

## Sultamicillin の嫌気性菌に対する抗菌作用

渡辺 邦友・賀川 和宣・武内美登利・上野 一恵

岐阜大学医学部嫌気性菌実験施設

Sultamicillin の嫌気性菌に対する抗菌作用とマウス盲腸内細菌叢への影響についての検討を行い、次の結果を得た。

Sultamicillin は嫌気性菌全般に広い抗菌スペクトラムを有し、ABPCが無効であった  $\beta$ -lactamase 産生性の *Bacteroides* にも有効であった。マウスを用いた *B. fragilis* と *E. coli*, *B. bivius* と *E. coli* の混合感染実験においても sultamicillin は優れた抗菌力を示した。

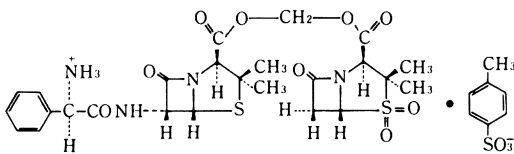
本剤 2mg/mouse/day の 5 日間経口投与は、他薬剤とほぼ同様にマウス盲腸内での *Clostridium difficile* の増殖と *C. difficile* D-1 毒素の産生を惹起した。

Sultamicillin は新しく開発された半合成経口  $\beta$ -lactam 剤である。

本剤は Fig. 1 に示す如く、 $\beta$ -lactamase 阻害剤である sulbactam (SBT) と ampicillin (ABPC) とをエステル結合したものである。本剤は、腸管にて良好に吸収され、腸管壁のエステラーゼにより SBT と ABPC に加水分解される。

本報では、sultamicillin の嫌気性菌に対する抗菌作用を特に  $\beta$ -lactamase 産生性の *Bacteroides fragilis* に注目して、また本剤のマウス盲腸内細菌叢への影響について特に *Clostridium difficile* に注目して検討した成績を述べる。

Fig. 1 Chemical structure of sultamicillin tosilate



## I. 材料および方法

## 1. 使用菌株

研究室保存の代表菌株および臨床分離株を用いた。これらはすべて 20% スキムミルクを保護剤として  $-80^{\circ}\text{C}$  に保存された。

## 2. 薬 剤

Sultamicillin (690  $\mu\text{g}/\text{mg}$ , 台糖ファイザー), ampicillin (ABPC, 910  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) および cephalixin (CEX, 971  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) を用いた。

## 3. 抗菌力測定法

日本化学療法学会により定められた、最小発育阻止濃度測定標準法に準じて MIC を測定した<sup>2)</sup>。

増菌用培地には、GAM ブイヨン (ニッスイ) を用い、メナディオンを 0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  に添加した。感受性測定用培地には、GAM 寒天 (ニッスイ) を用い、メナディオンを 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  に添加した。

接種用菌液は、*Bacteroides fragilis* など発育の良好な菌群の場合には  $37^{\circ}\text{C}$  で 24 時間培養した菌液を、*Bacteroides melaninogenicus* など発育の遅い菌群の場合には 48 時間培養した菌液を GAM ブイヨンで希釈し、 $10^8$  cells/ml および  $10^6$  cells/ml の二段階に調整した。すなわち *Clostridium* 以外で前培養菌液が充分混濁している場合には、10 倍希釈液と 1000 倍希釈液を、*Clostridium* と前培養菌液が充分混濁しない場合や沈殿発育をする場合には、原液と 100 倍希釈液をそれぞれ使用した。菌液の希釈から感受性測定用平板への塗抹まではすべて好気的条件下で行われた。嫌気培養は、Anaerobic glove box ( $\text{N}_2$  80%,  $\text{H}_2$  10%,  $\text{CO}_2$  10%) の中で行い、 $37^{\circ}\text{C}$  で 24 時間培養後に MIC の判定を行った。

## 4. 最小殺菌濃度 (MBC) の測定

GAM ブイヨンでの  $37^{\circ}\text{C}$  24 時間菌液を希釈し、2 倍希釈系列の薬剤を含む GAM ブイヨン中に接種菌量が  $10^4$  cfu/ml となるように接種した。その後、 $37^{\circ}\text{C}$  24 時間嫌気培養し、肉眼で混濁の認められない最小の濃度 (broth dilution MIC) を求めた後、それぞれの希釈系列より菌液を採取し、薬剤を含まない GAM 平板に画線塗抹し、更に  $37^{\circ}\text{C}$  で 24 時間嫌気培養を行った。菌の発育の認められない最小の薬剤濃度を MBC とした。

### 5. *B. fragilis* の増殖曲線に及ぼす影響

*B. fragilis* GAI-5000の GAM ブイオンでの一夜培養菌を GAM ブイオンで1000倍に希釈し、更に1時間培養を続けた後、sultamicillin又は ABPC の1/2 および 2 MIC (agar dilution MIC) 濃度を添加した。薬剤添加後、1, 3, 7 および24時間培養後に GAM 寒天培地を用い生菌数を算出した。

なお sultamicillin と ABPC の本供試菌に対する MIC は  $10^6$  cfu/ml 接種で各々 6.25, 200  $\mu$ g/ml であった。これらの培養操作は、すべて anaerobic chamber 内で行った。

### 6. 実験的マウス腹腔内感染症に対する予防効果

*B. bivius* 又は *B. fragilis* の  $10^8$  cfu / mouse と *E. coli*  $10^7$  cfu/mouse を ICR 系雄マウス (体重  $18 \pm 1$  g) の腹腔内に接種した。

接種後1時間後に sultamicillin 及び ABPC の 4 mg, 2 mg および 1 mg/mouse/day を経口的に投与し、3日目に生死を判定した。

### 7. Sultamicillin のマウス盲腸内正常細菌叢に及ぼす影響、特に *C. difficile* の異常増殖について

ICR系雄マウス (体重  $18 \pm 1$  g) に sultamicillin および ABPC を 2 mg/mouse/day 5日間経口投与した。

薬剤投与中止翌日、マウスを屠殺、盲腸内容物を採取し、*C. difficile* の分離培養及び *C. difficile* D-1 毒素の検出を行った。

*C. difficile* の分離は、予め24時間嫌氣的に保存した変法 CCMA 培地を用いた。*C. difficile* D-1 毒素の検出は、小林らの抗 D-1 latex 試薬を用いる latex agglutination 法によった<sup>3)</sup>。

## II. 成績

### 1. 抗菌スペクトラム

Sultamicillin の嫌気性菌と微好気性菌に対する抗菌力を ABPC 単剤および CEX のそれと比較した。

Sultamicillin のグラム陰性菌に対する抗菌力を  $10^8$  cells/ml 接種と  $10^6$  cells/ml 接種の場合に分けて Table 1 と 2 に、グラム陽性菌に対する抗菌力を同様に Table 3 と 4 に示した。

Sultamicillin は、*Bacteroides* 12 菌種、*Fusobacterium* 6 菌種、*Capnocytophaga* 2 菌種、*Veillonella* 1 菌種に対し、いずれも強い抗菌力を示した。 $10^8$  cfu/ml 接種時では 6.25  $\mu$ g/ml が、 $10^6$  cfu/ml 接種時では 1.56  $\mu$ g/ml がこれら 21 菌種全株の発育を阻止した。特に  $\beta$ -lactamase 産生菌種である *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *B. distasonis*, *B. ovatus* に対する本剤の

MIC は、ABPC や CEX よりも著明に優れた。上記 5 菌種以外の菌種には、sultamicillin は ABPC よりもやや劣るか同等の抗菌力を示した。

Sultamicillin は *Propionibacterium* 2 菌種、*Eubacterium* 4 菌種、*Bifidobacterium* 1 菌種、*Clostridium* 10 菌種、*Peptostreptococcus* 4 菌種、*Streptococcus* 4 菌種に対しても強い抗菌力を示した。 $10^8$  cfu/ml 接種では 25  $\mu$ g/ml が、 $10^6$  cfu/ml では 1.56  $\mu$ g/ml がこれら 25 菌種全株の発育を阻止した。Sultamicillin のこれらグラム陽性菌に対する抗菌力は、ABPC と同等かやや劣る成績で、CEX よりも優れた。

### 2. 臨床分離の *B. fragilis* に対する抗菌力

臨床分離の *B. fragilis* 54 株を用いて、sultamicillin の抗菌力を測定し、ABPC、CEX のそれと比較した (Fig. 2, 3)。

Sultamicillin の抗菌力が最も強く、次いで ABPC、CEX の順であった。

### 3. MIC と MBC の比較

*B. fragilis* 4 株、*B. vulgatus* 1 株、*B. uniformis* 1 株、*F. mortiferum* 1 株、*C. perfringens* 1 株および *C. ramosum* 1 株の合計 9 株を用い、sultamicillin の broth dilution MIC と MBC を比較検討した。*B. vulgatus* の broth dilution MIC と MBC には 2 管の差が認められたが、残りの 8 株では、broth dilution MIC と MBC との差は 1 管以内であった (Table 5)。

### 4. *B. fragilis* の増殖曲線に及ぼす影響

$10^7$  cfu/ml の *B. fragilis* GAI-5000 を 12.5  $\mu$ g/ml ( $2 \times$  MIC) の sultamicillin に接触させた場合、生菌数は 3 時間後に一時減少したが、7 時間後には再び増加した。これと同様の成績が、400  $\mu$ g/ml ( $2 \times$  MIC) の ABPC に接触させた場合にも得られた。

一方  $10^6$  cfu/ml の *B. fragilis* GAI-5000 を 12.5  $\mu$ g/ml の sultamicillin に接触させた場合には、生菌数は 1 時間後から減少傾向を示し、24 時間後でも再び増加することはなかった (Fig. 4)。

### 5. 実験的マウス腹腔内感染症に対する感染予防効果

$\beta$ -Lactamase 産生性の *B. bivius* V-3 と *E. coli* #1 の混合感染実験に対する治療成績を Fig. 5 に示した。

Sultamicillin 1 mg/mouse/day の投与によりマウスは 100% 生存したが、ABPC 1 mg/mouse/day の投与では 10% が生存したのみであった。

$\beta$ -Lactamase 産生性の *B. fragilis* GAI-0558 と *E. coli* #1 との混合感染実験では、sultamicillin の 1 mg/mouse/day 投与で 100% マウスを生存させたが、AB

Table 1 Antibacterial activity of Sultamicillin, ABPC and CEX against reference strains of anaerobes

Organism	MIC $\mu\text{g/ml}$		Inoculum: $10^8$ cells/ml
	Sultamicillin	ABPC	
<i>Veillonella</i>			
<i>V. parvula</i> ATCC-10790	0.78	0.39	0.39
<i>Bacteroides</i>			
<i>B. fragilis</i> ATCC-25285	3.13	100	100
<i>B. fragilis</i> GM-7000	1.56	100	12.5
<i>B. vulgatus</i> ATCC-8482	1.56	3.13	25
<i>B. vulgatus</i> ATCC-29327	0.39	0.39	0.78
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL-3304	3.13	50	12.5
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL-2926	3.13	50	12.5
<i>B. thetaiotaomicron</i> ATCC-19041	3.13	25	100
<i>B. distasonis</i> GM-7007	1.56	12.5	100
<i>B. distasonis</i> ATCC-8503	6.25	1.56	50
<i>B. ovatus</i> ATCC-8483	3.13	50	200
<i>B. uniformis</i> ATCC-8492	0.78	12.5	12.5
<i>B. eggerthii</i> ATCC-27754	0.78	0.39	0.78
<i>B. ureolyticus</i> NCTC-10941	0.05	0.05	3.13
<i>B. melaninogenicus</i> GAI-0410	0.10	0.05	0.78
<i>B. melaninogenicus</i> GAI-0411	0.10	0.05	0.08
<i>B. melaninogenicus</i> GAI-0413	0.10	0.05	0.78
<i>B. intermedius</i> ATCC-25611	0.10	0.05	0.39
<i>B. asaccharolyticus</i> GAI-0414	0.10	0.10	0.78
<i>B. asaccharolyticus</i> GAI-0415	0.78	0.39	6.25
<i>B. asaccharolyticus</i> ATCC-25260	3.13	0.78	50
<i>B. disiens</i> ATCC-29426	0.10	0.05	3.13
<i>Fusobacterium</i>			
<i>F. nucleatum</i> ATCC-10953	0.05	$\leq 0.025$	0.78
<i>F. nucleatum</i> F-1	0.20	$\leq 0.025$	0.78
<i>F. necrophorum</i> ATCC-25286	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	0.20
<i>F. necrophorum</i> SPH-1	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
<i>F. mortiferum</i> VPI-4249	6.25	50	100
<i>F. mortiferum</i> B-1083	3.13	1.56	200
<i>F. varium</i> ATCC-8501	0.39	0.20	0.78
<i>F. naviforme</i> VPI-4877	0.39	0.39	3.13
<i>F. gonidiaformans</i> VPI-4381	0.70	0.39	3.13
<i>F. gonidiaformans</i> VPI-0482A	0.10	0.05	0.39
<i>Capnocytophaga</i>			
<i>C. sputigena</i> OM-148	0.20	0.10	0.78
<i>C. ochracea</i> ATCC-8831	0.20	0.10	12.5
<i>C. ochracea</i> #6	0.39	0.20	50

Table 2 Antibacterial activity of Sultamicillin, ABPC and CEX against reference strains of anaerobes

Organism	MIC $\mu\text{g/ml}$		Inoculum: $10^6$ cells/ml	CEX
	Sultamicillin	ABPC		
<i>Veillonella</i>				
<i>V. parvula</i> ATCC-10790	0.20	0.05		0.20
<i>Bacteroides</i>				
<i>B. fragilis</i> ATCC-25285	1.56	12.5		25
<i>B. fragilis</i> GM-7000	1.56	25		6.25
<i>B. vulgatus</i> ATCC-8482	1.56	1.56		25
<i>B. vulgatus</i> ATCC-29327	0.39	0.39		0.78
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL-3304	1.56	25		12.5
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL-2926	1.56	25		25
<i>B. thetaiotaomicron</i> ATCC-19041	1.56	12.5		25
<i>B. distasonis</i> GM-7007	1.56	12.5		12.5
<i>B. distasonis</i> ATCC-8503	1.56	0.78		0.78
<i>B. ovatus</i> ATCC-8483	1.56	25		200
<i>B. uniformis</i> ATCC-8492	0.39	1.56		6.25
<i>B. eggerthii</i> ATCC-27754	0.20	0.10		0.78
<i>B. ureolyticus</i> NCTC-10941	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$		0.39
<i>B. melaninogenicus</i> GAI-0410	0.05	$\leq 0.025$		0.39
<i>B. melaninogenicus</i> GAI-0411	0.05	$\leq 0.025$		0.39
<i>B. melaninogenicus</i> GAI-0413	0.10	0.05		0.39
<i>B. intermedius</i> ATCC-25611	0.025	0.025		0.025
<i>B. asaccharolyticus</i> GAI-0414	0.10	0.05		0.39
<i>B. asaccharolyticus</i> GAI-0415	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$		$\leq 0.025$
<i>B. asaccharolyticus</i> ATCC-25260	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$		$\leq 0.025$
<i>B. disiens</i> ATCC-29426	0.10	$\leq 0.025$		1.56
<i>Fusobacterium</i>				
<i>F. nucleatum</i> ATCC-10953	0.05	$\leq 0.025$		0.20
<i>F. nucleatum</i> F-1	0.05	$\leq 0.025$		0.20
<i>F. necrophorum</i> ATCC-25286	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$		0.05
<i>F. necrophorum</i> SPH-1	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$		$\leq 0.025$
<i>F. mortiferum</i> VPI-4249	1.56	0.39		12.5
<i>F. mortiferum</i> B-1083	1.56	0.78		200
<i>F. varium</i> ATCC-8501	0.05	$\leq 0.025$		0.39
<i>F. naviforme</i> VPI-4877	0.05	$\leq 0.025$		0.20
<i>F. gonidiaformans</i> VPI-4381	0.10	$\leq 0.025$		0.20
<i>F. gonidiaformans</i> VPI-0482A	0.05	$\leq 0.025$		0.20
<i>Capnocytophaga</i>				
<i>C. sputigena</i> OM-148	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$		$\leq 0.025$
<i>C. ochracea</i> ATCC-8831	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$		3.13
<i>C. ochracea</i> #6	0.05	0.05		12.5

Table 3 Antibacterial activity of Sultamicillin, ABPC and CEX against reference strains of anaerobes

Organism	MIC $\mu\text{g/ml}$ Inoculum; $10^8$ cells/ml		CEX
	Sultamicillin	ABPC	
<i>Peptostreptococcus</i>			
<i>P. magnus</i> ATCC-29328	0.20	0.10	6.25
<i>P. magnus</i> ATCC-14956	0.39	0.20	50
<i>P. asaccharolyticus</i> WAL-3218	0.78	0.39	3.13
<i>P. micros</i> VPI-5464-1	0.78	25	0.78
<i>Staphylococcus</i>			
<i>S. saccharolyticus</i> ATCC-13953	0.05	$\leq 0.025$	0.10
<i>Streptococcus</i>			
<i>S. parvulus</i> VPI-0546	0.39	0.10	0.78
<i>S. constellatus</i> ATCC-27823	0.79	0.39	12.5
<i>S. morbillorum</i> ATCC-27513	0.25	0.25	3.13
<i>S. intermedius</i> ATCC-27735	0.39	0.39	3.13
<i>Propionibacterium</i>			
<i>P. acnes</i> ATCC-8919	1.56	0.78	0.39
<i>P. acnes</i> ATCC-11828	0.39	0.20	0.78
<i>P. acnes</i> ATCC-11827	1.56	0.10	1.56
<i>P. granulosum</i> ATCC-25564	3.13	0.39	1.56
<i>Eubacterium</i>			
<i>E. limosum</i> ATCC-8486	0.78	0.39	6.25
<i>E. plauti</i> VPI-0311	25	200	50
<i>E. plauti</i> VPI-0310	6.25	200	12.5
<i>E. cylindroides</i> ATCC-27803	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
<i>E. aerofaciens</i> ATCC-25986	0.39	0.20	1.56
<i>Bifidobacterium</i>			
<i>B. adolescentis</i> ATCC-15703	0.39	0.20	25
<i>Clostridium</i>			
<i>C. perfringens</i> ATCC-13123	0.20	0.10	6.25
<i>C. perfringens</i> ATCC-3624	0.39	0.20	25
<i>C. difficile</i> ATCC-9689	3.13	3.13	100
<i>C. tetani</i> ATCC-10779	0.20	0.10	0.78
<i>C. tetani</i> ATCC-19406	0.20	0.10	3.13
<i>C. novyi</i> type A ATCC-19402	0.10	0.05	0.20
<i>C. histolyticum</i> ATCC-19401	0.20	0.10	6.25
<i>C. sordellii</i> ATCC-9714	0.10	0.05	3.13
<i>C. sporogenes</i> ATCC-3584	0.20	0.10	3.13
<i>C. sporogenes</i> ATCC-19404	0.39	0.20	3.13
<i>C. innocuum</i> ATCC-14501	0.39	0.39	25
<i>C. clostridiiforme</i> ATCC-25537	0.78	0.39	100
<i>C. ramosum</i> ATCC-25582	0.20	0.10	100

Table 4 Antibacterial activity of Sultamicillin, ABPC and CEX against reference strains of anaerobes

Organism	MIC $\mu\text{g/ml}$ Inoculum; $10^6$ cells/ml		
	Sultamicillin	ABPC	CEX
<i>Peptostreptococcus</i>			
<i>P. magnus</i> ATCC-29328	0.10	0.05	0.20
<i>P. magnus</i> ATCC-14956	0.20	0.10	6.25
<i>P. asaccharolyticus</i> WAL-3218	0.20	0.10	3.13
<i>P. micros</i> VPI-5464-1	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
<i>Staphylococcus</i>			
<i>S. saccharolyticus</i> ATCC-13953	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
<i>Streptococcus</i>			
<i>S. parvulus</i> VPI-0546	0.10	0.05	0.39
<i>S. constellatus</i> ATCC-27823	0.39	0.20	6.25
<i>S. morbillorum</i> ATCC-27513	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
<i>S. intermedius</i> ATCC-27735	0.39	0.20	3.13
<i>Propionibacterium</i>			
<i>P. acnes</i> ATCC-8919	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
<i>P. acnes</i> ATCC-11828	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	0.05
<i>P. acnes</i> ATCC-11827	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
<i>P. granulosum</i> ATCC-25564	0.20	$\leq 0.025$	0.20
<i>Eubacterium</i>			
<i>E. limosum</i> ATCC-8486	0.10	0.10	3.13
<i>E. plauti</i> VPI-0311	0.10	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
<i>E. plauti</i> VPI-0310	0.10	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
<i>E. cylindroides</i> ATCC-27803	0.025	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
<i>E. aerofaciens</i> ATCC-25986	0.20	0.10	1.56
<i>Bifidobacterium</i>			
<i>B. adolescentis</i> ATCC-15703	0.20	0.20	3.13
<i>Clostridium</i>			
<i>C. perfringens</i> ATCC-13123	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	0.39
<i>C. perfringens</i> ATCC-3624	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	0.39
<i>C. difficile</i> ATCC-9689	1.56	0.78	100
<i>C. tetani</i> ATCC-10779	0.20	0.10	0.78
<i>C. tetani</i> ATCC-19406	0.10	0.05	0.78
<i>C. novyi</i> type A ATCC-19402	0.05	$\leq 0.025$	0.10
<i>C. histolyticum</i> ATCC-19401	0.20	0.10	6.25
<i>C. sordellii</i> ATCC-9714	0.10	0.05	3.13
<i>C. sporogenes</i> ATCC-3584	0.20	0.10	3.13
<i>C. sporogenes</i> ATCC-19404	0.20	0.10	3.13
<i>C. innocuum</i> ATCC-14501	0.39	0.20	25
<i>C. clostridiiforme</i> ATCC-25537	0.78	0.39	25
<i>C. ramosum</i> ATCC-25582	0.20	0.10	50

Fig. 2 Sensitivity distribution of *B. fragilis* to Sultamicillin, ABPC and CEX

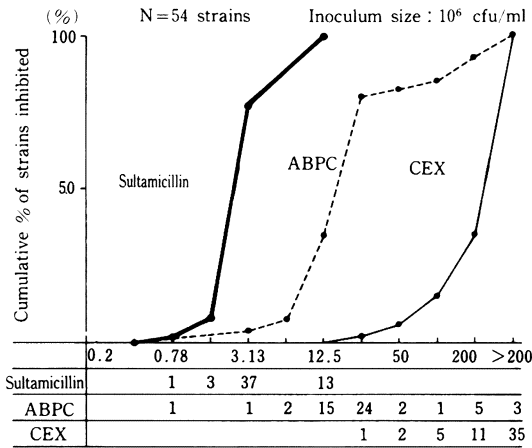


Fig. 3 Sensitivity distribution of *B. fragilis* to Sultamicillin, ABPC and CEX

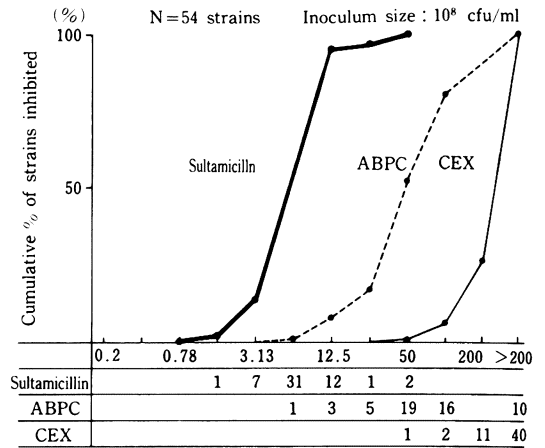


Fig. 4 Effect of Sultamicillin and ABPC on the growth curve of *B. fragilis* GAI-5000

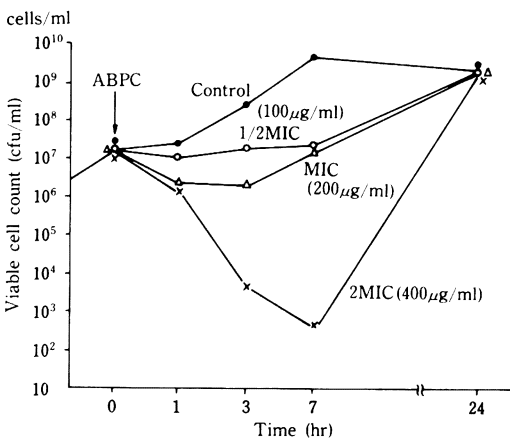
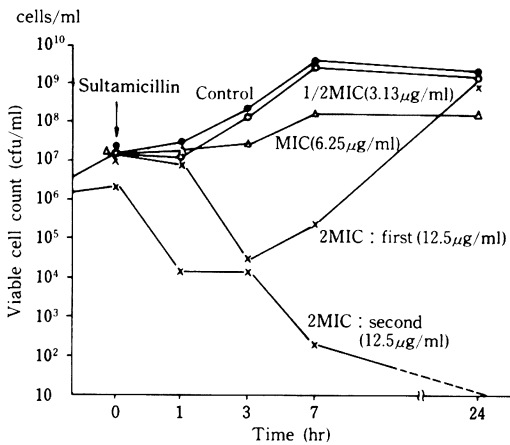
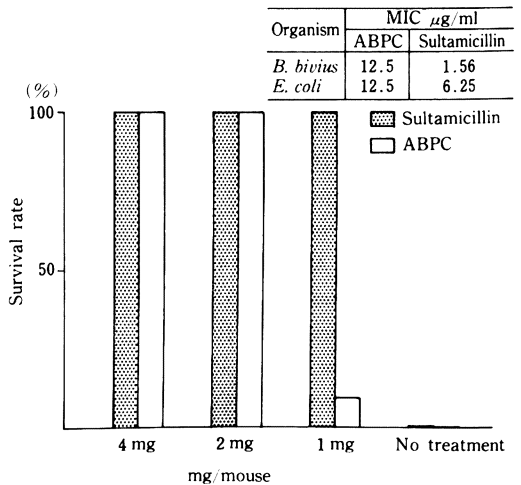


Table 5 MIC and MBC of Sultamicillin against anaerobes

Organism	Antibacterial activity (µg/ml)	
	MIC	MBC
<i>B. fragilis</i> GM 7000	1.56	1.56
<i>B. fragilis</i> ATCC 25285	1.56	3.13
<i>B. vulgatus</i> ATCC 29327	0.39	1.56
<i>B. uniformis</i> ATCC 8492	1.56	1.56
<i>F. mortiferum</i> VPI 4249	3.13	6.25
<i>C. perfringens</i> ATCC 13123	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>C. ramosum</i> ATCC 25582	0.20	0.20
* <i>B. fragilis</i> GAI 0588	6.25	6.25
* <i>B. fragilis</i> GAI 0562	6.25	12.5

\* β-lactamase producing strains

Fig. 5 Protective effect of Sultamicillin against intra-abdominal mixed infection due to *B. bivius* and *E. coli* in mice



PCの1 mg/mouse/day投与では40%を生かさせたのみであった (Fig. 6)。

6. 臨床分離の *C. difficile* に対する抗菌力

*C. difficile* 18株の sultamicillin に対する感受性を検討した。Sultamicillin の *C. difficile* 18株に対する MIC は1.56 $\mu$ g/ml~3.13 $\mu$ g/ml に分布し、18株中17株までが1.56 $\mu$ g/ml であった (Table 6)。

7. Sultamicillin のマウス盲腸内細菌叢への影響, 特に *C. difficile* の異常増殖について

Sultamicillin の2 mg/mouse/day を5日間経口投与し、中止後翌日のマウス盲腸内の *C. difficile* の菌数と盲腸内容物中の D-1 toxin を検出した。

Sultamicillin 投与マウスの8匹中8匹100%の盲腸内容物から *C. difficile* が1 g 当たり  $10^4$  cfu 以上に検出された。また *C. difficile* D-1 毒素も8匹中7匹に検出された。対照とした ABPC 投与マウスでも10匹中10匹 (100%) で *C. difficile* が分離され、10匹中9匹 (90%) で *C. difficile* D-1 毒素が陽性であった (Table 7)。

III. 考 按

Sultamicillin は、SBT と ABPC をエステル結合した新しい  $\beta$ -lactam 剤である。

SBT は、本邦ではすでに cefoperazone (CPZ) と配合した注射用抗生剤として開発が進められており、SBT の著明な  $\beta$ -lactamase inhibitor としての作用は衆知のところとなった。著者らもすでに嫌気性菌に対する SBT と CPZ の併用効果について検討し、その有用性を

報告した<sup>4)</sup>。

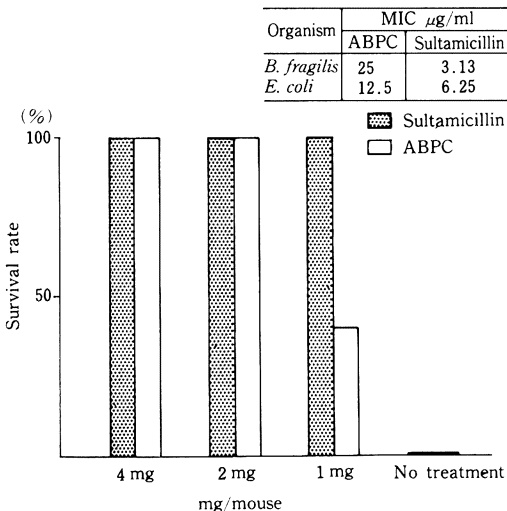
今回は、腸管内でエステラーゼにより加水分解を受け SBT と ABPC になる sultamicillin の嫌気性菌に対する抗菌力を、特に  $\beta$ -lactamase 産生性の菌種を中心に検討した。

*B. fragilis*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron* では、sultamicillin の抗菌力は ABPC のそれよりも著明に優れた。しかし、*B. vulgatus*, *B. uniformis*, *B. intermedius*, *B. disiens* では、sultamicillin と ABPC の MIC に差は認められなかった。この成績は *B. fragilis*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. oralis* の  $\beta$ -lactamase は SBT に感受性であるが、*B. intermedius*, *B. disiens*, *B. bivius* の  $\beta$ -lactamase は耐性であるとした田島らの成績と一致するところが多かった<sup>5)</sup>。田島らは

Table 6 Sensitivity of *Clostridium difficile* to Sultamicillin

<i>C. difficile</i> GAI 3490	1.56 $\mu$ g/ml
<i>C. difficile</i> GAI 0858	1.56 "
<i>C. difficile</i> GAI 0745	1.56 "
<i>C. difficile</i> GAI 0783	1.56 "
<i>C. difficile</i> GAI 0881	1.56 "
<i>C. difficile</i> GAI 0748	1.56 "
<i>C. difficile</i> GAI 0545	1.56 "
<i>C. difficile</i> GAI 0568	1.56 "
<i>C. difficile</i> GAI 0738	1.56 "
<i>C. difficile</i> GAI 0785	1.56 "
<i>C. difficile</i> GAI 0587	1.56 "
<i>C. difficile</i> GAI 0857	1.56 "
<i>C. difficile</i> GAI 0747	1.56 "
<i>C. difficile</i> GAI 0547	1.56 "
<i>C. difficile</i> GAI 0280	1.56 "
<i>C. difficile</i> GAI 0284	1.56 "
<i>C. difficile</i> GAI 0796	1.56 "
<i>C. difficile</i> GAI 0796	3.13 "

Fig. 6 Protective effect of Sultamicillin against intra-abdominal mixed infection due to *B. fragilis* and *E. coli* in mice



Organism	MIC $\mu$ g/ml	
	ABPC	Sultamicillin
<i>B. fragilis</i>	25	3.13
<i>E. coli</i>	12.5	6.25

Table 7 Effect of ABPC and Sultamicillin on *C. difficile* in cecal contents of mice

Drug	No. of mice	<i>C. difficile</i> detected				** DI-toxin	
		* 3+	* 2+	* +	* -	+ -	-
ABPC	10	7	3			9	1
Sultamicillin	8	6	2			7	1
Control	10				10	NT	NT

\* 3+ :  $> 10^6$ , 2+ :  $10^6 \sim 10^4$ , + :  $< 10^4$  (cfu/g)  
 \*\* Latex agglutination test NT: Not tested  
 Medication: Dose 2 mg/day, mouse w.t. 18g, Route p.o., Term 5 days



*B. distasonis* 7株からの $\beta$ -lactamaseの検出を試みたが不成功に終わっている。しかし今回用いた *B. distasonis* GM7007は、sultamicillinとABPCのMICにかなりの差があり、 $\beta$ -lactamaseを産生している可能性を示唆している。教室の朝日は、*B. distasonis*からの $\beta$ -lactamaseの抽出に成功している(未発表)。*B. distasonis*の $\beta$ -lactamaseはSBTに感受性かも知れない。

Sultamicillinの*in vitro*における*B. fragilis*への強い抗菌力は、*B. fragilis*と*E. coli*を用いたマウス腹腔内感染症に対する感染防禦効果の検討において*in vivo*でも確認された。

*B. bivius*の $\beta$ -lactamaseはSBTに耐性であると田島らは記載したが、今回使用した*B. bivius*はsultamicillinに対しABPCに対するよりは著明に低いMIC値を示した。また、sultamicillinは*B. bivius*と*E. coli*を用いたマウス腹腔内感染症に対する感染防禦効果の検討においてABPCよりも優れた成績を残した。*B. bivius*の $\beta$ -lactamaseがSBTに耐性とされながら、ABPCとSBTにこのような協力作用が認められた。この点については、更に検討を必要とすると考えられる。

さてABPCは、antibiotic associated colitis又はdiarrheaをおこす可能性の高い化学療法剤の一つとして知られている<sup>9)</sup>。ABPCの*C. difficile*に対するMICは1.56 $\mu$ g/ml以下と非常に低いものの部類に入っている。しかしABPCの腸管での良好な吸収性は、糞便中のABPC濃度をはかるに低値に維持することとなるため、

*C. difficile*の異常増殖がおきるという。

Sultamicillinの1mg/mouse/dayの5日間経口投与により、マウスの盲腸内の*C. difficile*は異常増殖し、D-1毒素も検出された。ABPCの1mg/mouse/dayの5日間経口投与とはほぼ同一の成績であった。マウスへの投与においては他薬剤とはほぼ同様に盲腸内で*C. difficile*の増殖がみられた。

## 文 献

- 1) BALTZER, B.; E. BINDERUP, W. VON DAEHNE, W. O. GODTFREDSSEN, K. HANSEN, B. NIELSEN, H. SØRENSEN & S. VANGEDAL: Mutual pro-drug of  $\beta$ -lactam antibiotics and  $\beta$ -lactamase inhibitors. *J. Antibiotics* 33: 1183-1192, 1980
- 2) 小酒井望 他: 嫌気性菌の最小発育阻止濃度(MIC)測定法. *Chemotherapy* 27: 559-560, 1979
- 3) 小林とよ子 他: Latex agglutination testによる糞便中の*Clostridium difficile*毒素の定量について. 嫌気性菌感染症研究 14: 117-122, 1984
- 4) 磯野美登利 他: Sulbactam/Cefoperazone 合剤の嫌気性菌に対する抗菌作用. *Chemotherapy* 32 (S-4): 66-77, 1984
- 5) MASAZO TAJIMA et al: The  $\beta$ -lactamase of Genus *Bacteroides*: *J. Antibiotics* 36(4): 423-428, 1983
- 6) 上野一恵 他: 偽膜性腸炎と*Clostridium difficile*. *モダンメディア* 25: 798-810, 1979

## ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SULTAMICILLIN AGAINST ANAEROBES

KUNIMOTO WATANABE, KAZUNOBU KAGAWA,  
MIDORI TAKEUCHI and KAZUE UENO

Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University School of Medicine

Antibacterial activity of sultamicillin was evaluated against anaerobic bacteria, with particular attention to beta-lactamase producing *Bacteroides* spp.

Sultamicillin showed potent antibacterial activity against a wide range of anaerobic bacteria including *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron* and some other beta-lactamase producers. Sultamicillin was also effective in intra-abdominal sepsis in mice due to *B. fragilis* or *B. bivius* and *E. coli*.

Sultamicillin, when given to mice 2 mg/mouse/day daily for 5 days orally, permitted enterotoxigenic *C. difficile* to overgrow in caecum contents with prominent elevation of *C. difficile* D-1 toxin.