

## Azthreonam (SQ 26, 776), 新単環性 $\beta$ -ラクタム抗生物質の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用について

紀藤恭輔・勝 鎌政・佐藤 勝・杉原芳樹  
渡辺直彰・豊沢逸生・森山めぐみ  
エーザイ株式会社筑波研究所

Azthreonam (AZT) は、グラム陰性菌に強い抗菌力を示す全合成された単環性  $\beta$ -lactam 抗生物質である。AZT は、*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* および *Proteus mirabilis* をはじめとする腸内細菌群や *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* など、グラム陰性桿菌に強い抗菌力を示し、グラム陽性菌、嫌気性菌には弱いかほとんど抗菌力を示さなかった。

AZT の臨床分離株に対する  $10^8$  CFU/ml 菌液接種時の  $MIC_{50}$  は、*Proteus mirabilis*, *Proteus morgani*, *Proteus vulgaris*, *Proteus rettgeri*, *Proteus inconstans* では 0.005~0.015  $\mu$ g/ml, *E. coli*, *K. pneumoniae* ではそれぞれ 0.04, 0.03  $\mu$ g/ml を示した。また、*Klebsiella oxytoca* には 0.07  $\mu$ g/ml, *Citrobacter freundii* 0.12  $\mu$ g/ml, *Enterobacter cloacae* 0.11  $\mu$ g/ml, *Serratia marcescens* に 0.31  $\mu$ g/ml を示した。*P. aeruginosa* に対しては 4.88  $\mu$ g/ml を示し Cefsulodin とほぼ同等であった。*H. influenzae* に対しては Latamoxef と同等で、0.043  $\mu$ g/ml であった。

AZT の抗菌力は培地種類、培地 pH, 血清添加では影響を受けなかったが、接種菌量を上げると若干低下した。また他剤との併用では相乗効果や抗菌スペクトラム的に相補的な作用は認められたが、拮抗作用は認められなかった。

AZT は各種  $\beta$ -lactamase に対して極めて安定であったが、II 型 (OXA 1) penicillinase, *K. oxytoca* および *Pseudomonas cepacia* の産生する  $\beta$ -lactamase によって僅かに加水分解された。

*P. aeruginosa* 腹腔内感染マウスにおける AZT の防禦効果は CAZ より劣ったが、CPZ より優れていた。また *K. pneumoniae* 気道感染マウス, *P. mirabilis* 尿路感染マウス, およびラットの *P. aeruginosa* グラニューローマポーチ内感染においても優れた治療効果を示した。

Azthreonam (AZT) は米国スクイブ社で開発された monobactam 系抗生物質<sup>1)</sup> (細菌の産生する単環性  $\beta$ -lactam 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-azetidyl] amino]-2-oxoethylidene] amino] oxy]-2-methylpropionic acid である。構造的特徴は単環性  $\beta$ -lactam の 1 位に sulfo-nic acid をまた 2 位に methyl 基を有することであり、L-threonine を出発物質として全合成されたものである。

今回我々は AZT の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用について検討したので、その結果を報告する。

### I. 実験材料および実験方法

#### 1. 薬剤

AZT はスクイブ社で合成されたものを用いた。対照薬剤の Cefazidime (CAZ) はエーザイ・筑波研究所で合成し、Cefoperazone (CPZ), Cefsulodin (CFS), Cefoiam (CTM), Latamoxef (LMOX), Cloxacillin (MCI

PC), Ampicillin (ABPC), Benzylpenicillin (PCG), Cephaloridine (CER), Clindamycin (CLDM), Gentamicin (GM) および Minocycline (MINO) は市販品を用いた。

#### 2. 菌株

実験室保存株は、casitone 半流動培地または 10% 家兎血液加 Trypticase soy agar (BBL) に継代保存した。*Streptococcus pyogenes*, *H. influenzae* および嫌気性菌は 50% glycerin 溶液に懸濁し、 $-80^{\circ}\text{C}$  で保存した。

#### 3. MIC の測定

寒天平板希釈法による最小発育阻止濃度 (MIC) は日本化学療法学会の感受性測定法<sup>2)</sup> に準じて測定した。接種菌培養には Mueller-Hinton broth (BBL) を、*S. pyogenes* および *H. influenzae* については上記培地に Fildes enrichment (Difco) を 1% 添加して用いた。寒天平板培地には Mueller-Hinton agar (BBL) を用いた。また、*S. pyogenes* および *H. influenzae* につい

ては接種菌培地と同様に Fildes enrichment を 5% 添加した。接種菌液は、37°C にて一夜培養した菌液を生理食塩水で  $10^6$  および  $10^8$  CFU/ml に希釈調製した。希釈菌液を、各薬剤の 2 倍希釈濃度系列を含む寒天平板にマイクロプランター (佐久間) で 5 $\mu$ l 接種し、37°C、18 時間培養後、被験菌の発育の認められない最小濃度を MIC とした。嫌気性菌については接種菌培地、試験培地としてそれぞれ GAM ブイヨン (日水)、GAM 寒天 (日水) を使用し、嫌気性菌感受性測定法<sup>3)</sup> に準じて MIC を測定した。

#### 4. $\beta$ -lactamase に対する安定性

$\beta$ -lactamase 産生株を Brain heart infusion broth (BHI broth, Difco) 5 ml で 37°C 一夜培養し、同培地で 50 倍に希釈した。37°C で 3 時間振盪培養し、誘導が必要な場合は Ampicillin を inducer として 100~200  $\mu$ g/ml 加え、不要な場合はそのままさらに 2 時間培養した。培養液を遠心分離して得た菌体を、0.05 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で 1 回洗浄し、同緩衝液 3 ml に懸濁して、氷冷下で 5 分間音波破碎 (Branson 社, Sonifier) した。菌体破片を遠心分離 (15,000 $\times$ g, 30 分) にて除去した上清を粗酵素液とした。

*Pseudomonas cepacia* および *P. maltophilia* は、30°C で培養を行なった。 $\beta$ -lactamase 活性は、UV 法<sup>4)</sup> により測定した。PCase と CSase の基質特異性は、基質とした PCG, CER の加水分解速度を 100 とした時の相対値で表わした。

#### 5. *P. aeruginosa* の $\beta$ -lactamase 産生誘導に対する AZT の影響

*P. aeruginosa* の一夜培養液を BHI broth で 50 倍に希釈し、37°C で 3 時間振盪培養後、最終濃度 1, 10, 100 および 1,000  $\mu$ g/ml の薬剤を加えた。さらに 2 時間振盪培養した後、遠心分離にて集菌し、菌体を 0.05 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で 1 回洗浄後、同緩衝液 3 ml に懸濁し氷冷下で 1 分間音波破碎した。その遠心 (15,000 $\times$ g, 30 分) 上清液の酵素活性を測定した。

#### 6. MBC の測定

液体希釈法により MIC を測定した後、各試験管から 10 $\mu$ l を薬剤を含まない BTB 寒天 (栄研) 平板に移植し、37°C、一夜培養した。最小殺菌濃度 (MBC) は移植平板上に集落の認められない最小の薬剤濃度とした。

#### 7. 殺菌作用

2 倍希釈系列の薬剤を含む Sensitivity test broth (日水) に被験菌を約  $10^8$  CFU/ml 接種した。37°C で培養し 0, 1, 2, 4, 6, 8 および 24 時間後に培養菌液の一部を採り、BTB 寒天平板に接種した。37°C、一夜培養後、生育した集落数より各検体 1 ml 中の生菌数を求め

た。

#### 8. 他剤との併用効果

AZT を他剤 (CLDM, MCIPC, CTM, GM および MINO) と 1:1 (重量比) で混合し、2 倍希釈系列の薬剤平板を作製した。被験菌約  $10^6$  CFU/ml を接種し MIC を測定した。相乗作用は、併用時の各薬剤の MIC が単独時の MIC に比較して、1/4 以下に減少した場合とした。拮抗作用は、併用薬剤のいずれか一方の MIC が単独時に比べて 4 倍以上増加するか、もしくは両薬剤の MIC がいずれも 2 倍以上増加した場合として判定した。

#### 9. 実験的マウス感染防禦効果

(i) 腹腔内感染: *E. coli* No. 23 は Trypticase soy broth (TSB, BBL) に、*P. aeruginosa* E 03008 は 0.4% KNO<sub>3</sub> 加 TSB に 37°C 一夜培養した。各菌株は 5% mucin (Difco) に浮遊し、1 群 10 匹の ICR マウス (4 週齢, 雄, 体重 20~24g) の腹腔内に感染した。マウス 1 匹当たり薬剤溶液 0.2 ml を、感染 1 時間後に 1 回皮下投与した。50% 有効量 (ED<sub>50</sub>, mg/kg) は感染 7 日後の生存動物数より LITCHFIELD-WILCOXON 法<sup>5)</sup> により求めた。

(ii) 尿路感染: *P. mirabilis* E 05106 による尿路感染症は 1 群 18 匹の ICR 雌マウス (4 週齢, 体重 20~24g) に  $1.4 \times 10^7$  CFU/マウスの菌液を経尿道的に膀胱内に注入して作製した。感染後 2 日目に尿中菌数の有無を確かめ、尿中菌数の認められたマウスに 3 日目より薬剤の投与を開始した。投与量は、AZT, CTM いずれも 4 および 20 mg/kg とした。薬剤は 1 日 3 回 3 日間皮下投与した。最終投与から 48 時間目に尿中菌数の有無ならびに腎、膀胱内の菌数を測定した。*P. aeruginosa* による尿路感染症は NISHI-TSUCHIYA の方法<sup>6)</sup> に準じて作製した。マウスに *P. aeruginosa* E 03165 を経尿道的に膀胱内へ注入した後 4 時間尿道口を閉塞した。尿道閉塞解除後、直ちに各薬剤を 1 回皮下投与した。2 日後に両腎を摘出、滅菌生理食塩水を加え homogenize して適当に希釈した後、腎内菌数を測定した。また薬剤投与後 6 時間まで腎内菌数の変動を追跡した。

(iii) 気道感染: *K. pneumoniae* による気道感染症は噴霧法<sup>7)</sup> により作製した。ICR マウス (4 週齢, 雄, 体重 18~22g) に *K. pneumoniae* E 02033 を噴霧し感染した。感染直後の肺からは約  $10^6$  CFU/lung の感染菌が検出された。薬剤は感染 4 時間後から 8 時間間隔で 6 回皮下投与した。ED<sub>50</sub> 値の測定には 1 群 10 匹、肺内生菌数に及ぼす影響では 1 群 6 匹のマウスを用いた。ED<sub>50</sub> 値は感染 4 日後から 10 日目までの生存動物数より LITCHFIELD-WILCOXON 法<sup>5)</sup> により求めた。

(iv) ラット・グラニューローマポーチ内感染:SD系ラット(7週齢,雄,体重320~380g)背部皮下に空気25 mlを注入してポーチを作製し,これにコンブリート・アジュバント(Difco)1 mlを注入して無菌的浸出性炎症を惹起した。7日後に0.4% KNO<sub>3</sub>加 TSBで37°C,一夜培養した *P. aeruginosa* E 03008 (5% mucin

に浮遊)菌液を1 mlポーチ内へ接種した。菌接種直後,AZTおよびCPZを尾静脈から40 mg/kg投与した。薬剤投与後0,2,4,8,24および48時間に浸出液を0.5 ml採取し,菌数を測定した。またAZTおよびCPZのポーチ内濃度を測定した。

Table 1 Antibacterial spectrum of gram-positive bacteria

(Inoculum: One loopful of 10<sup>8</sup> CFU/ml)

Organism	MIC (μg/ml)			
	AZT	CAZ	CPZ	LMOX
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	>100	12.5	1.56	6.25
<i>S. aureus</i> TERAJIMA	>100	3.13	0.8	3.13
<i>S. aureus</i> MS353	>100	3.13	0.8	1.56
<i>S. aureus</i> SMITH	>100	6.25	6.25	6.25
<i>S. aureus</i> 911-5*	>100	12.5	1.56	6.25
<i>S. epidermidis</i> 112	>100	12.5	1.56	12.5
<i>S. epidermidis</i> E32020*	>100	6.25	1.56	25
<i>M. luteus</i> PCI-1001	6.25	0.4	0.05	0.8
<i>M. luteus</i> ATCC9341	12.5	0.4	0.05	0.8
<i>M. flavus</i> PCI-1216	>100	6.25	0.8	3.13
<i>B. subtilis</i> ATCC6633	>100	3.13	0.4	6.25
<i>S. pyogenes</i> COOK	25	0.2	0.1	3.13
<i>S. pyogenes</i> IID689	12.5	0.1	0.05	1.56
<i>S. pneumoniae</i> IID552	>100	0.1	0.1	1.56
<i>S. pneumoniae</i> IID554	>100	3.13	1.56	12.5
<i>S. faecalis</i> 10541	>100	>100	6.25	>100
<i>S. mitis</i> IID685	>100	0.4	0.8	12.5

\* Clinical isolate

(Inoculum: One loopful of 10<sup>8</sup> CFU/ml)

Organism	MIC (μg/ml)			
	AZT	CAZ	CPZ	LMOX
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	>100	12.5	1.56	6.25
<i>S. aureus</i> TERAJIMA	>100	12.5	1.56	6.25
<i>S. aureus</i> MS353	>100	6.25	1.56	3.13
<i>S. aureus</i> SMITH	>100	12.5	6.25	6.25
<i>S. aureus</i> 911-5*	>100	12.5	6.25	6.25
<i>S. epidermidis</i> 112	>100	12.5	1.56	12.5
<i>S. epidermidis</i> E32020*	>100	25	6.25	50
<i>M. luteus</i> PCI-1001	25	0.8	0.1	0.8
<i>M. luteus</i> ATCC9341	12.5	0.8	0.1	0.8
<i>M. flavus</i> PCI-1216	>100	12.5	1.56	3.13
<i>B. subtilis</i> ATCC6633	>100	6.25	1.56	12.5
<i>S. pyogenes</i> COOK	50	0.8	0.1	3.13
<i>S. pyogenes</i> IID689	25	0.2	0.1	1.56
<i>S. pneumoniae</i> IID552	>100	0.2	0.1	1.56
<i>S. pneumoniae</i> IID554	>100	6.25	3.13	12.5
<i>S. faecalis</i> 10541	>100	>100	100	>100
<i>S. mitis</i> IID685	>100	0.4	0.8	12.5

\* Clinical isolate

## II. 実験成績

## 1. 抗菌スペクトラム

AZT はグラム陽性菌に対してほとんど抗菌力を示さず、多くの菌種で 100 µg/ml 以上の MIC であった (Table 1)。グラム陰性菌に対しては強い抗菌活性を示し、*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Shigella* sp., *Salmonella* sp., *Enterobacter* sp., *Citrobacter freundii*, *Proteus* sp., *Serratia marcescens*, *P. aeruginosa* および

*P. cepacia* に有効であった。特に *Proteus* 属菌には対照薬剤より著しく強い抗菌力を示したが、*P. maltophilia* に対する抗菌力は弱いものであった (Table 2, 3)。

嫌気性菌に対する抗菌力はグラム陽性、陰性いずれの菌種に対しても弱かった (Table 4)。

## 2. 臨床分離株に対する抗菌力

臨床材料より分離したグラム陽性菌 4 菌種 111 株、グ

Table 2-1 Antibacterial spectrum of gram-negative bacteria  
(Inoculum: One loopful of 10<sup>6</sup> CFU/ml)

Organism	MIC (µg/ml)			
	AZT	CAZ	CPZ	LMOX
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.1	0.2	0.2	0.1
<i>E. coli</i> K12 C600	0.1	0.2	0.2	0.2
<i>E. coli</i> B	0.012	0.05	0.006	0.05
<i>E. coli</i> O-111	0.025	0.05	0.025	0.025
<i>E. coli</i> ATCC27166	0.025	0.05	0.012	0.05
<i>K. pneumoniae</i> IID875	0.05	0.2	0.2	0.1
<i>K. pneumoniae</i> IID865	0.025	0.05	0.1	0.1
<i>K. pneumoniae</i> PCI-602	0.012	0.05	0.1	0.05
<i>S. flexneri</i> IID642	0.1	0.2	0.05	0.2
<i>S. sonnei</i> IID969	0.025	0.05	0.1	0.05
<i>S. dysenteriae</i> IID633	0.006	0.025	0.012	0.012
<i>S. typhi</i> 901	0.025	0.2	0.4	0.05
<i>S. paratyphi</i> 1015	0.2	0.2	0.2	0.2
<i>S. typhimurium</i> IID971	0.012	0.1	0.4	0.1
<i>S. typhimurium</i> 1406	0.025	0.2	0.4	0.1
<i>S. enteritidis</i> G14	0.1	0.2	0.2	0.1
<i>S. schottmuellei</i> 8006	0.012	0.05	0.2	0.05
<i>E. aerogenes</i> IID5206	0.2	0.4	0.4	0.2
<i>E. aerogenes</i> IID972	0.025	0.05	0.05	0.1
<i>E. aerogenes</i> ATCC13048	0.1	0.4	0.4	0.2
<i>E. cloacae</i> IID977	0.4	1.56	0.8	3.13
<i>E. cloacae</i> 963	0.1	0.2	0.4	0.1
<i>C. freundii</i> IID976	0.1	0.4	0.4	0.1
<i>H. alvei</i> IID978	0.2	0.8	0.4	0.2
<i>P. mirabilis</i> IFO3849	0.012	0.05	0.8	0.1
<i>P. mirabilis</i> OM-1	0.012	0.025	0.012	0.1
<i>P. morgani</i> IFO3848	0.006	0.012	0.012	0.1
<i>P. morgani</i> IID602	0.012	0.05	1.56	0.2
<i>P. vulgaris</i> OX-19	0.012	0.025	0.006	0.1
<i>P. vulgaris</i> HX-19	0.006	0.025	0.006	0.05
<i>P. rettgeri</i> IFO3850	0.006	0.025	0.1	0.05
<i>P. rettgeri</i> YF-2*	0.006	0.025	0.4	0.05
<i>P. inconstans</i> E09001*	0.025	0.4	3.13	0.1
<i>S. marcescens</i> IAM1184	0.025	0.05	0.4	0.1
<i>S. marcescens</i> IID620	0.012	0.025	0.4	0.1
<i>S. marcescens</i> E11009*	0.1	0.2	1.56	0.4
<i>Y. enterocolitica</i> IID981	0.8	0.1	1.56	0.4
<i>A. hydrophila</i> IAM1018	0.025	0.05	0.006	0.025
<i>C. violaceum</i> RIMD0315004	6.25	50	12.5	1.56

\* Clinical isolate

ラム陰性菌 24 菌種 727 株, 嫌気性菌 *Bacteroides fragilis* 24 株に対する抗菌力を CAZ, CPZ および LMOX と比較検討した。ブドウ糖非発酵菌群については上記薬剤以外に CFS, GM および MINO とも比較した。AZT はグラム陽性菌に対して抗菌力が弱く, 特に *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* および *Enterococcus* 属に対しては MIC 100  $\mu\text{g/ml}$  以上とほとんど抗菌力を示さなかった (Fig. 1~3, Table 5)。

一方, *S. pyogenes* に対しては感受性のピークが 6.25~12.5  $\mu\text{g/ml}$  と抗菌力が認められた (Fig. 4, Table 5)。

*E. coli* および *K. pneumoniae* に対して AZT の MIC<sub>50</sub> 値は, それぞれ 0.04, 0.03  $\mu\text{g/ml}$  で他剤に比べて 2~4 倍優れた抗菌力を示した (Fig. 5, 6, Table 5)。 *K. oxytoca* に対する AZT の MIC<sub>50</sub> 値は 0.071  $\mu\text{g/ml}$  で, CAZ, LMOX とほぼ同等, CPZ より約 8 倍優れていたが, 耐性菌の存在が認められた (Fig. 7,

Table 2-2 Antibacterial spectrum of gram-negative bacteria

(Inoculum : One loopful of 10<sup>8</sup> CFU/ml)

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )			
	AZT	CAZ	CPZ	LMOX
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.1	0.2	0.4	0.1
<i>E. coli</i> K12 C600	0.1	0.2	0.2	0.2
<i>E. coli</i> B	0.012	0.1	0.012	0.05
<i>E. coli</i> O-111	0.025	0.05	0.05	0.025
<i>E. coli</i> ATCC27166	0.025	0.1	0.012	0.05
<i>K. pneumoniae</i> IID875	0.05	0.2	0.2	0.2
<i>K. pneumoniae</i> IID865	0.05	0.1	0.4	0.2
<i>K. pneumoniae</i> PCI-602	0.05	0.1	0.4	0.2
<i>S. flexneri</i> IID642	0.1	0.2	0.1	0.8
<i>S. sonnei</i> IID969	0.1	0.2	0.1	0.1
<i>S. dysenteriae</i> IID633	0.025	0.1	0.025	0.025
<i>S. typhi</i> 901	0.1	0.2	0.4	0.2
<i>S. paratyphi</i> 1015	0.1	0.2	0.2	0.4
<i>S. typhimurium</i> IID971	0.05	0.2	0.8	0.2
<i>S. typhimurium</i> 1406	0.05	0.2	0.4	0.1
<i>S. enteritidis</i> G14	0.2	0.4	0.4	0.2
<i>S. schottmuellei</i> 8006	0.025	0.2	0.2	0.1
<i>E. aerogenes</i> IID5206	0.2	0.8	0.8	0.4
<i>E. aerogenes</i> IID972	0.2	0.2	0.2	0.4
<i>E. aerogenes</i> ATCC13048	0.1	0.4	0.8	0.2
<i>E. cloacae</i> IID977	3.13	6.25	12.5	6.25
<i>E. cloacae</i> 963	0.4	0.4	0.8	0.4
<i>C. freundii</i> IID976	0.4	0.8	0.4	0.1
<i>H. alvei</i> IID978	0.8	1.56	1.56	0.4
<i>P. mirabilis</i> IFO3849	0.012	0.1	1.56	0.2
<i>P. mirabilis</i> OM-1	0.012	0.05	0.05	0.1
<i>P. morgani</i> IFO3848	0.012	0.012	0.05	0.1
<i>P. morgani</i> IID602	0.4	1.56	6.25	0.4
<i>P. vulgaris</i> OX-19	0.05	0.05	0.2	0.2
<i>P. vulgaris</i> HX-19	0.012	0.1	0.012	0.05
<i>P. rettgeri</i> IFO3850	0.012	0.05	0.8	0.2
<i>P. rettgeri</i> YE-2*	0.012	0.1	0.4	0.1
<i>P. inconstans</i> E09001*	0.025	0.8	6.25	0.2
<i>S. marcescens</i> IAM1184	0.05	0.05	0.8	0.2
<i>S. marcescens</i> IID620	0.05	0.1	0.4	0.4
<i>S. marcescens</i> E11009*	0.1	0.2	1.56	0.4
<i>Y. enterocolitica</i> IID981	0.8	0.2	3.13	0.4
<i>A. hydrophila</i> IAM1018	0.025	1.56	0.1	0.05
<i>C. violaceum</i> RIMD0315004	12.5	100	>100	3.13

\* Clinical isolate

Table 3-1 Antibacterial spectrum of glucose non-fermentative bacteria  
(Inoculum : One loopful of 10<sup>6</sup> CFU/ml)

Organism	MIC (µg/ml)						
	AZT	CAZ	CPZ	LMOX	CFS	GM	MINO
<i>P. aeruginosa</i> IFO3445	6.25	1.56	12.5	25	3.13	1.56	12.5
<i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	0.2	0.8	0.8	3.13	0.8	1.56	12.5
<i>P. aeruginosa</i> PAO 1	3.13	1.56	6.25	12.5	1.56	0.8	25
<i>P. aeruginosa</i> A-3	3.13	0.8	3.13	6.25	0.8	0.4	6.25
<i>P. aeruginosa</i> GN3315	12.5	3.13	12.5	50	6.25	6.25	100
<i>P. aeruginosa</i> GN3316	6.25	1.56	6.25	25	1.56	3.13	25
<i>P. aeruginosa</i> N18	0.2	0.8	0.8	12.5	0.4	0.2	0.4
<i>P. aeruginosa</i> YE-1*	6.25	3.13	12.5	25	3.13	>100	12.5
<i>P. aeruginosa</i> NC-5	12.5	3.13	25	50	6.25	3.13	50
<i>P. maltophilia</i> IID1275	>100	>100	>100	100	>100	3.13	0.2
<i>P. maltophilia</i> E04036*	100	3.13	25	3.13	12.5	3.13	0.4
<i>P. maltophilia</i> E04041*	>100	6.25	>100	12.5	>100	100	0.2
<i>P. cepacia</i> IID1340	100	6.25	>100	>100	>100	100	6.25
<i>P. cepacia</i> E17033*	3.13	1.56	25	25	>100	>100	25
<i>P. cepacia</i> E17039*	50	6.25	>100	100	>100	50	25
<i>P. putida</i> IID5121	12.5	3.13	25	50	>100	0.4	1.56
<i>P. putida</i> E30002*	100	12.5	100	>100	>100	6.25	6.25
<i>P. fluorescens</i> IID5115	25	1.56	12.5	100	12.5	0.2	0.4
<i>P. fluorescens</i> E20009*	100	12.5	12.5	100	100	0.4	1.56
<i>P. putrefaciens</i> RIMD1635001	100	12.5	50	>100	>100	0.8	1.56
<i>P. pseudomallei</i> RIMD1625001	25	1.56	25	25	>100	50	3.13
<i>P. stutzeri</i> RIMD1631001	6.25	1.56	50	25	50	1.56	3.13
<i>A. faecalis</i> RIMD0114002	6.25	1.56	3.13	12.5	12.5	1.56	1.56
<i>A. odorans</i> RIMD0115001	25	1.56	1.56	0.05	6.25	3.13	3.13
<i>A. calcoaceticus</i> IFO12552	100	25	>100	>100	100	0.4	0.4
<i>A. calcoaceticus</i> IFO13006	3.13	0.8	1.56	6.25	3.13	1.56	0.2
<i>A. anitratus</i> RIMD0102002	50	12.5	>100	100	>100	12.5	0.4
<i>A. xylooxidans</i> RIMD0101001	>100	12.5	3.13	12.5	50	>100	12.5
<i>F. meningosepticum</i> RIMD0614002	>100	>100	25	50	>100	25	1.56
<i>C. terrigena</i> IFO12685	1.56	0.2	0.05	0.006	0.8	0.1	0.025

\* Clinical isolate

Fig. 1 Susceptibility distribution of clinical isolates *S. aureus* 50 strains

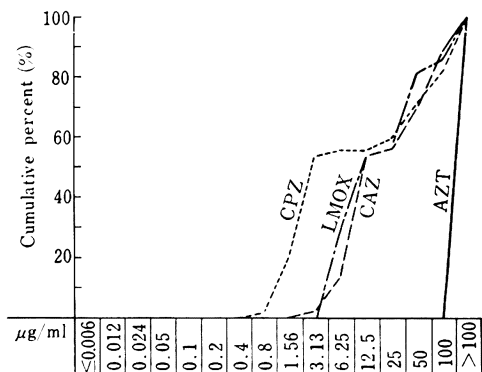


Fig. 2 Susceptibility distribution of clinical isolates *S. epidermidis* 24 strains

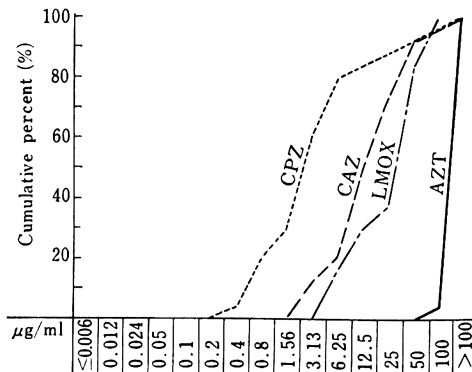


Table 3-2 Antibacterial spectrum of glucose non-fermentative bacteria

(Inoculum : One loopful of 10<sup>8</sup> CFU/ml)

Organism	MIC (µg/ml)						
	AZT	CAZ	CPZ	LMOX	CFS	GM	MINO
<i>P. aeruginosa</i> IFO3445	6.25	1.56	12.5	25	3.13	3.13	12.5
<i>P. aeruginosa</i> NCTC10490	0.4	1.56	0.8	12.5	1.56	6.25	50
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	6.25	1.56	6.25	25	3.13	3.13	25
<i>P. aeruginosa</i> A-3	6.25	1.56	6.25	12.5	1.56	0.8	12.5
<i>P. aeruginosa</i> GN3315	25	6.25	25	50	12.5	6.25	100
<i>P. aeruginosa</i> GN3316	6.25	3.13	6.25	25	3.13	3.13	25
<i>P. aeruginosa</i> N18	6.25	12.5	50	100	6.25	0.2	0.8
<i>P. aeruginosa</i> YE-1*	12.5	3.13	12.5	25	6.25	>100	12.5
<i>P. aeruginosa</i> NC-5	25	3.13	25	50	6.25	3.13	>100
<i>P. maltophilia</i> IID1275	>100	>100	>100	100	>100	3.13	0.4
<i>P. maltophilia</i> E04036*	>100	25	>100	12.5	>100	100	0.8
<i>P. maltophilia</i> E04041*	>100	6.25	>100	25	>100	100	0.4
<i>P. cepacia</i> IID1340	>100	25	>100	>100	>100	>100	12.5
<i>P. cepacia</i> E17033*	6.25	1.56	50	50	>100	>100	50
<i>P. cepacia</i> E17039*	100	12.5	>100	>100	>100	100	100
<i>P. putida</i> IID5121	50	6.25	25	100	>100	1.56	3.13
<i>P. putida</i> E30002*	100	25	100	>100	>100	12.5	25
<i>P. fluorescens</i> IID5115	50	6.25	12.5	>100	50	0.2	1.56
<i>P. fluorescens</i> E20009*	100	25	25	>100	100	0.4	1.56
<i>P. putrefaciens</i> RIMD1635001	>100	12.5	50	>100	>100	0.8	3.13
<i>P. pseudomallei</i> RIMD1625001	50	6.25	100	100	>100	100	6.25
<i>P. stutzeri</i> RIMD1631001	50	12.5	>100	>100	>100	1.56	6.25
<i>A. faecalis</i> RIMD0114002	25	12.5	100	12.5	50	1.56	6.25
<i>A. odorans</i> RIMD0115001	50	3.13	50	0.1	12.5	3.13	6.25
<i>A. calcoaceticus</i> IFO12552	100	25	>100	>100	100	0.8	0.4
<i>A. calcoaceticus</i> IFO13006	12.5	3.13	12.5	50	25	1.56	0.4
<i>A. anitratus</i> RIMD0102002	50	25	>100	>100	>100	25	0.4
<i>A. xylosoxidans</i> RIMD0101001	>100	12.5	6.25	25	>100	>100	25
<i>F. meningosepticum</i> RIMD0614002	>100	>100	50	50	>100	25	1.56
<i>C. terrigena</i> IFO12685	>100	12.5	0.8	0.4	1.56	0.4	0.05

\* Clinical isolate

Fig. 3 Susceptibility distribution of clinical isolates *Enterococcus* species 24 strains

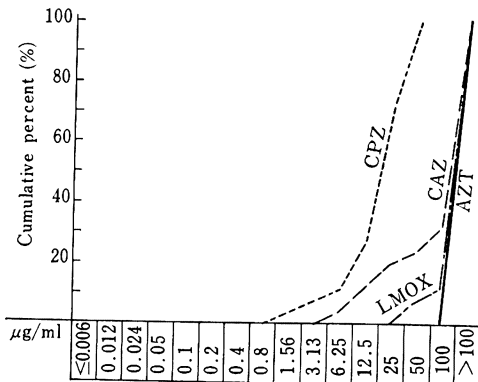


Fig. 4 Susceptibility distribution of clinical isolates *S. pyogenes* 13 strains

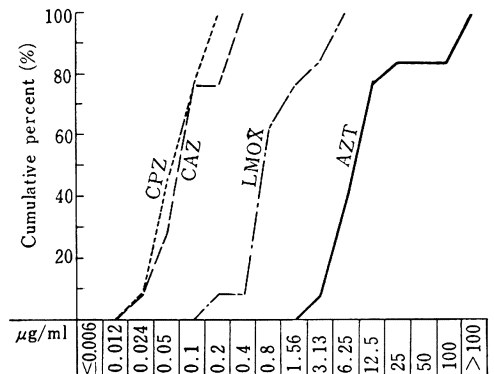


Table 4 Antibacterial spectrum of anaerobic bacteria  
(Inoculum : One loopful of 10<sup>6</sup> CFU/ml)

Organism	MIC (µg/ml)			
	AZT	CAZ	CPZ	LMOX
Gram-positive anaerobe				
<i>P. variabilis</i> ATCC14956	>100	6.25	0.8	3.13
<i>P. granulosum</i>	50	3.13	0.2	1.56
<i>P. anaerobius</i> B-38	25	1.56	25	6.25
<i>P. productus</i> ATCC27340	>100	0.8	0.2	3.13
Gram-negative anaerobe				
<i>B. fragilis</i> 2582	25	6.25	3.13	0.4
<i>B. distasonis</i> R-7	100	25	12.5	3.13
<i>B. ovatus</i> Tu-6-1	>100	50	25	50
<i>B. thetaiotaomicron</i> Ima 9	>100	50	12.5	1.56
<i>F. varium</i> B-1083	12.5	6.25	3.13	3.13
<i>V. parvula</i> Kw-2-2	6.25	3.13	0.8	0.8

(Inoculum : One loopful of 10<sup>8</sup> CFU/ml)

Organism	MIC (µg/ml)			
	AZT	CAZ	CPZ	LMOX
Gram-positive anaerobe				
<i>P. variabilis</i> ATCC14956	>100	50	3.13	3.13
<i>P. granulosum</i>	100	25	0.4	3.13
<i>P. anaerobius</i> B-38	25	1.56	25	6.25
<i>P. productus</i> ATCC27340	>100	6.25	0.2	3.13
Gram-negative anaerobe				
<i>B. fragilis</i> 2582	>100	25	>100	3.13
<i>B. distasonis</i> R-7	>100	50	50	100
<i>B. ovatus</i> Tu-6-1	>100	100	50	>100
<i>B. thetaiotaomicron</i> Ima 9	>100	50	12.5	3.13
<i>F. varium</i> B-1083	>100	25	6.25	6.25
<i>V. parvula</i> Kw-2-2	6.25	3.13	3.13	3.13

Fig. 5 Susceptibility distribution of clinical isolates *E. coli* 50 strains

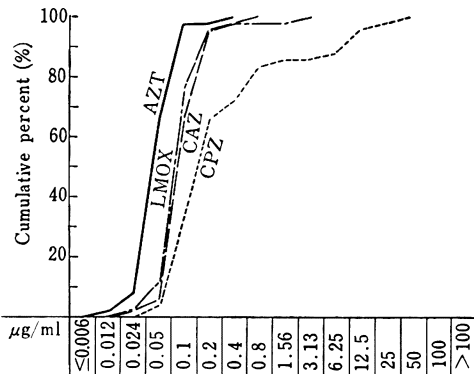


Fig. 6 Susceptibility distribution of clinical isolates *K. pneumoniae* 48 strains

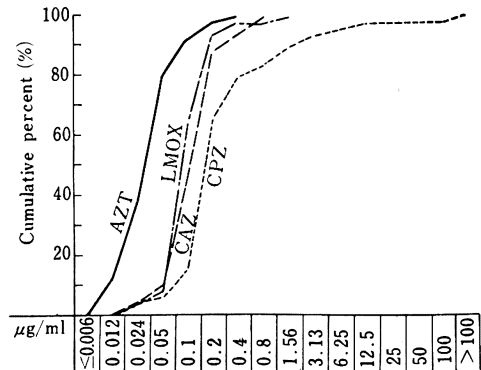




Table 5 Antibacterial activity of Azthreonam against clinical isolates (MICs in µg/ml)

Organism	Drug	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>S. aureus</i>	AZT	>100	>100
	CAZ	11.66	>100
	CPZ	2.87	>100
	LMOX	11.14	>100
<i>S. epidermidis</i>	AZT	>100	>100
	CAZ	12.5	46.65
	CPZ	2.41	37.89
	LMOX	30.20	65.98
<i>Enterococcus</i> sp.	AZT	>100	>100
	CAZ	>100	>100
	CPZ	17.68	39.04
	LMOX	>100	>100
<i>S. pyogenes</i>	AZT	7.69	>100
	CAZ	0.065	0.29
	CPZ	0.053	0.14
	LMOX	0.67	3.98
<i>E. coli</i>	AZT	0.040	0.082
	CAZ	0.080	0.17
	CPZ	0.14	7.43
	LMOX	0.074	0.16
<i>K. pneumoniae</i>	AZT	0.030	0.089
	CAZ	0.10	0.26
	CPZ	0.16	1.67
	LMOX	0.082	0.18
<i>K. oxytoca</i>	AZT	0.071	0.39
	CAZ	0.088	0.28
	CPZ	0.68	3.13
	LMOX	0.088	0.20
<i>C. freundii</i>	AZT	0.12	14.36
	CAZ	0.32	35.36
	CPZ	0.39	19.84
	LMOX	0.092	3.13
<i>C. diversus</i>	AZT	0.056	0.098
	CAZ	0.16	0.55
	CPZ	0.12	0.39
	LMOX	0.069	0.14
<i>E. cloacae</i>	AZT	0.11	12.94
	CAZ	0.30	22.38
	CPZ	0.31	18.09
	LMOX	0.15	8.48
<i>E. aerogenes</i>	AZT	0.090	9.69
	CAZ	0.28	19.39
	CPZ	0.28	4.85
	LMOX	0.18	2.68
<i>E. agglomerans</i>	AZT	0.044	>100
	CAZ	0.16	>100
	CPZ	0.14	53.59
	LMOX	0.28	6.70

Table 5 (continued)

Organism	Drug	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>S. marcescens</i>	AZT	0.31	2.82
	CAZ	0.37	2.12
	CPZ	5.57	>100
	LMOX	0.93	33.45
<i>P. mirabilis</i>	AZT	0.010	0.020
	CAZ	0.065	0.10
	CPZ	0.60	1.48
	LMOX	0.13	0.23
<i>P. vulgaris</i>	AZT	0.014	0.10
	CAZ	0.071	0.18
	CPZ	0.97	5.57
	LMOX	0.18	0.68
<i>P. Morganii</i>	AZT	0.015	0.93
	CAZ	0.068	6.25
	CPZ	0.92	8.84
	LMOX	0.14	0.20
<i>P. rettgeri</i>	AZT	0.005	0.015
	CAZ	0.043	0.097
	CPZ	0.32	4.37
	LMOX	0.042	0.14
<i>P. inconstans</i>	AZT	0.010	0.022
	CAZ	0.13	0.52
	CPZ	1.33	4.54
	LMOX	0.065	0.093
<i>H. influenzae</i>	AZT	0.043	0.20
	CAZ	0.091	0.28
	CPZ	0.010	0.048
	LMOX	0.044	0.55
<i>B. fragilis</i>	AZT	25	>100
	CAZ	8.84	>100
	CPZ	3.72	28.72
	LMOX	0.68	14.36

Fig. 7 Susceptibility distribution of clinical isolates *K. oxytoca* 50 strains

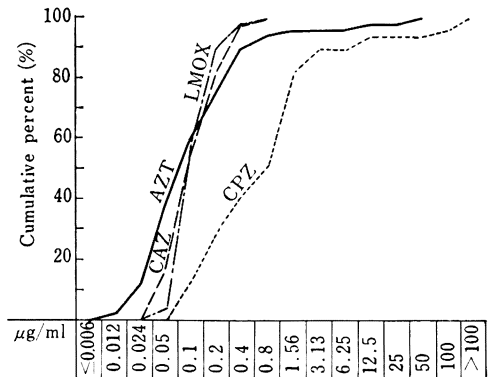


Table 5 (continued)

Organism	Drug	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>P. aeruginosa</i>	AZT	4.88	36.60
	CAZ	1.40	6.55
	CPZ	8.41	>100
	LMOX	25	>100
	CFS	2.85	51.76
	GM	2.33	75.79
	MINO	11.97	38.96
<i>P. cepacia</i>	AZT	6.75	11.75
	CAZ	1.20	2.29
	CPZ	20.69	40.61
	LMOX	25	47.12
	CFS	>100	>100
	GM	>100	>100
	MINO	10.51	20.78
<i>P. putida</i>	AZT	25	>100
	CAZ	3.13	20.31
	CPZ	25	81.23
	LMOX	50	>100
	CFS	50	>100
	GM	2.21	8.25
	MINO	0.78	1.36
<i>P. maltophilia</i>	AZT	>100	>100
	CAZ	29.73	>100
	CPZ	12.07	58.78
	LMOX	5.39	24.15
	CFS	>100	>100
	GM	7.43	47.47
	MINO	0.22	0.46
<i>P. fluorescens</i>	AZT	92.59	>100
	CAZ	3.13	20.81
	CPZ	7.62	17.27
	LMOX	>100	>100
	CFS	>100	>100
	GM	0.34	0.65
	MINO	0.72	2.54
<i>Acinetobacter</i> sp.	AZT	17.68	43.53
	CAZ	2.59	10.51
	CPZ	29.73	>100
	LMOX	24.06	57.43
	CFS	27.74	>100
	GM	0.26	1.46
	MINO	0.11	0.28
<i>Achromobacter</i> sp.	AZT	25	>100
	CAZ	3.13	5.44
	CPZ	2.21	5.08
	LMOX	0.78	10.88
	CFS	12.5	32.99
	GM	32.99	46.01
	MINO	0.78	2.54
<i>Alcaligenes</i> sp.	AZT	5.73	22.87
	CAZ	0.37	2.54
	CPZ	2.63	12.94
	LMOX	0.18	0.57
	CFS	8.11	53.59
	GM	35.36	>100
	MINO	0.51	5.08
<i>Flavobacterium</i> sp.	AZT	>100	>100
	CAZ	>100	>100
	CPZ	59.46	>100
	LMOX	20.31	>100
	CFS	>100	>100
	GM	1.27	>100
	MINO	0.18	0.48

Fig. 8 Susceptibility distribution of clinical isolates *C. freundii* 50 strains

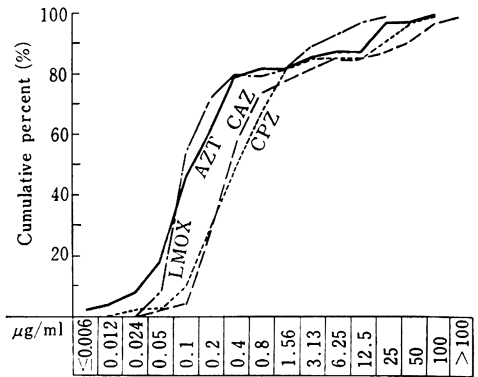


Fig. 9 Susceptibility distribution of clinical isolates *C. diversus* 10 strains

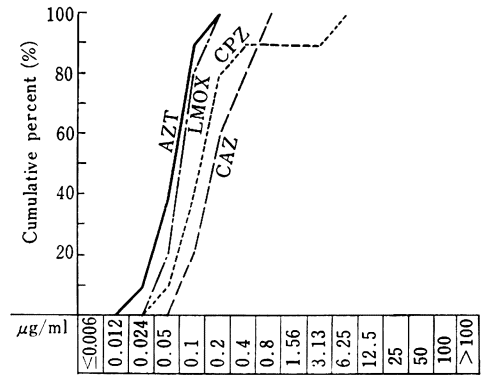


Fig. 10 Susceptibility distribution of clinical isolates *E. cloacae* 48 strains

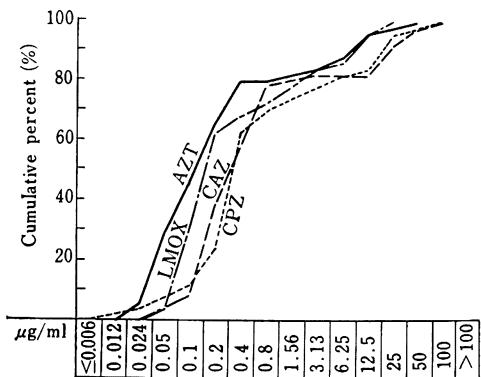


Table 5)。また、*C. freundii*, *Citrobacter diversus* に対して AZT は LMOX とほぼ同等の抗菌力を有し CAZ, CPZ より 2~4 倍優れていた。AZT の MIC<sub>50</sub> 値は、両菌種に対してそれぞれ 0.12 および 0.056 µg/ml

Fig. 11 Susceptibility distribution of clinical isolates *E. aerogenes* 11 strains

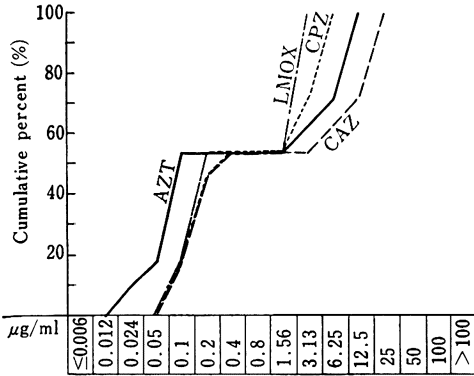


Fig. 12 Susceptibility distribution of clinical isolates *E. agglomerans* 9 strains

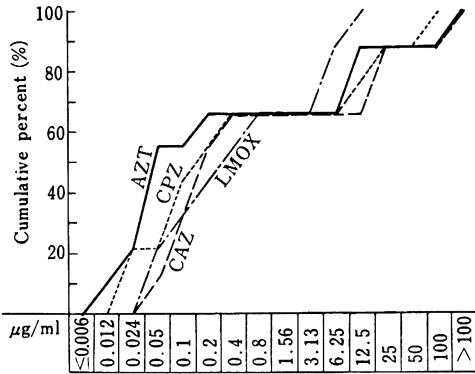


Fig. 13 Susceptibility distribution of clinical isolates *S. marcescens* 49 strains

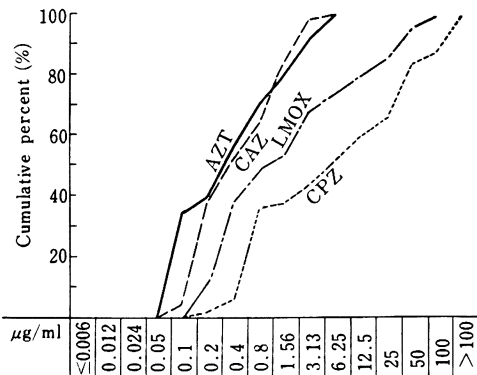


Fig. 14 Susceptibility distribution of clinical isolates *P. mirabilis* 49 strains

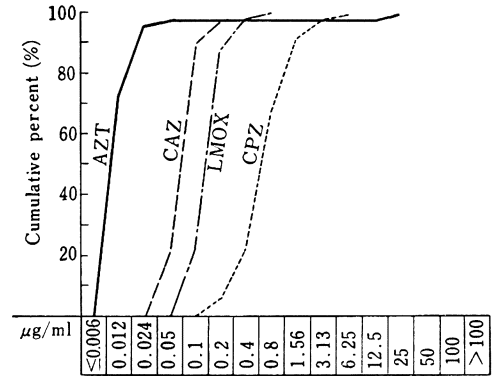


Fig. 15 Susceptibility distribution of clinical isolates *P.morganii* 50 strains

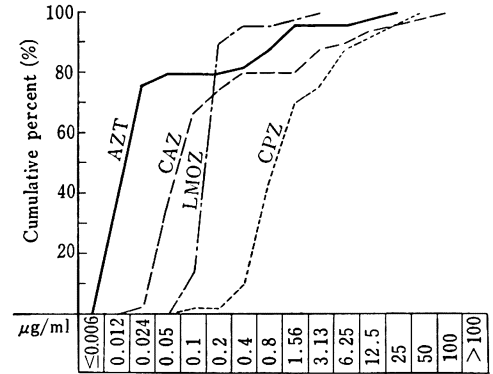
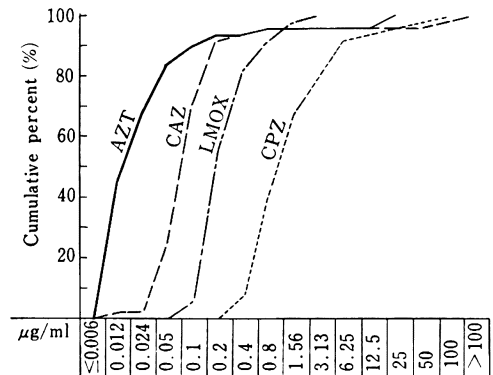


Fig. 16 Susceptibility distribution of clinical isolates *P. vulgaris* 50 strains



であったが、*C. freundii* において耐性菌が認められた (Fig. 8, 9, Table 5)。*E. cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans* における AZT の MIC<sub>50</sub> 値は、それぞれ 0.11, 0.09 および 0.044 µg/ml で、他剤より 2~4 倍強い抗菌活性を示したが、いずれ

の菌種においても耐性菌の存在が認められた (Fig. 10~12, Table 5)。*S. marcescens* に対しても AZT は優れた抗菌活性を有し、MIC<sub>50</sub> 値が 0.31 µg/ml と CAZ と同等で LMOX の 4 倍、CPZ の 16 倍強い抗菌力を示した (Fig. 13, Table 5)。

Fig. 17 Susceptibility distribution of clinical isolates *P. rettgeri* 31 strains

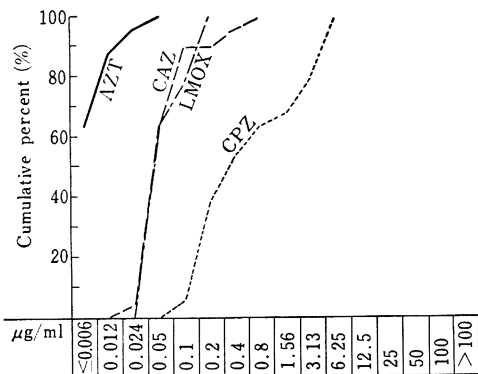


Fig. 20 Susceptibility distribution of clinical isolates *P. aeruginosa* 48 strains

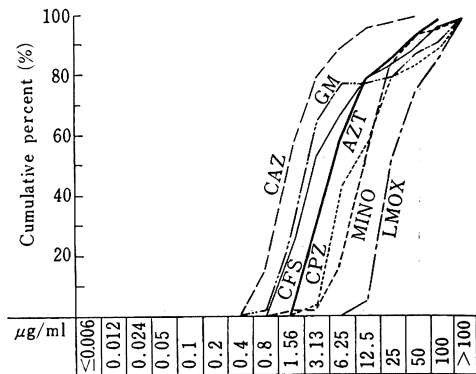


Fig. 18 Susceptibility distribution of clinical isolates *P. inconstans* 23 strains

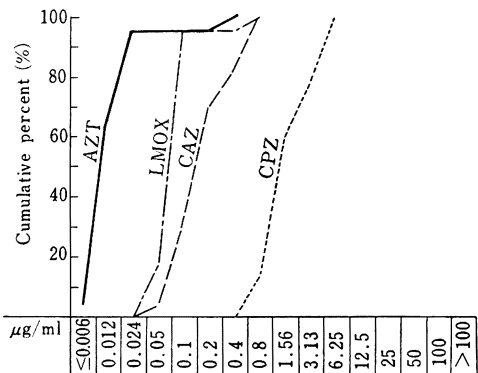


Fig. 21 Susceptibility distribution of clinical isolates *P. cepacia* 18 strains

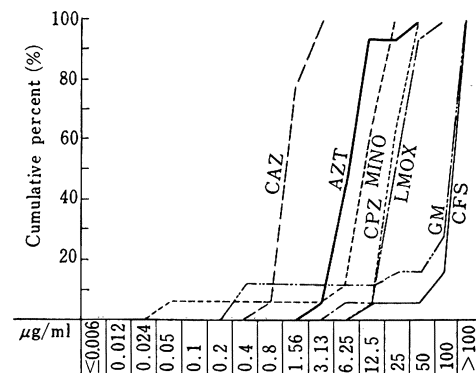


Fig. 19 Susceptibility distribution of clinical isolates *H. influenzae* 20 strains

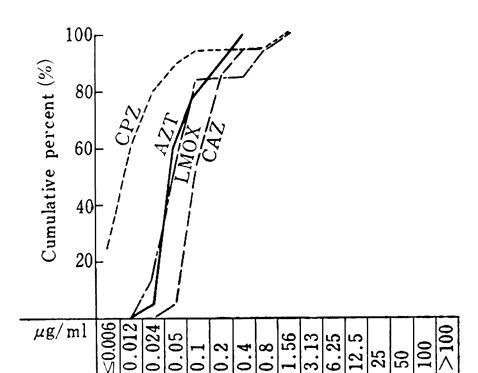
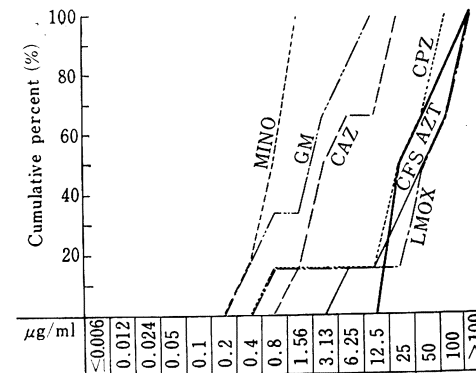


Fig. 22 Susceptibility distribution of clinical isolates *P. putida* 6 strains



*P. mirabilis* およびインドール陽性の *P.morganii*, *P. vulgaris*, *P. rettgeri*, *P. inconstans* に対する AZT の抗菌力は極めて優れ, MIC<sub>50</sub> 値はいずれも 0.005~0.015 µg/ml であった。他剤と比較すると, AZT は CAZ の 4~8 倍, LMOX の 8~16 倍, CPZ の 64~

128 倍と強い抗菌活性を示した (Fig. 14~18, Table 5)。 *H. influenzae* における AZT の抗菌力は LMOX とほぼ同等で, CPZ より劣ったが, CAZ より 2 倍優れていた。MIC<sub>50</sub> 値は, 0.043 µg/ml であった (Fig. 19, Table 5)。

Fig. 23 Susceptibility distribution of clinical isolates *Acinetobacter* species 50 strains

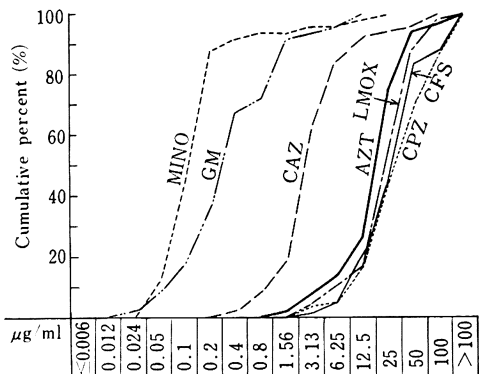


Fig. 26 Susceptibility distribution of clinical isolates *Flavobacterium* species 7 strains

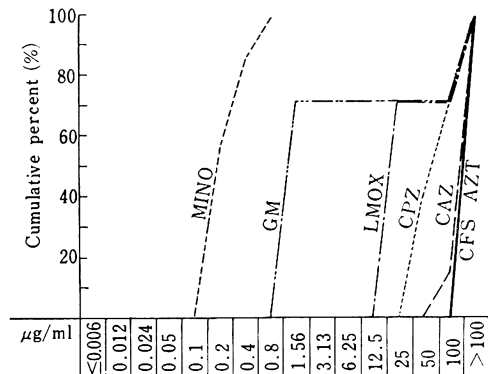


Fig. 24 Susceptibility distribution of clinical isolates *P. maltophilia* 23 strains

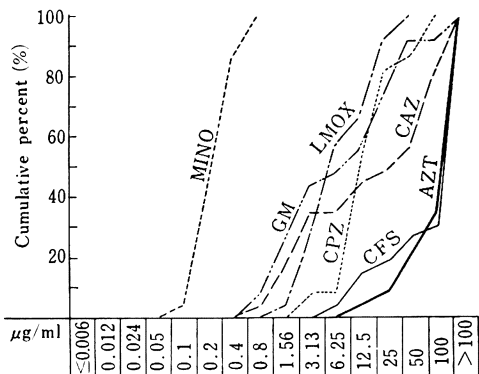


Fig. 27 Susceptibility distribution of clinical isolates *B. fragilis* 24 strains

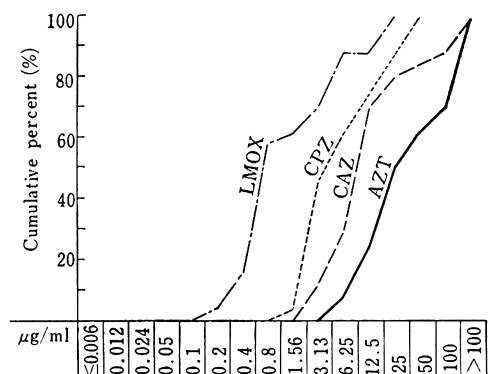
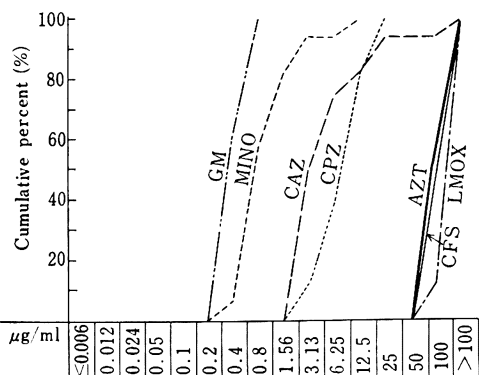


Fig. 25 Susceptibility distribution of clinical isolates *P. fluorescens* 16 strains



*P. aeruginosa* に対する AZT の  $MIC_{50}$  値は、4.88  $\mu\text{g/ml}$  で CFS より幾分劣ったが、CPZ の 2 倍、MINO の 2.5 倍強い抗菌活性を示した (Fig. 20, Table 5)。 *P. cepacia* に対して AZT は、 $MIC_{50}$  値が 6.75  $\mu\text{g/ml}$  と、CAZ より劣ったが、他の 5 剤より 1.5~16 倍優れ

ていた (Fig. 21, Table 5)。

一方 *P. putida* および *Acinetobacter* sp. に対する AZT の抗菌力は弱く、 $MIC_{50}$  値はそれぞれ 25 および 17.7  $\mu\text{g/ml}$  であった (Fig. 22, 23, Table 5)。

また、*P. maltophilia*, *Pseudomonas fluorescens*, *Flavobacterium* sp. に対する AZT の  $MIC_{50}$  値はそれぞれ >100, 92.6 および >100  $\mu\text{g/ml}$  でほとんど抗菌力を示さなかった (Fig. 24~26, Table 5)。

*B. fragilis* に対する AZT の抗菌力は他剤と比較すると弱く、 $MIC_{50}$  値は 25  $\mu\text{g/ml}$  で、CAZ の 1/3, CPZ の 1/8, LMOX の 1/32 の抗菌力であった (Fig. 27, Table 5)。

### 3. $\beta$ -lactamase に対する安定性

(i)  $\beta$ -lactamase 産生株に対する *in vitro* 抗菌力: AZT は各種  $\beta$ -lactamase を産生する腸内細菌に優れた抗菌力を示した (Table 6)。特に、*Proteus* sp. に対する抗菌力は他剤に比べ明らかに優れていた。AZT は *S. aureus*, *P. maltophilia* には無効であり、*P. putida*,

Table 6 Antibacterial activity of  $\beta$ -lactam compounds against  $\beta$ -lactamase producing strains(Inoculum size :  $10^8$  CFU/ml)

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )				
	AZT	CAZ	CPZ	CFS	LMOX
<i>S. aureus</i> MS 258	>100	6.25	6.25	3.13	6.25
<i>E. coli</i> W 3630 (Rms 212)	0.2	0.4	12.5	>100	0.4
<i>E. coli</i> W 3630 (Rms 213)	0.05	0.05	0.4	50	0.2
<i>E. coli</i> W 3630 (Rte 16)	0.1	0.2	3.13	100	0.1
<i>K. pneumoniae</i> GN 69	0.2	0.8	>100	>100	0.8
<i>K. oxytoca</i> E 23004	6.25	0.2	>100	>100	0.2
<i>K. oxytoca</i> E 23005	3.13	0.2	>100	>100	0.1
<i>E. coli</i> GN 5482	1.56	1.56	0.4	25	1.56
<i>E. cloacae</i> GN 7471	25	25	50	>100	6.25
<i>C. freundii</i> GN 7391	50	>100	>100	>100	50
<i>S. marcescens</i> GN 10857	12.5	3.13	>100	>100	25
<i>S. marcescens</i> E 11001	3.13	6.25	>100	>100	>100
<i>P. vulgaris</i> E 08042	25	>100	>100	>100	1.56
<i>P. rettgeri</i> GN 4430	0.025	6.25	12.5	50	0.2
<i>P. morgani</i> GN 5407	0.012	0.05	0.8	>100	0.4
<i>P. morgani</i> E 06051	0.8	25	>100	>100	0.4
<i>P. morgani</i> E 06071	12.5	50	50	>100	3.13
<i>P. aeruginosa</i> GN 10362	6.25	1.56	6.25	3.13	25
<i>P. cepacia</i> GN 11164	12.5	1.56	>100	>100	50
<i>P. maltophilia</i> GN 12873	>100	>100	>100	>100	25
<i>P. maltophilia</i> E 04006	>100	>100	>100	>100	50
<i>P. putida</i> E 30001	100	12.5	100	>100	>100
<i>A. calcoaceticus</i> E 13029	50	12.5	>100	100	100
<i>A. xylosoxidans</i> E 19001	>100	12.5	12.5	100	12.5

(Inoculum size :  $10^8$  CFU/ml)

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )				
	AZT	CAZ	CPZ	CFS	LMOX
<i>S. aureus</i> MS 258	>100	6.25	1.56	3.13	6.25
<i>E. coli</i> W 3630 (Rms 212)	0.2	0.2	1.56	100	0.4
<i>E. coli</i> W 3630 (Rms 213)	0.012	0.025	0.05	50	0.1
<i>E. coli</i> W 3630 (Rte 16)	0.1	0.2	3.13	100	0.2
<i>K. pneumoniae</i> GN 69	0.2	0.4	3.13	>100	0.4
<i>K. oxytoca</i> E 23004	3.13	0.2	100	>100	0.2
<i>K. oxytoca</i> E 23005	3.13	0.4	>100	>100	0.2
<i>E. coli</i> GN 5482	1.56	1.56	0.2	25	0.2
<i>E. cloacae</i> GN 7471	6.25	12.5	6.25	100	3.13
<i>C. freundii</i> GN 7391	50	100	100	>100	25
<i>S. marcescens</i> GN 10857	1.56	1.56	100	>100	12.5
<i>S. marcescens</i> E 11001	3.13	1.56	>100	>100	100
<i>P. vulgaris</i> E 08042	25	>100	100	>100	1.56
<i>P. rettgeri</i> GN 4430	0.025	3.13	6.25	25	0.05
<i>P. morgani</i> GN 5407	$\leq 0.006$	0.05	0.4	>100	0.2
<i>P. morgani</i> E 06051	0.8	6.25	12.5	>100	0.2
<i>P. morgani</i> E 06071	6.25	12.5	6.25	>100	1.56
<i>P. aeruginosa</i> GN 10362	6.25	1.56	3.13	3.13	25
<i>P. cepacia</i> GN 11164	3.13	1.56	>100	>100	25
<i>P. maltophilia</i> GN 12873	>100	100	25	>100	12.5
<i>P. maltophilia</i> E 04006	>100	>100	100	>100	50
<i>P. putida</i> E 30001	100	12.5	50	>100	>100
<i>A. calcoaceticus</i> E 13029	50	6.25	>100	50	100
<i>A. xylosoxidans</i> E 19001	>100	6.25	6.25	50	6.25

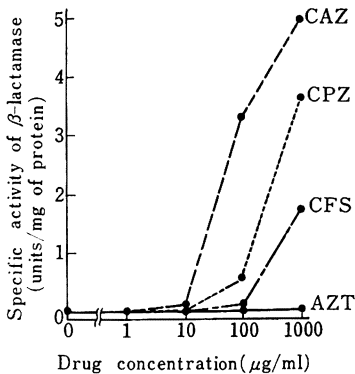
Table 7 Stability of Azthreonam against hydrolysis by various  $\beta$ -lactamases

Source of enzyme	Relative rate of hydrolysis*					
	AZT	CAZ	CPZ	LMOX	CER	PCG
<i>E. coli</i> W 3630/Rms 212 (TEM 1)	<0.1	<0.1	9.7	<0.1	24.1	100
<i>E. coli</i> W 3630/Rms 213 (OXA 1)	1.4	<0.1	7.6	<0.1	32.3	100
<i>P. aeruginosa</i> ML4259/Rms139 (PSE)	<0.1	<0.1	0.5	<0.1	4.8	100
<i>K. pneumoniae</i> GN 69	<0.1	<0.1	13.3	<0.1	19.2	100
<i>K. oxytoca</i> E 23004	2.6	<0.1	1.3	<0.1	50.5	100
<i>E. coli</i> GN 5482	<0.1	<0.1	2.4	<0.1	100	ND**
<i>E. cloacae</i> GN 7471	<0.1	<0.1	1.6	<0.1	100	ND
<i>C. freundii</i> GN 7391	<0.1	<0.1	0.4	<0.1	100	ND
<i>S. marcescens</i> E 11001	<0.1	<0.1	14.4	<0.1	100	ND
<i>P. morgani</i> E 06051	<0.1	<0.1	3.0	<0.1	100	ND
<i>P. rettgeri</i> GN 4430	<0.1	<0.1	7.6	<0.1	100	ND
<i>P. vulgaris</i> E 08042	2.3	<0.1	17.6	<0.1	100	ND
<i>P. aeruginosa</i> GN 10362	<0.1	<0.1	7.4	<0.1	100	ND
<i>P. cepacia</i> GN 11164	9.7	<0.1	54.4	<0.1	100	ND

\* The enzyme activity was determined by spectrophotometric method and was expressed as relative rate of hydrolysis taking the rate for PCG or CER as 100.

\*\* Not determined.

Fig. 28 Induction of  $\beta$ -lactamase by Azthreonam and other  $\beta$ -lactam compounds in *P. aeruginosa* E 03165



MBCs of  $\beta$ -lactam antibiotics against *P. aeruginosa* E 03165 were; AZT, 156; CPZ, >5000; CAZ, 156; CFS, 625  $\mu$ g/ml.

*Acinetobacter calcoaceticus* に対しても, CPZ, CFS, LMOX と同様弱い抗菌力であった。AZT の抗菌力は一部の菌種を除けば CAZ と同等であった。

(ii)  $\beta$ -lactamase に対する安定性・AZT は大部分の  $\beta$ -lactamase に極めて安定であるが, II 型 (OXA 1) PCase, *K. oxytoca*, *P. cepacia* の産生する  $\beta$ -lactamase により, 一部分解された (Table 7)。AZT の  $\beta$ -lactamase に対する安定性は, LMOX より幾分不安定であるが, CAZ と同等で CPZ より安定であった。

#### 4. $\beta$ -lactamase 産生の誘導

*P. aeruginosa* E 03165 株の  $\beta$ -lactamase 産生に対して, AZT は, 1,000  $\mu$ g/ml 添加時でも誘導を示さなかった (Fig. 28)。これに対して CAZ には著明な誘導が認められ, CPZ にも, 1,000  $\mu$ g/ml 添加時に明らかな産生誘導が認められた。

#### 5. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

AZT の抗菌力を, 培地の種類・pH, 馬血清の添加, 接種菌量の影響について検討した。使用した菌株数は接種菌量の影響では 14 株, その他は 13 株であった。AZT の抗菌力は培地の種類, 培地の pH, 馬血清の添加により著明な変化を示さなかった (Table 8~10)。 $10^4$  CFU/ml 接種時と  $10^8$  CFU/ml 接種時の AZT の各菌種に対する MIC の変動は, 2~4 倍以内に収まっていたが, *A. calcoaceticus* に対しては 16 倍の変動を認めた。 $10^4$  CFU/ml 接種時と  $10^8$  CFU/ml 接種時の MIC は 4 倍以上の変動を示した。特に *E. cloacae* に対して 32 倍の変動が認められた。*C. freundii* に対する LMOX の MIC を除き, 対照薬剤においても接種菌量により同様の MIC の変動が認められた (Table 11)。

#### 6. MIC と MBC

臨床分離 *E. coli* 5 株および *P. aeruginosa* 4 株に対する AZT の MIC, MBC を求めた (Table 12, 13)。*E. coli*, *P. aeruginosa* に対する AZT の MBC は, MIC とすべて一致した。*E. coli* に対して, AZT は 0.05~0.2  $\mu$ g/ml の MIC, MBC を示し CAZ, LMOX より 1/2~1/4 の低濃度で殺菌作用を示した。*P. aeruginosa* に対して AZT は 6.25~12.5  $\mu$ g/ml の MIC,

Table 8 Effect of culture media on *in vitro* antibacterial activity(Inoculum : One loopful of 10<sup>6</sup> CFU/ml)

Drug / Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )					
	MHA	STA	NA	TSA	HIA	BHIA
<b>AZT</b>						
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
<i>E. coli</i> ATCC 27166	0.025	$\leq$ 0.006	0.025	0.012	0.025	0.025
<i>K. pneumoniae</i> IID 875	0.05	0.05	0.05	0.1	0.1	0.1
<i>E. cloacae</i> 963	0.1	0.05	0.05	0.1	0.1	0.1
<i>C. freundii</i> IID 976	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2
<i>S. marcescens</i> IID 620	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012
<i>P. vulgaris</i> HX-19	$\leq$ 0.006	$\leq$ 0.006	$\leq$ 0.006	$\leq$ 0.006	0.012	0.012
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	3.13	3.13	3.13	3.13	6.25	3.13
<i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	0.4	0.4	0.2	0.4	0.4	0.4
<i>P. maltophilia</i> IID 1275	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. putida</i> IID 5121	6.25	1.56	12.5	3.13	0.8	3.13
<i>A. calcoaceticus</i> IFO 13006	3.13	3.13	6.25	6.25	3.13	6.25
<b>CAZ</b>						
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	6.25	3.13	12.5	12.5	12.5	12.5
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
<i>E. coli</i> ATCC 27166	0.05	0.025	0.05	0.05	0.05	0.05
<i>K. pneumoniae</i> IID 875	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2
<i>E. cloacae</i> 963	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2
<i>C. freundii</i> IID 976	0.4	0.2	0.4	0.4	0.4	0.4
<i>S. marcescens</i> IID 620	0.025	0.012	0.012	0.025	0.025	0.025
<i>P. vulgaris</i> HX-19	0.025	0.012	0.012	0.025	0.025	0.025
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56
<i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
<i>P. maltophilia</i> IID 1275	>100	100	>100	>100	100	100
<i>P. putida</i> IID 5121	0.2	0.2	1.56	0.1	0.2	0.2
<i>A. calcoaceticus</i> IFO13006	0.8	0.8	1.56	1.56	3.13	0.8
<b>CPZ</b>						
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	1.56	0.8	1.56	1.56	3.13	3.13
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4
<i>E. coli</i> ATCC 27166	$\leq$ 0.006	$\leq$ 0.006	$\leq$ 0.006	$\leq$ 0.006	$\leq$ 0.006	$\leq$ 0.006
<i>K. pneumoniae</i> IID 875	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2
<i>E. cloacae</i> 963	0.2	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
<i>C. freundii</i> IID 976	0.2	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
<i>S. marcescens</i> IID 620	0.2	0.1	0.4	0.4	0.2	0.4
<i>P. vulgaris</i> HX-19	$\leq$ 0.006	$\leq$ 0.006	$\leq$ 0.006	$\leq$ 0.006	$\leq$ 0.006	$\leq$ 0.006
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	6.25	3.13	3.13	3.13	6.25	6.25
<i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
<i>P. maltophilia</i> IID 1275	100	25	>100	>100	100	100
<i>P. putida</i> IID 5121	12.5	3.13	25	6.25	6.25	6.25
<i>A. calcoaceticus</i> IFO 13006	3.13	6.25	25	6.25	6.25	12.5
<b>LMOX</b>						
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	6.25	3.13	6.25	6.25	6.25	12.5
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2
<i>E. coli</i> ATCC 27166	0.05	0.05	0.2	0.05	0.1	0.1
<i>K. pneumoniae</i> IID 875	0.1	0.1	0.4	0.1	0.1	0.2
<i>E. cloacae</i> 963	0.05	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
<i>C. freundii</i> IID 976	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2
<i>S. marcescens</i> IID 620	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
<i>P. vulgaris</i> HX-19	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.4
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	25
<i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	6.25	6.25	3.13	6.25	3.13	3.13
<i>P. maltophilia</i> IID 1275	50	25	100	50	100	50
<i>P. putida</i> IID 5121	25	12.5	12.5	6.25	12.5	6.25
<i>A. calcoaceticus</i> IFO 13006	12.5	6.25	25	12.5	12.5	25

MHA : Mueller Hinton Agar (BBL)

STA : Sensitivity Test Agar (Nissui)

NA : Nutrient Agar (Difco)

TSA : Trypticase Soy Agar (BBL)

HIA : Heart Infusion Agar (Difco)

BHIA : Brain Heart Infusion Agar (Difco)



Table 9 Effect of pH of medium on *in vitro* antibacterial activity(Inoculum : One loopful of 10<sup>6</sup> CFU/ml)

Drug / Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )			
	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
<b>AZT</b>				
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	N.G.	>100	>100	>100
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.4	0.2	0.1	0.05
<i>E. coli</i> ATCC 27166	0.012	0.025	0.025	0.012
<i>K. pneumoniae</i> IID 875	3.13	0.05	0.05	0.05
<i>E. cloacae</i> 963	0.8	0.2	0.1	0.05
<i>C. freundii</i> IID 976	0.1	0.05	0.1	0.1
<i>S. marcescens</i> IID 620	12.5	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	0.012
<i>P. vulgaris</i> HX-19	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$
<i>P. aeruginosa</i> PAO 1	12.5	6.25	6.25	3.13
<i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	0.05	0.2	0.4	0.4
<i>P. maltophilia</i> IID 1275	N.G.	>100	>100	>100
<i>P. putida</i> IID 5121	N.G.	25	12.5	12.5
<i>A. calcoaceticus</i> IFO 13006	N.G.	6.25	12.5	6.25
<b>CAZ</b>				
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	N.G.	6.25	12.5	12.5
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	1.56	0.4	0.2	0.1
<i>E. coli</i> ATCC 27166	0.1	0.1	0.05	0.05
<i>K. pneumoniae</i> IID 875	1.56	0.4	0.2	0.2
<i>E. cloacae</i> 963	0.8	0.4	0.2	0.2
<i>C. freundii</i> IID 976	0.1	0.1	0.2	0.2
<i>S. marcescens</i> IID 620	0.8	0.025	0.025	0.025
<i>P. vulgaris</i> HX-19	0.012	0.012	0.025	0.05
<i>P. aeruginosa</i> PAO 1	0.8	1.56	1.56	1.56
<i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	0.1	0.8	0.8	0.8
<i>P. maltophilia</i> IID 1275	N.G.	>100	>100	>100
<i>P. putida</i> IID 5121	N.G.	6.25	1.56	1.56
<i>A. calcoaceticus</i> IFO 13006	N.G.	3.13	1.56	0.4
<b>CPZ</b>				
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	N.G.	0.4	1.56	3.13
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	1.56	0.4	0.2	0.2
<i>E. coli</i> ATCC 27166	0.025	0.025	0.012	$\leq 0.006$
<i>K. pneumoniae</i> IID 875	1.56	0.4	0.2	0.2
<i>E. cloacae</i> 963	0.8	0.4	0.4	0.2
<i>C. freundii</i> IID 976	0.2	0.2	0.2	0.2
<i>S. marcescens</i> IID 620	1.56	0.4	0.4	0.2
<i>P. vulgaris</i> HX-19	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$
<i>P. aeruginosa</i> PAO 1	25	6.25	6.25	6.25
<i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	0.2	0.8	0.8	0.8
<i>P. maltophilia</i> IID 1275	N.G.	>100	>100	>100
<i>P. putida</i> IID 5121	N.G.	50	25	25
<i>A. calcoaceticus</i> IFO 13006	N.G.	25	25	12.5
<b>LMOX</b>				
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	N.G.	3.13	6.25	6.25
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.8	0.2	0.1	0.1
<i>E. coli</i> ATCC 27166	0.2	0.1	0.1	0.1
<i>K. pneumoniae</i> IID 875	6.25	0.2	0.2	0.2
<i>E. cloacae</i> 963	3.13	0.2	0.1	0.1
<i>C. freundii</i> IID 976	3.13	0.1	0.1	0.2
<i>S. marcescens</i> IID 620	3.13	0.1	0.1	0.2
<i>P. vulgaris</i> HX-19	0.2	0.2	0.2	0.4
<i>P. aeruginosa</i> PAO 1	6.25	12.5	25	12.5
<i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	0.2	6.25	6.25	6.25
<i>P. maltophilia</i> IID 1275	N.G.	50	100	100
<i>P. putida</i> IID 5121	N.G.	100	50	25
<i>A. calcoaceticus</i> IFO 13006	N.G.	25	50	25

N.G. : No growth.

Table 10 Effect of horse serum on *in vitro* antibacterial activity(Inoculum : One loopful of 10<sup>6</sup> CFU/ml)

Drug / Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )			
	Horse serum added			
	0 %	10 %	20 %	50 %
<b>AZT</b>				
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	>100	>100	>100	>100
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.1	0.1	0.1	0.05
<i>E. coli</i> ATCC 27166	0.025	0.012	0.012	N.G.
<i>K. pneumoniae</i> IID 875	0.05	0.05	0.05	0.1
<i>E. cloacae</i> 963	0.1	0.1	0.05	0.1
<i>C. freundii</i> IID 976	0.1	0.1	0.1	0.05
<i>S. marcescens</i> IID 620	0.025	0.012	0.012	0.025
<i>P. vulgaris</i> HX-19	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	0.012
<i>P. aeruginosa</i> PAO 1	3.13	6.25	3.13	3.13
<i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	0.4	0.4	0.4	0.2
<i>P. maltophilia</i> IID 1275	>100	>100	>100	>100
<i>P. putida</i> IID 5121	6.25	12.5	1.56	N.G.
<i>A. calcoaceticus</i> IFO 13006	3.13	12.5	3.13	1.56
<b>CAZ</b>				
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	6.25	6.25	6.25	6.25
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.2	0.2	0.2	0.1
<i>E. coli</i> ATCC 27166	0.05	0.05	0.05	N.G.
<i>K. pneumoniae</i> IID 875	0.2	0.2	0.2	0.2
<i>E. cloacae</i> 963	0.2	0.2	0.2	0.2
<i>C. freundii</i> IID 976	0.4	0.4	0.4	0.2
<i>S. marcescens</i> IID 620	0.025	0.025	0.025	0.05
<i>P. vulgaris</i> HX-19	0.025	0.025	0.025	0.025
<i>P. aeruginosa</i> PAO 1	1.56	1.56	0.8	0.8
<i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	0.8	0.8	0.8	0.8
<i>P. maltophilia</i> IID 1275	>100	>100	>100	>100
<i>P. putida</i> IID 5121	1.56	0.8	0.4	N.G.
<i>A. calcoaceticus</i> IFO 13006	1.56	1.56	1.56	0.8
<b>CPZ</b>				
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	1.56	1.56	1.56	1.56
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.2	0.2	0.2	0.1
<i>E. coli</i> ATCC 27166	0.012	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	N.G.
<i>K. pneumoniae</i> IID 875	0.2	0.2	0.1	0.1
<i>E. cloacae</i> 963	0.4	0.4	0.4	0.2
<i>C. freundii</i> IID 976	0.4	0.2	0.4	0.2
<i>S. marcescens</i> IID 620	0.4	0.2	0.2	0.2
<i>P. vulgaris</i> HX-19	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$
<i>P. aeruginosa</i> PAO 1	6.25	3.13	3.13	3.13
<i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	0.8	0.8	0.8	1.56
<i>P. maltophilia</i> IID 1275	100	>100	>100	>100
<i>P. putida</i> IID 5121	12.5	6.25	6.25	N.G.
<i>A. calcoaceticus</i> IFO 13006	12.5	6.25	6.25	6.25
<b>LMOX</b>				
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	6.25	6.25	6.25	6.25
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.1	0.1	0.1	0.1
<i>E. coli</i> ATCC 27166	0.1	0.1	0.025	N.G.
<i>K. pneumoniae</i> IID 875	0.1	0.1	0.1	0.2
<i>E. cloacae</i> 963	0.1	0.1	0.1	0.1
<i>C. freundii</i> IID 976	0.1	0.1	0.1	0.2
<i>S. marcescens</i> IID 620	0.1	0.1	0.1	0.2
<i>P. vulgaris</i> HX-19	0.2	0.2	0.2	0.4
<i>P. aeruginosa</i> PAO 1	12.5	12.5	12.5	12.5
<i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	6.25	6.25	6.25	6.25
<i>P. maltophilia</i> IID 1275	50	100	100	50
<i>P. putida</i> IID 5121	50	25	25	N.G.
<i>A. calcoaceticus</i> IFO 13006	25	12.5	12.5	12.5

N.G. : No growth.

Table 11 Effect of inoculum size on *in vitro* antibacterial activity (1)

Organism	Inoculum size* (CFU/ml)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )			
		AZT	CAZ	CPZ	LMOX
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	10 <sup>9</sup>	>100	25	3.13	12.5
	10 <sup>8</sup>	>100	12.5	1.56	6.25
	10 <sup>7</sup>	>100	12.5	1.56	6.25
	10 <sup>6</sup>	>100	6.25	1.56	6.25
	10 <sup>5</sup>	>100	6.25	1.56	6.25
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	10 <sup>9</sup>	0.4	0.4	0.8	0.4
	10 <sup>8</sup>	0.2	0.4	0.4	0.2
	10 <sup>7</sup>	0.2	0.2	0.4	0.1
	10 <sup>6</sup>	0.1	0.2	0.2	0.1
	10 <sup>5</sup>	0.1	0.2	0.2	0.1
	10 <sup>4</sup>	0.1	0.2	0.2	0.1
<i>E. coli</i> ATCC27166	10 <sup>9</sup>	0.1	0.1	0.025	0.4
	10 <sup>8</sup>	0.025	0.05	0.025	0.1
	10 <sup>7</sup>	0.025	0.05	0.012	0.1
	10 <sup>6</sup>	0.025	0.05	0.012	0.1
	10 <sup>5</sup>	0.025	0.05	$\leq 0.006$	0.1
<i>K. pneumoniae</i> IID875	10 <sup>9</sup>	0.1	0.4	0.8	0.8
	10 <sup>8</sup>	0.1	0.2	0.4	0.2
	10 <sup>7</sup>	0.05	0.2	0.2	0.1
	10 <sup>6</sup>	0.05	0.2	0.2	0.1
	10 <sup>5</sup>	0.05	0.2	0.2	0.1
	10 <sup>4</sup>	0.05	0.1	0.2	0.1
<i>E. cloacae</i> 963	10 <sup>9</sup>	1.56	0.8	12.5	0.8
	10 <sup>8</sup>	0.2	0.4	0.8	0.4
	10 <sup>7</sup>	0.1	0.4	0.4	0.2
	10 <sup>6</sup>	0.1	0.2	0.4	0.1
	10 <sup>5</sup>	0.1	0.2	0.4	0.1
	10 <sup>4</sup>	0.05	0.2	0.4	0.1
<i>C. freundii</i> IID976	10 <sup>9</sup>	0.4	1.56	1.56	0.1
	10 <sup>8</sup>	0.2	0.4	0.4	0.1
	10 <sup>7</sup>	0.1	0.4	0.4	0.1
	10 <sup>6</sup>	0.1	0.4	0.4	0.1
	10 <sup>5</sup>	0.1	0.4	0.2	0.1
	10 <sup>4</sup>	0.05	0.1	0.1	0.1
<i>S. marcescens</i> IID620	10 <sup>9</sup>	0.05	0.05	0.8	0.4
	10 <sup>8</sup>	0.025	0.025	0.4	0.2
	10 <sup>7</sup>	0.012	0.025	0.4	0.1
	10 <sup>6</sup>	0.012	0.025	0.4	0.1
	10 <sup>5</sup>	$\leq 0.006$	0.025	0.2	0.1
	10 <sup>4</sup>	$\leq 0.006$	0.025	0.2	0.1

\*Inoculum size : One loopful of each bacteria suspension.

Table 11 Effect of inoculum size on *in vitro* antibacterial activity (2)

Organism	Inoculum size*(CFU/ml)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )			
		AZT	CAZ	CPZ	LMOX
<i>P. vulgaris</i> HX-19	10 <sup>9</sup>	0.025	0.1	0.012	1.56
	10 <sup>8</sup>	0.012	0.025	$\leq$ 0.006	0.4
	10 <sup>7</sup>	0.012	0.025	$\leq$ 0.006	0.2
	10 <sup>6</sup>	$\leq$ 0.006	0.025	$\leq$ 0.006	0.2
	10 <sup>5</sup>	$\leq$ 0.006	0.025	$\leq$ 0.006	0.2
	10 <sup>4</sup>	$\leq$ 0.006	0.025	$\leq$ 0.006	0.2
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	10 <sup>9</sup>	12.5	6.25	12.5	50
	10 <sup>8</sup>	6.25	3.13	6.25	25
	10 <sup>7</sup>	6.25	1.56	6.25	25
	10 <sup>6</sup>	6.25	1.56	3.13	12.5
	10 <sup>5</sup>	3.13	1.56	3.13	12.5
	10 <sup>4</sup>	3.13	0.8	3.13	12.5
<i>P. aeruginosa</i> NCTC10490	10 <sup>9</sup>	3.13	3.13	6.25	25
	10 <sup>8</sup>	0.8	1.56	1.56	12.5
	10 <sup>7</sup>	0.4	1.56	1.56	12.5
	10 <sup>6</sup>	0.4	0.8	0.8	6.25
	10 <sup>5</sup>	0.4	0.8	0.8	3.13
	10 <sup>4</sup>	0.4	0.8	0.4	3.13
<i>P. maltophilia</i> IID1275	10 <sup>9</sup>	>100	>100	>100	>100
	10 <sup>8</sup>	>100	>100	>100	100
	10 <sup>7</sup>	>100	>100	100	50
	10 <sup>6</sup>	>100	>100	100	50
	10 <sup>5</sup>	>100	100	100	50
	10 <sup>4</sup>	>100	100	50	25
<i>P. putida</i> IID5121	10 <sup>8</sup>	25	3.13	25	100
	10 <sup>7</sup>	12.5	1.56	25	100
	10 <sup>6</sup>	12.5	1.56	12.5	50
	10 <sup>5</sup>	6.25	0.8	12.5	50
<i>A. calcoaceticus</i> IFO13006	10 <sup>8</sup>	25	3.13	25	50
	10 <sup>7</sup>	12.5	3.13	12.5	50
	10 <sup>6</sup>	6.25	3.13	12.5	25
	10 <sup>5</sup>	3.13	0.4	3.13	12.5
	10 <sup>4</sup>	1.56	0.4	1.56	3.13
<i>E. coli</i> No.23	10 <sup>9</sup>	0.2	0.2	0.2	0.2
	10 <sup>8</sup>	0.1	0.2	0.2	0.2
	10 <sup>7</sup>	0.1	0.1	0.2	0.2
	10 <sup>6</sup>	0.1	0.1	0.1	0.2
	10 <sup>5</sup>	0.05	0.1	0.1	0.2
	10 <sup>4</sup>	0.05	0.05	0.05	0.1

\*Inoculum size : One loopful of each bacteria suspension.

Table 12 Minimum bactericidal concentration of Aztreonam and related antibiotics against *E. coli*

Organism	Inoculum size (CFU/ml)	(μg/ml)							
		AZT		CAZ		CPZ		LMOX	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>E. coli</i> E 01159	2.4×10 <sup>5</sup>	0.2	0.2	0.4	0.8	>100	>100	0.2	0.2
<i>E. coli</i> E 01161	1.5×10 <sup>5</sup>	0.2	0.2	0.4	0.4	>100	>100	0.4	0.8
<i>E. coli</i> E 01202	1.4×10 <sup>5</sup>	0.2	0.2	0.2	0.4	0.2	0.4	0.8	0.8
<i>E. coli</i> E 01203	1.2×10 <sup>5</sup>	0.05	0.05	0.2	0.2	0.4	0.4	0.2	0.2
<i>E. coli</i> E 01204	2.3×10 <sup>5</sup>	0.1	0.1	0.2	0.2	0.4	0.4	0.2	0.2

Fig. 29 Bactericidal activity of Aztreonam and related compounds against *E. coli* E 01193

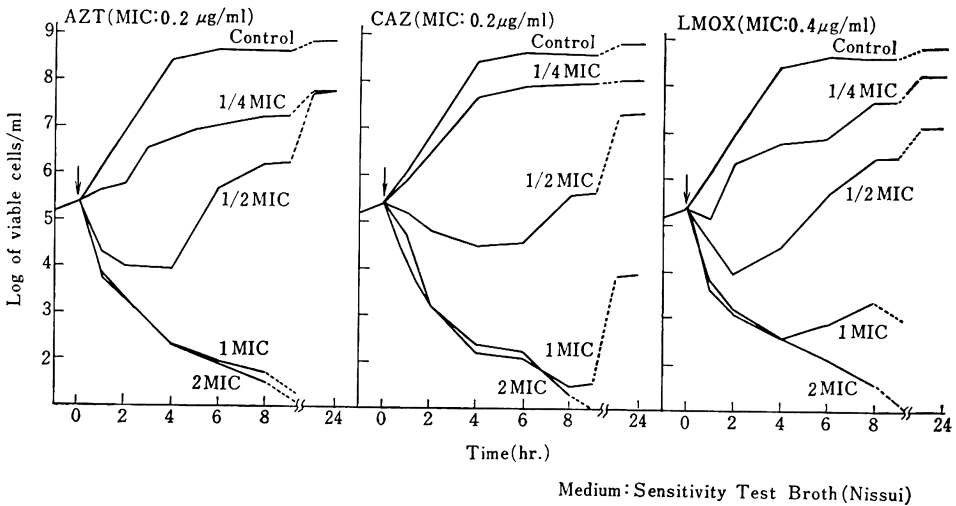


Fig. 30 Bactericidal activity of Aztreonam and related compounds against *P. aeruginosa* E 03190

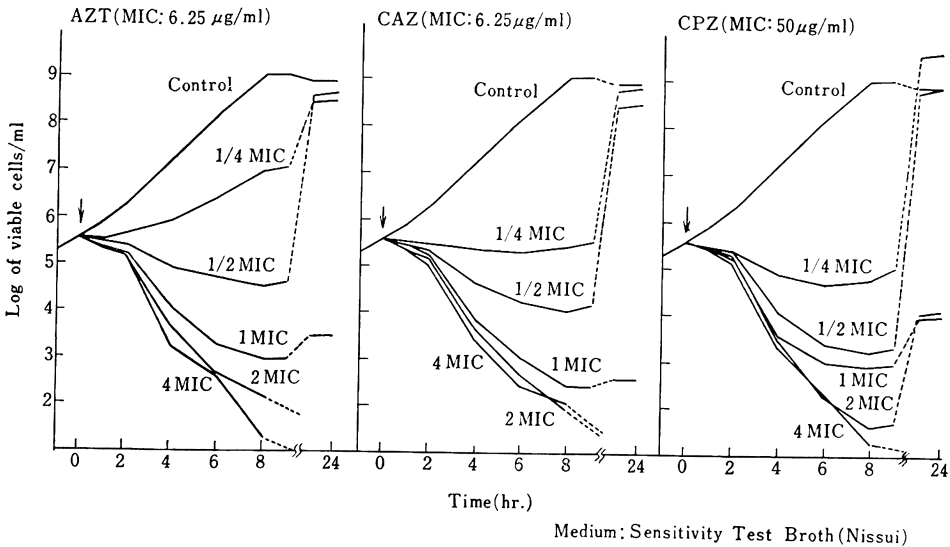


Fig. 31 (a) Antibacterial activity of Aztreonam in combination with other antibiotics

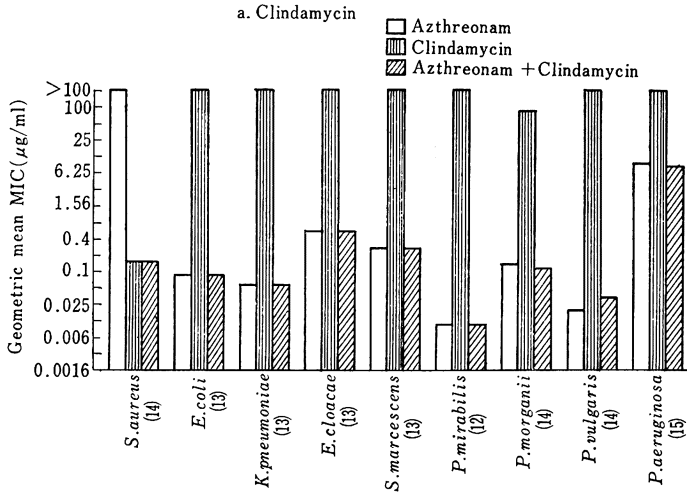
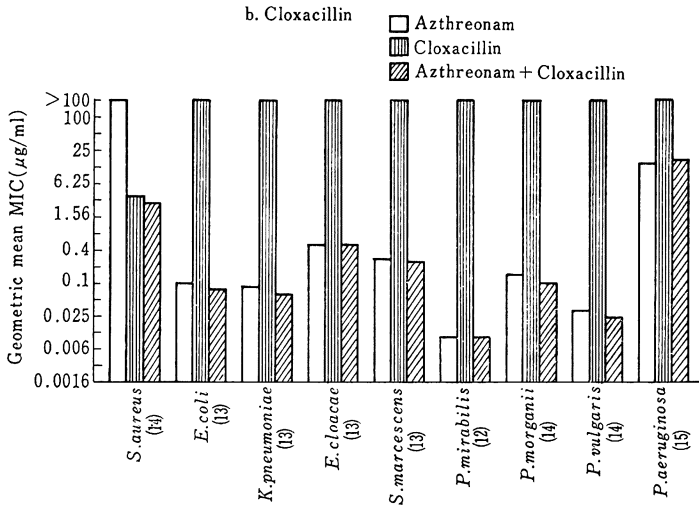


Fig. 31 (b) Antibacterial activity of Aztreonam in combination with other antibiotics



MBC を示し、CFS には 1/2 ほど劣ったが、CAZ と同等、CPZ より 16 倍以上優れた殺菌力を示した。

#### 7. 増殖曲線に及ぼす影響

AZT, CAZ および LMOX を初菌数  $10^8$  CFU/ml に作用させた時の *E. coli* E 01193 の生菌数の変化を測定した (Fig. 29)。AZT の 1/2~2 MIC (0.1~0.4  $\mu$ g/ml) 濃度において、1 時間後に殺菌作用が認められたが、1/2 MIC (0.1  $\mu$ g/ml) では 4 時間以後に再増殖を開始した。1 MIC (0.2  $\mu$ g/ml) 以上では生菌数は減少し続け、24 時間後には検出限界以下 (10 CFU/ml) にまで

低下した。また、1 MIC 以上では殺菌作用の発現時間、殺菌率ともほとんど変らなかった。一方、CAZ は 1/2 MIC (0.1  $\mu$ g/ml) では 6 時間まで静菌的に作用し、それ以後再増殖した。1 MIC (0.2  $\mu$ g/ml) 以上では殺菌的に作用するが、1 MIC では 24 時間後に再増殖が認められた。LMOX は 1/2 MIC (0.2  $\mu$ g/ml) 以上で殺菌作用が認められた。しかし、1/2 MIC では、2 時間以後に再増殖を始めた。AZT, CAZ および CPZ を作用させた時の *P. aeruginosa* E 03190 の生菌数変化を測定した (Fig. 30) 結果、AZT は 1/2 MIC (3.13  $\mu$ g/ml)

Fig. 31 (c) Antibacterial activity of Azthreonom in combination with other antibiotics

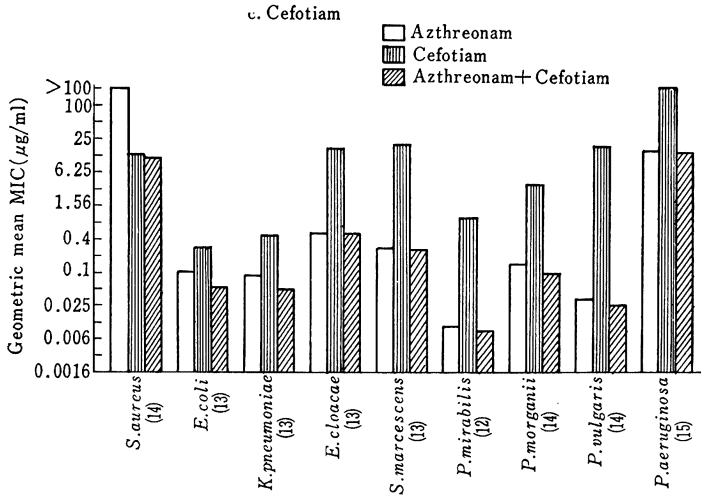
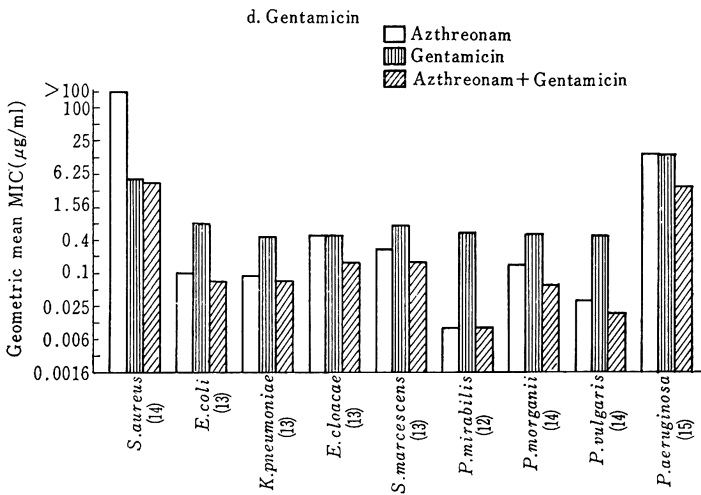


Fig. 31 (d) Antibacterial activity of Azthreonom in combination with other antibiotics



では静菌的に作用し、24時間後には再増殖した。1 MIC (6.25  $\mu\text{g/ml}$ ) 以上では、薬剤添加2時間以後に殺菌的に作用した。2 MIC (12.5  $\mu\text{g/ml}$ ) 以上では、24時間後に菌は検出できなかった (10 CFU/ml 以下) が、1 MIC では約  $10^3$  CFU/ml の菌が存在していた。一方、CAZ は 1/4~1/2 MIC (1.56~3.13  $\mu\text{g/ml}$ ) で、静菌的に作用したが、24時間後には再増殖した。また、1 MIC (6.25  $\mu\text{g/ml}$ ) 以上では2時間以後に殺菌作用が認められたが、1 MIC では24時間後に  $10^2$ ~ $10^3$  CFU/ml の菌の存在が認められた。CPZ は、1/4 MIC (12.5

$\mu\text{g/ml}$ ) で静菌的に作用し、24時間後には再増殖した。1/2 MIC (25  $\mu\text{g/ml}$ ) 以上では、殺菌作用を示したが、1/2~2 MIC (25~100  $\mu\text{g/ml}$ ) では24時間後に再増殖が認められた。AZT, CAZ, CPZ とともに、4 MIC 濃度 (それぞれ 25, 25, 200  $\mu\text{g/ml}$ ) でも2時間までは静菌的に作用し、2時間以後は殺菌的に作用した。

#### 8. 他剤との併用効果

AZT を CLDM, MCIPC, CTM, MINO および GM と併用し、各種菌株に対する *in vitro* 抗菌力を検討した。CLDM および MCIPC との併用では、一部の菌株

Fig. 31 (e) Antibacterial activity of Azthreonom in combination with other antibiotics

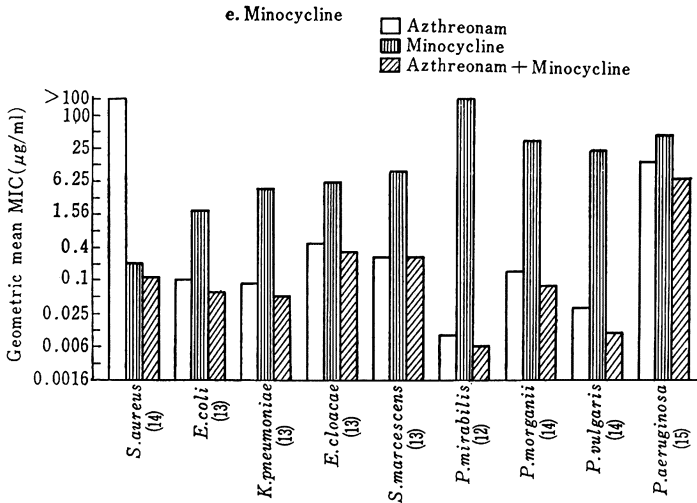


Table 13 Minimum bactericidal concentration of Azthreonom and related antibiotics against *P. aeruginosa* (μg/ml)

Organism	Inoculum size (CFU/ml)	AZT		CAZ		CPZ		CFS	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>P. aeruginosa</i> E 03187	2.0×10 <sup>5</sup>	6.25	6.25	3.13	25	25	>100	3.13	12.5
<i>P. aeruginosa</i> E 03189	2.4×10 <sup>5</sup>	6.25	6.25	3.13	3.13	3.13	12.5	0.8	1.56
<i>P. aeruginosa</i> E 03190	7.1×10 <sup>4</sup>	6.25	6.25	6.25	6.25	25	>100	3.13	3.13
<i>P. aeruginosa</i> E 03191	1.9×10 <sup>5</sup>	12.5	12.5	12.5	12.5	25	>100	3.13	3.13

に相乗効果が認められたが、大部分の菌株に対しては相補的な抗菌力を示した (Fig. 31 a~e)。CTM 併用時には、*E. coli* の 23% の株に相乗効果が、GM または MINO との併用では、*P. aeruginosa* のそれぞれ 33%、27% の株に相乗効果が認められた。MINO との併用時には、*P. mirabilis* (全体の 25%)、*P. morganii* (同 28%)、および *P. vulgaris* (同 14%) に対しても相乗効果が認められた。

9. 実験的マウス感染防禦効果

(i) 腹腔内感染：*E. coli* No. 23 感染マウスに対して AZT は 0.22 mg/kg の ED<sub>50</sub> 値を示し、CAZ および CPZ と同等の効果を示した。*P. aeruginosa* E 03008 感染マウスにおいて、AZT は 21.1 mg/kg の ED<sub>50</sub> 値を示し CAZ より劣ったが、MIC が同等の CPZ より強い効果を示した (Table 14)。

(ii) 尿路感染：AZT の *P. mirabilis* E 05106 に対する治療効果を CTM と比較検討した。その結果、両薬剤とも腎内菌数について、対照群と 4 および 20 mg/kg

(9 回連投) 投与群間において有意差 (P<0.01) が認められ、膀胱から腎への感染の拡がりを抑えた。また、膀胱菌数について、AZT 20 mg/kg 投与群は対照群と有意差が (P<0.05) 認められ CTM より優れた治療効果を示した。膀胱からの菌の消失も AZT 20 mg/kg が最も優れていた (Fig. 32)。AZT の *P. aeruginosa* E 03165 株に対する治療効果を CPZ および GM と比較した。治療効果は、薬剤投与により 10<sup>8</sup> CFU/tissue 以下まで腎内菌数の減少したものを有効とした。その結果、AZT は CPZ より約 3 倍強い治療効果を示したが、GM の約 1/4 の治療効果であった (Fig. 33)。また薬剤投与後 6 時間までの腎内菌数の変動を測定した結果 (Fig. 34)、AZT は投与後 30 分で菌数の減少が認められ、以後 6 時間までその増殖は抑制された。CPZ は 2 時間後から菌数の増殖が認められ、4~6 時間後には対照群とほぼ同じ菌数を示した。

(iii) 気道感染：*K. pneumoniae* E 02033 感染マウスに対する AZT および LMOX の防禦効果を感染 10 日

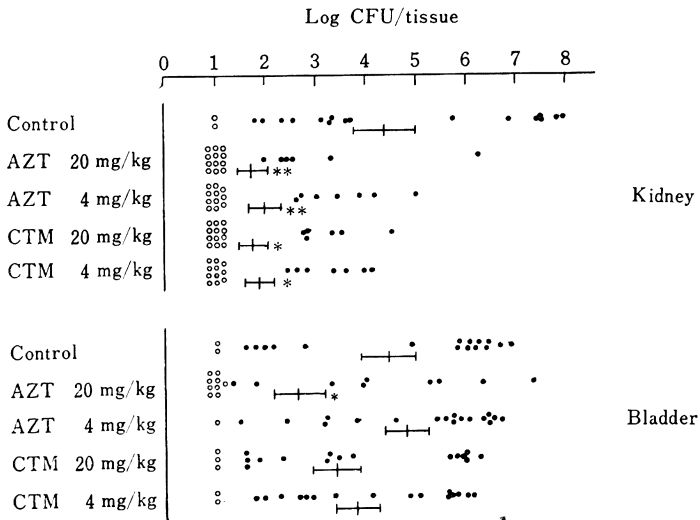


Table 14 Protective effects of Azthreonom and cephalosporins against intraperitoneal infection in mice

Organisms <sup>a)</sup> (Challenge dose)	Antibiotic	ED <sub>50</sub> <sup>b)</sup> (mg/kg)	MIC <sup>c)</sup> (μg/ml)
<i>E. coli</i> No. 23 (1.3×10 <sup>6</sup> CFU/mouse)	AZT	0.22 (0.13~0.37)	0.1
	CAZ	0.16 (0.09~0.29)	0.1
	CPZ	0.21 (0.13~0.34)	0.1
<i>P. aeruginosa</i> E 03008 (9.1×10 <sup>6</sup> CFU/mouse)	AZT	21.1 (14.0~31.9)	6.25
	CAZ	8.99 (5.61~14.4)	1.56
	CPZ	125 (70.0~223)	6.25
<i>P. putida</i> E 30002 (1.2×10 <sup>7</sup> CFU/mouse)	AZT	>200	100
	CPZ	>200	50

- a) Test organisms were suspended in 5% mucin. Mice were infected intraperitoneally with test organism in 0.5 ml of suspension.
- b) Antibiotics were administered subcutaneously at 1 hr. after infection in mice. ED<sub>50</sub> values were calculated by the LITCHFIELD-WILCOXON method. Number in parenthesis indicates 95% confidence limits.
- c) MIC values were determined with a bacterial suspension of 10<sup>6</sup> CFU/ml.

Fig. 32 Therapeutic effects of Azthreonom and CTM after a multiple subcutaneous administration (t. i. d., 3 days, 4 and 20 mg/kg) on the ascending unobstructed urinary tract infection in mice caused by *P. mirabilis* E 05106 (Mean±S. D.) \* : P<0.05 \*\* : P<0.01



後の ED<sub>50</sub> 値で比較すると、おのおの 45.8, 50.1 mg/kg とほぼ同等の結果が得られた (Table 15)。また、肺内菌数で AZT, LMOX および CTM の防禦効果を比較したところ、AZT および LMOX は投与開始後から菌数の減少がみられ 48 時間で最も減少した。一方 CTM は投与後 24 時間まで菌数の増加を抑制したが、その後増加し 96 時間では 6 例中 3 例が死亡した (Fig. 35)。

(iv) ラット・グラニューローマポーチ内感染：*P. aeruginosa* E 03008 に対する AZT および CPZ の MIC は 6.25 μg/ml であった。ポーチ内へ菌接種直後に AZT 40 mg/kg を投与した時、投与 2 時間後から菌数は減少し、その抑制効果は 24 時間まで持続した。CPZ 40 mg/kg 投与群も AZT とほぼ同程度の効果を示した (Fig. 36)。ポーチ内濃度を測定した結果、AZT

Fig. 33 Therapeutic effects of Azthreonam, CPZ and GM after a single subcutaneous administration on the urinary tract infection in mice caused by *P. aeruginosa* E 03165 (Mean±S. D.)

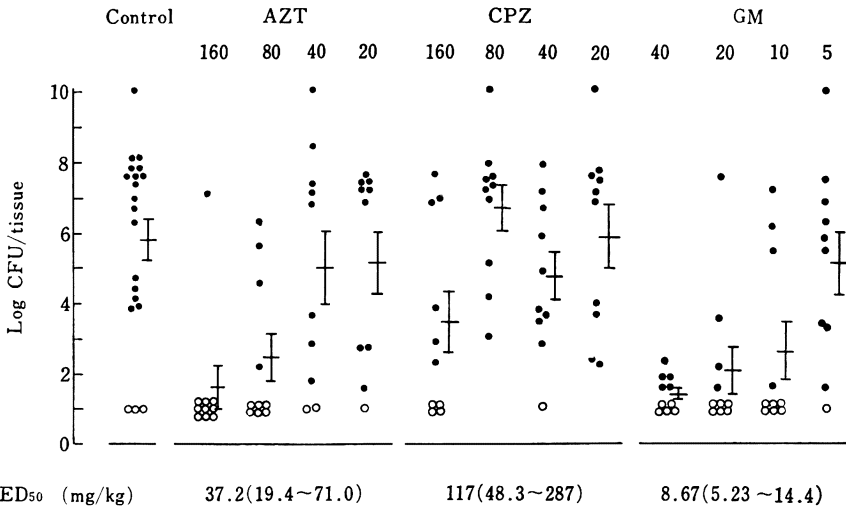
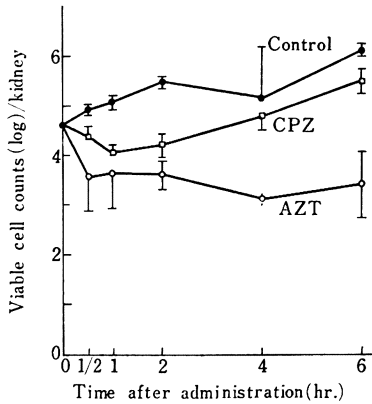


Fig. 34 Bactericidal effects of Azthreonam and CPZ on number of bacteria in the kidney of mice infected with *P. aeruginosa* (40 mg/kg, S. C., n=5)



は投与後1時間で約 18 μg/ml, 8時間後に 4 μg/ml を示し CPZ よりも持続する傾向が認められた (Fig. 37)。

III. 考 察

AZT は従来の penicillin や cephalosporin などの二環性 β-lactam 抗生物質と異なり単環性 β-lactam を有する抗生物質である。その発見の経緯は、*Chromobacterium violaceum*, *Pseudomonas* sp., *Gluconobacter oxydans* などの細菌から SQ 26,180, SQ 26,445 などの単環性 β-lactam を分離し、その構造的特徴を生かしつつ、L-threonine から 3-AMA (3-Aminomonobactamic acid) を全合成し、その側鎖を化学修飾して作られたものである。

Table 15 Protective effects of Azthreonam and LMOX against respiratory tract infection caused by *K. pneumoniae* in mice<sup>a)</sup>

Days after therapy	ED <sub>50</sub> (mg/kg) <sup>b)</sup>	
	AZT <sup>c)</sup>	LMOX <sup>a)</sup>
4	5.2 ( 2.7~10.1)	—
5	12.3 ( 7.0~21.6)	23.1 (13.5~39.7)
6	22.4 (13.0~38.7)	32.2 (18.8~55.2)
7	34.6 (19.0~61.9)	34.0 (21.7~53.4)
8	34.6 (19.0~61.9)	40.0 (26.5~60.5)
9	38.7 (21.2~70.6)	50.1 (28.8~87.0)
10	45.8 (23.3~90.2)	50.1 (28.8~87.0)

<sup>a)</sup> Four weeks-old ICR mice weighing 18~22g were used. Bacterial suspension (10<sup>10</sup> CFU/ml) was nebulized at a pressure of 1 kg/cm<sup>2</sup> for 40 min.

<sup>b)</sup> Fifty percent effective doses values were calculated by LITCHFIELD-WILCOXON method. Number of parentheses indicates 95% confidence limits.

<sup>c)</sup> Therapy was started at 4 hrs. after infection and administered subcutaneously at the 8 hrs. intervals for 6 doses.

AZT は *P. aeruginosa* を含む好気性、通性嫌気性グラム陰性菌に対して強い抗菌力を示し、とりわけ *Proteus* 属菌に対して優れた抗菌力を示した。しかしながら、グラム陽性菌や嫌気性菌に対する抗菌力は弱く、従来の β-lactam 抗生物質の中では、その抗菌スペクトラムに著しい特徴を有するといえる。

AZT は3位に 2-アミノチアゾールを有することにより細菌の外膜透過性に優れ、2位にメチル基およびカルボキシプロピルオキシム基を導入することにより β-lactamase に対して安定となり、スルホン酸基を導入す

Fig. 35 Bactericidal effects of Aztreonam, CTM and LMOX on number of bacteria in lung of mice infected with *K. pneumoniae* (40 mg/kg, 8 hrs interval x 6 doses, S.C.)

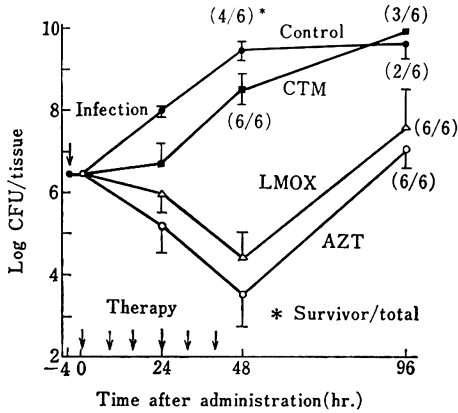
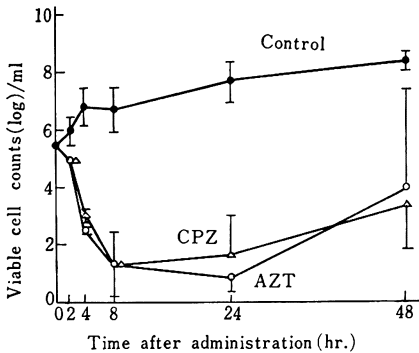


Fig. 36 Bactericidal effects of Aztreonam and CPZ against *P. aeruginosa* in rat granuloma pouch (40 mg/kg, I. V., n=3)

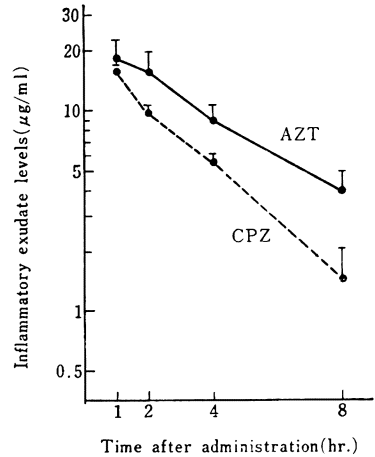


ることにより peptidoglycan 架橋反応を強く阻害すると考えられている。またグラム陽性菌に対する抗菌力の弱さは、*S. aureus* を用いた実験から PBPs に対する親和性が劣るためと報告<sup>8)</sup>されている。

$\beta$ -lactamase に対して AZT は極めて安定であり、II 型(OXA1) penicillinase, *K. oxytoca* および *P. cepacia* の産生する  $\beta$ -lactamase によって僅かに加水分解された。また  $\beta$ -lactamase 誘導能も *P. aeruginosa* の結果から、他剤に比べほとんど誘導を示さないことが確かめられ、三橋らの報告<sup>9)</sup>と一致した。

実験的マウス感染症の結果より、AZT は腹腔内感染、尿路感染および気道感染において *in vitro* 抗菌力をよく反映した。*P. mirabilis* 尿路感染において従来の実験系と異なり尿道口を塞ぐことなく感染をおこさせ、AZT

Fig. 37 Inflammatory exudate levels of Aztreonam and CPZ after a single dose (40 mg/kg) of intravenous administration in rats (n=4)



の治療効果を検討したところ膀胱から腎への上行性の感染の拡がりを抑えており、さらに CTM と比べ膀胱内の菌数の消失したマウスも多く優れた治療効果を示した。AZT のマウス尿中への移行は感染2日後の群で約 37.5%、CTM で約 36.5% とほぼ同程度であり、両菌株に対する MIC が  $10^6$  CFU/ml の時、それぞれ 0.006 および 0.2  $\mu$ g/ml であることを考え合わせると *in vitro* 抗菌力がよく反映された結果と推定された。

(実験期間：昭和 58 年 5 月～昭和 59 年 6 月)

文 献

- 1) SYKES, R. B ; D. P. BONNER, K. BUSH & N. H. GEORGOPADAKOU : Aztreonam (SQ 26,776), a synthetic monobactam specifically active against aerobic Gram-negative bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 21 : 85-92, 1982
- 2) MIC 測定法改訂委員会：最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。 *Chemotherapy* 29 : 76~79, 1981
- 3) 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) 測定法。 *Chemotherapy* 27 : 559~560, 1979
- 4) WALEY, S. G. : A spectrophotometric assay for penicillinase. *Biochem. J.* 139 : 780~789, 1974
- 5) LITCHFIELD, J. T. & F. WILCOXON · A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol.* 92 : 99~113, 1948
- 6) NISHI, T. & K. TSUCHIYA · Experimental urinary tract infection with *Pseudomonas aeruginosa* in mice. *Infection & Immunity* 22 : 508~515, 1978

- 7) 松本慶蔵, 宇塚良夫, 永武 毅, 宍戸春美, 鈴木寛, 野口行雄, 玉置公俊, 羅士 易, 井手政利: 噴霧吸入感染によるグラム陰性桿菌性肺炎モデル。日胸疾会誌 16: 581~587, 1978
- 8) GEORGOPADAKOU, N. H.; S. A. SMITH, C. M. CIMARUST & R. B. SYKES: Binding of monobactams to penicillin-binding proteins of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*: Relation to antibacterial activity. Antimicrob. Agents Chemother. 23: 98~104, 1983
- 9) 三橋 進, 井上松久: アズスレオナム (Azthreonom), 第 30 回日本化学療法学会東日本支部総会抄録プログラム, 72 頁, 1983

## AZTHREONAM, A NEW MONOCYCLIC $\beta$ -LACTAM ANTIBIOTIC; IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITIES

KYOSUKE KITOH, KANEMASA KATSU, MASARU SATOH, YOSHIKI SUGIHARA  
NAOAKI WATANABE, TOSHIO TOYOSAWA and MEGUMI MORIYAMA  
Tukuba Research Laboratories, Eisai Co., Ltd.

Azthreonom is a novel synthetic monocyclic  $\beta$ -lactam antibiotic. It had excellent activity against gram-negative aerobes including members of the *Enterobacteriaceae*, *Haemophilus influenzae* and *Pseudomonas aeruginosa*, but poor or little activity against anaerobes and gram-positive aerobes.

The MIC<sub>50</sub> values of Azthreonom against the clinical isolates of *Proteus mirabilis* and indole-positive *Proteus* species were 0.005 to 0.015  $\mu\text{g/ml}$ , indicating that Azthreonom was 4 to 128-fold more potent than other cephalosporins. It was also highly active against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens* and *H. influenzae*. The MIC<sub>50</sub> values of Azthreonom against those isolates were 0.04, 0.03, 0.07, 0.12, 0.11, 0.31 and 0.04  $\mu\text{g/ml}$ , respectively. Furthermore, Azthreonom was as active as Cefsulodin against *P. aeruginosa* and was 2 to 3-fold more active than Cefoperazone and Minocycline.

Type of or pH of growth medium and the addition of horse serum had no effect on the activity of Azthreonom, but the inoculum size slightly affected its activity as other cephalosporins.

Combinations between Azthreonom and other antibiotics showed additive effects from the viewpoint of complementary spectrum and Azthreonom did not interfere with the activities of other antibiotics against gram-positive or anaerobic bacteria.

Azthreonom showed an unusually high stability to most of bacterial  $\beta$ -lactamases, but was only slightly hydrolysed by type II penicillinase and  $\beta$ -lactamases produced by *K. oxytoca* and *P. cepacia*.

The protective effect of Azthreonom against intraperitoneal infection model in mice by *P. aeruginosa* was superior to Cefoperazone but inferior to Ceftazidime. Azthreonom also exhibited potent activity against urinary tract infection caused by *P. mirabilis*, respiratory tract infection caused by *K. pneumoniae*, and inflammatory pouch infection caused by *P. aeruginosa*.