* GN 6445, *S. marcescens* GN 7577, *P. aeruginosa* GN 12814 および *P. mirabilis* GN 4754 を用い TA-058 の

生体内抗菌力を検討し、その結果を Table 5 に示した。

S. aureus Smith, *K. pneumoniae* GN 6445 に対し、TA-058 は、ABPC, PIPC と同程度の治療効果を示した。*S. marcescens* GN 7577 に対し、TA-058 は ABPC, PIPC より劣る治療効果を示した。しかし、*P. aeruginosa* GN 12814 に対し、TA-058 は、PIPC と同程度の治療効果を示した。さらに、*E. coli* ML 4707, *P. mirabilis* GN 4754 に対し、TA-058 は、PIPC より優れた治療効果を示した。尚かつ、*E. coli* ML 4707 に対し TA-058 の MIC は、1.56 μg/ml, PIPC のそれは、0.39 μg/ml と、PIPC の方が低い値であった。

考 察

TA-058 は、グラム陽性、陰性菌に対し、幅広い抗菌スペクトルを有していた。このことは、臨床分離株を用いた抗菌力測定でも認められたが、グラム陽性球菌に対しては、ABPC, PIPC より、グラム陰性桿菌に対しては、本剤の MIC は PIPC よりほとんどの菌種で劣る成績であった。

TA-058 は、臨床分離株の MIC 分布にみられるように、強い殺菌力を示す菌株の集団がある一方、耐性菌の集団がかなりの菌種でみられた。このことの大きな原因として、β-lactamase 特にプラスミド支配 PCase に不

安定であることが考えられる。

マウス感染治療実験において、TA-058 は、ABPC、PIPC と同程度ないしは、優れた治療効果を示し、中でも、*E. coli* ML 4707 に対して、TA-058 の MIC は PIPC より高いにもかかわらず、それに優る治療効果を示し、*in vitro* の抗菌力から予想されるより優れた治療効果が *in vivo* で得られた。この理由として、MBC および殺菌曲線で示されたような TA-058 の優れた殺菌力が考えられる。更に、TA-058 の血中濃度の高さなど生体内動態⁷⁾にみられる本剤の特長が挙げられよう。しかし、この点に関しては、TA-058 の生体防御機能とのかわり等、多角的な検討を待たねばならない。

文 献

- 1) 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度 (MIC) の測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 2) SAMUNI, A.: A direct spectrophotometric assay and determination of Michaelis constants for the β -lactamase reaction. Anal. Biochem. 63: 17~26, 1975
- 3) WALEY, S. G.: A spectrophotometric assay of β -lactamase action on penicillins. Biochem. J. 139: 789~790, 1974
- 4) LOWRY, O. H.; N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR & R. J. RANDALL: Protein measurement with the Forin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265~275, 1951
- 5) MITSUHASHI, S. & M. INOUE: Mechanisms of resistance to β -lactam antibiotics. Beta-Lactam Antibiotics (MITSUHASHI, S., ed.) Japan Scientific Societies Press, Tokyo, & Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, pp. 41~56, 1981
- 6) 第 30 回日本化学療法学会総会，新薬シンポジウムⅢ，TA-058, 1982 (東京)
- 7) 山口東太郎，他：実験動物における TA-058 の体内動態。Chemotherapy 32(S-2): 119~132, 1984

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF TA-058

TOKIO ONTA, MATSUHISA INOUE and SUSUMU MITSUHASHI

Department of Microbiology and Laboratory of Bacterial Drug Resistance,
School of Medicine, Gunma University, Maebashi, Japan

A semisynthetic penicillin, TA-058, is a derivative of amoxicillin. *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of TA-058 against gram-positive and gram-negative bacteria were compared with mainly ampicillin and piperacillin. The results are summarized as follows.

- 1) TA-058 possesses a broad spectrum of *in vitro* antibacterial activity against gram-positive and gram-negative bacteria.
- 2) *In vitro* antibacterial activities against gram-positive and gram-negative bacteria were compared using 1412 clinical isolates of 21 species of bacteria. TA-058 was as active as piperacillin against *P. mirabilis* and *H. influenzae*, but not against other bacteria.
- 3) Greater bactericidal activity toward the three strains, i.e., *S. aureus*, *E. coli* and *P. aeruginosa*, was demonstrated with TA-058 than with ampicillin and piperacillin.
- 4) TA-058, like penicillin G, was hydrolyzed by penicillinase. TA-058, ampicillin and piperacillin were more stable against cefuroxime and cephalosporinase than against penicillinase.
- 5) *In vivo* antibacterial activities of TA-058, ampicillin and piperacillin were compared, using systemic infections of mice with *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa* and *P. mirabilis*. The 50% effective doses of TA-058 were lower than those of piperacillin against *E. coli* and *P. mirabilis*.