

グラム陰性桿菌に対する Azthreonam の抗菌機構

小川道雄・高田直樹・森武貞
大阪大学医学部第2外科学教室

三井一史・桐山健・杉中秀寿
広島大学歯学部口腔細菌学教室

(昭和60年5月27日受付)

合成 monobactam 系抗生物質である Azthreonam のグラム陰性桿菌に対する抗菌機構を、*E. coli* K 12, *P. aeruginosa* KM 338 および *S. marcescens* IFO 12648 を用い、Cefazolin のそれと対比して検討した。それぞれの菌株に対する Azthreonam の最小発育阻止濃度 (MIC) は 0.1, 25, 0.2 $\mu\text{g/ml}$ であった。Azthreonam が *E. coli* K 12 および *S. marcescens* IFO 12648 に対して Cefazolin より優れた抗菌力を示すのは、本剤の外膜透過性が良好で、しかも β -lactamase に対して安定であることによることにより、また *P. aeruginosa* KM 338 に対して Cefazolin より抗菌力が強いのは、本剤が Cefazolin に比べ外膜透過性、 β -lactamase に対する安定性および peptidoglycan の架橋形成にあずかる標的酵素に対して優れた感受性を有することによっていると結論した。

Azthreonam (SQ 26, 776) は米国スタイブ社で開発された合成 monobactam (単環 β -lactam) 系抗生物質である¹⁾。本剤はグラム陰性の桿菌および球菌に対して強い抗菌力を示すとされており、特に従来の β -lactam 抗生物質に比べセラチア菌に対しても、大腸菌に対すると同程度の強い抗菌活性を示すことが報告されている²⁾。

グラム陰性菌に対する β -lactam 抗生物質の抗菌力は、①菌細胞表面を覆う外膜に対する薬剤の透過性、②ペリプラズムに局在する β -lactamase に対する薬剤の安定性、③細胞質膜 (内膜) 上に存在する β -lactam 抗生物質の標的酵素に対する薬剤の親和性、によって決定されている。

本研究では大腸菌、緑膿菌およびセラチア菌に対する Azthreonam の抗菌機構を、上記の三つの要因について Cefazolin のそれと対比して検討した。

I. 材料と方法

1. 試験薬剤

Azthreonam は [2S-[2 α , 3 β (Z)]]-3-[[[2-Amino-4-thiazolyl]-[(1-carboxy-1-methylethoxy) imino] acetyl]-amino]-2-methyl-4-oxo-1-azetidine-sulfonic acid で、951 $\mu\text{g/mg}$ 力価のものをエーザイ株式会社 (東京) より得た。対照抗生剤として市販の Cefazolin (CEZ, 952 $\mu\text{g/mg}$ 力価) を用いた。また外膜透過性の実験には ¹⁴C-Azthreonam (7.54 $\mu\text{Ci/mg}$) を用いた。

2. 使用菌株

E. coli K 12, *P. aeruginosa* KM 338 および *S. marcescens* IFO 12648 を用い、また対照として *S. aureus* FDA 209 P も用いた。

3. 最小発育阻止濃度の測定

最小発育阻止濃度 (MIC) は2倍数系列希釈の各抗生剤を含む Trypticase soy broth (BBL 社, Microbiology System, Cockeysville, Md. USA) に約 10^8 cells/ml 濃度になるように菌を接種し、18時間、37°C 静置培養して測定した。

4. Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 存在下での抗菌力の測定

2価陽イオンのキレート剤である EDTA は、薬剤の透過障害の担い手であるグラム陰性菌外膜に障害を与える³⁾ため、EDTA 存在下で各抗生剤の MIC を測定すると、外膜で透過障害を受けていた薬剤の抗菌力が高まることが知られている^{4,5)}。そこで EDTA 存在下での各抗生剤の MIC として、上記培地に 1/2 MIC 濃度の EDTA を添加して3の項と同様の方法で調べた。なお EDTA 単独での被験菌 *E. coli* K 12, *P. aeruginosa* KM 338, *S. marcescens* IFO 12648 および *S. aureus* FDA 209 P に対する MIC は 1.9, 1.9, 3.8 および 0.9 $\mu\text{mol/ml}$ であった。

5. 細菌細胞外膜の薬剤透過性の測定

対数増殖期の *E. coli* K 12, *P. aeruginosa* KM 338, および *S. marcescens* IFO 12648 洗浄菌体の浮遊液に、最終濃度が 1 M になるように NaCl を加えて plasm-

lysis をおこさせ、それぞれの菌浮遊液に ^{14}C -Azthreonom を加え、10 分後遠心してその上清の放射活性 (A) を測定した。上清を充分に除いたのち、0.05 M 緩衝液に菌体を浮遊させて plasmolysis を解除させ、次いで遠心してその上清の放射活性 (B) を測定し、plasmolysis のときのそれと比較した。なお外膜の透過障害が全くない対照薬剤として ^{14}C -sucrose (10 $\mu\text{Ci}/\mu\text{mol}$)、また全く外膜を透過しないものとして高分子量 ^{14}C -glucan を比較のため用いた。 ^{14}C -glucan は上記 ^{14}C -sucrose から *Streptococcus mutans* FA-1 の培養上清より得た glucosyltransferase により合成させたもの⁶⁾を使用した。

6. β -Lactamase 標品の調整

それぞれの菌株の一夜培養液を 250 ml の Trypticase soy broth の入った各 2 本の振とうフラスコに 5% になるように接種し、37°C、2 時間、振とう培養したのち、その一方に *E. coli* K 12, *P. aeruginosa* KM 338 および *S. marcescens* IFO 12648 について、それぞれ 10, 1,600 および 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 濃度になるように Penicillin G (PCG) を添加し、他方は未添加の対照として、両者をさらに 1.5 時間培養を続けた。培養後、各菌体を遠心して集め、50 mM リン酸緩衝液 (pH 6.8) で菌体を洗浄、各 8 ml の上記緩衝液に浮遊させた。この浮遊液を supersonic vibrator (UR 150, 富永製作所, 東京) で 5 分間処理し、未破碎の菌体を除いたのち、その上清を β -lactamase 酵素標品とした⁷⁾。

7. β -Lactamase 活性の測定

β -lactamase 活性は UV 法⁸⁾によって測定した。

8. Ether 処理菌の調整

被験菌株を 500 ml の Trypticase soy broth で振とう培養し、対数増殖期に集菌、それぞれの洗浄菌体を VORSBERG と HOFFMANN-BERLING の方法⁹⁾に従って、80 mM KCl, 40 mM tris (hydroxymethyl) aminomethane-hydrochloride (Tris-HCl) 緩衝液 (pH 7.5), 7 mM MgCl_2 , 2 mM Ethyleneglycoltetraacetic acid, 0.4 mM spermidine および 0.5 M sucrose を含んだ 8 ml の溶液に浮遊させた。次に同量の ether を 0°C で加えて、1 分間ゆっくりと攪はんし、次いで ether 層を除いたのち、7,000 \times g, 10 分間遠心して、その沈渣の処理菌体を約 2 ml の上記溶液に浮遊させ (蛋白質量として 30~40 mg/ml 濃度)、これを peptidoglycan 合成の酵素標品とした。

9. Peptidoglycan 架橋形成の測定

Peptidoglycan 合成はその前駆体である uridine-5'-diphosphate-N-acetyl muramyl-L-alanyl-D-glutamyl-meso-diaminopimelyl-D-alanyl-D-alanine (UDP-MurNAc-L-Ala-D-Glu-meso-Dap-D-Ala-D-Ala) と uri-

dine-5'-diphosphate-N-acetylglucosamine (UDP-GlcNAc) を基質とし、MIRELMAN らの方法¹⁰⁾を一部改変して¹¹⁻¹³⁾測定した。前者の基質は Vancomycin 処理した *Bacillus megaterium* KM の菌体より LUOTENBERG らの方法¹⁴⁾に従って抽出、精製した得た。また後者の基質として、New England Nuclear 社 (Boston, Mass., USA) より購入した UDP- ^{14}C GlcNAc (290 mCi/mmol) を用いた。そして 10 μl の 1 mM UDP-MurNAc-L-Ala-D-Glu-meso-Dap-D-Ala-D-Ala, 5 μl の 34.4 μM UDP- ^{14}C GlcNAc, 10 μl の 1 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.5), 10 μl の 1 M NH_4Cl , 5 μl の 1 M MgCl_2 , 5 μl の 20 mM 2-mercaptoethanol, 85 μl の精製水, 20 μl の 0, 0.01, 0.1, 1, 10 および 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 濃度の各抗生剤溶液および 50 μl の ether 処理菌体浮遊液 (約 8 mg/ml 蛋白質量) を加え 37°C, 60 分間 peptidoglycan 合成を行なった。次いで、1 ml の 4% sodium dodecyl sulfate (SDS) を加え、その後 30 分間、100°C で加熱して反応を停止した。この反応液を冷却後、SDS 不溶性画分を millipore filter (0.45 μm) 上に集め、さらに 2.5 ml の 2% SDS で、次いで 15 ml の精製水で洗ったのち、この不溶性 peptidoglycan を含む filter を乾燥し、液体シンチレーションカウンターでその放射活性を測定した。このとき β -lactam 抗生剤によって、架橋形成が阻害されていれば未架橋の peptidoglycan が生成されるが、それが可溶性であるため、上記操作の際に filter を通過する。

II. 結果

1. 抗菌力

Table 1 の None の項に *E. coli* K 12, *P. aeruginosa* KM 338, *S. marcescens* IFO 12648 および *S. aureus* FDA 209 P に対する Azthreonom の MIC を CEZ のそれと対して示している。Azthreonom のそれぞれの菌株に対する MIC は 0.1, 25, 0.2 および 1,600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で、対照として用いた CEZ では 1.56, 51,200, 6,400 お

Table 1 Minimum inhibitory concentrations (MICs) and effects of EDTA on the MICs of azthreonom and cefazolin for *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. marcescens* and *S. aureus*

Organism	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)			
	Azthreonom		Cefazolin	
	None	EDTA	None	EDTA
<i>E. coli</i> K12	0.1	0.012	1.56	0.78
<i>P. aeruginosa</i> KM338	25	6.25	51,200	3,200
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	0.2	0.1	6,400	100
<i>S. aureus</i> FDA 209P	1,600	1,600	0.39	0.39

Table 2 Permeability of the outer membrane of *E. coli*, *P. aeruginosa* and *S. marcescens* to azthreonom

Strain	¹⁴ C-compound	Plasmolyzed A(dpm)	Non plasmolyzed B(dpm)	Penetration B/A(%)
<i>E. coli</i>	Azthreonom	5,629	1,018	0.181
		6,697	1,017	0.179 (73.8)
	Sucrose	3,109 2,852	566 593	0.182 0.208 (100)
<i>P. aeruginosa</i>	Azthreonom	5,581	1,220	0.219
		5,799	1,162	0.200 (59.7)
	Sucrose	2,727 2,753	654 694	0.240 0.252 (100)
<i>S. marcescens</i>	Azthreonom	5,721	1,219	0.213
		5,606	1,319	0.235 (37.3)
	Sucrose	2,797 2,861	766 706	0.274 0.247 (100)
	Glucan	19,783 11,371	3,074 2,897	0.155 0.150 (0)

Table 3 Substrate specificities of β -lactamases from *E. coli* K12, *P. aeruginosa* KM338 and *S. marcescens* IFO12648

Strain	Enzyme activities (unit/mg of protein)					
	Azthreonom		CEZ		PCG	
	Inducer(-)	Inducer(+)	Inducer(-)	Inducer(+)	Inducer(-)	Inducer(+)
<i>E. coli</i> K12	<0.0013	<0.0013	<0.00032	<0.00032	0.0057	0.0057
<i>P. aeruginosa</i> KM338	<0.0013	<0.0013	0.015	0.15	0.0049	0.0057
<i>S. marcescens</i> IFO12648	<0.0013	<0.0013	0.051	0.24	0.0057	0.0081

よび 0.39 $\mu\text{g/ml}$ であった。Azthreonom は CEZ に比べ *E. coli* K12 では約 16 倍, *P. aeruginosa* KM 338 に対しては 2,048 倍, *S. marcescens* IFO 12648 に対しては 32,000 倍感受性が優れていた。一方グラム陽性菌の *S. aureus* FDA 209 P に対しては Azthreonom の抗菌力は CEZ に比べて極めて弱かった。

2. EDTA 存在下での抗菌力

1/2 MIC 濃度の EDTA 存在下で Azthreonom の MIC を未添加の場合と比較し, 外膜透過障害の程度を検討した結果を Table 1 に示した。Azthreonom の抗菌力は EDTA 添加により *E. coli* K12 では 8 倍, *P. aeruginosa* KM 338 では 4 倍, *S. marcescens* IFO 12648 では 2 倍高まった。一方 CEZ の場合は EDTA 添加によりそれぞれ 2 倍, 16 倍, および 64 倍高まった。このことから, Azthreonom の外膜透過性は, *E. coli* K

12 で CEZ に比べやや低い以外には良好であることがわかった。なお対照菌として用いた外膜をもたない *S. aureus* FDA 209 P では, EDTA 添加によっても抗菌力に変化が認められなかった。

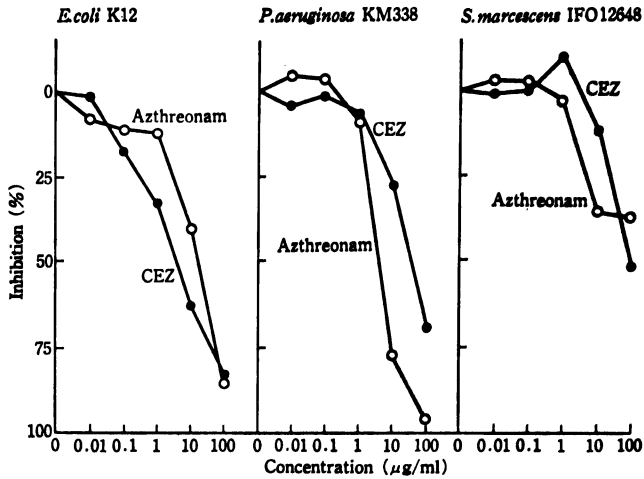
3. 薬剤の外膜透過性の直接測定の比較

外膜を自由に透過する sucrose と全く透過できない glucan を対照とし, ¹⁴C-Azthreonom の外膜透過性をみた結果が Table 2 である。Azthreonom は sucrose の 37.3~73.8% の透過性であり, sucrose と比べると透過障害はあるが, これらの細菌外膜の透過性はかなり良好であることがわかった。

4. β -lactamase に対する安定性

Table 3 は *E. coli* K12, *P. aeruginosa* KM 338 および *S. marcescens* IFO 12648 の構成的に産生する β -lactamase 活性を, PCG で誘導させた場合のそれと比較

Fig. 1 Effects of azthreonom and cefazolin on cross-linking reaction of peptidoglycan synthesis (37°C, 60 min.)



し、同時にこれらの β -lactamase の Azthreonom と CEZ の分解活性を対比して示したものである。いずれの菌株も、わずかながら構造的に β -lactamase 活性をペリプラズムにもち、*P. aeruginosa* KM 338 と *S. marcescens* IFO 12648 は PCG によってその活性が誘導された。またこれらの β -lactamase はいずれも PCG よりも CEZ をよく分解する cephalosporinase 型であった。Azthreonom はこれらいずれの β -lactamase 活性によっても分解を極めて受けにくかった。特に *P. aeruginosa* KM 338 と *S. marcescens* IFO 12648 の β -lactamase に対しては、Azthreonom は極めて安定であった。

5. 架橋 peptidoglycan 合成に及ぼす影響

すでに報告したように、被験菌株の ether 処理菌体と peptidoglycan 前駆体である UDP-MurNAc-L-Ala-D-Glu-meso-Dap-D-Ala-D-Ala および UDP-[14 C] GlcNAc とを反応させると、いずれの菌株でも SDS-不溶性画分 (架橋 peptidoglycan) への [14 C] GlcNAc の取り込みが認められ、また少なくとも 1 時間の反応まではその増加は経時的であった^{11,12)}。Fig. 1 は、この反応系に種々の濃度の Azthreonom および CEZ を添加して各濃度での架橋 peptidoglycan 生成量を未添加のそれと比較してそれぞれの阻害度を示したものである。*E. coli* K 12, *P. aeruginosa* KM 338, および *S. marcescens* IFO 12648 の ether 処理菌体による架橋 peptidoglycan 合成は Azthreonom および CEZ の添加により影響を受けた。Azthreonom による 50% 阻害濃度はそれぞれ 16, 4.1 および >100 μ g/ml であった。一方、対照として用いた CEZ のそれぞれの 50% 阻害濃度は 3.7, 32 お

よび 82 μ g/ml で、*P. aeruginosa* KM 338 を除けば Azthreonom より CEZ の方が阻害濃度がやや低かった。

III. 考 按

Azthreonom は本研究に用いた *E. coli* K 12 および *S. marcescens* IFO 12648 に優れた抗菌力を持ち、また *P. aeruginosa* KM 338 に対しても比較的強い抗菌力を有していた。この抗菌機構を前記の 3 要因について検討した。

一般に薬剤の外膜透過の程度は、菌種によって、また薬剤の種類によってもさまざまである。外膜はリポ多糖、リン脂質、一部が peptidoglycan に結合しているリポ蛋白質、低分子物質の透過孔を形成している porin 蛋白質などからなり、それぞれの間を 2 価陽イオンで結びつけられている³⁾。もし 2 価陽イオンのキレートである EDTA をここに作用させると、外膜からリポ多糖-蛋白質複合体が遊離され、外膜に障害が与えられて、透過障害を受けていた物質がペリプラズム内に入る¹³⁾。この現象を利用して、増殖に影響を与えない濃度 (1/2 MIC) の EDTA 存在下と存在しない場合での抗生剤の感受性を比べ、その抗生剤の外膜での透過障害の程度を検討した。ここで両者の薬剤感受性の差が大きいという結果は、外膜での薬剤の透過障害が大きいことを意味している。

Azthreonom は *P. aeruginosa* KM 338 と *S. marcescens* IFO 12648 では EDTA 添加と無添加における抗菌力の差が CEZ と比べ小さく、これらの外膜を透過しやすいことがわかった。一方、*E. coli* K 12 では CEZ の方がその差が小さく、Azthreonom の外膜透過性が

CEZ のそれよりやや低いことを示唆していた。

また外膜透過性について直接測定した結果では、Asthreonam は sucrose の 37.3~73.8% の透過性であり、これらの3菌種の外膜を比較的透過しやすいことがわかった。われわれの行なった外膜透過性の検討で、外膜透過性の比較的良好な抗生物質、例えば Cefsulodin の *P. aeruginosa* KM 338 の外膜透過性は sucrose の 33.4% であり¹⁰、Asthreonam もほぼ同等あるいはそれ以上の透過性を示した。なおこの成績では Asthreonam は *E. coli* K 12 の外膜を最もよく透過することになり、EDTA 存在下の感受性の変化とは一致しなかった。この原因については現在のところ明らかでない。

二番目の要因である β -lactamase に関しては、それが耐性の大きな担手であることが古くから知られている。グラム陰性菌の β -lactamase は外膜と細胞質膜(内膜)との間のペリプラズムに局在する。したがって β -lactam 抗生物質が外膜を通過したとしても、この β -lactamase によって分解を受ければ抗菌力を発揮することができない。被験菌株の β -lactamase はいずれも構成的にはほとんど産生されないが、*P. aeruginosa* KM 338 および *S. marcescens* IFO 12648 では PCG のような β -lactam 抗生物質を対数増殖期に添加することにより、その活性が著明に誘導された。

Asthreonam は *P. aeruginosa* KM 338 と *S. marcescens* IFO 12648 の β -lactamase に対しては極めて安定であった。また *E. coli* K 12 の β -lactamase に対しても、CEZ と比較すればやや分解されやすかったが、別に測定した Cefaclor の分解の 10.8% 以下しか分解されず、やはり極めて安定であった。

β -lactam 抗生物質が上記2つの barrier (外膜および β -lactamase) を通過して細胞膜(内膜)上に達しても、そこに存在する標的酵素である transpeptidase に対する感受性に差があれば、架橋形成の程度は変わってくるため、当然抗菌力にも影響があるものと考えられる。この標的酵素に対する感受性は薬剤の種類によって異なることが知られている。

今回の検討では、Asthreonam と CEZ でよく類似した成績が得られたが、*E. coli* K 12 と *S. marcescens* IFO 12648 では CEZ の 50% 阻害濃度の方が低く、一方 *P. aeruginosa* KM 338 では Asthreonam の 50% 阻害濃度が低値をとった。

以上の実験結果から Asthreonam が *E. coli* K 12 に対して CEZ により優れた抗菌力を示すのは、本剤の外膜透過性が比較的良好、しかも β -lactamase に極めて安定であることにより、また *S. marcescens* IFO 12648 に対して優れた抗菌力を示すのは外膜透過性と β -lactamase

に対する安定性が良いことによることが示唆された。ただ *S. marcescens* IFO 12648 の ether 処理菌体による架橋 peptidoglycan 合成の阻害にはかなり高濃度の Asthreonam を要した。一方 *P. aeruginosa* KM 338 に対して CEZ と比較すると強い抗菌力を示すのは、本剤が外膜透過性、 β -lactamase に対する安定性、および peptidoglycan の架橋形成にあずかる標的酵素に対して優れた感受性をもつことによると解された。

細胞膜(内膜)上には標的酵素が数種類存在しており¹⁷、これらは penicillin binding proteins (PBPs) と呼ばれている¹⁸。これら PBPs は機能や、 β -lactam 抗生物質との親和性も異なっている。Asthreonam は PBPs 中の3に強い親和性を有しており¹⁹、一方 CEZ は 1A, 1B に親和性を示すことが知られている²⁰。したがってこのような親和性の相違も、抗菌力の差となって現われている可能性を考慮に入れる必要があると考えらる。

文 献

- 1) SYKES, R. B.; D. P. BONNER, K. BUSH, N. H. GEORGOPOULAKOU & J. S. WELLS: Monobactams-monocyclic β -lactam antibiotics produced by bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.* 8 (Suppl. E): 1~16, 1981
- 2) 第30回日本化学療法学会東日本支部総会, 新薬シンポジウム. Asthreonam, Nov. 11, 1983 (東京)
- 3) LEIVE, L.: The barrier function of the gram-negative envelope. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 235: 109~129, 1974
- 4) HAMILTON-MILLER, J. M. T.: Effect of EDTA upon bacterial permeability to benzylpenicillin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 20: 688~691, 1965
- 5) WEISER, R.; A. W. ASSCHER & J. WIMPENNY: *In vitro* reversal of antibiotic resistance by ethylenediaminetetraacetic acid. *Nature (London)*, 219: 1365~1366, 1968
- 6) SUGINAKA, H.; S. EBISU & S. KOTANI: Mechanism of glucan-induced agglutination in *Streptococcus mutans*. I. Binding of radioactive glucan to whole cells of *S. mutans* OMZ-176. *Microbiol. Immunol.* 22: 745~754, 1978
- 7) MIZOGUCHI, J.; T. MOROHOSHI & H. SUGINAKA: Effect of a combination of benzylpenicillin or ampicillin and dicloxacillin on peptidoglycan synthesis in a cell free system from a β -lactamase producing strain of *Citrobacter freundii*. *J. Antibiot. (Tokyo)*, 33: 731~736, 1980
- 8) ROSS, G. W.; K. V. CHANTER, A. M. HARRIS, S. M. KIRBY, M. J. MARSHALL & C. H. O'CALLAHAN: Comparison of assay techniques for β -

- lactamase activity. *Anal. Biochem.* 54 : 9~16, 1973
- 9) VORSBERG, H. P. & H. HOFFMANN-BERLING : DNA synthesis in nucleotide permeable *Escherichia coli*. *J. Mol. Biol.* 58 : 739~753, 1971
- 10) MIRELMAN, D.; Y. YASHOUV-GAN & U. SCHWARZ : Peptidoglycan biosynthesis in a thermosensitive division mutant of *Escherichia coli*. *Biochemistry* 15 : 1781~1790, 1976
- 11) SUGINAKA, H.; S. KOTANI, N. TAKATA & M. OGAWA : Effect of cefotaxime (HR-756) on biosynthesis of cell wall peptidoglycan in *Pseudomonas aeruginosa* KM 338 and *Escherichia coli* K 12. *FEMS Microbiol. Lett.* 8 : 79~82, 1980
- 12) TAKATA, N.; H. SUGINAKA, S. KOTANI, M. OGAWA & G. KOSAKI : β -Lactam resistance in *Serratia marcescens* : Comparison of action of benzylpenicillin, apalcillin and ceftizoxime. *Antimicrob. Agents Chemother.* 19 : 397~401, 1981
- 13) TAKATA, N.; M. OGAWA, G. KOSAKI & H. SUGINAKA : Effect of 6059-S, a novel oxacephem, on cross-linking reaction of peptidoglycan biosynthesis in *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens*. *Arch. Microbiol.* 130 : 90~91, 1981
- 14) LUGTENBERG, E. J. J.; A. VAN SCHIJNDEL-VAN DAM & T. H. M. VAN BELLEGEM : *In vivo* and *in vitro* action of new antibiotics interfering with the utilization of N-acetyl-glucosamine-N-acetyl-muramyl-pentapeptide. *J. Bacteriol.* 108 : 20~29, 1971
- 15) ROGERS, S. W.; H. E. GILLELAND JR. & R. G. EAGON : Characterization of a proteinlipopolysaccharide complex released from cell walls of *Pseudomonas aeruginosa* by ethylenediamine tetraacetic acid. *Can. J. Microbiol.* 15 : 743~748, 1969
- 16) 杉中秀寿, 嶋谷雅博, 浜 正純, 小川道雄 : Cefsulodin (SCE-129) の緑膿菌および大腸菌に対する抗菌機序の比較。 *Chemotherapy* 27(S-2) : 80~86, 1976
- 17) SUGINAKA, H.; P. M. BLUMBERG & J. L. STROMINGER : Multiple penicillin binding components in *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 247 : 5279~5288, 1972
- 18) SPRATT, B. G. : Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation and shape of *Escherichia coli* K 12. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72 : 2999~3003, 1975
- 19) 横田 健, 吉田玲子, 鈴木映子 : Azthreonam (SQ 26, 776) の抗菌力, β -lactamase 安全性および補体と白血球との協力的殺菌作用。 *Chemotherapy* 33(S-1) : 14~23, 1985
- 20) CURTIS, N. A. C.; D. ORR, G. W. ROSS & M. G. BOULTON : Affinities of penicillins and cephalosporins for the penicillin-binding proteins of *Escherichia coli* K-12 and their antibacterial activity : *Antimicrob. Agents Chemother.* 16 : 533~539, 1979

MODE OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF AZTHREONAM (SQ 26, 776) ON GRAM-NEGATIVE ORGANISMS

MICHIO OGAWA, NAOKI TAKATA and TAKESADA MORI

Second Department of Surgery, Osaka University Medical School

KAZUFUMI MITSUI, TAKESHI KIRIYAMA and HIDEKAZU SUGINAKA

Department of Microbiology and Oral Bacteriology

Hiroshima University School of Dentistry

The mode of antibacterial action of azthreonam (SQ 26, 776), a new synthetic monobactam, was investigated using *E. coli* K 12, *P. aeruginosa* KM 338 and *S. marcescens* IFO 12648, and was compared with that of cefazolin.

The potent antibacterial activity of azthreonam against *E. coli* K 12 and *S. marcescens* IFO 12648 is concluded to be due to its high permeability of the outer membrane and the stability to hydrolysis by β -lactamase. Compared with cefazolin, azthreonam also showed a stronger antimicrobial activity against *P. aeruginosa* KM 338, which is attributed to the higher permeability, the better stability to hydrolysis by β -lactamase and the higher sensitivity to the target enzymes of *P. aeruginosa* KM 338.