

Dibekacin の新規誘導体 HBK の細菌学的検討

五島瑛智子・小川正俊・辻 明良

宮崎修一・金子康子・桑原章吾

東邦大学医学部微生物学教室

新アミノ配糖体系抗菌薬である HBK の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用を gentamicin, dibekacin, amikacin, netilmicin と比較したような成績を得た。

1. HBK は他のアミノ配糖体系抗菌薬と同等の広域抗菌スペクトラム臨床分離株に対する抗菌力および殺菌作用が認められた。

2. GM 耐性 *P. inconstans*, *S. marcescens* および *P. aeruginosa* に対する HBK の抗菌力は GM, DKB および NTL より強く, AMK と同等であった。さらに GM, DKB, NTL, AMK, ASTM の多剤耐性 *P. inconstans*, *S. marcescens* および *P. aeruginosa* に対しても HBK は交叉耐性を示さなかった。

3. GM, DKB, AMK, NTL 耐性株を用いた *in vivo* 感染治療実験においても, HBK は優れた治療効果を示した。

HBK は明治製菓で開発された 1 位に aminohydroxybutyryl 基を有する dibekacin の新規誘導体で, 化学名は 6-O-(3-amino-3-deoxy- α -D-glucopyranosyl)-4-O-(2,6-diamino-2,3,4,6-tetradeoxy- α -D-erythro-hexopyranosyl)-1-N-[(S)-4-amino-2-hydroxybutyryl]-2-deoxy-D-streptamine sulfate で, 分子式および分子量は $C_{22}H_{44}N_6O_{10}$ 552.624 である。その構造式は Fig. 1 に示した。

本剤の特徴は, 従来のアミノ配糖体系抗菌薬にみられる腎毒性や聴器毒性が少なく, 細菌学的には Gram 陽性菌, Gram 陰性菌に広く抗菌力を示し, 特に, 他のアミノ配糖体系抗菌薬に耐性を示す菌株に対しても, 強い抗菌力を示し, その作用は殺菌的とされている¹⁾。

本報告は HBK の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用を gentamicin, dibekacin, amikacin, netilmicin²⁻⁴⁾ と比較検討した成績である。

I. 実験材料および実験方法

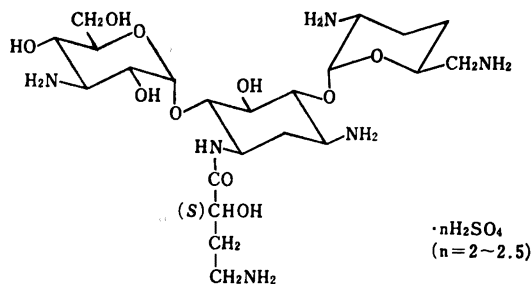
1. 使用菌株

実験に用いた菌株は, 教室保存株および臨床材料から分離された各種 Gram 陽性菌, Gram 陰性菌の多数株を用いた。

2. 薬剤

実験には HBK (700 μ g/mg, 明治製菓) を用い, 比較薬剤として Gentamicin (GM, 583 μ g/mg, 塩野義製薬), Dibekacin (DKB, 704 μ g/mg, 明治製菓), Amikacin (AMK, 699 μ g/mg, 萬有製薬), Netilmicin (NTL, 611 μ g/mg, エセックス日本), Sisomicin (SISO, 562 μ g/mg,

Fig. 1 Chemical structure of HBK



6-O-(3-Amino-3-deoxy- α -D-glucopyranosyl)-4-O-(2,6-diamino-2,3,4,6-tetradeoxy- α -D-erythro-hexopyranosyl)-1-N-[(S)-4-amino-2-hydroxybutyryl]-2-deoxy-D-streptamine sulfate

エセックス日本), Astromicin (ASTM, 607 μ g/mg, 協和発酵) を用いた。

3. 感受性測定法

日本化学療法学会で設定された MIC 測定法に準じた⁵⁾。

4. 殺菌作用

Heart infusion broth (HI broth) で一夜培養した *Escherichia coli* C11 株を同一培地に接種菌数が 10^6 cells/ml になったときに各抗菌薬を最終濃度 1/4 MIC, 1/2 MIC, 1 MIC, 2 MIC, 4 MIC になるように添加し, 37°C にて振盪培養した。

経時的 (薬剤添加後 1, 2, 4, 6, 9, 24 時間目) に菌液を採取し, 生菌数を測定した。本実験における (殺菌作用測定時) MIC は broth dilution method によって求め

Table 1 Antimicrobial spectra of HBK, GM, DKB, AMK and NTL

Organisms	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	HBK	GM	DKB	AMK	NTL
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	3.12	0.39	0.78	1.56	1.56
<i>S. aureus</i> 209-P	1.56	1.56	0.78	6.25	1.56
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19	0.39	≤ 0.19
<i>E. faecalis</i> TMS 1	>100	25	100	>100	50
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.39	≤ 0.19	0.39	0.78	0.39
<i>B. anthracis</i> TMS 1	3.12	1.56	3.12	6.25	1.56
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	1.56	1.56	12.5	6.25	12.5
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	25	12.5	12.5	50	6.25
<i>S. flexneri</i> 103R	1.56	0.78	0.78	6.25	1.56
<i>S. typhi</i> S60	1.56	0.78	0.78	3.12	0.39
<i>S. paratyphi</i> B 1	6.25	1.56	12.5	12.5	1.56
<i>S. enteritidis</i> M 11	12.5	1.56	6.25	6.25	3.12
<i>K. pneumoniae</i> IFO 3512	1.56	1.56	3.12	6.25	1.56
<i>P. mirabilis</i> ATCC 21100	12.5	6.25	12.5	50	6.25
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	6.25	6.25	3.12	12.5	3.12
<i>P. rettgeri</i> IFO 13501	3.12	1.56	3.12	3.12	3.12
<i>M. morgani</i> IFO 3848	12.5	12.5	12.5	50	12.5
<i>P. inconstans</i> IFO 12930	6.25	1.56	3.12	12.5	1.56
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	12.5	25	100	12.5	12.5
<i>S. marcescens</i> 16	12.5	3.12	25	12.5	50
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	6.25	6.25	3.12	12.5	12.5
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1.56	1.56	0.78	3.12	3.12
<i>P. fluorescens</i> ATCC 13525	1.56	1.56	0.78	1.56	1.56
<i>P. cepacia</i> ATCC 17759	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. maltophilia</i> IID-1167	50	25	25	>100	50
<i>P. putida</i> ATCC 17464	3.12	3.12	3.12	3.12	6.25
<i>A. calcoaceticus</i> NCTC 7844	3.12	1.56	3.12	6.25	3.12
<i>A. faecalis</i> NCTC 655	6.25	3.12	6.25	12.5	6.25
<i>A. xylosoxidans</i> TMS 73	>100	>100	>100	>100	>100
<i>F. meningosepticum</i> TMS 461	25	12.5	>100	25	50

inoculum size 10^8 cells/ml

た。

5. マウス実験感染に対する防御効果

ICR 系マウス, 雄, 4 週齡, 体重 19 ± 1 g, 1 群 6 匹を用い *Staphylococcus aureus* TMS 288, *Klebsiella pneumoniae* 14, *Serratia marcescens* 31, *Pseudomonas aeruginosa* P 121 を感染菌としてマウス腹腔内感染させ, 1 時間後抗菌薬を皮下投与した。マウスの生死を 5 日間観察, ED_{50} 値を Van der Waerden 法により算出した。

6. マウス血清中濃度測定

感染実験に用いたものと同条件のマウス 1 群 9 匹を用い, 抗菌薬を 0.5 mg/mouse, または 0.25 mg/mouse を 1 回皮下投与した。投与後経時的 (5 分, 15 分, 30 分, 1 時間および 2 時間後) に断頭採血した血液の一定量をプールし, 遠心により分離した血清中濃度を *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を用いた Cup 法で測定した。

II. 実験成績

1. 抗菌スペクトラム

各種 Gram 陽性菌 7 菌種 7 菌株, 陰性菌 21 菌種 23 菌株に対する HBK の接種菌量 10^8 cells/ml および 10^9 cells/ml での抗菌スペクトラムを Table 1, 2 に示した。

HBK は接種菌量 10^8 cells/ml において, 対照として用いた GM を含む 4 種の抗菌薬と同様, *E. faecalis* TMS 1, *P. cepacia* ATCC 17759 および *A. xylosoxidans* TMS 73 を除き, Gram 陽性菌および陰性菌に広い抗菌スペクトラムを示し, MIC は 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 以下であった。

その抗菌力は DKB, AMK, NTL とほぼ同程度で GM より約 1 管弱かった。

2. 臨床分離株の感受性分布

臨床材料から分離した *Staphylococcus aureus* 20 株, *Staphylococcus epidermidis* 14 株, *Enterococcus faecalis* 20 株, *Streptococcus pyogenes* 20 株, *Escherichia*

Table 2 Antimicrobial spectra of HBK, GM, DKB, AMK and NTL

Organisms	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	HBK	GM	DKB	AMK	NTL
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0.39	≤ 0.19	0.39	1.56	1.56
<i>S. aureus</i> 209-P	0.39	0.39	0.39	1.56	0.39
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19
<i>E. faecalis</i> TMS 1	100	25	100	>100	25
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19	0.39	≤ 0.19
<i>B. anthracis</i> TMS 1	3.12	1.56	3.12	3.12	1.56
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	0.39	0.78	3.12	3.12	0.78
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	3.12	1.56	3.12	3.12	1.56
<i>S. flexneri</i> 103R	1.56	0.39	1.56	3.12	1.56
<i>S. typhi</i> S60	0.78	0.39	3.12	1.56	0.39
<i>S. paratyphi</i> B 1	3.12	1.56	3.12	6.25	1.56
<i>S. enteritidis</i> M 11	1.56	0.39	1.56	1.56	1.56
<i>K. pneumoniae</i> IFO 3512	0.78	0.39	0.78	1.56	0.78
<i>P. mirabilis</i> ATCC 21100	3.12	1.56	3.12	6.25	1.56
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	1.56	0.39	0.78	1.56	0.78
<i>P. rettgeri</i> IFO 13501	3.12	0.39	12.5	1.56	6.25
<i>M. organii</i> IFO 3848	6.25	1.56	12.5	3.12	6.25
<i>P. inconstans</i> IFO 12930	1.56	0.78	0.78	3.12	1.56
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	3.12	1.56	12.5	6.25	12.5
<i>S. marcescens</i> 16	6.25	1.56	12.5	6.25	12.5
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	3.12	1.56	3.12	6.25	6.25
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	0.78	0.78	0.78	1.56	1.56
<i>P. fluorescens</i> ATCC 13525	0.78	0.39	0.39	0.39	0.39
<i>P. cepacia</i> ATCC 17759	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. maltophilia</i> IID-1167	25	12.5	12.5	50	6.25
<i>P. putida</i> ATCC 17464	0.78	0.39	0.39	0.78	0.39
<i>A. calcoaceticus</i> NCTC 7844	1.56	0.78	1.56	3.12	1.56
<i>A. faecalis</i> NCTC 655	3.12	1.56	3.12	6.25	1.56
<i>A. xylosoxidans</i> TMS 73	>100	>100	>100	>100	>100
<i>F. meningosepticum</i> TMS 461	6.25	3.12	6.25	3.12	6.25

inoculum size 10^8 cells/ml

coli 20 株, *Klebsiella pneumoniae* 20 株, *Klebsiella oxytoca* 10 株, *Proteus mirabilis* 20 株, *Proteus vulgaris* 20 株, *Morganella organii* 20 株, *Proteus rettgeri* 20 株, *Proteus inconstans* 20 株, *Citrobacter freundii* 7 株, *Serratia marcescens* 35 株, *Pseudomonas aeruginosa* 78 株, *Pseudomonas cepacia* 12 株, *Pseudomonas maltophilia* 20 株, *Acinetobacter calcoaceticus* 20 株, *Alcaligenes faecalis* 9 株, *Achromobacter xylosoxidans* 20 株, *Flavobacterium meningosepticum* 7 株の計 432 株について接種菌量 10^8 , 10^6 cells/ml における各抗菌力の成績を Fig. 2~23 に示した。

S. aureus は 10^8 cells/ml 接種において HBK により全株 6.25 $\mu\text{g/ml}$, 10^6 cells/ml の場合, 全株 1.56 $\mu\text{g/ml}$ 以下で発育が阻止された。HBK の抗菌力は DKB, NTL とほぼ同程度で GM に比べやや弱い, AMK より優れていた (Fig. 2)。

S. epidermidis の場合, HBK の MIC 分布は 10^8 cells/ml 接種で 0.39~3.12 $\mu\text{g/ml}$, 10^6 cells/ml 接種では 0.19~0.78 $\mu\text{g/ml}$ であり, HBK の抗菌力は GM, DKB, NTL よりやや弱い, AMK より強いことが認められた (Fig. 3)。

S. pyogenes に対する 10^8 cells/ml および 10^6 cells/ml 接種における HBK の MIC ピークはそれぞれ 25 $\mu\text{g/ml}$, 6.25 $\mu\text{g/ml}$ であり, GM に比べ 1~2 管大きい, DKB と同程度で AMK より小さい値であった (Fig. 4)。

HBK の *E. faecalis* に対する抗菌力は, 他の 4 剤と同様, 50 $\mu\text{g/ml}$ 以上に分布した (Fig. 5)。

E. coli の接種菌量 10^8 cells/ml において, MIC が 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 以下に分布する割合は HBK 100%, GM 100%, DKB 80%, AMK 75%, NTL 100% であった (Fig. 6)。

K. pneumoniae に対する HBK の 10^8 cells/ml, 10^6 cells/ml 接種時における MIC のピークはそれぞれ 1.56

Fig. 4 Sensitivity distribution of clinical isolates

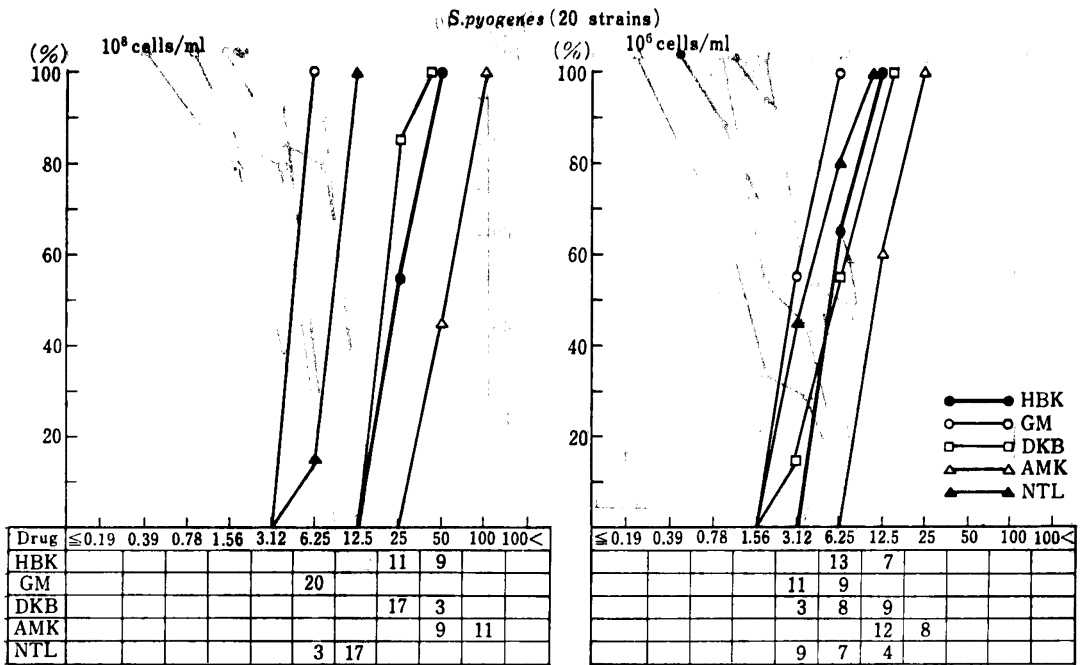


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates

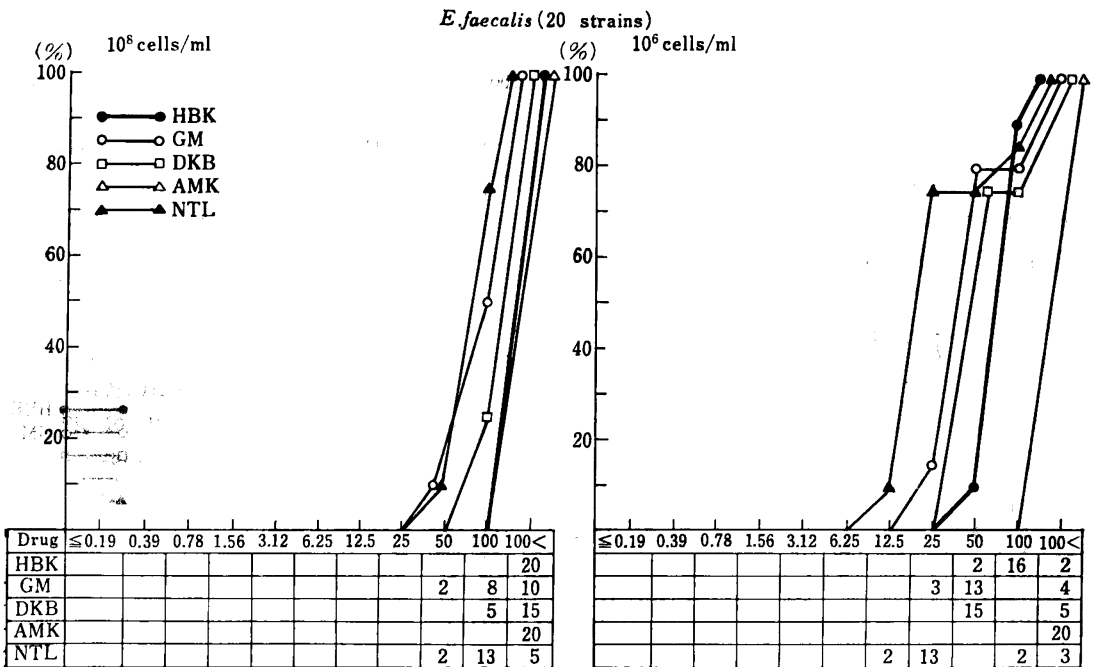


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates

E. coli (20 strains)

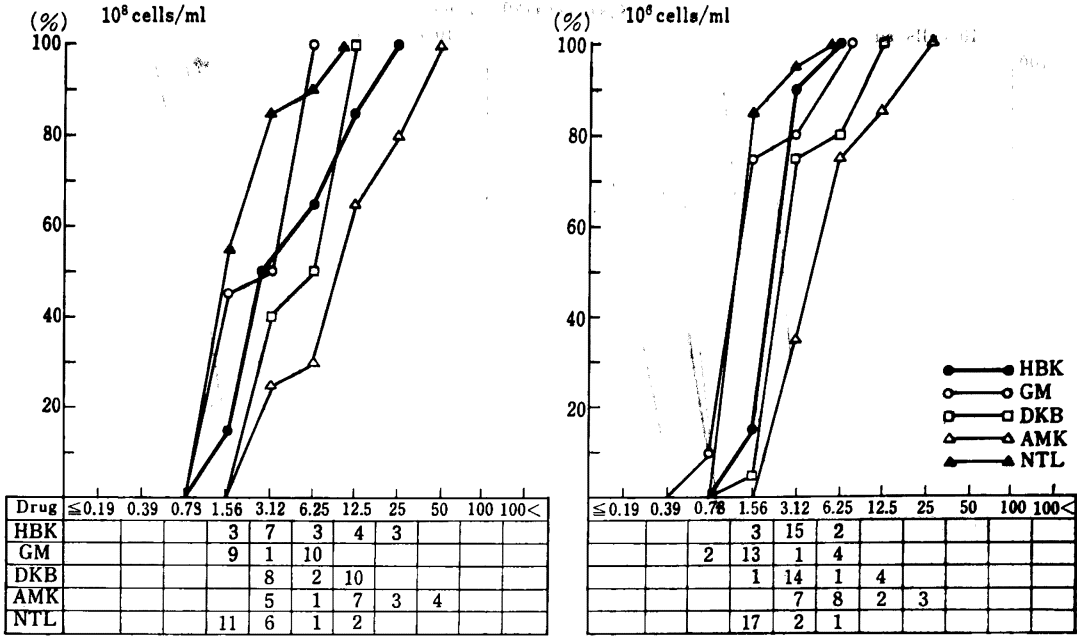


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates

K. pneumoniae (20 strains)

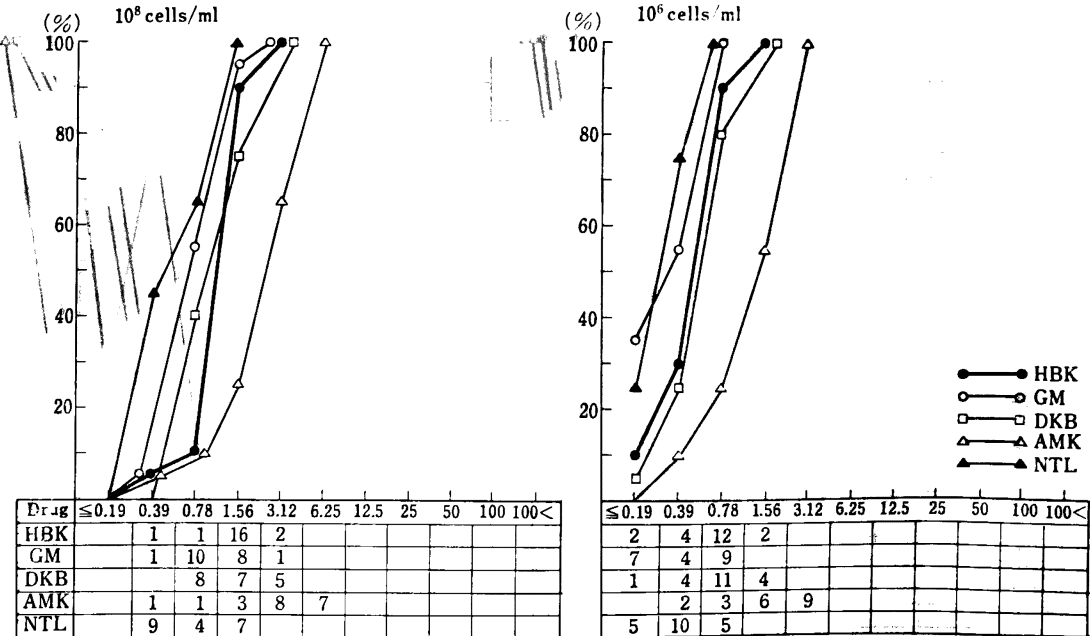
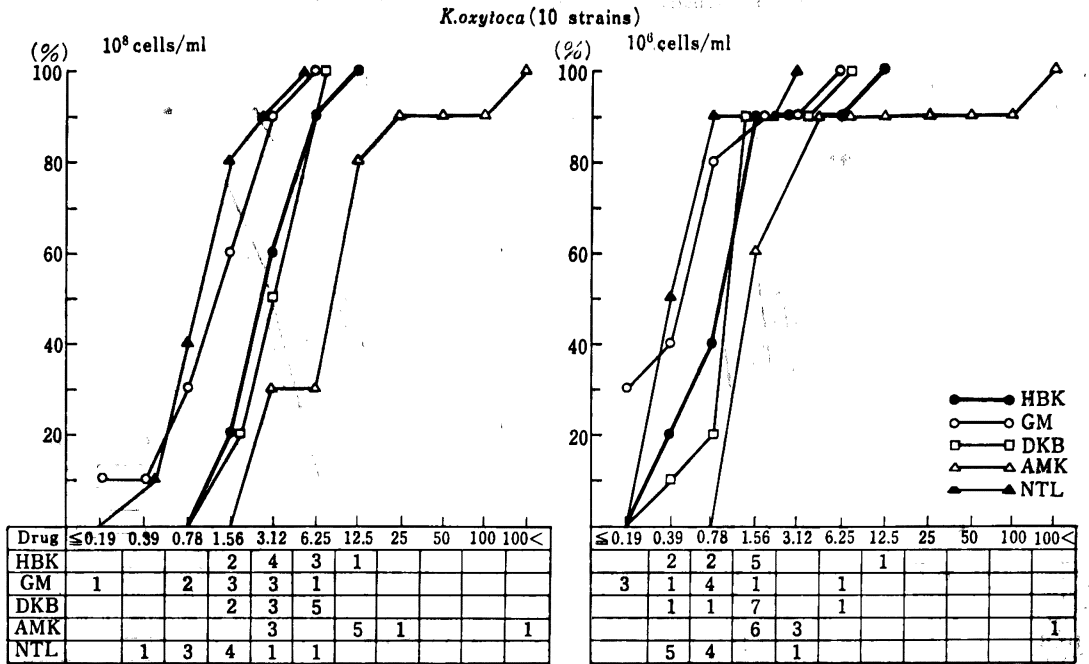


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates



µg/ml~0.78 µg/ml であり、他剤との比較では HBK は GM, DKB, NTL と同等の抗菌力を示し、すぐれた抗菌力を示した (Fig. 7)。

K. oxytoca では検討した株数は少ないが、HBK の抗菌力は NTL, GM より 1~2 管弱いが、DKB と同等の抗菌力を示した (Fig. 8)。

HBK の *P. mirabilis* に対する 10⁶ cells/ml 接種における MIC は 3.12~25 µg/ml に分布し、AMK と同等、GM, DKB, NTL より弱い抗菌力を示した (Fig. 9)。

P. vulgaris, *M. morgani*, *P. rettgeri* に対する HBK の MIC 分布は 10⁶ cells/ml 接種で、1.56~50 µg/ml, 10⁶ cells/ml 接種で 0.78~25 µg/ml を示し、その抗菌力は GM, DKB, AMK, NTL と同程度であった。また *P. rettgeri* では 10⁶ cells/ml 接種において、GM, DKB, NTL に対し 100 µg/ml 以上の MIC を示す耐性株が数株認められた。HBK は全株 25 µg/ml 以下で発育を阻止した (Fig. 10~12)。

P. inconstans の場合、10⁶ cells/ml 接種において、HBK の MIC 分布は 1.56~>100 µg/ml と幅広く分布した。HBK に対し 100 µg/ml 以上を示す株は 2 株であるが、GM, DKB および NTL では 7~8 株存在する (Fig. 13)。

C. freundii では菌株数が少ないが、10⁶ cells/ml 接種における HBK の MIC 分布は 25 µg/ml 以下であるの

に対し、GM, DKB, AMK, NTL では、50 µg/ml 以上を示す株が 3~6 株存在した (Fig. 14)。

DKB の MIC が 10⁶ cells/ml 接種で 25 µg/ml 以上を示す *S. marcescens* の場合、HBK が 12.5 µg/ml 以下の MIC を示す株は 22.8% 認められ、NTL の 14.3% に比べ抗菌力が強いが、GM では 51.4%、AMK では 25.7% で、これらの 2 剤に比べ弱いことが認められた (Fig. 15)。

GM に対し 10⁶ cells/ml 接種時の MIC が 25 µg/ml 以上を示す *P. aeruginosa* に対し、HBK の MIC ピークは 25 µg/ml ではほぼ AMK と同程度であった。GM, DKB, NTL では 50 µg/ml 以上の耐性菌は、菌株の約 80% 以上に認められたが、HBK では約 18% であった (Fig. 16)。

P. cepacia に対し各抗菌薬とも抗菌力が弱く約 90% 以上の株が 25 µg/ml 以上の耐性株であった (Fig. 17)。

P. maltophilia に対する HBK の MIC 分布は 1.56~>100 µg/ml と幅広い分布を示し、他の抗菌薬と同程度であった。しかし 50 µg/ml 以上の耐性株は、GM, DKB, AMK, NTL では 70~80% を示した。HBK では 50% であった (Fig. 18)。

A. calcoaceticus の場合、10⁶ cells/ml 接種で HBK の MIC ピークは 0.39 µg/ml と小さく、他剤に比べやや強い抗菌力を示した (Fig. 19)。

Fig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates

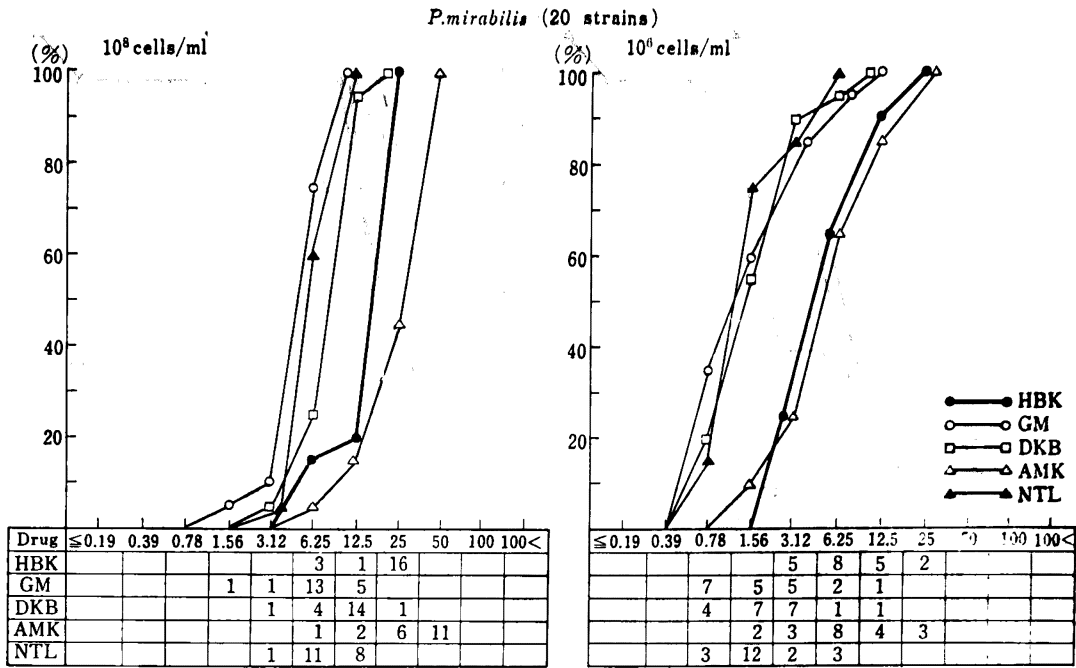


Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates

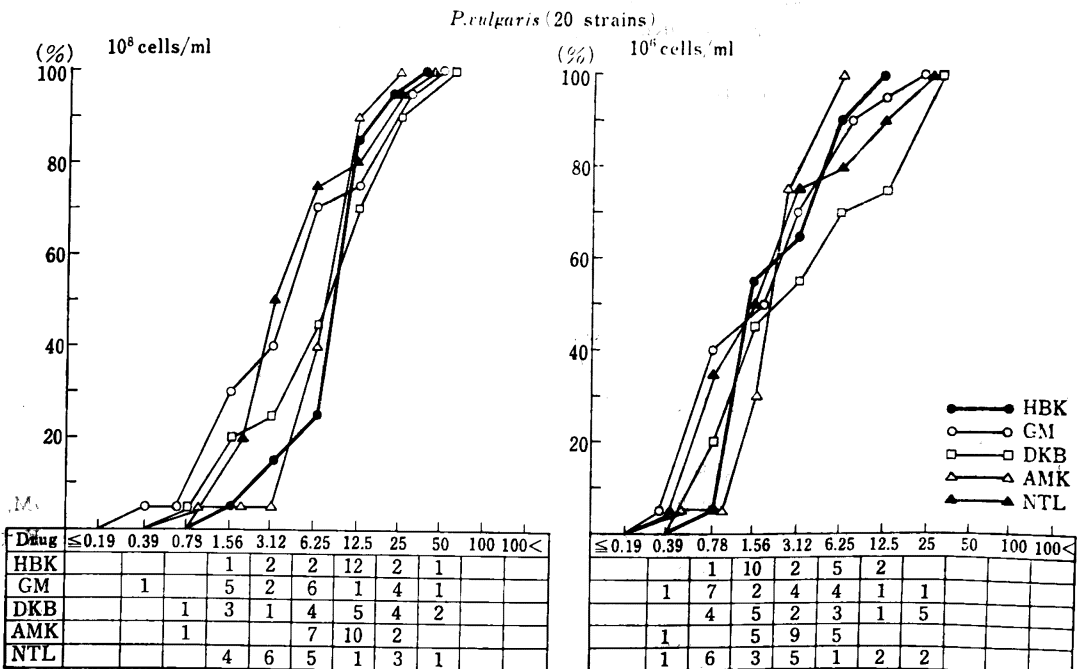


Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates

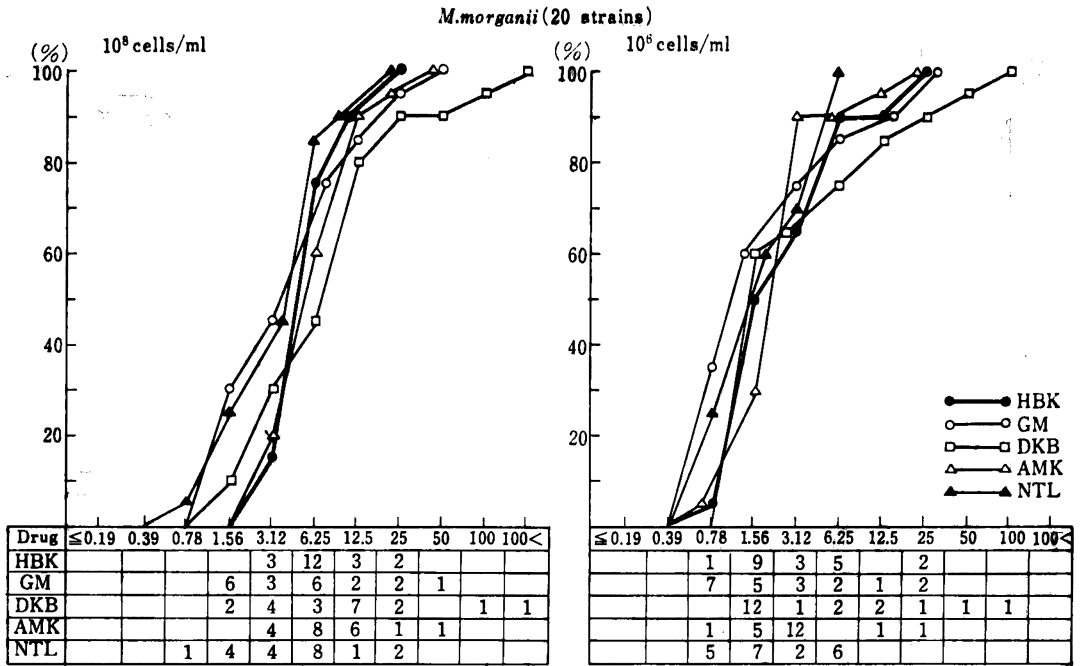


Fig. 12 Sensitivity distribution of clinical isolates

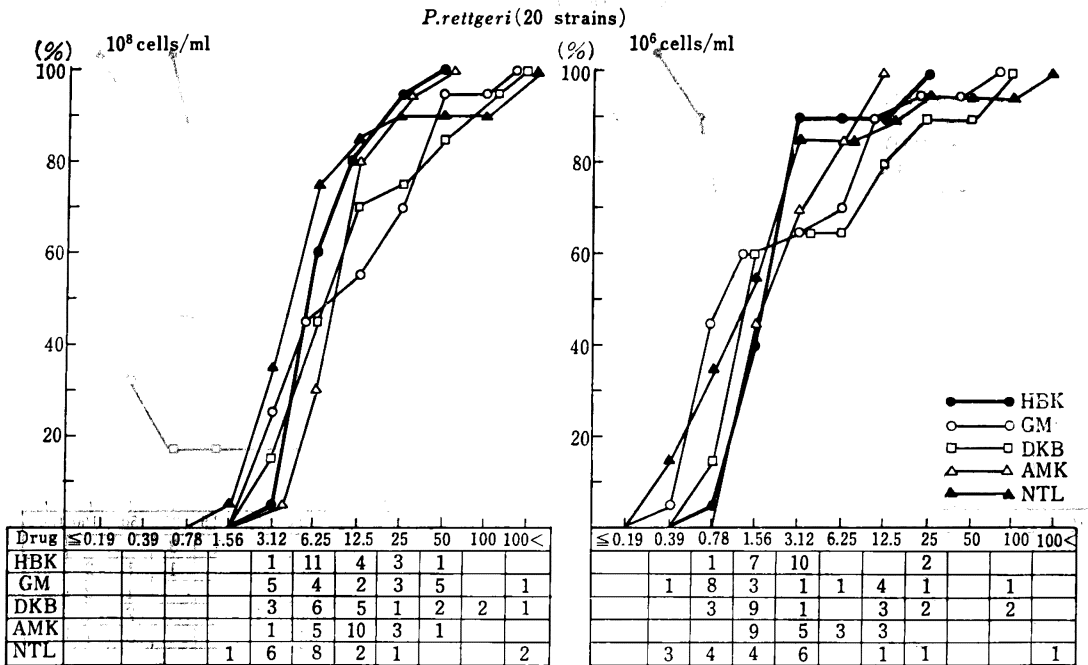


Fig 13 Sensitivity distribution of clinical isolates

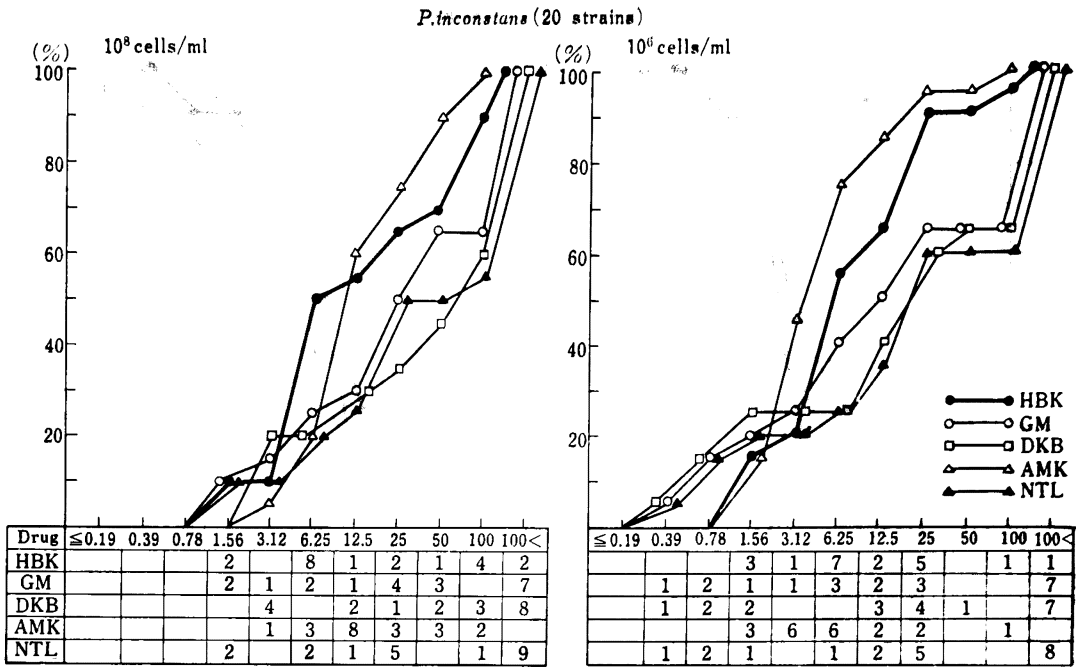


Fig.14 Sensitivity distribution of clinical isolates

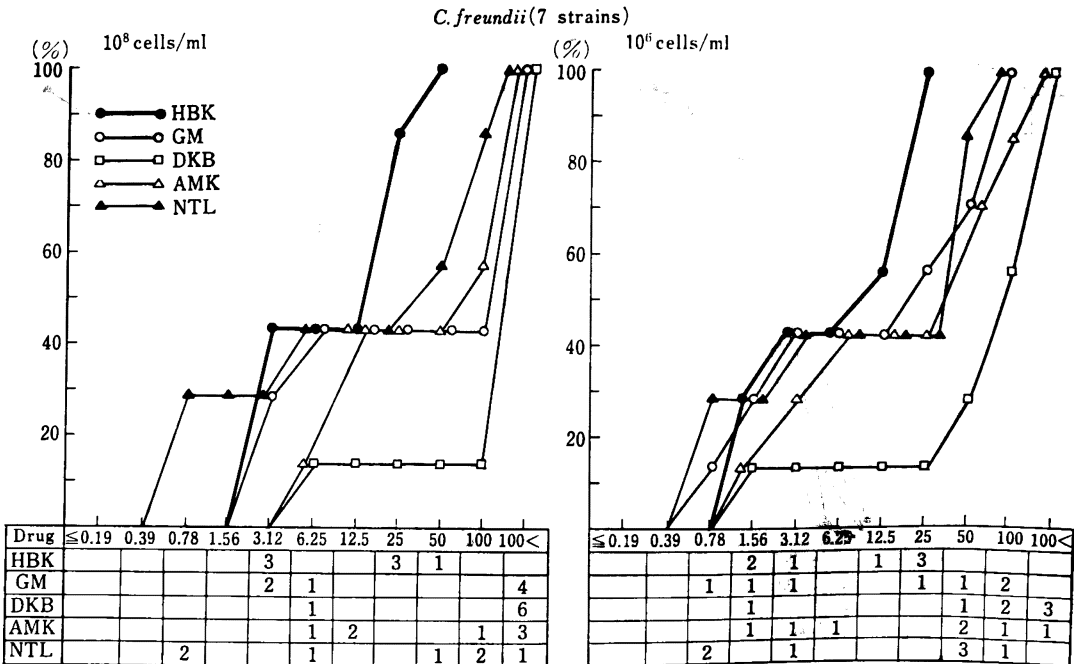


Fig. 15 Sensitivity distribution of clinical isolates

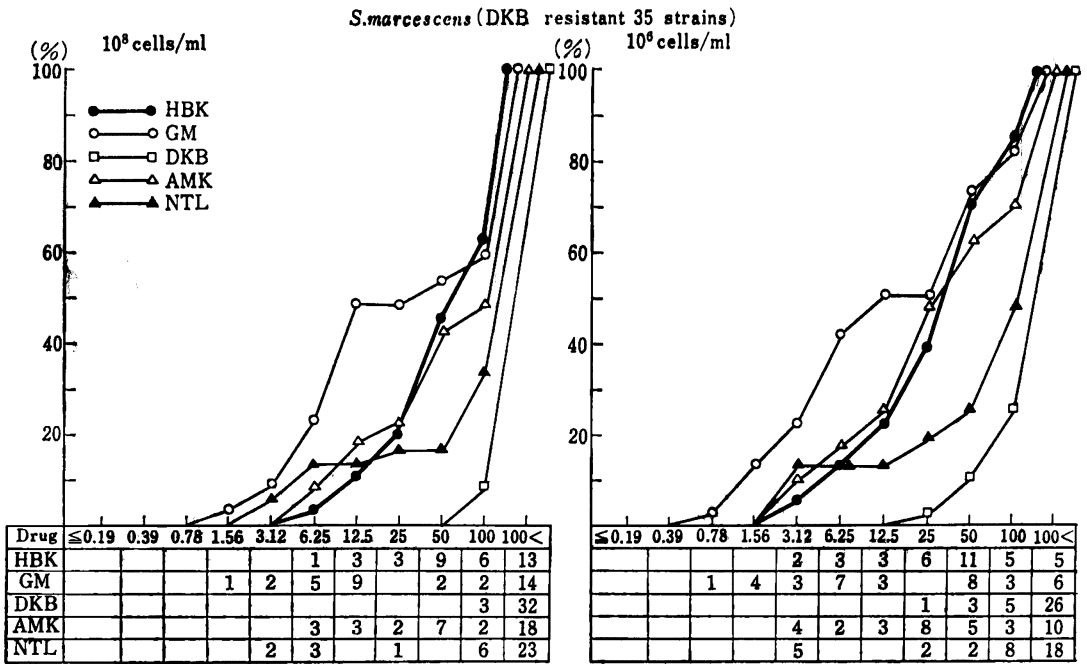


Fig. 16 Sensitivity distribution of clinical isolates

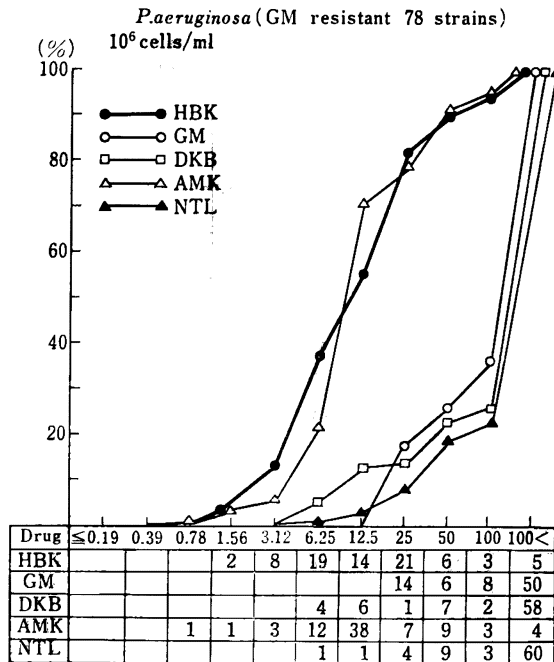


Fig. 17 Sensitivity distribution of clinical isolates

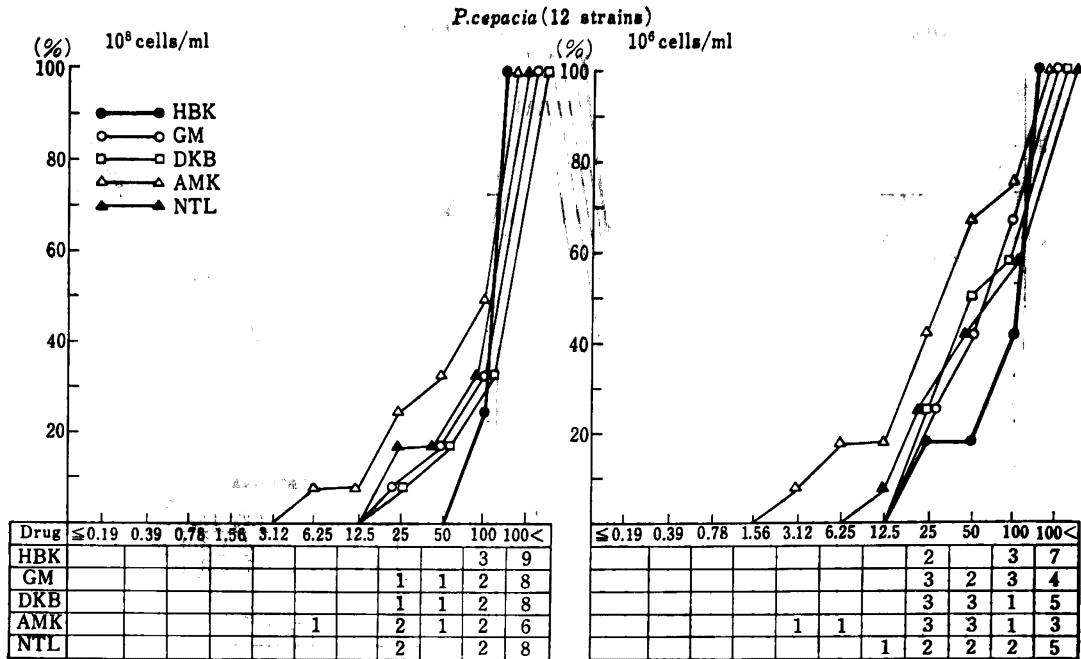


Fig. 18 Sensitivity distribution of clinical isolates

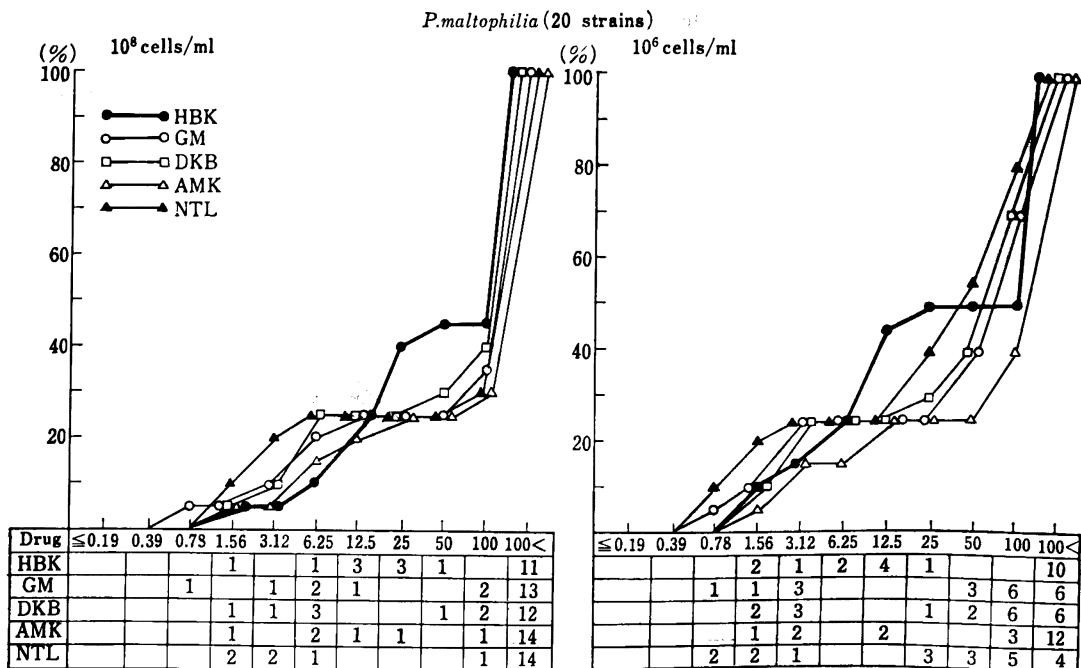


Fig.19 Sensitivity distribution of clinical isolates

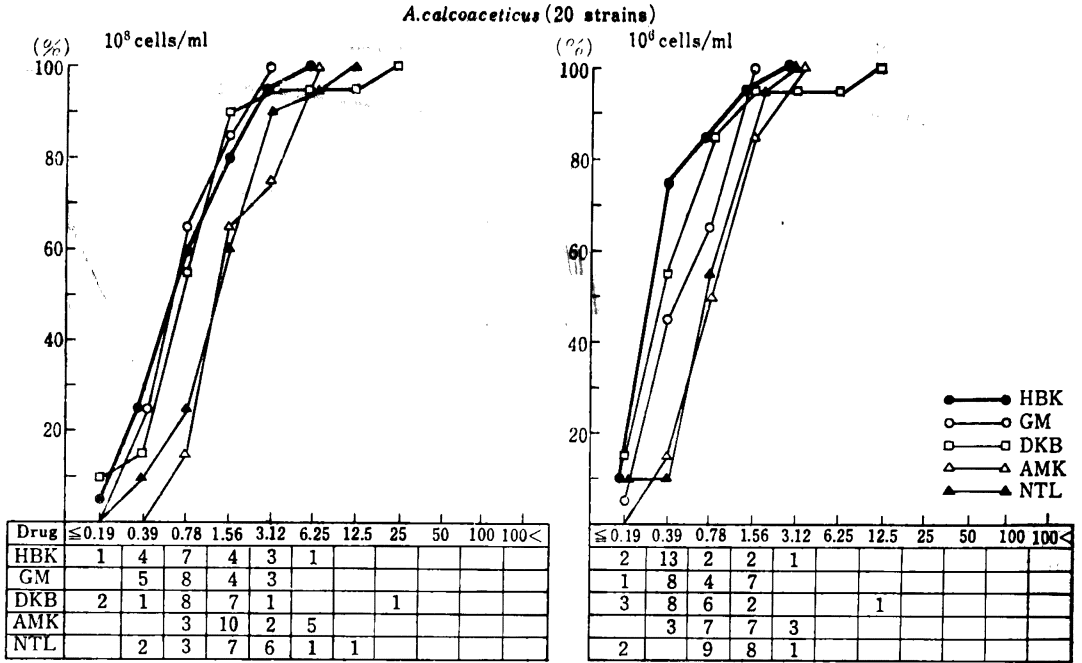


Fig.20 Sensitivity distribution of clinical isolates

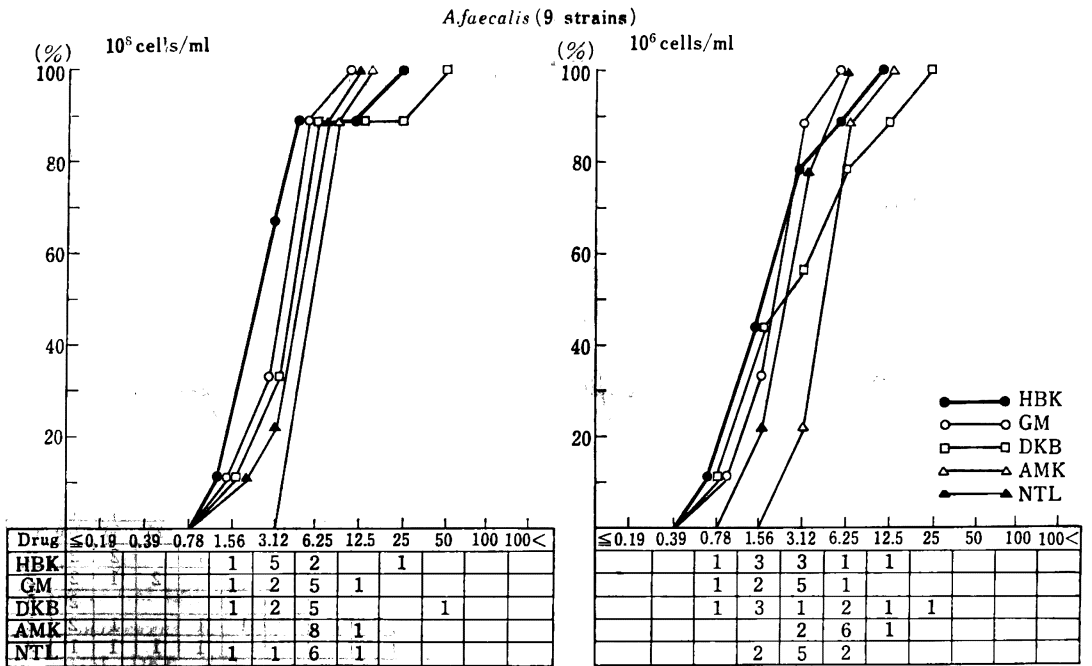


Fig. 21 Sensitivity distribution of clinical isolates

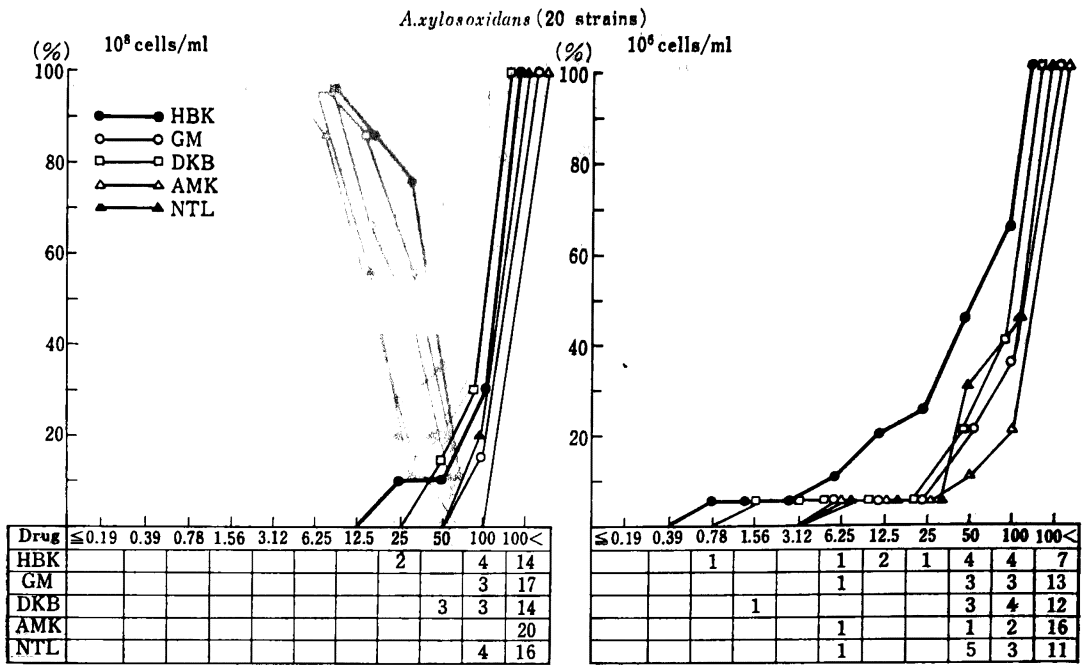


Fig. 22 Sensitivity distribution of clinical isolates

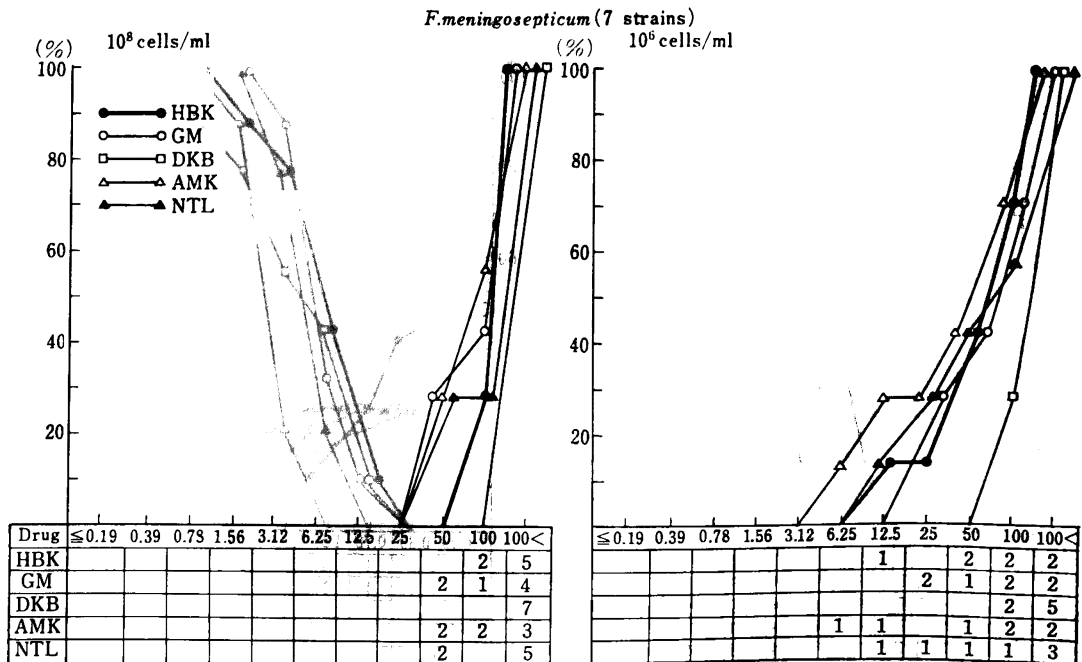
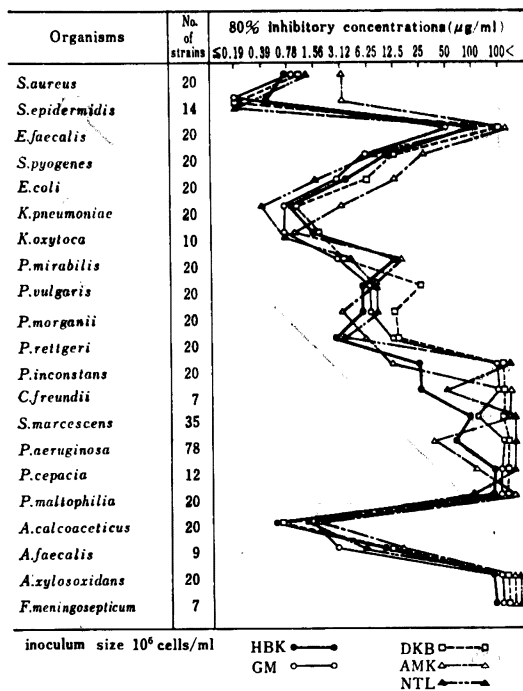


Fig. 23 MIC₈₀ of HBK, GM, DKB, AMK and NTL against clinical isolates



A. faecalis では菌株は9株と少ないが、10⁶ cells/ml 接種での HBK の MIC 分布は 0.78~12.5 μg/ml で GM, DKB, NTL とほぼ同じであり、AMK より小さい MIC を示した (Fig. 20)。

A. xylosoxidans, *F. meningosepticum* の場合、HBK は GM, DKB, NTL, AMK と同様抗菌力が弱く、90% 以上の株が 25 μg/ml 以上の耐性株であった (Fig. 21, 22)。

3. 臨床分離株に対する HBK の MIC₈₀

検討した 21 菌種 432 菌株に対する HBK の MIC₈₀ (菌株の 80% を阻止する濃度) を他剤のそれと比較した成績を Fig. 23 に示した。

HBK では MIC₈₀ が 3.12 μg/ml 以下を示す菌種に、*S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. rettgeri*, *A. calcoaceticus* があり、6.25~12.5 μg/ml を示す菌種には、*S. pyogenes*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *M. morgani*, *A. faecalis*, また 100 μg/ml 以上を示す菌種には、*E. faecalis*, *S. marcescens*, *P. cepacia*, *P. maltophilia*, *A. xylosoxidans*, *F. meningosepticum* があった。

4. 感受性相関

臨床分離の GM 耐性 (MIC: ≥25 μg/ml) *P. inconstans*, *S. marcescens* および *P. aeruginosa* について HBK と GM, DKB, NTL との感受性相関を調べた成

績を Fig. 24~26 に示した。

GM に対し 25 μg/ml 以上の MIC を示す *P. inconstans* 54 株に対し、HBK は GM, DKB, NTL 耐性株 (MIC 25 μg/ml 以上) に対しても抗菌力を示す株が多いが、AMK との相関性においては逆に HBK に耐性を示す株に AMK が抗菌力を示した菌株が多かった (Fig. 24)。

GM に対し 25 μg/ml 以上の MIC を示す *S. marcescens* 36 株では、HBK は GM, DKB, NTL より強い抗菌力を示し、各々の耐性株に対しても HBK は抗菌力を示した。しかし AMK との相関では、菌株の 66.7% に相関が認められたが、HBK 耐性株 (MIC 25 μg/ml 以上) に対し AMK の抗菌力が認められた (Fig. 25)。

GM の MIC が 25 μg/ml 以上を示す *P. aeruginosa* 76 株の場合、GM, DKB および NTL 耐性株に対し HBK は抗菌力を示した。AMK との相関性は菌株の 92% に認められた (Fig. 26)。

5. 耐性パターン

アミノ配糖体系抗菌薬 8 種のいずれかに対して MIC 25 μg/ml 以上の耐性を示す *P. inconstans*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa* について耐性パターンを調べた成績を Fig. 27~29 に示した。

P. inconstans 58 株では、8 剤すべてに耐性を示す株が 15.5% にみられた。最も多い耐性パターンは GM, DKB, TOB, SISO, NTL, HBK の 6 剤耐性の 27.6% で、ついで GM, DKB, TOB, SISO, NTL 5 剤耐性の 24% であった。耐性パターンは 14 種に分類できたが、HBK 耐性はそのうち 7 種に認められた (Fig. 27)。

S. marcescens 95 株に対する耐性パターンで最も多いのは、DKB, TOB, AMK, SISO, NTL の 5 剤耐性で 25.3%、ついで GM, DKB, TOB, SISO の 4 剤耐性の 17.9% であった。これらの耐性株に HBK は耐性を示さなかった。総計 25 種の耐性パターンがみられたが、そのうち 12 種に HBK 耐性がみられた (Fig. 28)。

P. aeruginosa 112 株では、GM, DKB, TOB, SISO, NTL, ASTM の 6 剤耐性株が最も多く 29.5% であった。この耐性株に HBK は耐性を示さなかった (Fig. 29)。

6. 殺菌作用

E. coli C11 株を試験菌株として HBK の殺菌作用を調べた成績を Fig. 30 に示した。

HBK は 2 MIC (1.56 μg/ml) および 4 MIC (3.12 μg/ml) の添加で著明な菌数の減少が認められた。1 MIC (0.78 μg/ml) 添加量では、添加 4 時間以降より再増殖がみられた。他の抗菌薬でもほぼ同様な傾向が認められた。

7. マウス実験感染における防御効果

1) Methicillin 耐性 *S. aureus* 感染 (Table 3)

Fig. 24 Sensitivity correlogram of resistant strains

a) *Pinconstans* 54 strains (GM resistant strain: $\geq 25 \mu\text{g/ml}$)

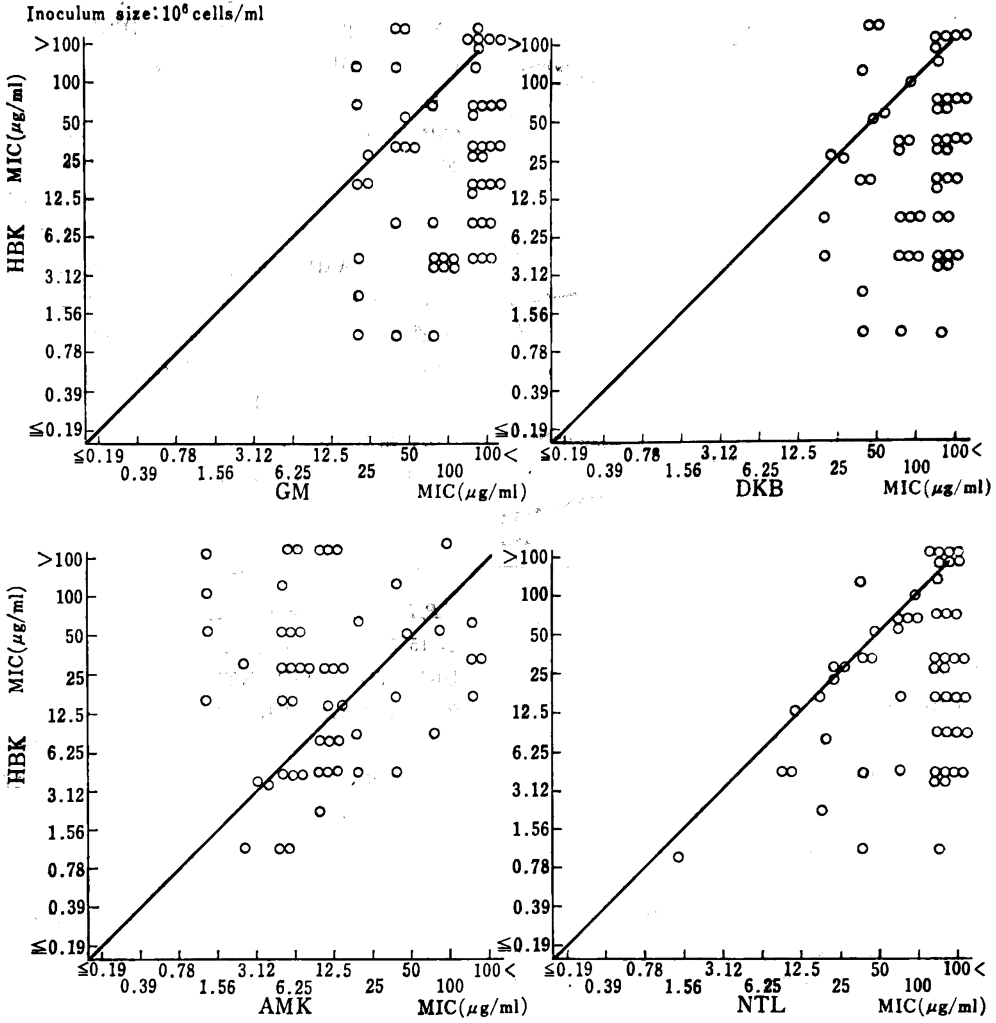


Fig. 25 Sensitivity correlogram of resistant strains

b) *S.marcescens* 36 strains (GM resistant strain: $\geq 25 \mu\text{g/ml}$)

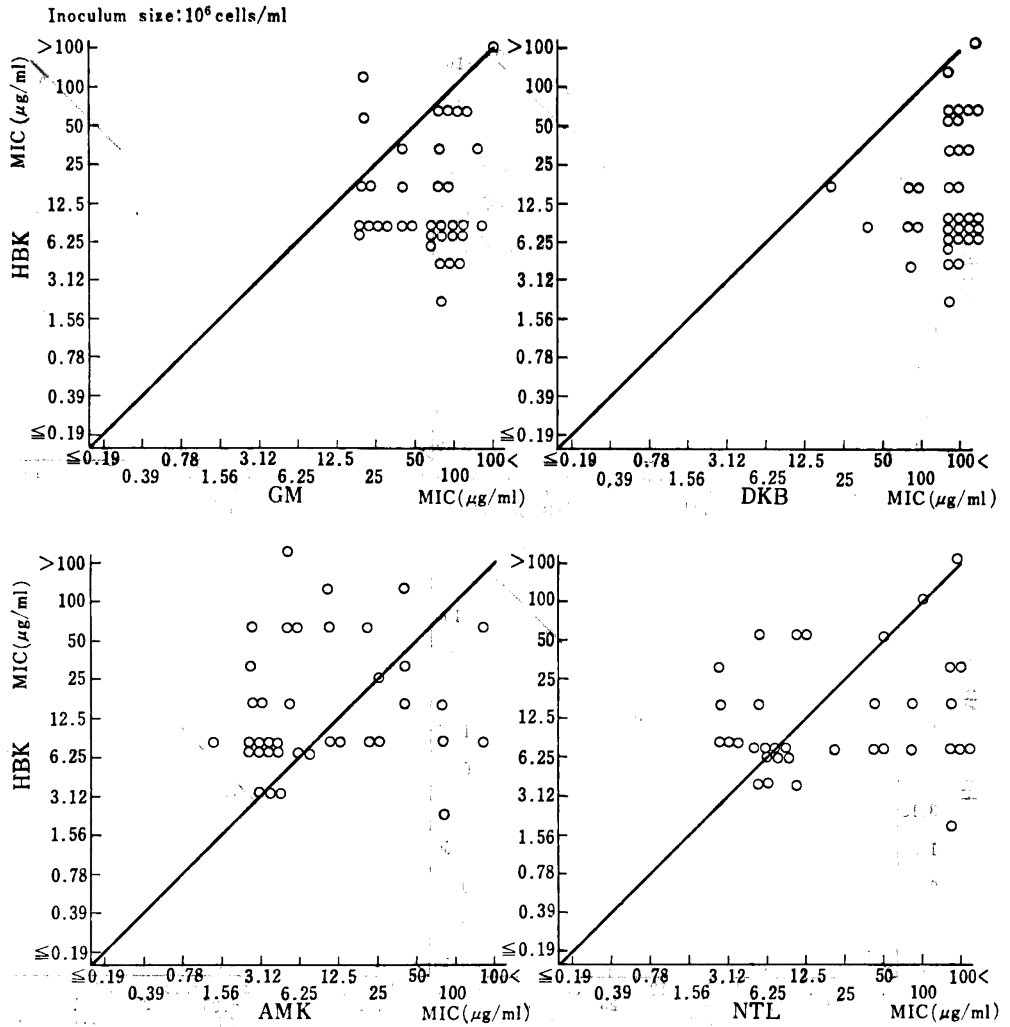


Fig.26 Sensitivity correlogram of resistant strains

c) *P.aeruginosa* 76 strains (GM resistant strain : $\geq 25\mu\text{g/ml}$)

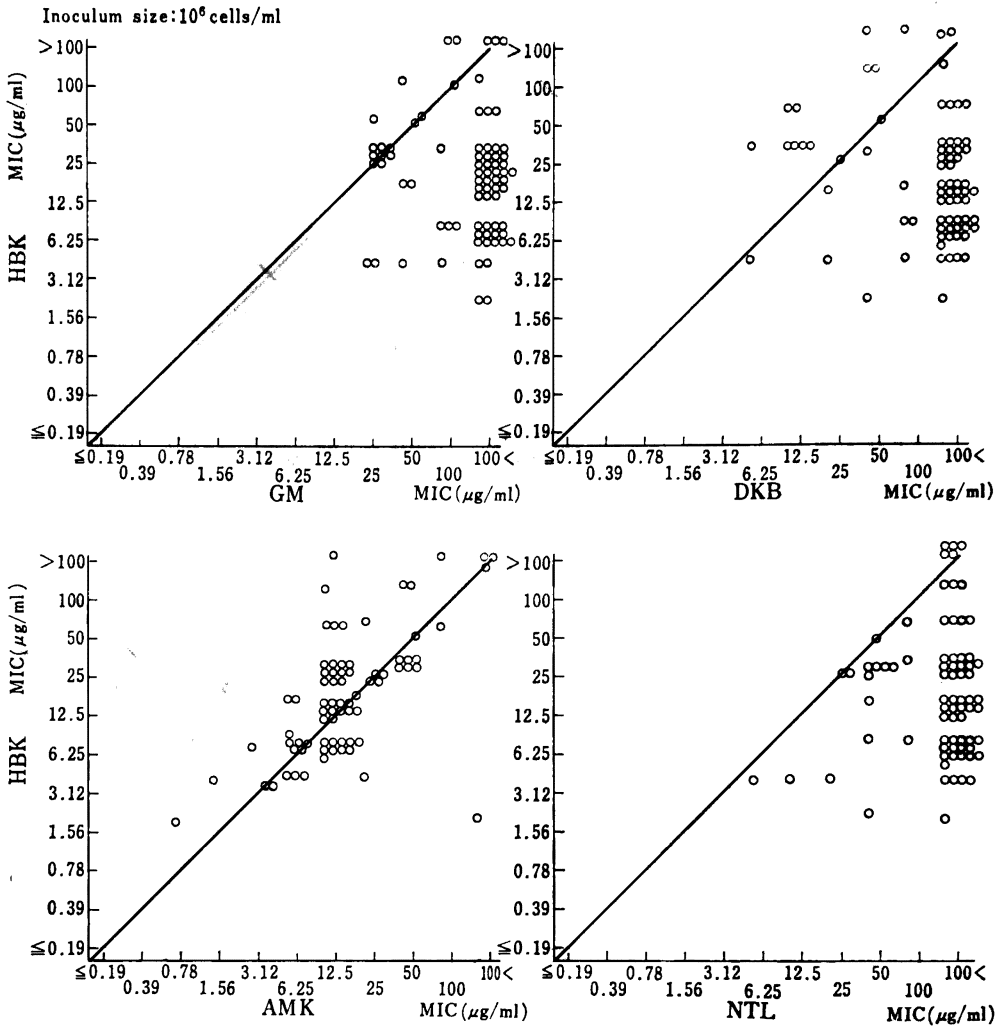


Fig. 27 Resistance patterns to aminoglycosides in *P. inconstans* (58 strains)

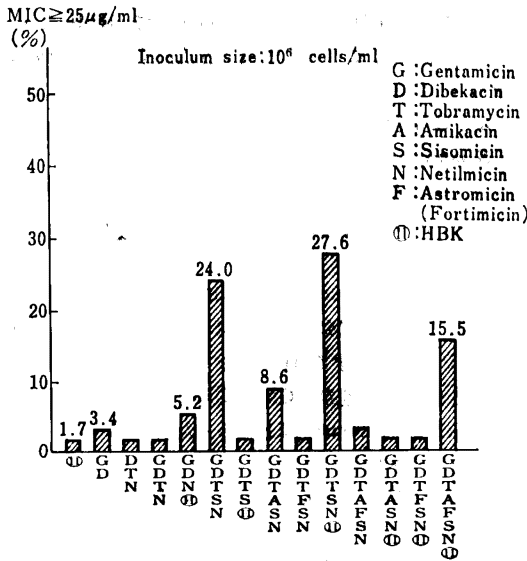


Fig. 28 Resistance patterns to aminoglycosides in *S. marcescens* (95 strains)

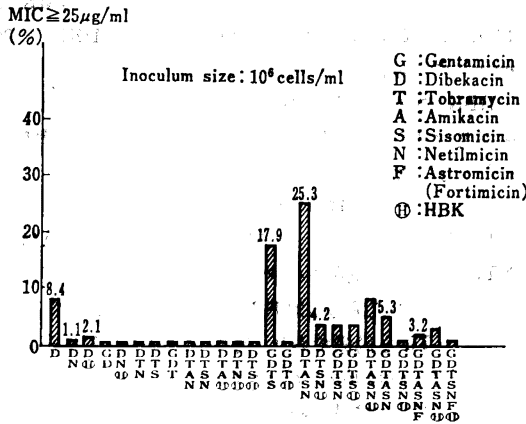


Fig. 29 Resistance patterns to aminoglycosides in *P. aeruginosa* (112 strains)

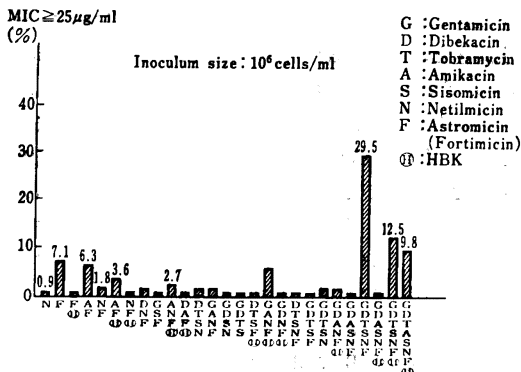


Fig. 30 Bactericidal activity of aminoglycosides against *E. coli* C 11

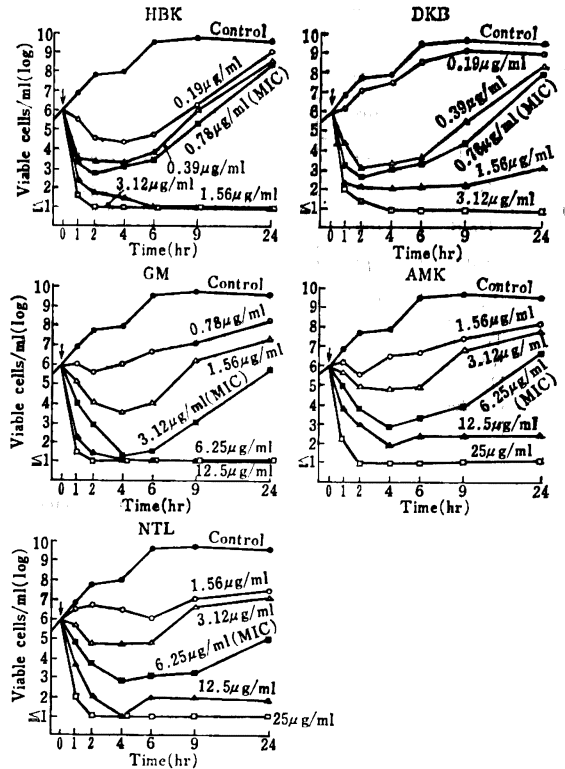


Table 3 Protecting effect of HBK against mice infected with a methicillin resistant *S. aureus*
Test strain: *S. aureus* TMS 288
(Methicillin resistant strain)

Drug	MIC (μg/ml)		ED ₅₀ (mg/mouse)
	10 ⁴	10 ⁶	
HBK	3.12	1.56	0.10 (0.06-0.14)
GM	>100	100	> 2
DKB	100	100	> 2
AMK	50	50	> 2
NTL	100	100	> 2

Test strain MLD: 5% mucin (+) 3×10⁶ cells/mouse
Administration : S.C. 1hr. after infection
Mice : ICR strain 4W ♂ (19±1g)
Challenge dose : 3×10⁶ cells/mouse
Mucin : 5%

GM, DKB, AMK, NTL に耐性を示す *inconstans* TMS 288 株に対し, HBK は感性を示し, 他の薬剤の治療効果は無効にもかかわらず, HBK の ED₅₀ は 0.10 mg/mouse を示した。

2) *K. pneumoniae* 感染 (Table 4)

DKB, NTL に耐性を示す *K. pneumoniae* 14 を感

Table 4 Protecting effect of HBK against mice infected with a DKB and NTL resistant strain of *K. pneumoniae*

Test strain: *K. pneumoniae* 14

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ (mg/mouse)
	10 ^a	10 ^b	
HBK	25	12.5	0.50 (0.36-0.68)
GM	50	12.5	0.79 (0.63-1.00)
DKB	>100	100	> 2
AMK	12.5	6.25	0.31 (0.25-0.40)
NTL	100	25	> 2

Test strain MLD: 5% mucin (+) 1.9×10^8 cells/mouse
 Administration: S.C. 1 hr. after infection
 Mice: ICR strain 4W ♀ (19±1g)
 Challenge dose: 2×10^8 cells/mouse
 Mucin: 5%

Table 5 Protecting effect of HBK against mice infected with a NTL and DKB resistant strain of *S. marcescens*

Test strain: *S. marcescens* 31

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ (mg/mouse)
	10 ^a	10 ^b	
HBK	50	12.5	0.50 (0.36-0.68)
GM	3.12	1.56	0.07 (0.05-0.11)
DKB	100	50	> 2
AMK	25	12.5	0.63 (0.47-0.84)
NTL	100	100	> 2

Test strain MLD: 5% mucin (+) 7.5×10^7 cells/mouse
 Administration: S.C. 1 hr. after infection
 Mice: ICR strain 4W ♀ (19±1g)
 Challenge dose: 1.4×10^8 cells/mouse
 Mucin: 5%

Table 6 Protecting effect of HBK against mice infected with a multiple resistant strain of *P. aeruginosa*

Test strain: *P. aeruginosa* P121

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ (mg/mouse)
	10 ^a	10 ^b	
HBK	6.25	3.12	0.25 (0.16-0.37)
GM	>100	>100	> 2
DKB	>100	>100	> 2
AMK	>100	50	> 2
NTL	50	25	> 2

Test strain MLD: 5% mucin (+) 5×10^4 cells/mouse
 Administration: S.C. 1 hr. after infection
 Mice: ICR strain 4W ♀ (19±1g)
 Challenge dose: 4×10^5 cells/mouse
 Mucin: 5%

染菌としたときの HBK の ED₅₀ は 0.50 mg/mouse で GM, DKB, NTL のそれより小さい値であった。しかし AMK の ED₅₀ は 0.31 mg/mouse で、HBK よりやや優れていた。これらの成績は各抗菌薬の *in vitro* における MIC 値と相関していた。

3) *S. marcescens* 感染 (Table 5)

S. marcescens 31 を感染菌としたとき、HBK の ED₅₀ は 0.50 mg/mouse で AMK の場合とほぼ同程度の効果を示し、*in vitro* 抗菌力の最も強い GM が最も優れた治療効果を示した。

4) *P. aeruginosa* 感染 (Table 6)

GM, DKB, AMK, NTL 4 剤耐性である *P. aeruginosa* P121 に対する HBK の ED₅₀ は 0.25 mg/mouse であるのに対し他剤 (GM, DKB, AMK, NTL) の ED₅₀ は 2 mg/mouse 以上であった。

8. マウス血清中濃度

HBK, GM, DKB, AMK, NTL をそれぞれ、0.5 mg/mouse, 0.25 mg/mouse を皮下投与したマウス血清中濃度成績を Fig. 31 に示した。

5 剤とも 0.5 mg/mouse 投与において、投与後 15 分値が最も高く、HBK で 27 $\mu\text{g/ml}$ を示したが、AMK で 42 $\mu\text{g/ml}$, GM 37 $\mu\text{g/ml}$, NTL 32 $\mu\text{g/ml}$, DKB は 30 $\mu\text{g/ml}$ であった。

HBK のピーク値は他剤より低いが、1 時間後の血清中濃度は GM, DKB より高く、AMK, NTL と同程度の値を示した。

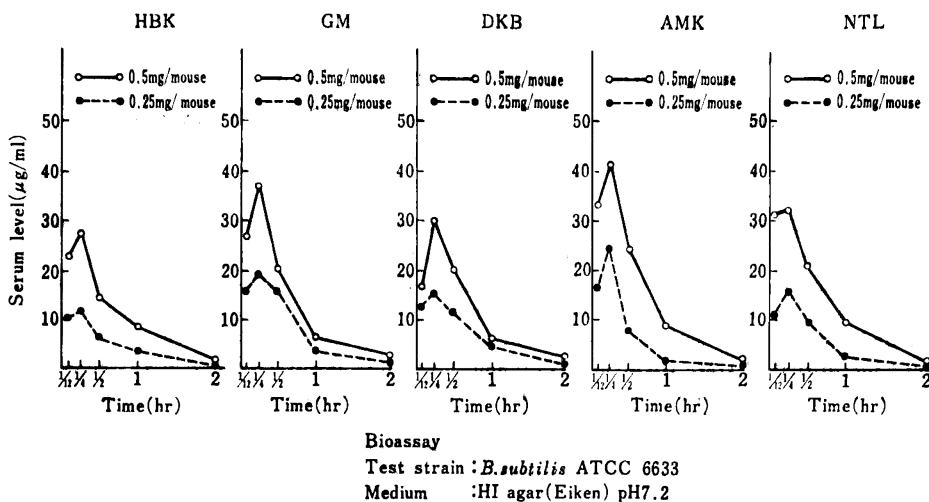
III. 考 察

HBK は、従来のアミノ配糖体剤 (GM, DKB, AMK, NTL) 同様広い抗菌スペクトラムを有している。臨床分離株に対する抗菌力も対照として用いた GM, DKB, AMK, NTL と同様であり、特に *S. aureus*, *S. epidermidis*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *A. calcoaceticus* に対する MIC₉₀ は 1.56 $\mu\text{g/ml}$ 以下であった。

最近臨床から分離される *P. inconstans*, *S. marcescens* および *P. aeruginosa* において、GM, DKB, AMK などに対し単剤または多剤耐性を示す株の増加傾向が治療上問題となっている⁶⁻⁸⁾。そこで GM 耐性の *P. inconstans*, *S. marcescens* および *P. aeruginosa* に対する HBK の抗菌力を GM, DKB, NTL と比較すると、はるかに小さい MIC を示した。さらに GM 耐性株以外の臨床分離株を加えて交叉耐性を検討した成績から *P. inconstans* では GM, DKB, TOB, SISO, NTL の多剤耐性株で全体の 51.6% を占めたが、他の耐性株の約半数に対して HBK は交叉耐性を示さなかった。

S. marcescens においても GM, DKB, TOB, SISO または DKB, TOB, AMK, SISO, NTL の多剤耐性株が

Fig. 31 Serum levels of mice
Administration : S. C.
Mouse : ICR. 4 W. ♂. 19=1 g. 9 animals/group



43.2% 検出されたが、HBK は上記の耐性株に対し感性であった。同様な現象は *P. aeruginosa* でもみられ、耐性株の頻度の最も高い GM, DKB, TOB, SISO, NTL, ASTM の多剤耐性株 (29.5%) においても、HBK は交叉耐性を示さなかった。以上の成績から HBK は既存の抗菌薬との交叉耐性があまり認められなかった。しかもこの *in vitro* 成績は *in vivo* 実験感染治療に反映し、GM, DKB 耐性株に対して、HBK はすぐれた治療効果を示した。

HBK の細菌学的検討成績およびアミノグリコシド系抗菌薬で常に注意すべき聴器毒性などに対する作用が弱い報告を加味すると、臨床での有用性が期待される。

文 献

- 1) 新島端夫, 他: 第 31 回日本化学療法学会西日本支部総会, 新薬シンポジウム II, HBK, 1982
- 2) 五島堯智子, 小川正俊, 金子康子, 辻 明良, 桑原章吾: 抗緑膿菌作用を有する Aminoglycoside 剤, sisomicin, gentamicin, dibekacin, tobramycin, amikacin, KW-1062 の細菌学的評価。Chemotherapy 26 (S-3): 36~51, 1978
- 3) 五島堯智子, 二橋 進, 小川正俊, 辻 明良, 金子康子, 桑原章吾: 新アミノ配糖体系抗生剤 KW-1070 の *in vitro* 抗菌作用とマウス実験感染における治療効果およびマウス血清中濃度について, Chemotherapy 29 (S-2): 30~49, 1981
- 4) 五島堯智子, 小川正俊, 辻 明良, 金子康子, 桑原章吾: 新しいアミノ配糖体系抗生剤 Netilmicin の細菌学的検討。Chemotherapy 29 (S-2): 25~40, 1981
- 5) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 6) 五島堯智子, 二橋 進, 小川正俊, 金子康子: 各種臨床分離株における astromicin (KW-1070), gentamicin, amikacin, dibekacin の耐性パターンと *in vitro*, *in vivo* 効果について, Chemotherapy 31: 36~43, 1983
- 7) 五島堯智子, 小川正俊: 化学療法剤に対する感受性。最新医学, 36: 1682~1689, 1981
- 8) 三橋 進, 伊予部志津子, 岡本了一, 山路真也: 各種抗生物質の今後の発展 3. アミノグリコシド, 日本臨床, 42: 40~46, 1984

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF HBK A NEW DERIVATIVE OF DIBEKACIN.

SACHIKO GOTO, MASATOSHI OGAWA, AKIYOSHI TSUJI
SHUICHI MIYAZAKI, YASUKO KANEKO and SHOGO KUWABARA
Department of Microbiology, School of Medicine, Toho University

The *in vitro* and *in vivo* antibacterial action of HBK, a new aminoglycoside antibiotic, was compared with that of gentamicin, dibekacin, amikacin and netilmicin and the following results were obtained.

1. Similar to other aminoglycoside antibiotics, HBK had a broad antibacterial spectrum and its antibacterial activity and bactericidal action compared favorably with the other drugs.

2. HBK's antibacterial activity against GM-resistant *P. inconstans*, *S. marcescens* and *P. aeruginosa* was superior to that of GM, DKB, and NTL and it was just as effective as AMK. Moreover, against *P. inconstans*, *S. marcescens* and *P. aeruginosa*, which were resistant to various drugs including GM, DKB, NTL, AMK, and ASTM, HBK displayed no cross-resistance.

3. During an *in vivo* infection treatment experiment against strains resistant to GM, DKB, AMK, and NTL, HBK displayed an excellent therapeutic effect.