新しい単環性 β-lactam 抗生物質, Azthreonam (SQ 26,776) の細菌学的評価

五島瑳智子・小川正俊・宮崎修一
辻 明良・金子康子・桑原章吾
東邦大学医学部微生物学教室

新しい単環性 β-lactam, Azthreonam の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用を検討した結果,

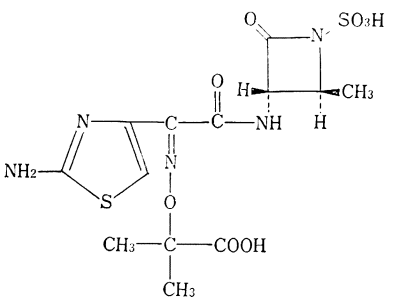
1. グラム陽性菌には抗菌作用がないが, 多くのグラム陰性菌種に抗菌力を有し, 特に *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus* 属, *S. marcescens*, *P. aeruginosa* に対し強い抗菌力を示した。

2. グラム陰性菌の産生する各種の β-lactamase に安定であり 10 菌種 15 菌株から得たいずれの酵素 (penicillinase, cephalosporinase) によっても全く分解されなかった。

3. 各種グラム陰性桿菌によるマウス実験感染に対して治療効果があり, その ED_{50}値は *in vitro* 抗菌力とよく相関した。

Azthreonam は米国スクイブ社で開発された monobactam 系に属する新抗生物質で, 化学名は (−)-2-[(Z)-[[1-(2-amino-4-thiazolyl)-2[((2S, 3S)-2-methyl-4-oxo-1-sulfo-3-azetidinyl)amino]-2-oxoethylidene]amino]oxy]-2-methylpropionic acid であり, 構造式は Fig. 1 のとおりである。

Fig. 1 Chemical structure of Azthreonam



Pseudomonas aeruginosa, *Escherichia coli*, *Proteus* 属, *Enterobacter*, *Serratia* などのグラム陰性菌に対して強い抗菌力を有するが, グラム陽性菌, 嫌気性菌に対しては抗菌力が弱いとされている[1]。血中濃度の半減期は 1.63〜1.85 時間であり, 生体内で代謝されず, 尿中排泄率も高いといわれている[1,2]。

本報告は Azthreonam の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用を Cefotaxime, Latamoxef, Ceftazidime と比較した細菌学的評価の概要である。

I. 実験材料および実験方法

1. 使用菌株

教室保存株および臨床材料から分離したグラム陽性菌, グラム陰性菌の多数株を使用した。

2. 試験薬剤

Azthreonam (947μg/mg, 日本スクイブ)
Cephaloridine (CER, 910μg/mg, 塩野義製薬)
Cephalexin (CEX, 900μg/mg, 萬有製薬)
Cephatridine (CFT, 843μg/mg, 萬有製薬)
Cefaclor (CCL, 960.6μg/mg, 塩野義製薬)
Cefroxadine (CXD, 881μg/mg, 日本チバガイギー)
Cefazolin (CEZ, 944μg/mg, 藤沢薬品)
Cefamandole (CMD, 960μg/mg, 塩野義製薬)
Cefuroxime (CXM, 971μg/mg, 新日本実業)
Cefotiam (CTM, 820μg/mg, 武田薬品)
Cefsulodin (CFS, 904μg/mg, 武田薬品)
Cefoxitin (CFX, 983μg/mg, 第一製薬)
Cefmetazole (CMZ, 953μg/mg, 三共)
Cefoperazone (CPZ, 947μg/mg, 富山化学)
Cefotaxime (CTX, 925μg/mg, ヘキストジャパン)
Ceftizoxime (CZX, 857μg/mg, 藤沢薬品)
Latamoxef (LMOX, 922μg/mg, 塩野義製薬)
Cefmenoxime (CMX, 945μg/mg, 武田薬品)
Ceftazidime (CAZ, 841.5μg/mg, 新日本実業)
Benzylpenicillin (PCG, 1595 u/mg, 萬有製薬)
Ampicillin (ABPC, 911μg/mg, 藤沢薬品)
Carbenicillin (CBPC, 790μg/mg, 藤沢薬品)

3. 感受性測定法

日本化学療法学会標準法に従って行なった[3]。

4. 殺菌作用測定法

E. coli C 11 株を用い, MH broth に接種し, 37℃で静置培養し菌数が 10^6 cells/ml になったとき, Azthreonam の各濃度を添加し 1, 2, 4, 6, 9 時間後にそれ

ぞれ一定量の菌液を採取し，生菌数を測定した。同時にCTX，LMOX，CAZについても検討した。

5. グラム陰性桿菌の産生する β-lactamase に対する安定性

1) 酵素液の調製

E. coli 4株，*K. pneumonias* 1株，*C. freundii* 1株，*E. cloacae* 1株，*P. mirabilis* 1株，*P. vulgaris* 2株，*P. rettgeri* 1株，*P. inconstans* 1株，*S. marcescens* 1株，*P. aeruginosa* 2株，*B. fragilis* 7株を普通ブイヨンで培養し，菌体を超音波で破壊したものを粗酵素液として用いた。

2) 酵素による不活化率の測定

Azthreonam，PCG，ABPC，CBPC，CER，CEX，CFT，CXD，CCL，CEZ，CMD，CFX，CMZ，CXM，CTM，CFS，CTX，CPZ，CMX，CZX，LMOX，CAZをそれぞれ50μg/ml液4.5mlに前述の粗酵素液0.5mlを37℃で作用させ，経時的に残存力価をディスク法により測定した。なおPCG，ABPC，CBPC，CER，CEX，CEZ，CMD，CXD，CFT，CCL，CMZ，CFX，CXM，CZXは*B. subtilis* ATCC 6633，CTM，CMXには*P. mirabilis* ATCC 21110，CFSには*P. aeruginosa* NCTC 10490，CTX，CPZには*M. luteus* ATCC 9341，LMOXには*E. coli* 7437，CAZには*M. morganii* IID 60，Azthreonamには*E. coli* ATCC 27166を検定菌とした。

6. マウス実験感染における感染防御効果

マウスはICR系，雄，19±1gを1群6匹とし，*E. coli*，*K. pneumoniae*，*C. freundii*をそれぞれ腹腔内に感染させ，1時間後にAzthreonam，CTX，LMOX，CAZを皮下投与した。観察は感染後5日間行ない，マウスの生死からED_{50}を算出した。Cyclophosphamide処理マウスには感染の4日前に250mg/kgのCyclophosphamideを腹腔内に投与した。

7. マウス血清中濃度測定法

上述と同条件のマウス1群10匹を用い，Azthreonamおよび対照薬剤をそれぞれ1mg/mouse，0.5mg/mouse皮下投与し，5分，15分，30分，1時間，2時間後にそれぞれマウスから血清を採取した後，1群をプールした血清を用い，ディスク法で測定した。検定菌は*E. coli* ATCC 27166を用いた。

II. 実験成績

1. 抗菌スペクトラム

グラム陽性菌，グラム陰性菌について抗菌力を検討した結果をTable 1，2に示した。

10^6cells/ml接種において，Azthreonamのグラム陽性の3菌種に対する抗菌力はCTX，LMOX，CAZより

Table 1 Antimicrobial spectra of Azthreonam, CTX, LMOX and CAZ

Organisms	MIC (μg/ml)			
	Azthreonam	CTX	LMOX	CAZ
S. aureus 209 P	100	0.78	6.25	6.25
S. epidermidis ATCC 12228	25	0.19	6.25	1.56
B. subtilis ATCC 6633	100	6.25	12.5	50
E. coli NIHJ JC 2	0.1	≦0.05	≦0.05	≦0.05
K. pneumoniae IFO 3512	≦0.05	≦0.05	0.1	≦0.05
K. oxytoca 1	≦0.05	≦0.05	≦0.05	≦0.05
S. typhi S 60	≦0.05	≦0.05	0.1	≦0.05
P. mirabilis 1287	≦0.05	≦0.05	≦0.05	≦0.05
P. vulgaris IFO 3851	≦0.05	≦0.05	≦0.05	≦0.05
M. morganii IFO 3848	≦0.05	≦0.05	≦0.05	≦0.05
P. rettgeri IFO 1354	≦0.05	≦0.05	0.1	≦0.05
P. inconstans IFO 12930	≦0.05	0.1	≦0.05	0.19
S. marcescens IFO 12648	≦0.05	0.1	0.1	0.1
P. aeruginosa IFO 3445	6.25	12.5	3.12	0.78
P. cepacia ATCC 17759	6.25	6.25	100	50
P. maltophilia IID 1167	3.12	100	6.25	50
P. putida ATCC 17464	12.5	25	50	1.56
A. calcoaceticus NCTC 7844	12.5	25	12.5	6.25
A. faecalis NCTC 655	25	1.56	≦0.05	3.12
A. xylosoxidans TMS 73	100	50	3.12	12.5
F. meningosepticum TMS 464	100	1.56	12.5	6.25

Inoculum size 10^6 cells/ml

Table 2 Antimicrobial spectra of Azthreonam, CTX, LMOX and CAZ

Organisms	MIC (μg/ml)			
	Azthreonam	CTX	LMOX	CAZ
S. aureus 209 P	>100	1.56	6.25	12.5
S. epidermidis ATCC 12228	100	0.39	6.25	3.12
B. subtilis ATCC 6633	>100	12.5	12.5	>100
E. coli NIHJ JC 2	0.78	0.19	≦0.05	0.1
K. pneumoniae IFO 3512	≦0.05	≦0.05	0.1	≦0.05
K. oxytoca 1	0.78	1.56	0.19	0.19
S. typhi S 60	1.56	0.19	0.19	1.56
P. mirabilis 1287	0.39	0.1	0.1	≦0.05
P. vulgaris IFO 3851	25	1.56	0.1	≦0.05
M. morganii IFO 3848	100	0.1	0.1	≦0.05
P. rettgeri IFO 1354	100	0.1	0.1	≦0.05
P. inconstans IFO 12930	100	25	25	25
S. marcescens IFO 12648	100	100	100	>100
P. aeruginosa IFO 3445	12.5	>100	100	100
P. cepacia ATCC 17759	100	25	>100	50
P. maltophilia IID 1167	>100	>100	100	100
P. putida ATCC 17464	25	50	100	3.12
A. calcoaceticus NCTC 7844	100	25	>100	100
A. faecalis NCTC 655	25	1.56	>100	100
A. xylosoxidans TMS 73	>100	100	>100	>100
F. meningosepticum TMS 466	>100	100	>100	100

Inoculum size 10^8 cells/ml

も明らかに弱かった。グラム陰性菌，特に *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus* 属，*Serratia* に優れた抗菌力を示した。

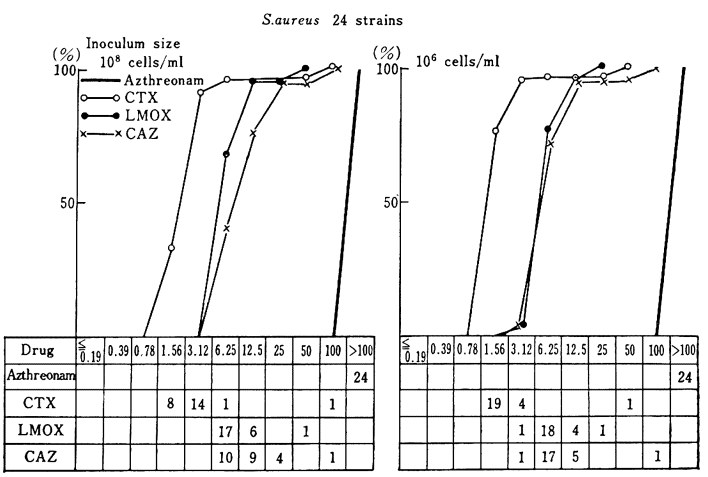
2. 臨床分離株の感受性分布

臨床材料から分離された *S. aureus* 24 株，*S. faecalis* 19 株，*E. coli* 20 株，*K. pneumoniae* 40 株，*P. mirabilis* 20 株，*P. vulgaris* 20 株，*M. morganii* 20 株，*P. rettgeri* 20 株，*P. inconstans* 20 株，*C. freundii* 8 株，*E. cloacae* 20 株，*S. marcescens* 20 株，*P. aeruginosa* 20 株の Azthreonam，CTX，LMOX および CAZ の 4 薬剤の感受性分布を比較した成績を Fig. 2～20 に示した。

S. aureus に対する Azthreonam の MIC は 10^8 cells/ml および 10^6 cells/ml の接種条件で全株 100μg/ml 以上を示し，抗菌力が認められなかった (Fig. 2)。

S. faecalis に対しては 4 剤とも 100μg/ml 以上の MIC を示した (Fig. 3～4)。

Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates

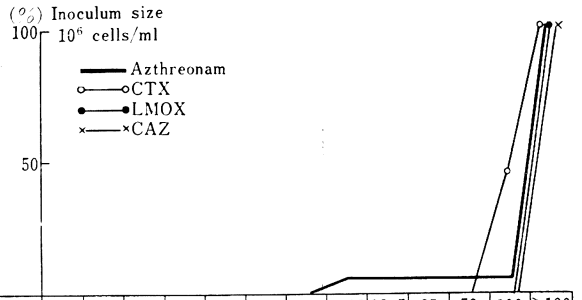


Drug	≦0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam											24
CTX				8	14	1				1	
LMOX						17	6		1		
CAZ						10	9	4		1	

	≦0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
											24
				19	4				1		
					1	18	4	1			
					1	17	5			1	

Fig. 3 Sensitivity distribution of clinical isolates

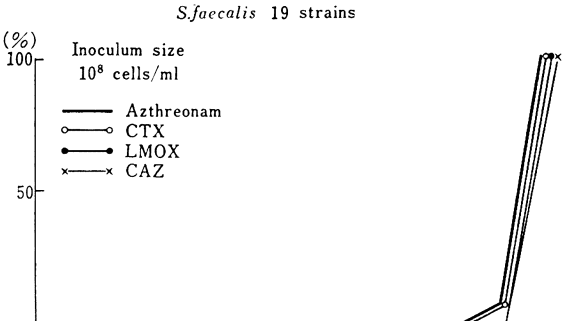
S.faecalis 19 strains



Drug	≦0.05	0.1	0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam								1					18
CTX												9	10
LMOX													19
CAZ													19

Fig. 4 Sensitivity distribution of clinical isolates

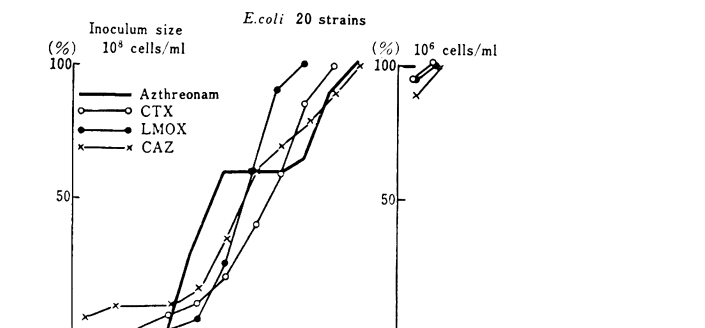
S.faecalis 19 strains



Drug	≦0.05	0.1	0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam												1	18
CTX												1	18
LMOX													19
CAZ													19

Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates

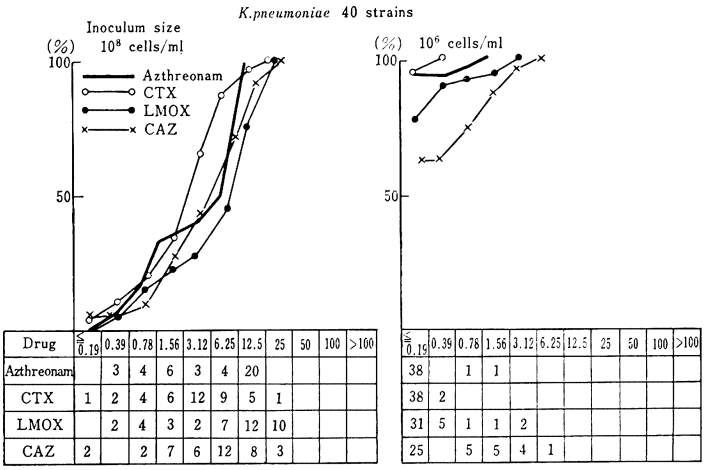
E.coli 20 strains



Drug	≦0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam					6	6			1	6	2
CTX				1	1	2	4	4	5	3	
LMOX					1	4	7	6	2		
CAZ	1	1			1	4	5	2	2	2	2

≦0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
20										
19	1									
19	1									
18	2									

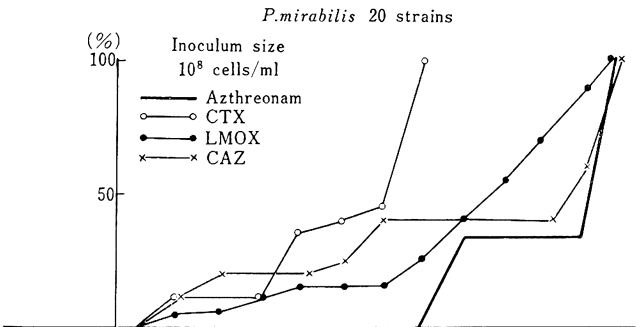
Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates



Drug	≦0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam		3	4	6	3	4	20				
CTX	1	2	4	6	12	9	5	1			
LMOX		2	4	3	2	7	12	10			
CAZ	2		2	7	6	12	8	3			

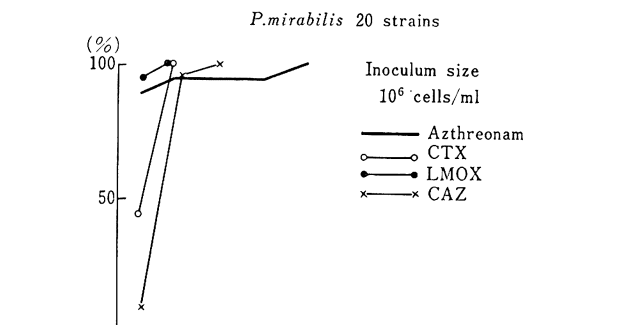
Drug	≦0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam	38		1	1							
CTX	38	2									
LMOX	31	5	1	1	2						
CAZ	25		5	5	4	1					

Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates



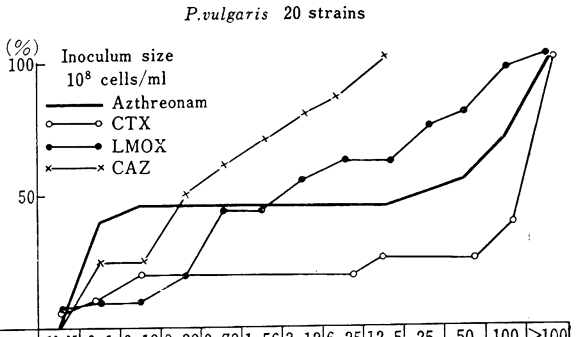
Drug	≦0.05	0.1	0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam									7				13
CTX		2			5	1	1	11					
LMOX		1		1	1			2	3	3	3	4	2
CAZ		2	2			1	3					4	8

Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates



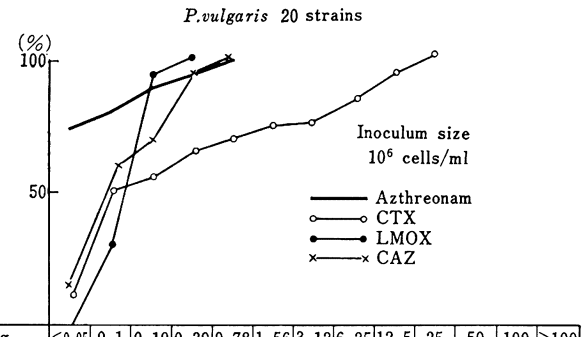
Drug	≦0.05	0.1	0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam	18	1			1								
CTX	9	11											
LMOX	19	1											
CAZ	2	17	1										

Fig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates



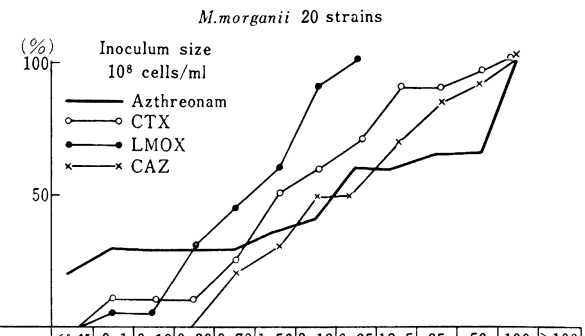
Drug	≦0.05	0.1	0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam		8	1							1	1	3	6
CTX	1	1	2						1			3	12
LMOX	1	1		2	5		2	1		3	1	3	1
CAZ		5		5	2	2	2	1	3				

Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates



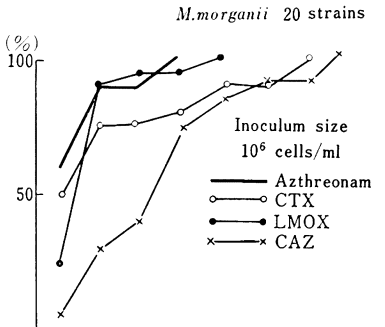
Drug	≦0.05	0.1	0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam	15	1	2	1	1								
CTX	2	8	1	2	1	1		2	2	1			
LMOX		6	13	1									
CAZ	3	9	2	5	1								

Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates



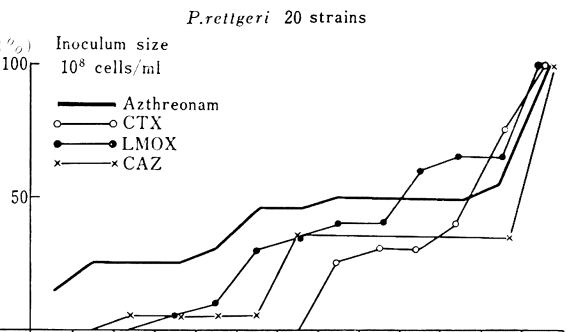
Drug	≦0.05	0.1	0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam	4	2				1	1	4		1		7	
CTX		2			3	5	2	2	4		1	1	
LMOX		1		5	3	3	6	2					
CAZ					4	2	4		4	3	1	2	

Fig. 12 Sensitivity distribution of clinical isolates



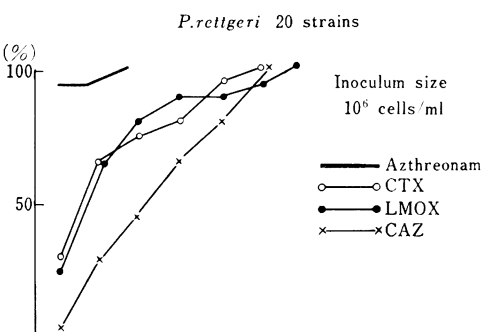
Drug	≦0.05	0.1	0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam	12	6		2									
CTX	10	5		1	2		2						
LMOX	5	13	1		1								
CAZ	1	5	2	7	2	1		2					

Fig. 13 Sensitivity distribution of clinical isolates



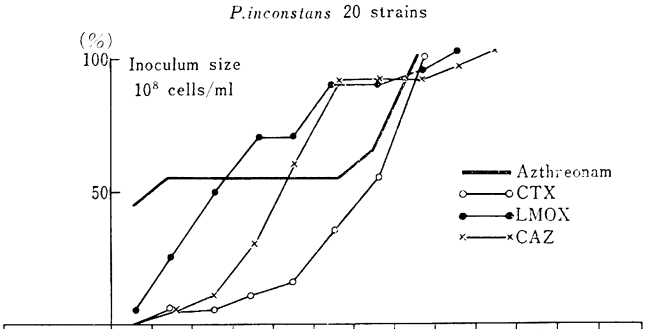
Drug	≦0.05	0.1	0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam	3	2			1	3		1				1	9
CTX								5	1		2	7	5
LMOX				1	1	4	1	1		4	1		7
CAZ			1				6						13

Fig. 14 Sensitivity distribution of clinical isolates



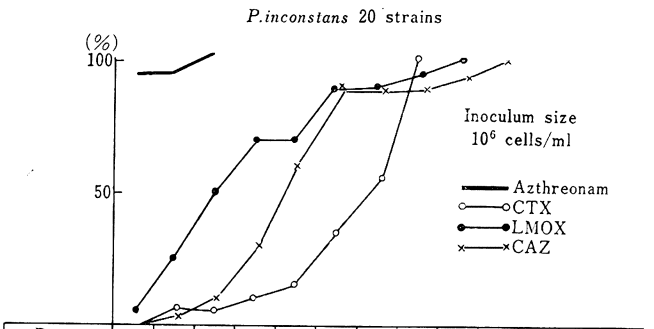
Drug	≦0.05	0.1	0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam	19		1										
CTX	6	7	2	1	3	1							
LMOX	5	8	3	2		1	1						
CAZ	1	5	3	4	3	4							

Fig. 15 Sensitivity distribution of clinical isolates



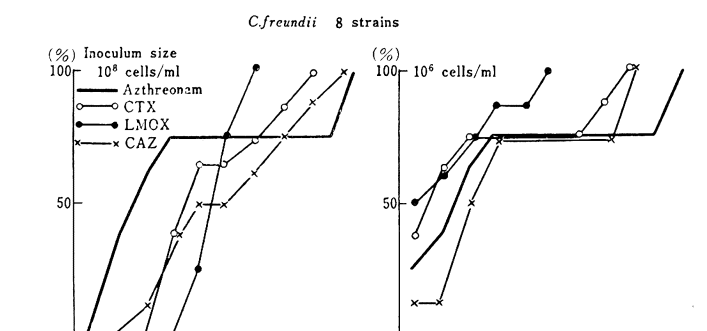
Drug	≦0.05	0.1	0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam	9	2					2	7					
CTX		1		1	1	4	4	9					
LMOX	1	4	5	4		4		1	1				
CAZ		1	1	4	6	6			1	1			

Fig. 16 Sensitivity distribution of clinical isolates



Drug	≦0.05	0.1	0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam	19		1										
CTX		1		1	1	4	4	9					
LMOX	1	4	5	4		4		1	1				
CAZ		1	1	4	6	6			1	1			

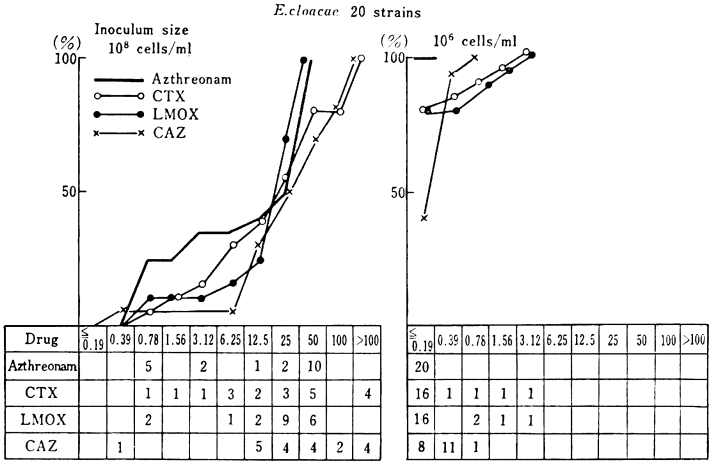
Fig. 17 Sensitivity distribution of clinical isolates



Drug	≦0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam		3	2	1							2
CTX				3	2		1	1	1		
LMOX					2	4	2				
CAZ			1	2	1		1	1	1	1	

≦0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
2	1	2	1							2
3	2	1					1	1		
4	1	1	1		1					
1		3	2					2		

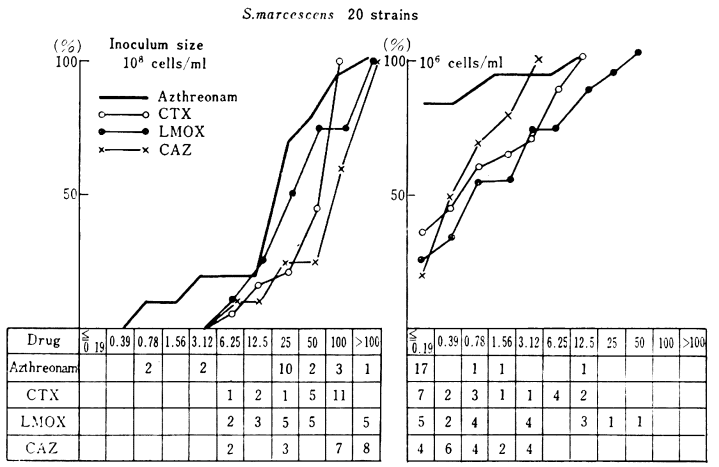
Fig. 18 Sensitivity distribution of clinical isolates



Drug	≦0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam			5		2		1	2	10		
CTX			1	1	1	3	2	3	5		4
LMOX			2			1	2	9	6		
CAZ		1					5	4	4	2	4

Drug	≦0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam	20										
CTX	16	1	1	1	1						
LMOX	16		2	1	1						
CAZ	8	11	1								

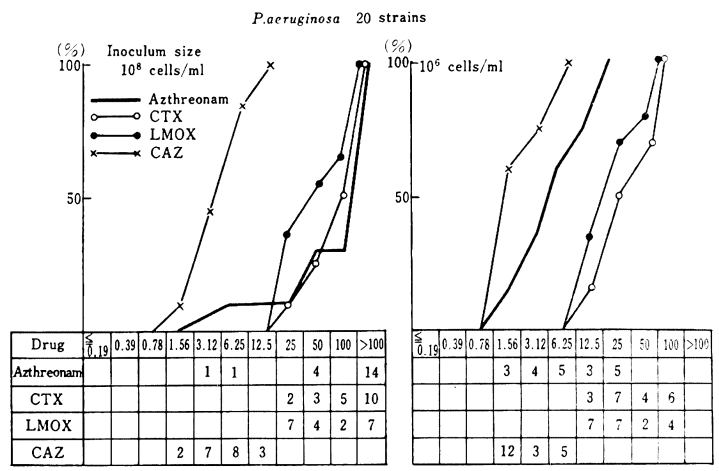
Fig. 19 Sensitivity distribution of clinical isolates



Drug	≦0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam			2		2			10	2	3	1
CTX						1	2	1	5	11	
LMOX						2	3	5	5		5
CAZ						2		3		7	8

Drug	≦0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam	17		1	1			1				
CTX	7	2	3	1	1	4	2				
LMOX	5	2	4		4		3	1	1		
CAZ	4	6	4	2	4						

Fig. 20 Sensitivity distribution of clinical isolates



Drug	≦0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam					1	1			4		14
CTX								2	3	5	10
LMOX								7	4	2	7
CAZ				2	7	8	3				

Drug	≦0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100
Azthreonam				3	4	5	3	5			
CTX							3	7	4	6	
LMOX							7	7	2	4	
CAZ				12	3	5					

E. coli に対する Azthreonam の MIC 分布は 10^6 cells/ml 接種において全株 0.19μg/ml 以下であるが，10^8 cells/ml 接種では，3.12～100μg/ml 以上と広範囲に分布した。接種菌量の影響が顕著にみられる。同様な成績は CTX, LMOX, CAZ でも認められた（Fig. 5）。

K. pneumoniae では，Azthreonam の抗菌力は，接種菌量 10^6 cells/ml において，CTX とほぼ同等の活性を示したが，LMOX, CAZ より強い抗菌作用を示した。10^8 cells/ml では Azthreonam を含む 4 薬剤の抗菌力は低下し，*E. coli* の場合と同様，接種菌量による MIC の変動がみられた（Fig. 6）。

P. mirabilis に対する Azthreonam の MIC 分布は，10^8 cells/ml の場合，他の 3 剤と異なり，MIC 12.5μg/ml と 100μg/ml 以上と 2 群に分かれ，Azthreonam の抗菌力は CTX より弱いが，10^6 cells/ml では 4 薬剤間に大差はなかった（Fig. 7～8）。

P. vulgaris に対し，Azthreonam 10^8 cells/ml 接種における MIC は二峰性を示し，MIC が 100μg/ml 以上の耐性株は 45%，CTX では 75%，LMOX 20% であった。一方，10^6 cells/ml の場合，Azthreonam のピークは ≦0.05μg/ml，CTX 0.1μg/ml，LMOX 0.19μg/ml，CAZ 0.1μg/ml を示し，CTX より明らかに強く，CAZ, LMOX よりやや強い抗菌力が認められた（Fig. 9～10）。

M. morganii の 10^8 cells/ml 接種時の Azthreonam の抗菌力は，MIC 25μg/ml 以下の株 65%，CTX 90%，LMOX 100%，CAZ 70% であり，Azthreonam は他剤より抗菌力が弱いが，10^6 cells/ml 接種では，Azthreonam の MIC のピークは，≦0.05μg/ml，CTX ≦0.05μg/ml，LMOX 0.1μg/ml，CAZ 0.39μg/ml であり，Azthreonam は CTX と同程度の強い抗菌力を示した（Fig. 11～12）。

P. rettgeri では，接種菌量 10^6 cells/ml の場合，Azthreonam において 0.19μg/ml 以下の MIC を示す株は 100%，CTX 75%，LMOX 80%，CAZ では 45% で Azthreonam の抗菌力は他剤より強かった（Fig. 13～14）。

P. inconstans の場合，Azthreonam は接種菌量 10^6 cells/ml において，0.19μg/ml 以下の MIC を示す株は 100%，CTX 5%，LMOX 50%，CAZでは 10% であった。10^8 cells/ml 接種においても Azthreonam の MIC は 0.1μg/ml 以下に 55% が分布し，他剤に比べ本剤に感受性を示す株が多かった。また残りの株の MIC は 3.12～6.25μg/ml に分布し，MIC の分布は二

Fig. 21 Comparative MIC_{80} of Azthreonam, CTX, LMOX and CAZ against clinical isolates

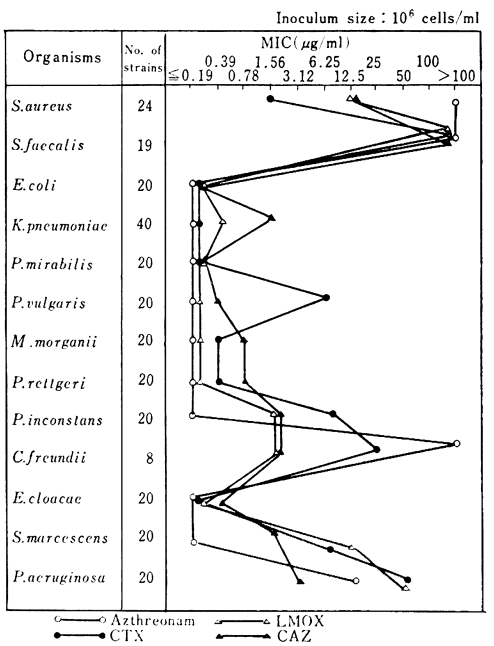
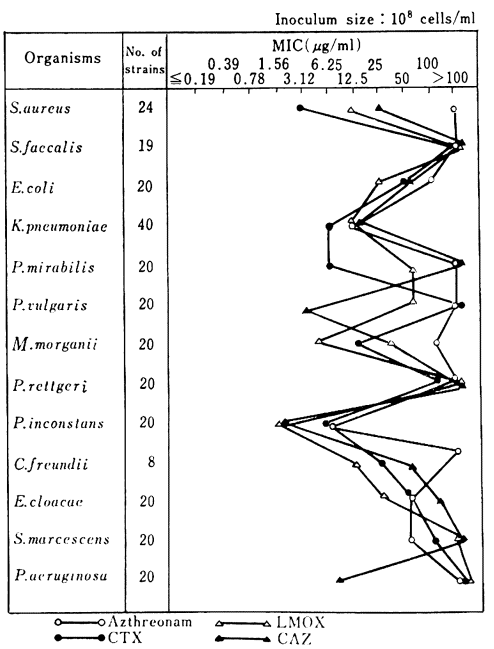


Fig. 22 Comparative MIC_{80} of Azthreonam, CTX, LMOX and CAZ against clinical isolates



峰性を示した (Fig. 15～16)。

C. freundii の場合，Azthreonam の抗菌力は LMOX よりやや弱いが，CTX，CAZ と同程度であった (Fig. 17)。

E. cloacae では，10^6 cells/ml 接種における Azthreonam に対する MIC 0.19μg/ml 以下の株は 100%，CTX および LMOX 80%，CAZ は 40% で，Azthreonam は他剤より強い抗菌力を示した (Fig. 18)。

S. marcescens の場合，Azthreonam の抗菌力は，接種菌量 10^6 cells/ml において CTX，LMOX, CAZ より強かった (Fig. 19)。

P. aeruginosa では接種菌量 10^6 cells/ml において Azthreonam が全株の発育を阻止する MIC (MIC_{100}) は 25μg/ml であり，CAZ の MIC_{100} より 2 管大きいが，LMOX，CTX の MIC_{100} より 2 管小さかった (Fig. 20)。

Fig. 21，22 に各菌種における試験菌株の 80% の発育を阻止する各薬剤濃度を示した。

各薬剤とも *E. coli*，*K. pneumoniae*，*Proteus* 属，*E. cloacae*，*C. freundii* において接種菌量による MIC の差がみられた。

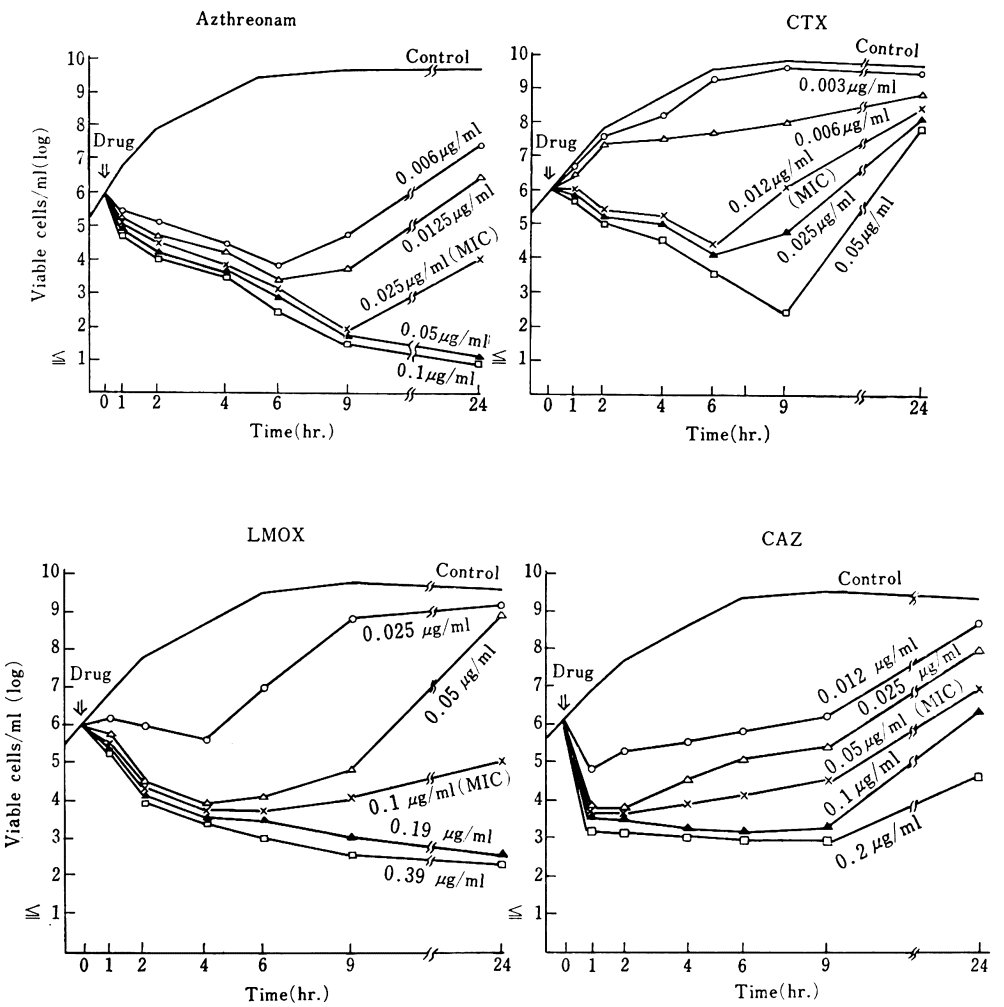
3. 殺菌作用

E. coli C 11 株に対する Azthreonam，CTX，LMOX，CAZ の殺菌作用を検討した成績を Fig. 23 に示した。

Azthreonam は 2 MIC，4 MIC 濃度添加で著明な殺菌作用が認められ，LMOX と同様 24 時間後にも再増

Fig. 23 Bactericidal activity of Azthreonam, CTX, LMOX and CAZ against *E. coli* C 11

〔Medium : MH broth (37°C)〕



殖はみられなかった。CTX, CAZ では再増殖が認められた。

4. グラム陰性桿菌の β-lactamase に対する安定性

E. coli 35, *E. coli* ML 1410 RGN-238, *E. coli* ML 1410 RGN-823, *E. coli* 121, *K. pneumoniae* GN-69, *C. freundii* GN-346, *E. cloacae* No. 91, *P. mirabilis* GN-79, *P. vulgaris* GN-76, *P. vulgaris* No. 9, *P. rettgeri* GN-624, *P. inconstans* GN-627, *S. marcescens* No. 78, *P. aeruginosa* No. 47, および *P. aeruginosa* No. 11, *B. fragilis* No. 19, *B. fragilis* No. 32, *B. fragilis* No. 48, *B. fragilis* No. 69, *B. fragilis* GM 7000, *B. fragilis* GM 7002, *B. fragilis* GM 7004 よりそれぞれ得られた酵素に対する Azthreonam の安定性を Fig. 24～25 に示した。

Azthreonam はすべての菌株の産生する酵素に対して LMOX, CAZ と同様安定であった。

5. マウス実験感染における防御効果

1) *E. coli* 感染

E. coli C 11 株での成績を Table 3 に示した。比較した 4 薬剤の 10^6 cells/ml 接種における MIC は全て 0.025 μg/ml 以下であり, Azthreonam と CTX および LMOX の ED_{50} 値は 0.00229～0.0025 mg/mouse と同程度の治療効果を示した。しかし CAZ は 0.00141 mg/mouse とやや小さい値を示した。

Table 3 Protecting effect of Azthreonam on infection with *E. coli* C11 in mice

Antibiotics	ED_{50} (mg/mouse)	MIC (μg/ml)	
		10^8	10^6
Azthreonam	0.0025 (0.0016～0.0037)	12.5	≦0.025
CTX	0.00247 (0.00116～0.00526)	0.78	≦0.025
LMOX	0.00229 (0.00077～0.0018)	0.05	≦0.025
CAZ	0.00141 (0.00095～0.0020)	≦0.025	≦0.025

Infected strain : *E. coli* C11
MLD : 1×10^3 cells/mouse 5%mucin added
Challenge dose : 1.5×10^6 cells/mouse 5%mucin added
Administration : S.C. 1hr. after challenge
( ) : 95%confidential limit
10^8, 10^6 : inoculum size
Mice : ICR, 4W, ♂, 19±1g, 6 animals/group

2) *K. pneumoniae* 感染

K. pneumoniae 3 K 25 を感染菌としたときの成績を Table 4 に示した。

Azthreonam の ED_{50} は 1.37 mg/mouse で, CAZ と同程度, CTX, LMOX より小さい値を示した。

3) *C. freundii* 感染

C. freundii GN 346 株を感染菌としたときの成績を Table 5 に示した。

Fig. 24 Stability of Azthreonam and other β-lactam antibiotics to β-lactamase

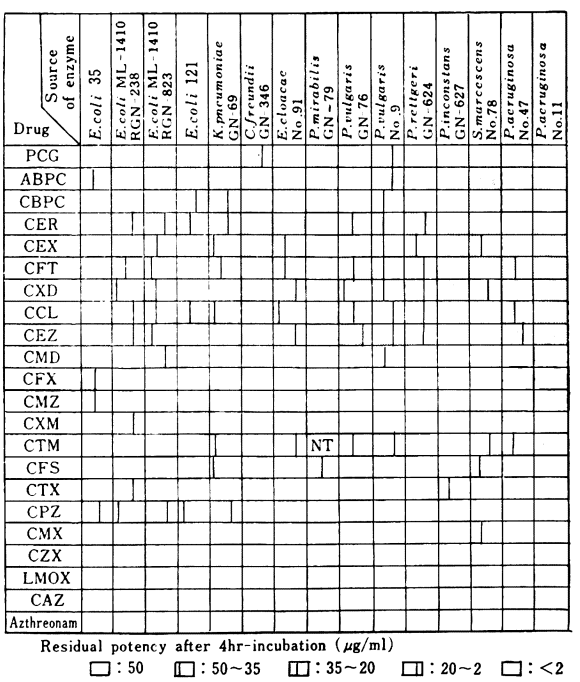
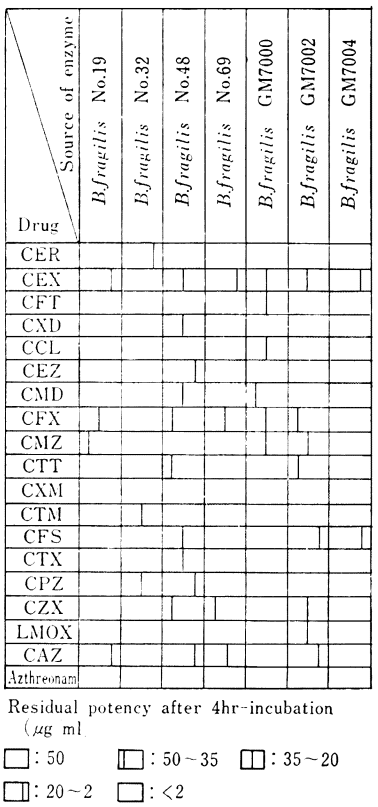


Fig. 25 Stability of Azthreonam and other β-lactam antibiotics to β-lactamase



Azthreonam の ED_{50} は 7.93 mg/mouse で対照薬剤との比較において MIC に相関した治療効果が得られた。

4) *S. marcescens* 感染

S. marcescens No. 2 株を感染菌とした場合の成績を Table 6 に示した。

Azthreonam の ED_{50} は 0.055 mg/mouse, CAZ 0.062 mg/mouse, LMOX 0.078 mg/mouse よりやや小さく, CTX より 10 倍以上優れた治療効果を示した。本菌による感染治療においても 10^6 cells/ml の MIC 値に対応した ED_{50} 値が得られた。

5) Neutropenic mice を用いた *E. coli* 感染

E. coli 312 株を感染菌とし, Cyclophosphamide 処理マウスと正常マウスにおける治療効果の差を比較検討した成績を Table 7 に示した。

全薬剤とも Cyclophosphamide 処理マウスでの ED_{50} は正常マウスより大きかった。Azthreonam は Cyclophosphamide 処理マウスと正常マウスにおける ED_{50} の差は 4.15 倍, CTX は 8.34 倍, LMOX 1.65 倍, CAZ 1.31 倍であった。各薬剤間に明らかに相違が認められた。

Table 4 Protecting effect of Azthreonam on infection with *K. pneumoniae* 3K25 in mice

Antibiotics	ED_{50} (mg/mouse)	MIC (μg/ml)	
		10^8	10^6
Azthreonam	1.37 (0.969~1.93)	>100	0.1
CTX	4.983(3.584~6.925)	25	0.19
LMOX	7.910(5.362~11.667)	>100	0.19
CAZ	1.23 (0.79~1.92)	12.5	0.39

Infected strain : *K. pneumoniae* 3K25
MLD : 1×10^3 cells/mouse 5% mucin added
Challenge dose : 1.5×10^6 cells/mouse 5% mucin added
Administration : S.C. 1hr. after challenge
( ) : 95% confidential limit
10^8, 10^6 : inoculum size
Mice : ICR, 4W, ♀, 19±1g, 6 animals/group

Table 5 Protecting effect of Azthreonam on infection with *C. freundii* GN346 in mice

Antibiotics	ED_{50} (mg/mouse)	MIC (μg/ml)	
		10^8	10^6
Azthreonam	7.93 (4.55~13.8)	50	12.5
CTX	5.0 (3.993~6.265)	25	3.12
LMOX	0.394(0.306~0.507)	12.5	1.56
CAZ	5.0 (3.22~7.73)	12.5	6.25

Infected strain : *C. freundii* GN346
MLD : 7.8×10^5 cells/mouse 5% mucin added
Challenge dose : 4.5×10^7 cells/mouse 5% mucin added
Administration : S.C. 1hr. after challenge
( ) : 95% confidential limit
10^8, 10^6 : inoculum size
Mice : ICR, 4W, ♀, 19±1g, 6 animals/group

Table 6 Protecting effect of Azthreonam on infection with *S. marcescens* No. 2 in mice

Antibiotics	ED_{50} (mg/mouse)	MIC (μg/ml)	
		10^8	10^6
Azthreonam	0.055 (0.027~0.1109)	>100	0.05
CTX	0.7763(0.3854~1.5236)	100	0.78
LMOX	0.078 (0.051~0.118)	25	0.39
CAZ	0.062 (0.042~0.090)	>100	0.39

Infected strain : *S. marcescens* No. 2
MLD : 1×10^5 cells/mouse 5% mucin added
Challenge dose : 5×10^6 cells/mouse 5% mucin added
Administration : S.C. 1hr. after challenge
( ) : 95% confidential limit
10^8, 10^6 : inoculum size
Mice : ICR, 4W, ♀, 19±1g, 6 animals/group

6. マウス血清中濃度

Azthreonam をマウスに 1 mg/mouse および 0.5 mg/mouse 皮下投与したときの血清中濃度を CTX, LMOX, CAZ と比較検討した成績を Fig. 26 に示した。Azthreonam 1 mg/mouse 投与における血清中濃度のピークは投与後 15 分で 110 μg/ml を示し, LMOX, CAZ,

Table 7 Comparison of protecting effect on infection with *E. coli* 312 in normal and neutropenic mice

Antibiotics	ED_{50} (mg/mouse)		MIC (μg/ml)	
	Normal mice	Neutropenic mice	10^8	10^6
Azthreonam	1.901 (1.422～2.547)	7.9 (5.3～11.6)	12.5	0.19
CTX	0.599 (0.413～0.874)	5.0 (3.58～6.87)	6.25	0.1
LMOX	0.188 (0.140～0.252)	0.312(0.187～0.519)	3.12	0.1
CAZ	0.377 (0.263～0.541)	0.496(0.370～0.663)	6.25	0.19

Infected strain : *E. coli* 312
MLD : 5×10^7 cells/mouse (normal mice)
5×10^6 cells/mouse (neutropenic mice)
Challenge dose : 3.5×10^8 cells/mouse
Administration : S.C. 1hr. after challenge
( ) : 95% confidential limit
10^8, 10^6 : inoculum size
Mice : ICR, 4W, ♂, 19±1g, 6 animals/group

CTX より高かった。また Azthreonam は比較的 LMOX と類似した血清中濃度パターンを示した。

III. 考 察

Azthreonam は新しい単環性の β-lactam 剤で二環性の Penicillin および cephem 剤と異なり，単環の N1 位がスルホン酸塩に置換されたもので，他の β-lactam 剤とは別のカテゴリーに属する。

グラム陽性菌には全く抗菌力が認められなかったが，特に *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *M. morganii*, *P. rettgeri*, *P. inconstans*, *E. cloacae*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa* などに対する Azthreonam の抗菌力は CTX, LMOX, CAZ より強い傾向が認められた。

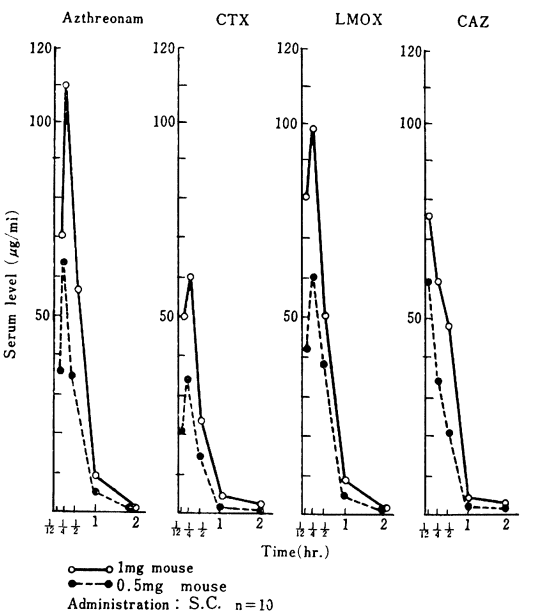
E. coli C 11 株に対する殺菌作用に関する検討において，2 および 4 MIC 添加で CTX, CAZ では 24 時間後に再増殖が認められたが，Azthreonam は認められなかった。この原因は不明であるが，本剤の培地中における安定性によるのか，殺菌作用の機作に基づくものか今後の検討が必要である。

また，本剤の最も大きな特徴は各種のグラム陰性桿菌の産生する β-lactamase に対する高度の安定性で，特に *B. fragilis* の酵素に安定である事実は注目される。

マウス実験感染において本剤は全般的に優れた治療効果を示した。特に Azthreonam の ED_{50} 値は 10^6cells/ml の MIC 値と良く対応した。この傾向は *K. pneumoniae* による実験成績に典型的にみられた。すなわち本剤の 10^8cells/ml の MIC は >100μg/ml と全く *in vitro* 抗菌力がみられなかったが，10^6cells/ml では 0.1 μg/ml で ED_{50} 値は 1.37 mg/mouse であった。

全般に Azthreonam は 10^6cells/ml と 10^8cells/ml によって MIC 値に大差があり，本剤の有効性評価は

Fig. 26 Serum level of mice



10^6cells/ml の MIC を基礎にすべきと考える。

Cyclophosphamide 処理マウス，すなわち生体防御能の低下した感染マウスにも有効であった。ただ正常マウスと比較して治療効果はやや低い。このような実験感染に対する治療効果の増強のためどのような投薬設計をするべきか今後検討を要する問題である。

文 献

1) LIVERMORE, D. M. & J. D. WILLIAMS : *In vitro* activity of the monobactam, SQ 26,776, against Gram-negative bacteria and its stability

to their β-lactamases. J. Antimicrob. Chemother. 8 (Suppl. E) : 29～37, 1981
2) 原　耕平，他：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，Azthreonam (SQ 26, 776)，東京，1983
3) 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

BACTERIOLOGICAL EVALUATION ON AZTHREONAM, A NEW MONOBACTAM ANTIBIOTIC

Sachiko Goto, Masatoshi Ogawa, Shuichi Miyazaki
Akiyoshi Tsuji, Yasuko Kaneko and Shogo Kuwahara
Department of Microbiology, Toho University School of Medicine

Azthreonam, a new monobactam antibiotic, had a potent antibacterial activity *in vitro* against gram-negative bacilli, especially *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus* spp., *S. marcescens* and *P. aeruginosa*, but was not active against gram-positive bacteria. Azthreonam was extremely stable to all types of β-lactamases ; nine distinct types of β-lactamases (Richmond's classification) and β-lactamase from *B. fragilis*.

Azthreonam had also a potent therapeutic activity in mice experimentally infected with gram-negative bacilli, when given subcutaneously to mice. In addition, the therapeutic effect of Azthreonam correlated well with the MICs with an inoculum size of 10^6 cells/ml, but not with an inoculum size of 10^8 cells/ml.