

Azthreonam (SQ 26, 776) の嫌気性菌に対する抗菌作用

沢 赫代・青木 誠・武内美登利

賀川和宣・渡辺邦友・上野一恵

岐阜大学医学部付属嫌気性菌実験施設

嫌気性菌に対する Azthreonam の抗菌作用について検討し、次のような結果を得た。

Bacteroides fragilis group に対する Azthreonam 抗菌力はほとんどの菌株が 50 μ g/ml 以上であった。*C. difficile* に対してはすべて 200 μ g/ml 以上であった。しかし、*B. ureolyticus*, *B. melaninogenicus* group, *B. bivius*, *P. acnes*, *F. nucleatum* およびグラム陽性球菌に対して Azthreonam は比較的優れた抗菌力を示した。

Azthreonam は、*B. fragilis*, *B. bivius* の β -lactamase に対して CEZ より安定であった。

Azthreonam によって *B. fragilis*, *B. bivius* の形態変化はフィラメント化を主体とした。

B. fragilis, *B. bivius* の増殖曲線に及ぼす Azthreonam の影響は、2 及び、4 MIC の添加により殺菌的效果を認めた。

B. fragilis, *B. thetaiotaomicron* に対し TIPC と Azthreonam との若干の併用効果がみられた。Azthreonam は、*E. coli* と β -lactamase 産生の *B. fragilis* の混合感染マウスに対し優れた感染防御効果を示した。

Azthreonam 投与のマウスは、CTX および CPZ 投与群の場合と異なり、盲腸内に *C. difficile* の異常増殖は認められなかった。

Azthreonam (SQ 26, 776) は米国スクイブ社で開発されたモノバクタム系抗生物質である。本剤は、好気性グラム陽性菌に対する抗菌力は弱い、好気性グラム陰性菌である *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas* などに対しては強い抗菌力を示すこと、各種 β -lactamase に対して極めて安定であること、また、*in vitro* での抗菌力より *in vivo* での抗菌力が優れていることが特徴である^{1,6)}。

著者らは、本剤の嫌気性菌に対する抗菌力を *in vitro* および *in vivo* で検討した。また、嫌気性菌が産生する β -lactamase に対する本剤の安定性、マウス盲腸内での *Clostridium difficile* への影響、本剤と他剤との併用効果の有無などについても検討した。

I. 実験方法

1. 供試菌株

研究室保存の嫌気性菌の参考菌株および臨床材料から分離し、当研究室に保存されている嫌気性菌を用いた。臨床分離株は、各種生化学的性状およびガスクロマトグラフィーによる代謝産物としての低級脂肪酸の分析により同定されたものである。MIC 測定に用いた ATCC 由来株は *Streptococcus intermedius* 1 株, *Peptostreptococcus magnus* 2 株, *Staphylococcus asaccharolyticus* 1 株, *P. saccharolyticus* 1 株, *P. anaerobius* 1

株, *Eubacterium aerofaciens* 1 株, *E. limosum* 1 株, *E. plauti* 1 株, *Propionibacterium acnes* 2 株, *P. granulosum* 1 株, *Bifidobacterium adolescentis* 1 株, *Clostridium symbiosum* 1 株, *C. innocuum* 1 株, *C. clostridiiforme* 1 株, *C. perfringens* 1 株, *C. ramosum* 1 株, *Bacteroides fragilis* 2 株, *B. thetaiotaomicron* 2 株, *B. distasonis* 2 株, *B. vulgatus* 2 株, *B. eggerthii* 1 株, *B. asaccharolyticus* 3 株, *B. melaninogenicus* 3 株, *B. ureolyticus* 1 株, *Fusobacterium mortiferum* 2 株, *F. varium* 1 株, *F. nucleatum* 2 株, *F. naviforme* 1 株, *Streptococcus parvulus* 1 株, *P. micros* 1 株, *Capnocytophaga ochracea* 1 株の計 43 株である。

MIC 測定に用いた臨床分離株は *B. fragilis* 12 株, *B. thetaiotaomicron* 9 株, *B. distasonis* 6 株, *B. vulgatus* 2 株, *B. uniformis* 3 株, *B. oralis* 1 株, *B. bivius* 9 株, *P. anaerobius* 10 株, *P. magnus* 14 株, *P. asaccharolyticus* 12 株, *P. acnes* 16 株, *P. prevotii* 11 株, *S. parvulus* 4 株, *P. micros* 8 株, *P. granulosum* 2 株, *E. lentum* 4 株, *E. cylindroides* 1 株, *E. limosum* 1 株, *C. difficile* 9 株, *C. ramosum* 3 株の計 137 株である。又、MIC 測定以外の実験において使用された菌株はそれぞれの項に示した。

2. 供試薬剤

力価の明らかな Azthreonom (947 μ g/mg) を用いた。対照薬剤として Cefotaxime (CTX: ヘキスト 912.8 μ g/mg), Cefazolin (CEZ: 藤沢 954 μ g/mg), Cefoxitin (CFX: メルク 980 μ g/mg), Cefmetazole (CMZ: 三共 940 μ g/mg), Cefoperazone (CPZ: 富山化学 930 μ g/mg) および Ticarcillin (TIPC: 藤沢 819 μ g/mg) を用いた。

3. MIC 測定法

日本化学療法学会の方法に準じて, Anaerobic glove box (N₂ 80%, CO₂ 10%, H₂ 10%) 内で 37°C, 24 時間嫌気培養後 MIC 測定した²⁾。

4. *B. fragilis* および *B. bivius* の産生する β -lactamase に対する安定性

Azthreonom, CEZ, CTX, CFX の *B. fragilis* (GAI-0558) および *B. bivius* (GAI-0643) の β -lactamase に対する安定性を macroiodometry によって測定した³⁾。*B. fragilis* および *B. bivius* は, GAM ブイオンに接種後 37°C, 24 時間培養した菌体を用いた。集菌後, 超音波にて菌体を破壊し 30~40 分間, 4°C 遠心分離した上清を粗酵素液として用いた。

5. Azthreonom, CTX 含有培地での形態変化

B. fragilis GAI 4249, *B. bivius* GAI 0643 を Azthreonom および CTX の 4, 2, 1, 1/2 および 1/4 MIC を含む BHI ブイオンに接種し, 4 時間嫌気培養後の菌体の形態変化を位相差顕微鏡にて観察した。

6. *B. fragilis* および *B. bivius* の増殖曲線に及ぼす Azthreonom と CTX の影響

GAM ブイオンで 37°C, 24 時間培養の *B. fragilis* GAI 4249 および *B. bivius* GAI 0643 を用いた。Azthreonom, CTX の 4, 2, 1 および 1/2 MIC を含有する GAM ブイオンに *B. fragilis* または *B. bivius* の 10⁴ 個を接種し, 4, 8 および 24 時間後の菌数の変動を定量培養法によって測定し, 薬剤の増殖曲線に及ぼす影響をみた。これらの操作はすべて Anaerobic glove box 内で行なった。

7. MIC と MBC の比較について

B. fragilis 2 株 (GAI 2724, GAI 3025), *B. thetaiotaomicron* 3 株 (GAI 4850, GAI 3506, GAI 4573) および *B. bivius* 2 株 (GAI 0643, GAI 4020) の GAM ブイオン 24 時間培養菌の 1 白金耳量を所要濃度の Azthreonom, CTX を含有した GAM ブイオンに接種した。24 時間培養後肉眼的に MIC を判定し, 次いで培養後の全系列について薬剤不含の GAM 寒天培地に 1 白金耳量を画線塗抹し, 48 時間嫌気培養後, 菌発育がみられなかった最低薬剤濃度を MBC 値と判定した。

8. *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *C. difficile* に対する Azthreonom と TIPC との併用効果

B. fragilis 20 株 (GAI 0829, GAI 1027, GAI 1185, GAI 1186, GAI 3674, GAI 3025, GAI 4110, GAI 3643, GAI 1612, GAI 1569, GAI 1031, GAI 1615, GAI 0418, GAI 1176, GAI 1567, GAI 1503, GAI 0453, GAI 0487, GAI 0513, ATCC 25285), *B. thetaiotaomicron* 2 株 (GAI 4245, GAI 2893), *C. difficile* 2 株 (GAI 4131, GAI 3866) を使用した。所要濃度の Azthreonom に TIPC の各種濃度を組合せた併用培地に被検菌株を接種して MIC 測定し, 併用効果を判定した。

9. *E. coli* と β -lactamase 産生の *B. fragilis* の混合感染マウスに対する感染防御効果

E. coli No. 1 と β -lactamase 産生の *B. fragilis* GAI 0558 を用いた。*E. coli* の 10⁵ 個と *B. fragilis* の 10⁸ 個を ICR 系 20g(±)1g のマウス腹腔内に接種 1 時間後に Azthreonom および CTX の 4, 2, および 1mg をマウス 1 匹当たり 1 日 1 回, 7 日間皮下投与した。マウスは各群 10 匹用い, 投薬中止 48 時間後の生存率により効果を判定した。

10. Azthreonom, CTX および CPZ 投与によるマウス盲腸内容物中の *C. difficile* の出現

Azthreonom, CTX および CPZ の 4 および 2mg を 1 日 1 回, ICR 系マウスの皮下に 7 日間接種後, 1 日の休薬期間をおいたのちマウスを屠殺し, 盲腸内容物中の *C. difficile* の異常増殖の有無を検討した。分離方法は, 小林らの方法に従い, 分離培地は CCMA 培地を用いた⁴⁾。

II. 実験成績

1. Azthreonom の嫌気性菌の参考菌株に対する抗菌力

Azthreonom の嫌気性菌に対する抗菌スペクトラムを Table 1 に示した。Azthreonom は, 10⁸CFU/ml 接種時, *B. ureolyticus*, *B. asaccharolyticus*, *B. melaninogenicus*, *F. nucleatum*, *P. acnes*, *P. magnus*, *P. asaccharolyticus*, *P. micros*, *P. anaerobius* に対して 6.25 μ g/ml から 0.78 μ g/ml と比較的低い MIC を有したが, その他の菌種に対しては, 12.5 μ g/ml~100 μ g/ml 以上の高い MIC を有した。

10⁸CFU/ml 接種時の MIC は, 多くの菌株において 10⁸CFU/ml 接種時の MIC と同等か, 1 管低い程度であったが, *B. ureolyticus*, *B. vulgatus* の 2 株中 1 株, *B. eggerthii*, *B. asaccharolyticus* の 3 株中 1 株, *C. ochracea*, *P. magnus* などでは 4 管以上も低く現われた。

Table 1 Activity of Azthreonom against anaerobic bacteria

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	
	10 ⁶ *	10 ⁸ *
<i>Bacteroides fragilis</i> (ATCC 25285)	50	100 <
<i>B. fragilis</i> (GM 7000)	12.5	50
<i>B. thetaiotaomicron</i> (WAL 2926)	100	100 <
<i>B. thetaiotaomicron</i> (WAL 3304)	100 <	100 <
<i>B. ureolyticus</i> (NCTC 10941)	0.025	6.25
<i>B. distasonis</i> (GM 7007)	100	100 <
<i>B. distasonis</i> (ATCC 8503)	50	50
<i>B. vulgatus</i> (ATCC 8482)	25	50
<i>B. vulgatus</i> (ATCC 29327)	0.20	12.5
<i>B. eggerthii</i> (ATCC 27754)	0.78	50
<i>B. asaccharolyticus</i> (GAI 0415)	0.20	6.25
<i>B. asaccharolyticus</i> (GAI 0414)	—	3.13
<i>B. asaccharolyticus</i> (GAI 0412)	1.56	3.13
<i>B. melaninogenicus</i> (GAI 0411)	1.56	3.13
<i>B. melaninogenicus</i> (GAI 0410)	0.78	1.56
<i>B. melaninogenicus</i> (GAI 0413)	1.56	3.13
<i>Fusobacterium mortiferum</i> (B 1083)	50	50
<i>F. mortiferum</i> (VPI 4249)	100	100 <
<i>F. varium</i> (ATCC 8501)	100	100 <
<i>F. nucleatum</i> (ATCC 10953)	0.78	3.13
<i>F. nucleatum</i> (F-1)	0.20	0.78
<i>F. naviforme</i> (VPI 11936)	25	50
<i>Ccpnocytophaga ochracea</i> (OM 143)	0.10	12.5
<i>Eubacterium aerofaciens</i> (ATCC 25986)	25	25
<i>E. limosum</i> (ATCC 8486)	50	100
<i>E. plauti</i> (VPI 0311)	100	100 <
<i>Propionibacterium acnes</i> (ATCC 11828)	1.56	1.56
<i>P. acnes</i> (ATCC 6919)	0.20	0.78
<i>P. granulosum</i> (ATCC 25564)	12.5	100
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> (ATCC 15703)	100 <	100 <
<i>Clostridium symbiosum</i> (ATCC 14940)	100 <	100 <
<i>C. innocuum</i> (ATCC 14501)	100 <	100 <
<i>C. clostridiiforme</i> (ATCC 25537)	100 <	100 <
<i>C. perfringens</i> (ATCC 13123)	50	100
<i>C. ramosum</i> (ATCC 25582)	100 <	100 <
<i>Streptococcus intermedius</i> (ATCC 27735)	100 <	100 <
<i>Peptostreptococcus magnus</i> (ATCC 29328)	0.39	6.25
<i>P. magnus</i> (ATCC 14956)	12.5	100 <
<i>P. saccharolyticus</i> (ATCC 13953)	—	25
<i>P. parvulus</i> (VPI 0546)	—	100
<i>P. micros</i> (VPI 5464)	1.56	3.13
<i>P. anaerobius</i> (ATCC 27337)	0.78	1.56
<i>Staphylococcus asaccharolyticus</i> (WAL 3218)	0.78	1.56

* Inoculum : CFU/ml

2. 臨床分離株に対する Azthreonom の抗菌力
臨床分離の嫌気性菌に対する Azthreonom の抗菌力の成績を Table 2 および 3 に示した。

Azthreonom の抗菌力は, *Bacteroides* では 10⁶CFU/ml で *B. fragilis* 12 株中 1 株, *B. vulgatus* 2 株中 1

株, *B. bivius* 9 株すべてが 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 以下を示したが, 残りの菌株は 25 $\mu\text{g/ml}$ 以上を示した。しかし, CTX では *B. thetaiotaomicron* 9 株中 7 株, *B. fragilis* 2 株, *B. oralis* 1 株を除き 25 $\mu\text{g/ml}$ 以下であった。嫌気性球菌では *P. asaccharolyticus* 12 株中 1 株, *P.*

Table 2 MIC distribution of Azthreonom to clinical isolates

Organism		≤0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	>200
<i>B. fragilis</i> (12)	AZT					1			2	4	1		4
	CTX				2	8				2			
<i>B. thetaiotaomicron</i> (9)	AZT									2	1	2	4
	CTX							2	6				1
<i>B. distasonis</i> (6)	AZT									1	1	4	
	CTX	1	3				1	1					
<i>B. vulgatus</i> (2)	AZT						1		1				
	CTX				1	1							
<i>B. uniformis</i> (3)	AZT									1	2		
	CTX						1	2					
<i>B. oralis</i> (1)	AZT											1	
	CTX								1				
<i>B. bivius</i> (9)	AZT				5	2	2						
	CTX	1	2	2	1	2	1						
<i>P. asaccharolyticus</i> (12)	AZT	4	5	1		1							1
	CTX	11			1								
<i>P. prevotii</i> (11)	AZT	1	1	1	4	1						3	
	CTX	10	1										
<i>P. magnus</i> (14)	AZT			1	1	3	4	3				1	1
	CTX	5	1	2	3	2				1			
<i>P. micros</i> (8)	AZT	1			1			2	2	1	1		
	CTX	6	2										
<i>P. anaerobius</i> (10)	AZT		1	1	1			5			2		
	CTX	4		5			1						
<i>P. acnes</i> (16)	AZT	9	3	2	1		1						
	CTX	16											
<i>P. granulosum</i> (2)	AZT								2				
	CTX	1	1										
<i>E. lenium</i> (4)	AZT						2			1			1
	CTX	3								1			
<i>E. cylindroides</i> (1)	AZT	1											
	CTX	1											
<i>E. limosum</i> (1)	AZT										1		
	CTX	1											
<i>C. difficile</i> (8)	AZT												8
	CTX									3	4	1	

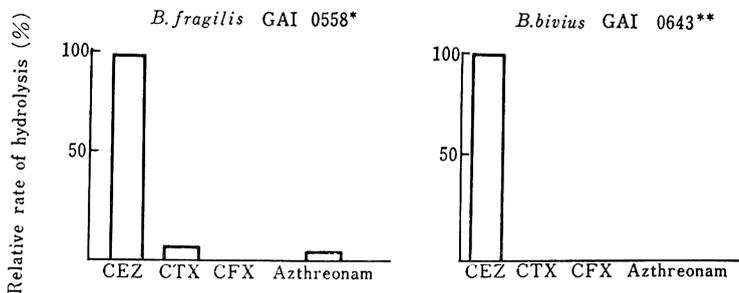
Inoculum : 10⁸CFU/mlFig. 1 Stability of Azthreonom against β -lactamase from *Bacteroides**MIC of Azthreonom to *B. fragilis* GAI 0558 : 200 μ g/ml or more (10⁸CFU/ml)**MIC of Azthreonom to *B. bivius* GAI 0643 : 3.13 μ g/ml (10⁸CFU/ml)

Table 3 MIC distribution of Azthreonom to clinical isolates

Organism	≤0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	>200
<i>B. fragilis</i> (12)	AZT										1	11
	CTX					1		1	4	3	1	2
<i>B. thetaiotaomicron</i> (9)	AZT											9
	CTX								2	6		1
<i>B. distasonis</i> (6)	AZT							2	1	1	2	
	CTX		1		1	1		1	1			
<i>B. vulgatus</i> (2)	AZT									2		
	CTX					1	1					
<i>B. uniformis</i> (3)	AZT											3
	CTX					1		2				
<i>B. oralis</i> (1)	AZT										1	
	CTX									1		
<i>B. bivius</i> (9)	AZT				5	2						
	CTX	1	1	3	1	2		1				
<i>P. asaccharolyticus</i> (12)	AZT		2	3	4	1			1			1
	CTX	10	1			1						
<i>P. prevotii</i> (11)	AZT	1		1		3				3	3	
	CTX	8	1	2								
<i>P. magnus</i> (14)	AZT					1		1	2	2	2	4
	CTX	2	1	1	2	5	1	1				1
<i>P. micros</i> (8)	AZT							2		2	3	1
	CTX	2	3	1		1		1				
<i>P. anaerobius</i> (10)	AZT		1			2		1	3		2	1
	CTX	3		4	1	1	1					
<i>P. acnes</i> (16)	AZT			3	4	5	2	1			1	
	CTX	11	3	2								
<i>P. granulosum</i> (2)	AZT								1	1		
	CTX		1	1								
<i>E. lentum</i> (4)	AZT						2		1			1
	CTX	2	1								1	
<i>E. cylindroides</i> (1)	AZT					1						
	CTX	1										
<i>E. limosum</i> (1)	AZT										1	
	CTX		1									
<i>C. difficile</i> (8)	AZT											8
	CTX								3	4	1	

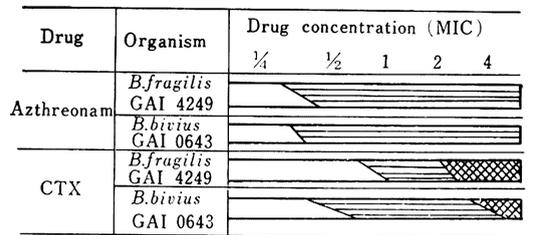
Inoculum : 10⁸CFU/ml

prevotii 11株中3株, *P. magnus* 14株中2株, *P. micros* 8株中4株, *P. anaerobius* 10株中2株が 25μg/ml 以上の MIC 値を示した。CTX では, *P. magnus* 1株のみ 50μg/ml を示したが, 残りはすべて 25μg/ml 以下であった。*P. acnes* では Azthreonom および CTX とも 6.25μg/ml 以下を示した。*C. difficile* に対しては, Azthreonom は 8株すべて 200μg/ml 以上であるのに比べ, CTX は 50~200μg/ml の MIC 値を示した。

3. *B. fragilis*, *B. bivius* 由来の β-lactamase に対する安定性

β-lactamase 産生株である *B. fragilis* と *B. bivius* から得られた粗酵素に対する Azthreonom の安定性を検

Fig. 2 Morphological changes of *B. fragilis* and *B. bivius* in BHI broth with Azthreonom and CTX



(Incubation time : 4 hours)

Normal cells Filamentation Spheroplast

討した成績を Fig. 1 に示した。Azthreonom は、*B. fragilis*, *B. bivius* の β -lactamase に対して CTX, CFX と同様に極めて安定であった。

4. Azthreonom, CTX 含有培地での形態変化

B. fragilis と *B. bivius* を用いて、Azthreonom および CTX の 1/4, 1/2, 1, 2 および 4 MIC 含有ブイオン中での 4 時間培養後の菌体の形態変化を Fig. 2 に示した。Azthreonom 含有ブイオン中では *B. fragilis* および *B. bivius* とも 1/2 MIC 付近でフィラメントを形成し溶菌した。しかし、CTX 含有ブイオン中では、1/2~2 MIC 付近でフィラメントを形成し、スフェロプラストを作り溶菌した。

5. *B. fragilis* および *B. bivius* の増殖曲線に及ぼす Azthreonom と CTX の影響

B. fragilis の増殖曲線に及ぼす Azthreonom と CTX の影響を Fig. 3, 4 に示した。

対照群では時間とともに *B. fragilis* の増殖がみられるのに対し、Azthreonom の 2 および 4 MIC 含有培

地では菌数の減少がみられ、24 時間後においても再増殖はみられなかった。CTX の 1, 2 および 4 MIC 含有培地ではいずれの場合でも 8 時間後には菌数がいったん減少したが、24 時間後には再び 10^8 CFU/ml 以上に増殖した。

B. bivius は、Azthreonom の 2 および 4 MIC 含有培地中とともに菌数が減少し、24 時間後においても再増殖はみられなかった。CTX 含有培地中では各濃度とも時間とともに菌数の増加がみられた。

6. MIC と MBC の比較について

B. fragilis, *B. thetaiotaomicron*, *B. bivius* を用いて MIC 値と MBC 値を比較した成績を Table 4 に示した。Azthreonom, CTX ともに *B. fragilis* と *B. thetaiotaomicron* に対しては MIC 値は悪いが、MIC 値と MBC 値とはほぼ同値を示した。一方、*B. bivius* に対する MIC 値は、*B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron* と異なり比較的低値であったが、MBC 値は MIC 値の 2 倍を示した。

Fig. 3 Effect of Azthreonom and CTX on growth curve of *B. fragilis*

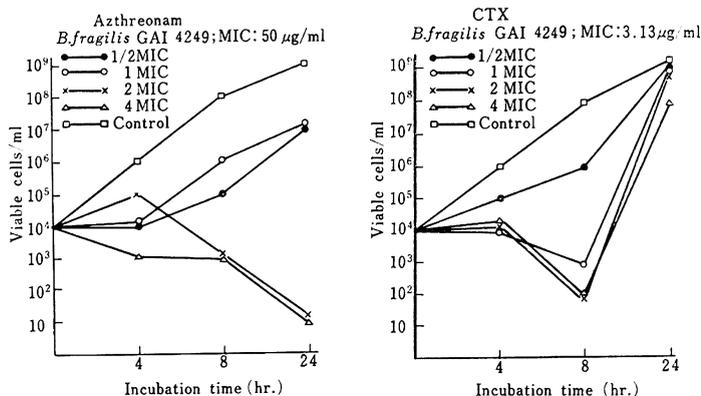


Fig. 4 Effect of Azthreonom and CTX on growth curve of *B. bivius*

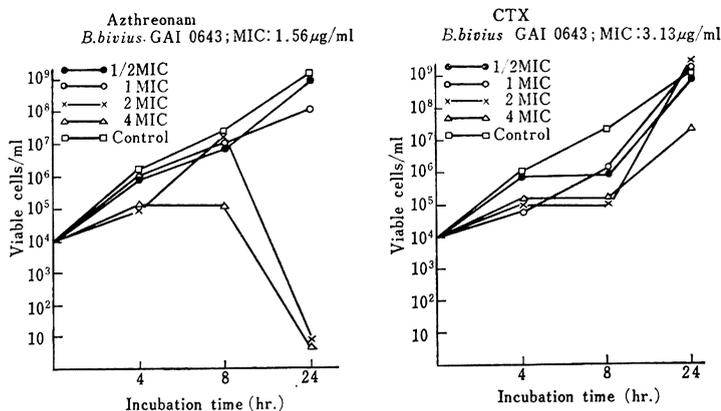


Table 4 MIC and MBC of Azthreonom and Cefotaxime against *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron* and *B. birius*

Organism	Azthreonom		Cefotaxime	
	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>B. fragilis</i> GAI 2724	>800*	>800	200	400
<i>B. fragilis</i> GAI 3025	400	>800	100	100
<i>B. thetaiotaomicron</i> GAI 4850	>800	>800	>800	>800
<i>B. thetaiotaomicron</i> GAI 3506	400	400	50	50
<i>B. thetaiotaomicron</i> GAI 4573	400	400	50	50
<i>B. birius</i> GAI 0643	6.25	25	25	50
<i>B. birius</i> GAI 4020	6.25	12.5	3.13	6.25

* $\mu\text{g/ml}$

7. *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *C. difficile* に対する Azthreonom と TIPC との併用効果

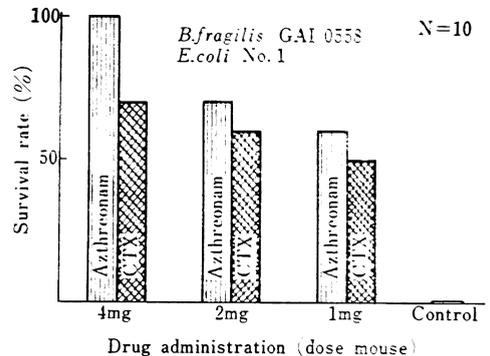
B. fragilis, *B. thetaiotaomicron*, *C. difficile* に対する Azthreonom と TIPC との併用効果の有無を検討した。Table 5, 6, 7 に示した成績は供試菌株のうち、わずかではあるが併用効果があると思われた *B. fragilis* 8株と *B. thetaiotaomicron* 1株である。

Azthreonom 単独では *B. fragilis* の全菌株が 25~200 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC 値を示した。しかし、Azthreonom に TIPC 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上添加することで大部分の株が Azthreonom の MIC 値は 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 以下となった。しかし、この成績は TIPC 単独の MIC 値とほぼ一致した。

8. *E. coli* と β -lactamase 産生の *B. fragilis* との混合感染マウスに対する Azthreonom と CTX の感染防御効果の比較

非治療群マウスが菌接種後 48 時間後で 100% の死亡率を示したのに比べ、Azthreonom 投与群は 4 mg/day で 7 日間の治療後においても 100% の生存率、2 mg/day および 1 mg/day 投与群でも 70% および 60% の生存率を示した。一方、CTX 投与群では、4 mg/day 投与群でも 70% の生存率、2 mg/day 投与群では 60%、1 mg/day 投与群では 50% の生存率を示した (Fig. 5)。

Fig. 5 Protecting effect of Azthreonom and CTX against experimental mixed infections due to *B. fragilis* and *E. coli* in mice



9. Azthreonom, CTX および CPZ 投与によるマウス盲腸内容物中の *C. difficile* の出現

Azthreonom, CTX および CPZ を各々投与したマウス盲腸内での *C. difficile* の異常増殖は、CTX 2 mg/day 投与群では 100%、CPZ 2 mg/day 投与群では 60% にみられたが、Azthreonom では 4 mg/day および 2 mg/day 投与群においても *C. difficile* の異常増殖はみられなかった (Fig. 6)。

Fig. 6 Appearance of *C. difficile* in caecum contents of mice administrated Azthreonom

Drug	Dose mg mouse day	Recovery of <i>C. difficile</i>					Rate of appearance of <i>C. difficile</i> %				
		-4	-3	-2	+1	0	20	40	60	80	100
Azthreonom	4mg					5					
	2mg					5					
CTX	2mg	5									
CPZ	2mg		1		2	2					
Control						5					

Table 5 Combination effects of Azthreonom and TIPC against *B. fragilis* ATCC 25285, *B. fragilis* GAI 1567 and *B. fragilis* GAI 453

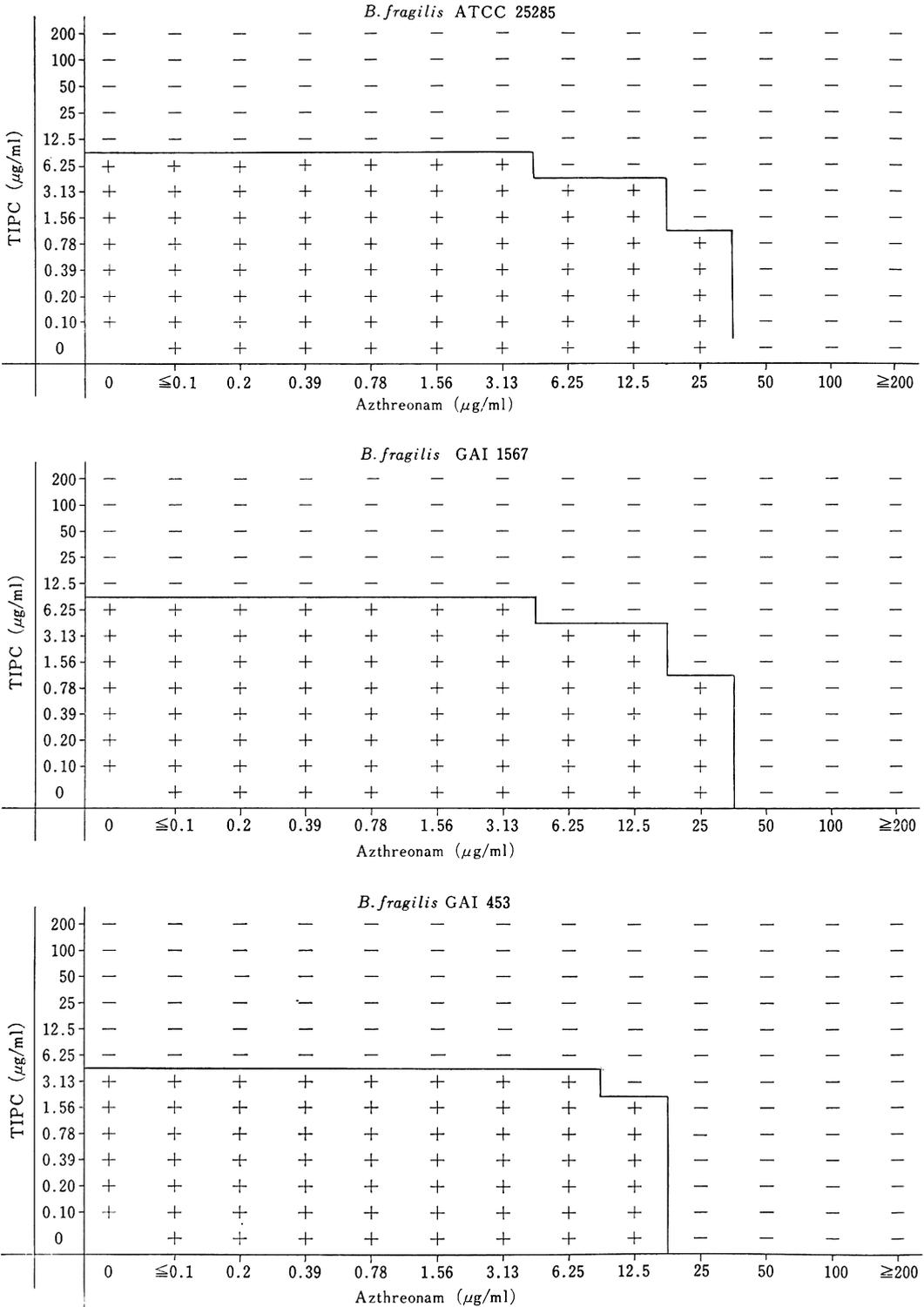
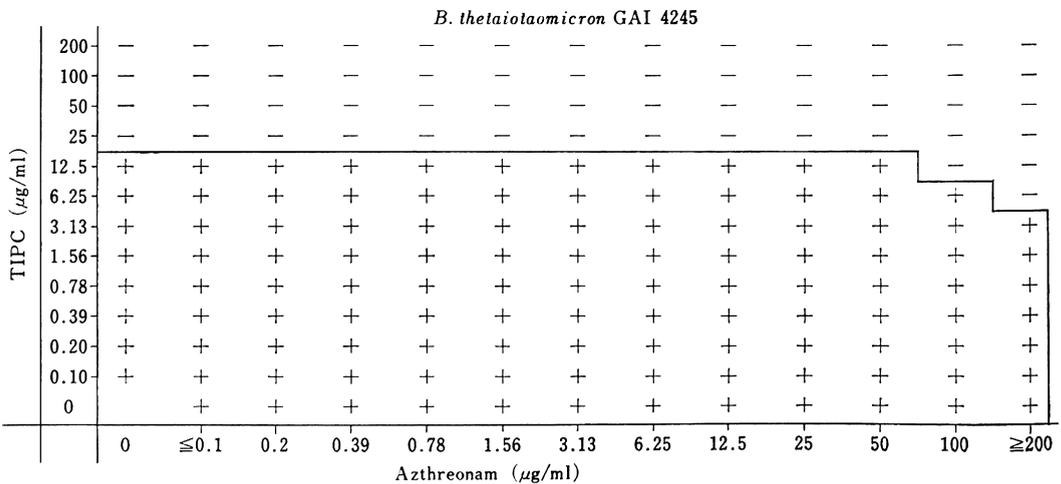
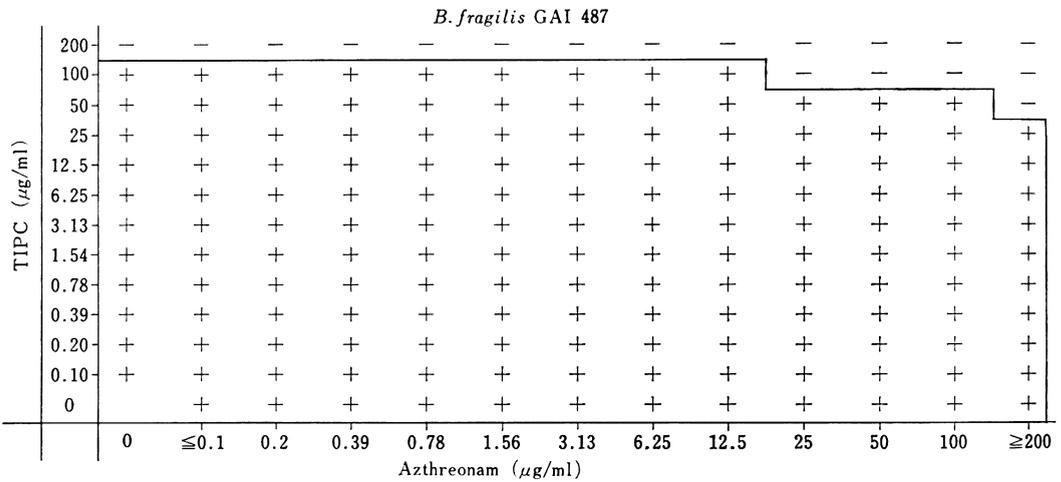
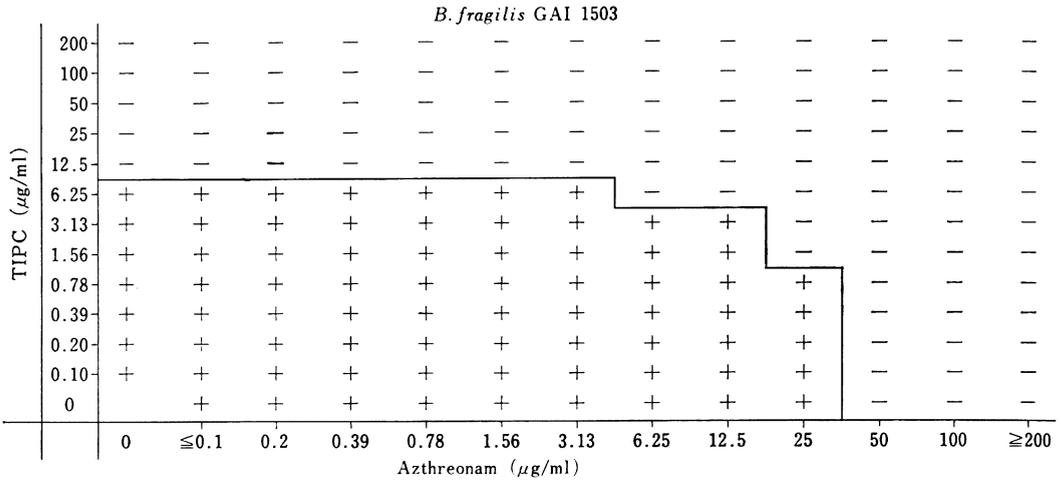


Table 6 Combination effects of Azthreonom and TIPC against *B. fragilis* GAI 3025, *B. fragilis* GAI 3643 and *B. fragilis* GAI 1185

		<i>B. fragilis</i> GAI 3025												
TIPC ($\mu\text{g/ml}$)	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	12.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	6.25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3.13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1.56	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0.78	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0.39	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0.20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0.10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			0	≤ 0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100
		Azthreonom ($\mu\text{g/ml}$)												
		<i>B. fragilis</i> GAI 3643												
TIPC ($\mu\text{g/ml}$)	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6.25	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	3.13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	1.56	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	0.78	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	0.39	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	0.20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	0.10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	0		+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
			0	≤ 0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100
		Azthreonom ($\mu\text{g/ml}$)												
		<i>B. fragilis</i> GAI 1185												
TIPC ($\mu\text{g/ml}$)	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6.25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	3.13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	1.56	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	0.78	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	0.39	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	0.20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	0.10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	0		+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
			0	≤ 0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100
		Azthreonom ($\mu\text{g/ml}$)												

Table 7 Combination effects of Azthreonom and TIPC against *B. fragilis* GAI 1503, *B. fragilis* GAI 487 and *B. thetaiotaomicron* GAI 4245



III. 考 按

SYKES らは, Azthreonam は *Pseudomonas aeruginosa* を含む好気性グラム陰性桿菌に対し, 優れた抗菌力を有することを報告した。また *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* など好気性グラム陽性球菌と嫌気性菌である *B. fragilis* に対する抗菌力は劣ると指摘した^{1,6)}。

著者らは, Azthreonam の抗菌力を *B. fragilis* を中心とした嫌気性菌を用い, 検討した。その結果, ヒト感染病巣から最も頻ばんに分離される *B. fragilis* を中心とした *B. thetaiotaomicron*, *B. distasonis*, *B. vulgatus* など *B. fragilis* group⁷⁾ に対して Azthreonam は, 12.5 μ g/ml 以上 (接種菌量 10⁸CFU/ml) の MIC を示すことが明らかとなった。

また, 本剤は, *B. fragilis* group のような, 主にヒトの下部消化管に常在し, 胆汁に比較的耐性の菌種である *F. varium*, *F. mortiferum*, *Eubacterium* spp., *Bifidobacterium* spp. および *Clostridium* spp. に対しことごとく 25 μ g/ml 以上の MIC であった。しかしながら主にヒトの口腔内や女性の腔内に常在するような胆汁に感受性の菌種である *B. ureolyticus*, *B. asaccharolyticus*, *B. melaninogenicus*, *B. bivius*, *F. nucleatum*, *P. acnes* などに対しては 6.25 μ g/ml 以下の比較的良好的な MIC を示すことがわかった。

嫌気性球菌に対しても, Azthreonam は 12.5 μ g/ml でもって発育阻止ができない菌株がかなりみられた。

Azthreonam は, plasmid 支配性あるいは染色体性の各種の β -lactamase に安定であるとされている。本剤は, 嫌気性菌である *B. fragilis* と *B. bivius* が産生する β -lactamase に対し⁵⁾ CTX よりも著しく安定であった。Azthreonam の 2 および 4 MIC を含むブイオン中で *B. fragilis*, *B. bivius* は漸次殺菌され, 24 時間後の再増殖は認められなかったが, CTX の 2 および 4 MIC を含むブイオン中では, 24 時間後に再増殖が認められた現象に, これら 2 剤の β -lactamase に対する安定性の差が反映しているかも知れない。

Azthreonam 含有ブイオン中で *B. fragilis* は, フィラメント化をおこした。本剤の作用点は, 隔壁合成にあずかる Penicillin binding proteins にあることが推測される。

Azthreonam と TIPC の併用効果を *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *C. difficile* を用いて検討したが,

拮抗作用は認められなかった。*B. fragilis* の一部と *B. thetaiotaomicron* の 1 株に軽度の協力作用を認めた。

本剤の *in vitro* の実験でみられた特徴より, β -lactamase 非産生性で Azthreonam に比較的感受性の *E. coli* と, β -lactamase 産生性で Azthreonam に耐性の *B. fragilis* を用いて行なったマウス腹腔内における混合感染に対する感染防御効果を, ほぼ同等の MIC を示す CTX を対照薬として検討したところ, Azthreonam の方が CTX よりややまさる傾向がみられた。Azthreonam が *B. fragilis* の産生する β -lactamase に CTX より安定であることが要因の一つであろう。

本剤の抗菌スペクトラムは前述した如く下部消化管に優性に常在する嫌気性菌各菌種に無効で, 消化管フローラへの作用は弱いことが推測された。マウス盲腸内の microbial flora の変動後に起こると考えられる *C. difficile* の異常増殖は Azthreonam 投与マウスでは全く認められなかったことは, 本剤投与で腸内の microbial flora の変動の少ないことが示唆される。

以上の結果から, Azthreonam は嫌気性感染症の治療の抗生剤として嫌気性グラム陽性球菌, *P. acnes*, *B. bivius* に対してはその有用性を期待できるが, *B. fragilis* group, *C. difficile* に対しては有用性は低いと考えられた。しかし, 今後は本剤との適当な併用剤の検討が必要かもしれない。

文 献

- 1) SYKES, R. B. et al.: Aztreonam (SQ 26,776), a synthetic monobactam specifically active against aerobic Gram-negative bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 21(1): 85~92, 1982
- 2) 嫌気性菌 MIC 測定法検討委員会: 嫌気性菌の最小発育阻止濃度(MIC)の測定法。 *Chemotherapy* 27(3): 559~560, 1979
- 3) 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(5): 391~400, 1978
- 4) 上野一恵, 他: 偽膜性腸炎と *Clostridium difficile*。 *モダンメディア* 25(12): 798~810, 1979
- 5) TAJIMA, M. et al.: The β -Lactamase of genus *Bacteroides*. *J. Antibiotics* 36(4): 423~428, 1983
- 6) FASS, R. J.: *In vitro* Activity of Ciprofloxacin (BAY o 9867). *Antimicrob. Agents Chemother.* 24: 568~574, 1983
- 7) 上野一恵, 他: 嫌気性菌の分離と同定, 菜根出版, 東京, 1982

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF AZTHREONAM AGAINST ANAEROBIC BACTERIA

KAKUYO SAWA, MAKOTO AOKI, MIDORI BUNAI, KAZUYOSHI KAGAWA
KUNITOMO WATANABE and KAZUE UENO
Inst. of Anaerobic Bacteriology, Gifu University School of Medicine

Antibacterial evaluation of Azthreonam was made against anaerobic bacteria compared with several other β -lactams, such as cefotaxime, cefoxitin, cefoperazone, ticarcillin and so on.

Azthreonam was shown to be inactive to both *Bacteroides fragilis* and *Clostridium difficile* with MICs of 50 $\mu\text{g/ml}$ to 200 $\mu\text{g/ml}$, but active to some species such as *B. ureolyticus*, black pigmented *Bacteroides*, *B. bivius*, *Propionibacterium acnes*, *Fusobacterium nucleatum* and anaerobic cocci.

Azthreonam was stable to the β -lactamases from *B. fragilis* and *B. bivius* as well as cefoxitin.

Both *B. fragilis* and *B. bivius* formed filaments in broth containing 1/2, 1, 2 and 4 MIC of Azthreonam. Combined effect of Azthreonam and ticarcillin was observed against some strains of *B. fragilis* and *B. thetaiotaomicron*. The prophylactic effect of Azthreonam was shown against mice experimental intraabdominal sepsis due to a β -lactamase nonproducing *Escherichia coli* and a β -lactamase producing *B. fragilis*.

The outgrowth of *C. difficile* was not observed in the caecal contents of mice administered 2 or 4 mg/day of Azthreonam subcutaneously.