

AC-1370 の嫌気性菌に対する抗菌作用

渡辺 邦友・武内美登利・青木 誠・賀川和宣

沢 赫代・上野一恵

岐阜大学医学部嫌気性菌実験施設

ま と め

新しい cephem 系抗生物質の AC-1370 の抗菌力を CEZ, CPZ, CFX などの既存および開発中の同系の薬剤と比較検討した。

その結果, AC-1370 は嫌気性菌に対し広い抗菌スペクトラムを有することが知られた。しかしその抗菌力の強さは, 球菌に対して CPZ, CFX, CEZ よりも劣り, 桿菌に対し CEZ, CPZ, CFX と同等ないしやや劣る程度であった。*B. fragilis* group, *E. lentum*, *C. difficile* に対する抗菌力は弱く, *P. micros*, *C. ramosum* に対する抗菌力は強かった。AC-1370 は, *B. fragilis*, *B. bivius* 由来の β -lactamase に加水分解された。しかし CMX よりも安定であった。

AC-1370 は *B. fragilis* と *E. coli* の混合感染マウスに対し, CMX よりもすぐれた治療効果を示した。

また, AC-1370 2 mg/mouse の 7 日間投与は, CTX, CFX と異なり, マウス盲腸内に *C. difficile* の異常増殖を惹起することはなかった。

AC-1370 は, 味の素株式会社中央研究所で新規に合成された cephem 系の薬剤で, Fig. 1 に示す構造式を有する。

私共は, AC-1370 の嫌気性菌に対する抗菌活性を, 主に他の cephem 系薬剤と比較検討した。また, マウス盲腸内細菌叢への影響についても検討した。

I. 実験材料および方法

1. 使用薬剤

以下に示すごとく, いずれも力価の明白な原末を実験に供した。

AC-1370 (891 μ g/mg)	味の素(株)
Cephalothin	CET (945 μ g/mg) 塩野義製薬(株)
Cephazoline	CEZ (954 μ g/mg) 藤沢薬品工業(株)
Cefamandole	CMD (878.9 μ g/mg) 塩野義製薬(株)

Cefoperazone	CPZ (936 μ g/mg) 富山化学工業(株)
Cefoxitin	CFX (936.5 μ g/mg) メルク・ジャパン(株)
Cefmetazole	CMZ (949 μ g/mg) 三共(株)
Cefotaxime	CTX (912.8 μ g/mg) ヘキスト・ジャパン(株)
Cefmenoxime	CMX (945 μ g/mg) 武田薬品工業(株)
Cefotetan	CTT (909 μ g/mg) 山之内製薬(株)
Ceftazidime	CAZ (815 μ g/mg) 新日本実業(株)
Cefbuperazone	CBPZ (948 μ g/mg) 富山化学工業(株)
Cefpiramide	CPM (899 μ g/mg) 住友化学工業(株)
Amoxicillin	AMPC (839 μ g/mg) ビーチャム薬品(株)
Amoxicillin-clavulanic acid	BRL-25000 (834 μ g/mg) ビーチャム薬品(株)

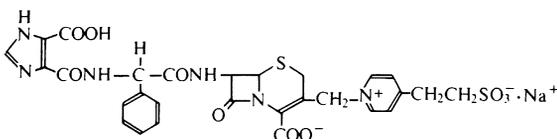
2. 使用菌株

教室保存株および臨床分離株を用いた。これらの菌株は 20% スキムミルクを保護剤として -80°C の超低温庫中で保存された。

3. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

日本化学療法学会嫌気性菌感受性測定法¹⁾に準じて行った。使用培地としては前培養用にはメナディオソール (0.1 μ g/ml) 添加の GAM ブイヨン (ニッスイ) を, MIC

Fig. 1 Chemical structure of AC-1370



測定用にはメナディオオン (10 μ g/ml) 添加の GAM 寒天 (ニッスイ) を用いた。

4. 殺菌作用

1) 最小殺菌濃度 (MBC) の測定

試験菌には *Bacteroides thetaiotaomicron* WAL-3304, *Bacteroides fragilis* ATCC25285, GAI-0758 および GAI-0558 の合計 4 株を用いた。種々の濃度に薬剤を含有する GAM ブイオン中に、GAM ブイオン中で 37 $^{\circ}$ C 一夜嫌気培養した菌液を約 10 4 cfu/ml となるように接種した。37 $^{\circ}$ C で一夜嫌気培養後、肉眼で混濁の有無を観察し混濁が全く認められない濃度を MIC とした。MBC は MIC 以上の濃度の試験管から薬剤を含まない GAM 寒天上に 5 μ l ずつ白金耳で接種し、37 $^{\circ}$ C 24 時間培養後生育菌の有無を判定した。生育菌のみられない一番低い濃度をもって MBC とした。

2) 増殖曲線に及ぼす影響

MIC 値前後の薬剤を含んだ GAM ブイオンに *B. fragilis* ATCC-25285 を約 10 7 cfu/ml となるように接種し、経時的に生菌数を GAM 寒天上で測定した。

5. 薬剤含有培地上での形態変化

B. fragilis ATCC25285 の 37 $^{\circ}$ C 一夜培養菌液を MIC 値前後の薬剤を添加したヘミン (5 μ g/ml)・メナディオオン (10 μ g/ml) 添加 BHI 寒天 (BBL) 上に接種し、経時的に菌体の変化を位相差顕微鏡下で観察した。

6. β -lactamase に対する安定性

AC-1370 の *B. fragilis* GAI-3025 と *B. bivius* GAI-0643 由来の β -lactamase に対する安定性を CEZ, CM-X および CTX を対照薬剤として検討した。

試験菌の GAM ブイオンでの 37 $^{\circ}$ C 24 時間培養菌液を 10 倍に希釈、さらに 6 時間培養を続けたあとの対数増殖期後期の菌体を 4 $^{\circ}$ C にて遠心分離して集菌し、0.1M リン酸緩衝液 (pH 6.9) にて 2 回洗滌、次いで同緩衝液に浮遊させ、氷冷しながら超音波処理により菌体を破壊後、再度遠心分離し得られた上清を粗酵素液として用いた。

β -lactamase 活性は、macroiodometric method によって測定した²⁾。

7. 実験的マウス腹腔内感染に対する治療効果

マウスは ICR 系、体重 18 \pm 2g の雄を用いた。*B. fragilis* GAI-0558 と *E. coli* No. 7 を感染菌とした。*B. fragilis* の 10 4 cfu/mouse, *E. coli* 10 4 cfu/mouse をマウス腹腔内に接種し、1 時間後に皮下投与により AC-1370 および CMX による治療を行った。

観察は 2 日間行い、マウスの生死により治療効果を判定した。

8. 薬剤投与マウス盲腸内容物中の *Clostridium difficile* の出現

マウスは ICR 系、体重 20 \pm 2g の雄を用いた。AC-1370 および CFX, CEZ, CPZ, CTX を 1 日 1 回 2mg を 7 日間皮下に投与した。投与終了翌日と 1 週間後にマウスを屠殺、盲腸を除去し、anaerobic glove box (N $_2$ 80%, H $_2$ 10%, CO $_2$ 10%) 内に搬入してこの中ですべての培養操作を行った。

C. difficile の選択培地には CCFA 培地を用い、24 時間以上 anaerobic glove box 内で保存し充分還元させて使用した。

9. β -lactamase 活性の有無と MIC との関係

Bacteroides 41 株の β -lactamase 活性を chromogenic cephalosporin 法で測定し、MIC との関連性を検討した。Chromogenic cephalosporin 法は、以下のごとく行った。ミニテック用マイクロプレートにニトロセフィン試薬 (Nitrocef (Glaxo) 5mg を dimethylsulfoxide (和光純薬) 0.5ml で充分溶解、pH 7.0 potassium phosphate buffer 9.5ml を加え混和) を 0.1ml 分注、GAM 寒天培地に 24~48 時間培養した被験菌のコロニーをかきとり試薬とよく混合、10 分間静置後判定した。濃赤色を +、赤色~橙色 +w、黄色 - と判定した。

II. 成績

1. 抗菌スペクトラム

嫌気性菌に対する AC-1370 の抗菌スペクトラムを、接種菌量 10 4 cfu/ml で CMZ, CPZ, CEZ のそれと比較した結果を Table 1 に示した。

AC-1370 は、*Peptococcus niger*, *Peptostreptococcus tetradius*, *Peptostreptococcus micros*, *Staphylococcus saccharolyticus* に対して、0.39~0.025 μ g/ml 以下の低い MIC を示したが、その他の球菌には、6.25~12.5 μ g/ml の MIC を示した。本剤の嫌気性球菌に対する抗菌力は、全般的には対照薬剤よりも劣っていたが、*P. micros* に対しては、本剤の方が他剤に比し優れていた。

AC-1370 は、*Bacteroides fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *Eubacterium lentum*, *Clostridium difficile* に対しては、25~400 μ g/ml 以上の MIC を示したが、その他の桿菌には、6.25 μ g/ml 以下の MIC を示した。

2. 臨床分離株の感受性分布

各種臨床分離株に対する AC-1370 の抗菌力をそれらの分離株の MIC の最小~最大値の幅、分離株の 50% の株の発育を阻止するのに必要な濃度 (MIC $_{50}$) および分離株の 90% の発育を阻止するのに必要な濃度 (MIC $_{90}$) を Table 2~11 に示した。

B. fragilis 19 株に対する AC-1370 の MIC は、10 4 cfu/

Table 1 Antimicrobial spectrum of AC-1370 against anaerobic bacteria

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$) 10^6 cells/ml			
	AC-1370	CMZ	CPZ	CEZ
<i>P. asaccharolyticus</i> WAL-3218 ¹⁾	12.5	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>P. asaccharolyticus</i> GAI-0290	6.25	0.05	0.05	≤ 0.025
<i>P. asaccharolyticus</i> GAI-1754	6.25	0.05	0.05	0.05
<i>P. niger</i> ATCC-27731	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>P. indolicus</i> ATCC-29427 ¹⁾	12.5	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>P. indolicus</i> GAI-0916	12.5	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>S. saccharolyticus</i> ATCC-1395 ²⁾	0.39	0.78	0.20	≤ 0.025
<i>P. prevotii</i> GAI-1667 ¹⁾	6.25	0.78	0.39	0.05
<i>P. magnus</i> ATCC-29328 ¹⁾	12.5	0.39	0.20	0.05
<i>P. magnus</i> ATCC-14956	12.5	0.78	0.78	0.10
<i>S. intermedius</i> GAI-1207 ³⁾	6.25	1.56	0.39	0.20
<i>S. constellatus</i> GAI-1452 ³⁾	12.5	3.13	0.78	0.39
<i>Ps. tetradius</i> GAI-0608	0.05	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>Ps. micros</i> GAI-1602	≤ 0.025	1.56	3.13	0.78
<i>Ps. micros</i> GAI-0578	≤ 0.025	1.56	3.13	0.78
<i>Ps. anaerobius</i> GAI-1798	12.5	25	1.56	0.78
<i>B. fragilis</i> ATCC-25285	25	6.25	12.5	12.5
<i>B. fragilis</i> GAI-0492	200	12.5	50	100
<i>B. fragilis</i> GAI-1859	25	12.5	3.13	6.25
<i>B. vulgatus</i> ATCC-29327	0.78	1.56	1.56	0.20
<i>B. thetaiotaomicron</i> GAI-0659	$400 \leq$	50	25	12.5
<i>B. bivius</i> GAI-2899	6.25	3.13	3.13	3.13
<i>B. melaninogenicus</i> GAI-0410	0.05	0.39	0.78	0.20
<i>B. melaninogenicus</i> GAI-0411	≤ 0.025	0.39	0.20	0.05
<i>B. melaninogenicus</i> GAI-0416	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>B. asaccharolyticus</i> GAI-0413	0.20	0.39	0.78	0.10
<i>F. nucleatum</i> GAI-0474	0.39	0.10	0.05	≤ 0.025
<i>W. succinogenes</i> GAI-0886	≤ 0.025	0.78	6.25	0.78
<i>V. parvula</i> GAI-2642	3.13	0.20	3.13	0.10
<i>V. parvula</i> GAI-2519	3.13	≤ 0.025	0.78	0.39
<i>E. limosum</i> GAI-0456	0.78	1.56	0.39	6.25
<i>E. lentum</i> GAI-0309	$400 \leq$	25	50	50
<i>P. acnes</i> ATCC-11827	≤ 0.025	0.39	0.39	0.39
<i>C. ramosum</i> GAI-2560	0.39	0.78	0.20	0.78
<i>C. difficile</i> GAI-0858	50	25	25	6.25
<i>C. perfringens</i> ATCC-13123	3.13	0.10	≤ 0.025	≤ 0.025

P ; *Peptococcus* (¹⁾, transferred to *Peptostreptococcus*)
²⁾ ; *Staphylococcus*
³⁾ ; *Streptococcus*
Ps ; *Peptostreptococcus*
B ; *Bacteroides*
F ; *Fusobacterium*
V ; *Veillonella*

E ; *Eubacterium*
P ; *Propionibacterium*
C ; *Clostridium*
W ; *Wolinella*

Table 2 Antibacterial activities of AC-1370 and other cepheims against clinical isolates of *B. fragilis*

Drug	No. of strains	Inoculum size	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
			Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
AC-1370	19	10 ⁸	25 ~ 100	50	100
		10 ⁶	6.25 ~ 50	25	50
CEZ	19	10 ⁸	25 ~ 400	100	400
		10 ⁶	12.5 ~ 25	25	25
CPZ	19	10 ⁸	50 ~ 200	100	100
		10 ⁶	3.13 ~ 25	6.25	25
CFX	19	10 ⁸	3.13 ~ 50	6.25	50
		10 ⁶	3.13 ~ 25	3.13	12.5

Table 3 Antimicrobial activities of AC-1370 and other cepheims against clinical isolates of *B. distasonis*

Drug	No. of strains	Inoculum size	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
			Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
AC-1370	8	10 ⁸	1.56 ~ 400<	12.5	400 <
		10 ⁶	0.87 ~ 400	12.5	400
CEZ	8	10 ⁸	12.5 ~ 100	50	100
		10 ⁶	3.13 ~ 25	6.25	25
CPZ	8	10 ⁸	12.5 ~ 100	25	100
		10 ⁶	3.13 ~ 50	6.25	25
CFX	8	10 ⁸	6.25 ~ 25	6.25	25
		10 ⁶	3.13 ~ 25	6.25	25

Table 4 Antimicrobial activities of AC-1370 and other cepheims against clinical isolates of *B. thetaiotaomicron*

Drug	No. of strains	Inoculum size	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
			Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
AC-1370	8	10 ⁸	200 ~ 400<	400	400<
		10 ⁶	100 ~ 400<	400	400<
CEZ	8	10 ⁸	50 ~ 400<	200	400<
		10 ⁶	25 ~ 400<	50	400<
CPZ	8	10 ⁸	50 ~ 200	100	200
		10 ⁶	25 ~ 100	50	100
CFX	8	10 ⁸	12.5 ~ 200	25	200
		10 ⁶	12.5 ~ 200	25	200

Table 5 Antimicrobial activities of AC-1370 and other cepheims against clinical isolates of *B. bivius*

Drug	No. of strains	Inoculum size	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
			Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
AC-1370	21	10 ⁸	25 ~ 100<	100	100<
		10 ⁶	12.5 ~ 100<	100	100<
CET	21	10 ⁸	25 ~ 100	100	100
		10 ⁶	1.56 ~ 50	50	50
CEZ	21	10 ⁸	6.25 ~ 100	100	100
		10 ⁶	3.13 ~ 100	25	25
CMD	21	10 ⁸	3.13 ~ 100	25	100
		10 ⁶	1.56 ~ 50	6.25	50
CPZ	21	10 ⁸	3.13 ~ 100	6.25	50
		10 ⁶	1.56 ~ 50	3.13	12.5
CFX	21	10 ⁸	3.13 ~ 50	25	25
		10 ⁶	1.56 ~ 25	12.5	12.5
CMZ	21	10 ⁸	1.56 ~ 12.5	6.25	12.5
		10 ⁶	1.56 ~ 12.5	6.25	6.25
CTX	21	10 ⁸	3.13 ~ 100	12.5	50
		10 ⁶	1.56 ~ 25	3.13	25
CMX	21	10 ⁸	3.13 ~ 100	12.5	100
		10 ⁶	1.56 ~ 25	3.13	25
CTT	21	10 ⁸	6.25 ~ 100<	25	50
		10 ⁶	3.13 ~ 50	25	25
CBPZ	21	10 ⁸	6.25 ~ 50	12.5	25
		10 ⁶	1.56 ~ 12.5	6.25	12.5
CPM	21	10 ⁸	3.13 ~ 50	12.5	50
		10 ⁶	1.56 ~ 25	12.5	12.5

ml 接種で、6.25~50 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、MIC₅₀は25 $\mu\text{g/ml}$ 、MIC₉₀は100 $\mu\text{g/ml}$ であった。これは CEZ とほぼ同等の成績で、CPZ、CFX よりも劣った。

B. distasonis 8 株に対する AC-1370 の MIC は 10⁶ cfu/ml 接種で、0.87~400 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、MIC₅₀、MIC₉₀はそれぞれ12.5 $\mu\text{g/ml}$ 、400 $\mu\text{g/ml}$ であった。これは CEZ、CPZ および CFX よりも 1 管高値を示した。

B. thetaiotaomicron 8 株に対する AC-1370 の MIC は、10⁶cfu/ml 接種で、100~400 $\mu\text{g/ml}$ 以上であった。MIC₅₀、MIC₉₀はそれぞれ400 $\mu\text{g/ml}$ 、400 $\mu\text{g/ml}$ 以上であり、CEZ、CPZ および CFX よりも劣った。

B. bivius 21 株に対する AC-1370 の MIC は、10⁶cfu/ml 接種で、12.5~100 $\mu\text{g/ml}$ 以上であり、MIC₅₀、MIC₉₀は、それぞれ100 $\mu\text{g/ml}$ 、100 $\mu\text{g/ml}$ 以上であった。対照とした cephem 剤11剤よりも劣った。

E. aerofaciens 15 株に対する AC-1370 の MIC は、10⁶ cfu/ml 接種で、3.13~12.5 $\mu\text{g/ml}$ にあり、MIC₅₀、MIC₉₀はそれぞれ6.25 $\mu\text{g/ml}$ 、12.5 $\mu\text{g/ml}$ であった。これは対照とした cephem 6 剤、penem 1 剤よりも劣った。

嫌気性球菌 5 株に対する AC-1370 の MIC は、10⁶cfu/ml 接種で12.5~400 $\mu\text{g/ml}$ にあり、MIC₅₀、MIC₉₀は、それぞれ12.5 $\mu\text{g/ml}$ 、400 $\mu\text{g/ml}$ であった。CEZ、CPZ およ

Table 6 Antimicrobial activities of AC-1370 and other antimicrobials against clinical isolates of *E. aerofaciens*

Drug	No. of strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
AC-1370	15	3.13 ~ 12.5	6.25	12.5
CEZ	14	0.39 ~ 1.56	0.39	0.78
CPZ	15	0.10 ~ 1.56	0.78	0.78
CMX	15	0.19 ~ 0.78	0.39	0.39
CTT	15	0.78 ~ 12.5	3.13	6.25
CBPZ	15	1.56 ~ 6.25	3.13	6.25
CAZ	15	0.78 ~ 12.5	3.13	6.25
AMPC	15	0.05 ~ 0.19	0.10	0.10

Inoculum; 10^6 cfu/ml

Table 7 Antimicrobial activities of AC-1370 and other cepheids against clinical isolates of anaerobic cocci

Drug	No. of strains	Inoculum size	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
			Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
AC-1370	5	10^8	12.5 ~ 400	12.5	400
		10^6	6.25 ~ 400	12.5	400
CEZ	5	10^8	0.19 ~ 200	0.39	200
		10^6	0.19 ~ 25	0.19	25
CPZ	5	10^8	0.78 ~ 200	3.13	200
		10^6	0.1 ~ 50	1.56	50
CFX	5	10^8	0.19 ~ 6.25	0.39	6.25
		10^6	0.025 ~ 3.13	0.39	3.13

Table 8 Antimicrobial activities of AC-1370 and other cepheids against clinical isolates of *C. perfringens*

Drug	No. of strains	Inoculum size	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
			Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
AC-1370	3	10^8	6.25 ~ 25	12.5	25
		10^6	0.78 ~ 3.13	1.56	3.13
CEZ	3	10^8	0.19 ~ 0.78	0.19	0.78
		10^6	0.025 ~ 0.05	0.05	0.05
CPZ	3	10^8	3.13 ~ 6.25	6.25	6.25
		10^6	0.025 ~	0.025	0.025
CFX	3	10^8	3.13 ~	3.13	3.13
		10^6	0.39 ~	0.39	0.39

Table 9 Antimicrobial activities of AC-1370 and other cepheids against clinical isolates of *C. difficile*

Drug	No. of strains	Inoculum size	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
			Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
AC-1370	9	10 ⁸	50 ~ 100	50	100
		10 ⁶	25 ~ 100	25	100
CEZ	9	10 ⁸	12.5 ~ 50	25	50
		10 ⁶	12.5 ~ 25	12.5	25
CPZ	9	10 ⁸	25 ~ 100	25	100
		10 ⁶	12.5 ~ 100	25	100
CFX	9	10 ⁸	50 ~ 100	100	100
		10 ⁶	25 ~ 100	50	100

Table 10 Antimicrobial activities of AC-1370 and other antimicrobials against clinical and fecal isolates of *C. ramosum*

Drug	No. of strains	Inoculum size	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
			Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
AC-1370	30	10 ⁸	0.19 ~ 0.78	0.39	0.39
		10 ⁶	0.19 ~ 0.78	0.19	0.78
CEZ	26	10 ⁸	0.78 ~ 12.5	3.13	12.5
		10 ⁶	0.78 ~ 12.5	1.56	12.5
CPZ	30	10 ⁸	0.19 ~ 0.78	0.39	0.78
		10 ⁶	0.19 ~ 0.78	0.39	0.78
CMZ	30	10 ⁸	1.56 ~ 25	6.25	25
		10 ⁶	0.78 ~ 12.5	3.13	12.5
CMX	30	10 ⁸	0.10 ~ 0.39	0.19	0.19
		10 ⁶	0.10 ~ 0.39	0.19	0.19
CTT	30	10 ⁸	0.19 ~ 50	1.56	50
		10 ⁶	0.19 ~ 50	0.39	50
CBPZ	30	10 ⁸	12.5 ~ 100<	50	100<
		10 ⁶	6.25 ~ 100<	25	100<
CAZ	30	10 ⁸	1.56 ~ 3.13	3.13	3.13
		10 ⁶	1.56 ~ 3.13	3.13	3.13
AMPC	30	10 ⁸	0.05 ~ 0.39	0.10	0.39
		10 ⁶	0.05 ~ 0.39	0.10	0.39
BRL-25000	30	10 ⁸	0.10 ~ 0.39	0.19	0.39
		10 ⁶	0.10 ~ 0.39	0.19	0.39

Table 11 Antimicrobial activities of AC-1370 and other antimicrobials against clinical and fecal isolates of *C. innocuum*

Drug	No. of strains	Inoculum size	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
			Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
AC-1370	13	10 ⁸	12.5 ~ 100	25	25
		10 ⁶	12.5 ~ 100	12.5	25
CEZ	13	10 ⁸	3.13 ~ 25	3.13	25
		10 ⁶	3.13 ~ 12.5	3.13	12.5
CPZ	13	10 ⁸	6.25 ~ 12.5	6.25	6.25
		10 ⁶	6.25 ~ 12.5	6.25	6.25
CMZ	13	10 ⁸	25 ~ 50	25	50
		10 ⁶	25 ~ 50	25	25
CMX	13	10 ⁸	3.13	3.13	3.13
		10 ⁶	3.13	3.13	3.13
CTT	13	10 ⁸	100 <	100 <	100 <
		10 ⁶	100	100	100
CBPZ	13	10 ⁸	50 ~ 100	50	100
		10 ⁶	50 ~ 100	50	100
CAZ	13	10 ⁸	50 ~ 100 <	50	100 <
		10 ⁶	25 ~ 50	50	50
AMPC	13	10 ⁸	0.19 ~ 0.78	0.39	0.39
		10 ⁶	0.19 ~ 0.39	0.39	0.39

びCFXよりも劣った。以下10⁸cfu/ml接種時でみると、

C. perfringens 3株に対するAC-1370のMICは6.25~25 $\mu\text{g/ml}$ にあり、MIC₅₀、MIC₉₀は、それぞれ12.5 $\mu\text{g/ml}$ 、25 $\mu\text{g/ml}$ であった。本剤は使用4薬剤中最も劣った。

C. difficile 9株に対するAC-1370のMICは、50~100 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、MIC₅₀、MIC₉₀はそれぞれ50 $\mu\text{g/ml}$ 、100 $\mu\text{g/ml}$ であった。本剤はCEZより劣り、CPZと同等、CFXより優れた。

C. ramosum 30株に対するAC-1370のMICは、0.19~0.78 $\mu\text{g/ml}$ に分布した。MIC₅₀、MIC₉₀はそれぞれ0.19 $\mu\text{g/ml}$ 、0.78 $\mu\text{g/ml}$ であった。AC-1370は、AMPC、BRL-25000、CMXおよびCPZと同等の強い抗菌力を示し、CTT、CBPZより著明に優れた。

C. innocuum 13株に対するAC-1370のMICは、12.5~100 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、MIC₅₀、MIC₉₀はいずれも25 $\mu\text{g/ml}$ であった。本剤はCEZ、CPZ、CMXおよびAMPCより劣り、CMZ、CTT、CBPZおよびCAZより優れた。また10⁸cfu/ml接種でのMICは、10⁶cfu/ml接種での

MICより1管(2×)高くでる傾向が認められた。

3. MICとMBCの比較

B. thetaiotaomicron WAL-3304のMICとMBCは同値であった。*B. fragilis* ATCC-25285およびGAI-0758のMICとMBCには、1管の差異が認められた。

4. *B. fragilis*の増殖曲線に及ぼす影響

10⁸cfu/ml接種で、100 $\mu\text{g/ml}$ のMICを有する*B. fragilis* ATCC-25285株に1/2 MIC、1 MIC、4 MICの濃度のAC-1370を作用させた。1/2 MICでも、5時間までは殺菌的に作用した。しかし24時間では4 MICでは再増殖が認められなかったが、1/2 MIC、1 MICでは再増殖が認められた (Fig. 2)。

5. 形態変化

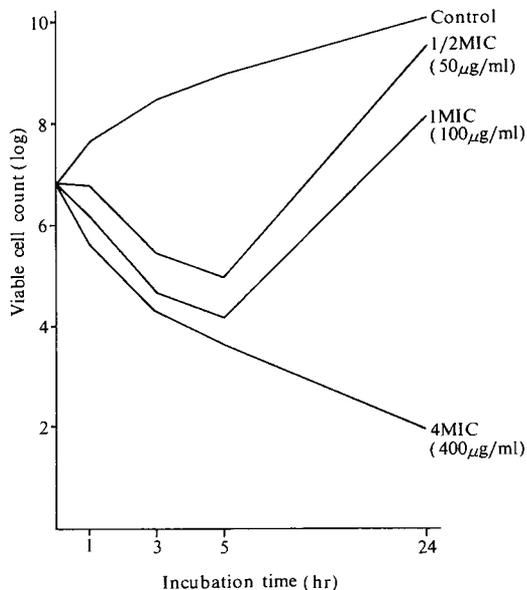
AC-1370の1 MICとCEZの1 MIC濃度の*B. fragilis* ATCC-25285の菌形に及ぼす影響を検討した。

薬剤接種後2時間で、Fig. 3に示すごとく、AC-1370で著明なフィラメント化が認められたに比し、CEZではフィラメント化は全く認められず、菌体がYeast様にふ

Table 12 Comparison of MICs and MBCs of 4 strains of *Bacteroides fragilis* group

Organism	MIC (μg/ml)	MBC (μg/ml)
<i>B. thetaiotaomicron</i> (WAL-3304)	1,600	1,600
<i>B. fragilis</i> (ATCC-25285)	100	200
<i>B. fragilis</i> (GAI-0758)	25	50
<i>B. fragilis</i> (GAI-0558)	>1,600	>1,600

Fig. 2 Effect of AC-1370 on growth curve of *B. fragilis* ATCC-25285



くらんだ像を示した。

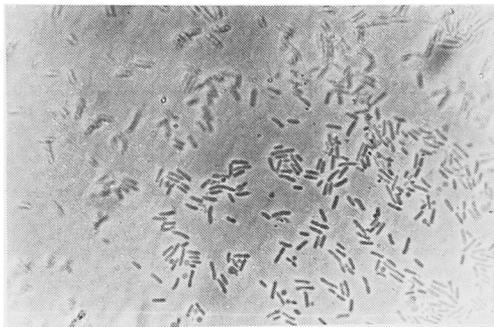
6. β-lactamase に対する安定性

B. bivius GAI-0643 と *B. fragilis* GAI-3025 から得た β-lactamase に対する AC-1370 の安定性を CEZ, CMX および CTX を比較薬剤として検討した。Fig. 4 に CEZ の加水分解を 100 とした場合の相対加水分解を示してある。

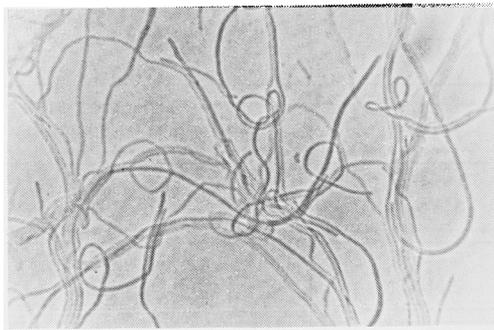
AC-1370 は、*B. bivius* の β-lactamase に対し、CMX, CTX より安定であった。また *B. fragilis* の β-lactamase に対しては、CMX より安定で、CTX よりもやや不安定であった。

Fig. 3 Effect of AC-1370 and CEZ on cellular morphology of *B. fragilis*

Control (2 hr)



AC-1370 1MIC (2 hr)



CEZ 1MIC (2 hr)



2 hours after exposure

7. β-lactamase 活性と MIC との関係

Bacteroides sp. の β-lactamase 産生能を chromogenic cephalosporin 法で、-, +w, および + の 3 段階に分類して、それらの MIC と比較検討した結果を Table 13

Fig. 4 Stability of AC-1370 and other cephem s derived from *B. fragilis* and *B. bivius*

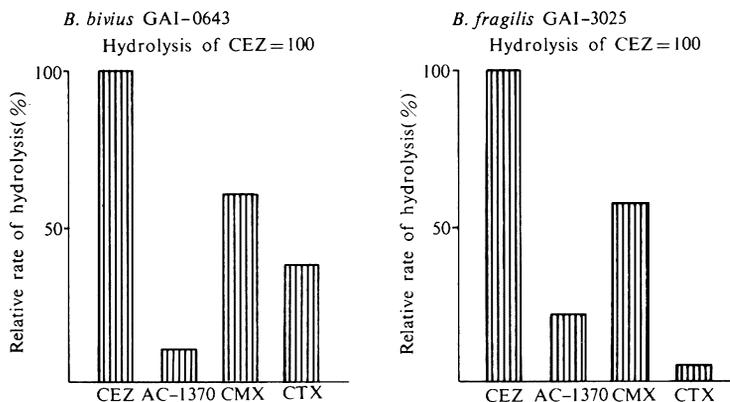


Table 13 Relationship between MIC and β -lactamase activity of *Bacteroides*

β -lactamase Inoculum MIC	-		+ w		+	
	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁸
>400			2	5		1
400			5	3	1	
200			1	2		
100			3	10		
50			2	9		
25	1	2	7	2		
12.5	2	1	7	3		
6.25			6			
3.13		1				
1.56	1	2				
0.79	2					
0.39	1	1				
0.20						
0.10						
0.05						
≤0.025						

に示した。

β -lactamase-群のMICは、0.39~25 μ g/mlに分布し、 β -lactamase+w群のMICは6.25~400 μ g/ml以上に分布し、 β -lactamase産生株が、 β -lactamase非産生株に比しMICが高くなる傾向が認められた。

8. *B. fragilis* と *E. coli* による実験的マウス腹腔内感染症に対する治療効果

AC-1370の*B. fragilis*, *E. coli*に対するMICは、それぞれ25, 6.25 μ g/ml, CMXの*B. fragilis*, *E. coli*に対するMICはそれぞれ25, 3.13 μ g/mlであった。

B. fragilis, *E. coli*をそれぞれ10⁸cfu/ml, 10⁴cfu/mlをマウス腹腔内に接種したcontrol群は、8匹中6匹を生残させたが、CMXの1mg/mouse接種は、8匹中2匹を生残させたのみであった (Table 14)。

9. マウス盲腸内のフローラへの影響

—特に *C. difficile* の異常増殖の有無—

AC-1370 2mg/mouse/dayの1日1回7日間投与によってもマウス盲腸内の*C. difficile*の異常増殖はなかった。投薬中止後1週間を経過したマウスの盲腸内にも*C. difficile*の異常増殖はなかった。しかし同時に行ったCTX, CFX, CEZおよびCPZではそれぞれTable 15に示すごとく、60~100%のマウス盲腸内から*C. difficile*が分離された。

III. 総括および考察

AC-1370は、注射用のcephem剤で、好気性のグラム陽性菌からグラム陰性菌に対し幅広い抗菌スペクトルをもつことが知られている。特に*Pseudomonas*属を含むグラム陰性桿菌に良好な抗菌力を示すこととマウスの感染防禦試験において*in vitro*の抗菌活性を上まわる効果がえられることが注目されている³⁾。

著者らは、本剤の嫌気性菌に対する抗菌作用、嫌気性菌の産生する β -lactamaseに対する安定性、マウス盲腸内フローラへの影響などを検討した。

Table 14 Protective effect of AC-1370 and CMX on experimental mixed infections with *B. fragilis* and *E. coli*

Antibiotic	Challenge dose (i.p.)		Treatment			
	<i>B. fragilis</i>	<i>E. coli</i>	4mg	2mg	1mg	0
AC-1370	10 ⁸ (MIC : 25)	10 ⁴ (MIC : 6.25)	0/8*	0/8	2/8	8/8
CMX	10 ⁸ (MIC : 25)	10 ⁴ (MIC : 3.13)	0/8	1/8	6/8	

* No. of mice died/No. of mice tested

Table 15 Appearance of *Clostridium difficile* in caecal contents of mice administered various drugs

Drug	Recovery of <i>C. difficile</i>					Rate of appearance of <i>C. difficile</i> (%)				
	4+	3+	2+	+	-	20	40	60	80	100
CTX	5									
CFX	2	3								
CEZ			1	4						
CPZ		1		2	2					
AC-1370					5					
1 week after					5					
Control					5					

Medication : dose : 2mg/day

S.C. : 7 days

4+ : 10⁴ or more/plate3+ : 10⁴ ~ 10³/plate2+ : 10³ ~ 10²/plate+ : 10² ~ 10¹/plate

- : No growth

本剤の嫌気性菌に対する抗菌スペクトラムは、幅広いが、 β -lactamase産生性のある *Bacteroides fragilis* groupのいくつかの菌種や *E. lentum*, *C. difficile* には抗菌力が弱く、また球菌に対しても *P. micros*, *P. niger* を除き抗菌力は弱いことが知られた。本剤の抗菌力は、一般的にみて、対照とした既存の cephem 剤と同等かやや劣る成績であった。新鮮臨床分離株を用いた検討でも、

C. ramosum に対する AC-1370 の抗菌力が CMX とともに他の cephem 剤より著明に優れていた点以外に特筆すべき長所は認められなかった。

AC-1370 の MIC は、10⁸cfu/ml と 10⁶cfu/ml 接種で、1管程度の差を認めただけで接種菌量による影響は少なく、また本剤の MIC と MBC も近似した値をとった。本剤は 1 MIC 濃度で *B. fragilis* の長いフィラメント化を

惹起し、溶菌させることが明らかとなった。AC-1370は *B. bivius* と *B. fragilis* の産生する β -lactamase により加水分解を受けることが知られた。しかし本剤は、CEZよりはかなり安定で、CMX よりもやや安定と思われた。また、 β -lactamase 産生能のつよい菌株は、 β -lactamase 産生能の弱いまたはない菌株よりも AC-1370 に対する MIC が高い傾向が認められた。AC-1370 の *in vivo* 抗菌力を *B. fragilis* と *E. coli* の混合感染マウスを用いて検討した。両攻撃菌に対し AC-1370 をほぼ同じ *in vitro* 抗菌力をもつ CMX を対照薬として選定した。AC-1370 の治療効果は CMX よりも優れた。本剤の *in vivo* 抗菌力が、*in vitro* の成績から期待される以上に現われることは、好気性菌を用いてマウスを感染の場として既に明らかにされている。これがどのような原因によるものか不明であるが、著者らの実験系においては、AC-1370 が CMX より *B. fragilis* の β -lactamase に安定であったこ

とは一考に値する。

最後に AC-1370 2 mg/day をマウスに 7 日間連続投与しても、マウス盲腸内容物中に *C. difficile* は全く増殖しなかった。同一条件で CTX, CFX 投与群で、著明な *C. difficile* の異常増殖が認められたことを考えると、本剤のマウス盲腸内フローラへの影響が CTX, CFX とはかなり異なっていることが示唆された。

文 献

- 1) 嫌気性菌 MIC 測定法検討委員会 (委員長 小酒井望): 嫌気性菌の発育阻止濃度 (MIC). *Chemotherapy* 27: 559~560, 1979
- 2) 沢井哲夫, 高橋郁子: β -ラクタマーゼ活性測定法とその応用. 蛋白質 核酸 酵素 23: 391~400, 1978
- 3) 第31回日本化学療法学会総会: 新薬シンポジウム II. AC-1370, 大阪, 1983

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF AC-1370 AGAINST ANAEROBES

KUNITOMO WATANABE, MIDORI BUNAI, MAKOTO AOKI, KAZUNOBU KAGAWA,
KAKUYO SAWA and KAZUE UENO

Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University School of Medicine

Bacteriological evaluation to anaerobes was made on AC-1370, a new cephem antibiotic as compared with other cepheims, and the following results were obtained.

1) AC-1370 showed a broad antianaerobic activity, its activity against gram-positive cocci was inferior to that of CPZ, CFX or CEZ, and against gram-negative rods was the activity of AC-1370 equal to or somewhat inferior to that of CEZ, CPZ or CFX. Among the various species of anaerobes examined, AC-1370 showed a good activity against *P. micros* and *C. ramosum*, and a less activity against *B. fragilis* group, *E. lentum* and *C. difficile* in general.

2) AC-1370 was hydrolyzed by β -lactamase derived from *B. fragilis* and *B. bivius*, however its hydrolysis rate was less than that of CMX.

3) AC-1370 showed superior therapeutic effect than CMX against experimental polymicrobial infection in mice caused by *E. coli* and *B. fragilis*.

4) Appearance of *C. difficile* in caecal contents was not observed when AC-1370 was administered to mice at a dose of 2 mg/mouse for 7 days, contrary to the cases of CTX and CFX.