

β -Lactam 系抗生剤の sub-MIC に関する研究

(第2報) 糖尿病患者血清中での抗菌作用

四辻 彰・柿澤裕美・伊東優子・保田 隆・才川 勇

富山化学工業株式会社総合研究所

大角 誠治・矢野 三郎

富山医科薬科大学第一内科

上 田 泰

東京慈恵会医科大学

(昭和61年9月16日受付)

β -Lactam 系抗生剤の sub-minimum inhibitory concentration (sub-MIC) における作用を糖尿病患者血清中で調べた。糖尿病患者血清の殺菌力は *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* および *Staphylococcus aureus* に対しては健常者血清と同等であったが, *Proteus mirabilis* に対しては強まっていた。この殺菌増強因子としては分子量が 20 万以上で, 56°C 30 min の加熱により弱められる熱に不安定な物質が推定された。次に sub-MIC における β -lactam 系抗生剤の作用を調べると, Piperacillin, Cefoperazone および Cefbuperazone は Nutrient broth (NB) 中でも健常者血清中でも糖尿病患者血清中でも, 殺菌的ないしは静菌的に作用した。一方, Carbenicillin, Cefazolin および Cefmetazole は NB 中では菌の増殖を阻止したが健常者血清中, 糖尿病患者血清中ではほとんど抗菌作用を示さなかった。

我々は先に β -lactam 系抗生剤の sub-minimum inhibitory concentration (sub-MIC) における作用をマウス, ウサギおよび健常者血清中で調べ, Piperacillin, Cefoperazone および Cefbuperazone が各種血清中において sub-MIC で静菌的ないしは殺菌的に作用すること, Carbenicillin, Cefazolin および Cefmetazole が各種血清中において sub-MIC でほとんど抗菌作用を示さないことを報告した¹⁾。

今回, 健常者より感染を受けやすく, また重症感染になりやすいといわれている糖尿病患者血清中での, β -lactam 系抗生剤の sub-MIC における殺菌作用について検討を加えたので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 使用薬剤

Piperacillin (PIP: 富山化学工業), Carbenicillin (CBPC: 塩野義製薬), Cefoperazone (CPZ: 富山化学工業), Cefazolin (CEZ: 藤沢薬品工業), Cefbuperazone (CBPZ: 富山化学工業) および Cefmetazole (CMZ: 三共) を用いた。

2. 使用菌株

富山化学工業総合研究所保有の臨床分離株で健常者新

鮮血清中でも死滅しない *Escherichia coli* TK-16-1, *Proteus mirabilis* T-277, T-250, *Pseudomonas aeruginosa* S-51 および *Staphylococcus aureus* FDA 209 P を用いた。

3. 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定

薬剤の被験菌に対する MIC は液体希釈法によって測定した。すなわち培地としては Nutrient broth (NB) を用い, 各種薬剤濃度は 200 μ g/ml を基点とし, 倍々希釈で添加し, これに最終菌濃度が 10^6 cells/ml になるように菌を接種して 37°C, 18 時間培養後, 肉眼判定により菌による混濁が認められない濃度を MIC とした。

4. 使用血清

糖尿病患者または健康成人男子より採血し, 室温 1 時間放置後 3,000 rpm 10 min 遠心分離して新鮮血清を得, 使用時まで -70°C にて保存した。血清の一部は 56°C 30 min 加熱し, 非働化血清として用いた。また血清の一部は分画分子量が 200,000 のウルトラフィルタ - UK-200 (東洋濾紙) を用いて 3,000 rpm 10 min 遠心分離して分画した。

5. 血清中での殺菌作用

被験菌は NB 中で 37°C 一夜静置培養し, この培養液

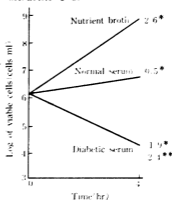
を滅菌生理食塩液で希釈して菌懸濁液とした。各血清または NB 60 μ l に最終薬剤濃度が 1/4 MIC になるように薬剤液 10 μ l を加え、それに最終菌濃度が 10^6 cells/ml となるように菌懸濁液 10 μ l を接種し、37°C で静置培養した。生菌数は 4 時間後に滅菌生理食塩液 720 μ l を加えて 10 倍希釈後、平板塗抹法で測定した。

殺菌作用の強さを比較する手段として 4 時間後の生菌数の対数値を指標とした。すなわち Fig. 1 に示したように 0 時間より生菌数が増加した場合を⊕、減少した場合を⊖で表示した。例えば Fig. 1 において NB では +2.6, Normal serum では +0.5, Diabetic serum では -1.9 となる。なお Table 1 には糖尿病患者血清の殺菌力と健常者血清の殺菌力の差を () 内に示した。例えば Fig. 1 の場合は [Diabetic serum (-1.9)] - [Normal serum (0.5)] = -2.4 となる。

6. 免疫学的検査

免疫グロブリン IgG, IgM および IgA の測定は TIA テスト-G「ニッスイ」(参考値 917~1,986 mg/dl) TIA テスト-M「ニッスイ」(参考値 38~261 mg/dl) および TIA テスト-A「ニッスイ」(参考値 48~409 mg/dl) (日本製薬)を用いる免疫比濁法で行なった。また補体価

Fig. 1 Bactericidal activity of serum against *P. mirabilis* T-277



* log CFU(4 hr) - log CFU(0 hr)

** log CFU(Diabetic serum) - log CFU(Normal serum)

(CH 50) の測定は CH 50 生研(デンカ生研)(参考値 30~45)を用いる溶血法で行なった。

7. 電子顕微鏡観察

糖尿病患者血清、健常者血清または NB 中に菌を接種後 37°C 2 時間静置培養した菌体を電子顕微鏡試料とした。すなわち培養液に 1% OsO₄ を培養液に対して 10%

Table 1-1 List of diabetic patients

Case	Sex	Age	Duration (year)	Complication			FBS (mg/dl)	HbA _{1c}	Infectious disease	Susceptibility	
				Reti	Neph	Neur				<i>E. coli</i> TK-16-1	<i>P. mirabilis</i> T-277
1	M	47	1	-	-	-	195	9.0	-	-0.4 (-0.3)	-0.3 (-0.9)
2	M	18	10	+	+	+	240	12.6	-	0.2 (0.2)	0.3 (0)
3	F	63	10	-	±	+	154	11.8	-	-0.8 (0.1)	-1.9 (-2.6)
4	F	28	13	+	+	+	92	N.T.	+	-0.3 (0.1)	0.7 (0)
5	F	67	14	+	±	±	139	N.T.	-	0 (0)	0.6 (-0.7)
6	M	45	15	+	±	+	113	8.6	-	0 (-0.1)	-1.0 (-1.5)
7	F	54	17	+	±	+	70	11.3	-	-0.1 (0)	-0.7 (-1.0)
8	M	60	26	+	±	+	158	14.0	-	-0.1 (0.4)	-1.2 (-2.0)
9	F	57	27	+	±	+	217	10.0	-	0.1 (0)	-1.9 (-2.4)
10	F	57	34	+	+	+	117	11.7	-	-0.5 (-0.4)	-1.2 (-1.8)
11	F	38	0.3	-	-	-	142	N.T.	-	0.2 (0.4)	0.4 (-0.4)
12	M	53	0.5	-	-	-	92	13.3	+	0.1 (0.3)	-0.8 (-0.4)
13	F	38	1	-	-	-	239	9.3	-	-0.6 (-0.5)	1.1 (0.4)
14	M	44	1	N.T.	-	-	190	5.7	-	-1.4 (-0.5)	-1.0 (-2.5)
15	F	72	2	N.T.	-	-	35	8.8	-	-0.7 (-0.7)	0.7 (-0.1)
16	M	56	5	+	-	+	112	6.5	-	-1.3 (-0.4)	0.9 (-0.5)
17	F	35	10	-	-	-	120	9.1	-	-0.3 (0)	0.5 (-0.7)
18	F	55	13	+	+	+	436	11.5	-	-1.1 (-0.3)	-0.2 (-1.7)
19	M	44	15	N.T.	-	-	188	12.2	-	-1.1 (-0.3)	-0.2 (-1.6)
20	F	54	15	-	-	-	114	7.8	-	-1.3 (-0.4)	0.9 (-0.6)
21	M	36	17	-	±	+	126	9.5	-	-1.6 (-0.8)	-0.4 (-1.9)
22	F	68	20	-	-	+	153	9.3	-	0 (0.5)	0.2 (-0.6)

Reti : Retinopathy, Neph : Nephropathy, Neur : Neuropathy, N.T. : Not tested.

() : log CFU(diabetic serum) - log CFU(normal serum).

Table 1-2 List of diabetic patients

Case	RBC (10 ⁶ /mm ³)	Hb (g/dl)	Ht (%)	WBC (/mm ³)	ESR(1') (mm)	GOT (KU)	GPT (KU)	Al-P (KAU)	BUN (mg/dl)	Cr (mg/dl)	IgG (mg/dl)	IgM (mg/dl)	IgA (mg/dl)	CH 50
1	411	13.1	36.0	10,300	30	15	19	6.8	9	0.7	1,330	63	345	63.5
2	404	13.1	41.1	9,500	5	6	10	8.3	14	1.0	2,010	148	162	44.4
3	357	11.0	33.1	4,700	8	4	21	4.3	21	0.8	1,200	127	200	39.5
4	374	10.2	30.9	5,500	105	44	23	9.3	29	1.0	1,780	173	362	41.0
5	477	13.5	40.1	7,300	12	13	13	5.9	18	0.7	1,150	55	215	43.8
6	420	13.5	39.0	2,300	19	17	26	6.0	12	0.9	1,570	33	236	43.2
7	312	9.7	29.7	4,600	18	18	29	8.9	18	0.8	1,300	154	204	32.7
8	448	14.1	40.4	4,600	3	20	38	6.5	11	1.0	870	72	135	27.0
9	349	11.0	32.5	5,200	18	17	37	6.2	20	1.2	1,870	86	182	40.5
10	405	12.6	36.6	5,300	50	30	18	4.5	21	1.0	2,100	87	375	41.5
11	387	12.2	35.4	8,100	28	10	13	3.9	22	0.8	1,800	196	360	42.1
12	406	11.6	35.6	5,100	30	19	16	7.1	16	1.2	1,630	220	290	48.4
13	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	2,100	255	330	47.6
14	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	13	12	7.0	17	0.8	1,730	164	450	33.8
15	346	11.5	36.0	5,300	N.T.	55	30	17.6	15	0.8	1,710	175	460	39.5
16	364	11.6	33.5	3,100	N.T.	11	7	5.0	18	1.2	1,570	137	290	30.3
17	384	9.4	30.2	4,900	10	10	7	4.7	11	0.5	960	84	205	52.3
18	385	12.0	34.4	4,100	N.T.	13	13	5.2	14	0.9	1,510	67	160	45.0
19	494	15.5	44.2	6,100	N.T.	6	6	5.3	12	0.9	1,050	61	340	38.1
20	449	13.7	40.4	6,600	N.T.	12	11	5.4	15	0.7	1,450	122	170	37.7
21	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	29	37	11.1	25	1.5	1,420	116	255	42.1
22	429	13.3	39.3	5,200	15	11	6	5.0	16	0.8	1,240	61	190	33.1

N.T.: Not tested.

になるように添加して前固定し、数回洗浄液 1% OsO₄、一夜室温で本固定してエタノール系列にて脱水した。脱水後エボン埋理し、ウルトラミクロームにて超薄切片を作製した。酢酸ウラニルと硝酸鉛の二重染色後透過型電子顕微鏡にて菌体構造を観察した。電子顕微鏡は日本電子 JEM-100 S 型を用いた。

II. 実験結果

1. 糖尿病患者血清の殺菌力

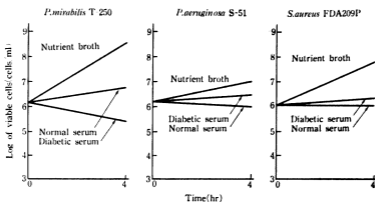
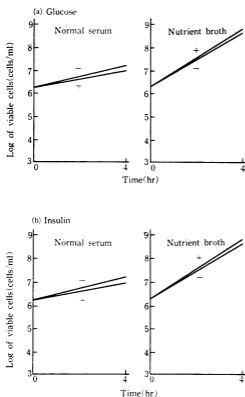
今回検討を加えた症例の一覧を Table 1 に示した。症例 1~10 はインスリン使用群であるが、罹病期間が 10 年以上の症例が多く、ほとんどの症例で糖尿病性合併症である網膜症、腎症、神経症が認められた。また空腹時血糖値 (FBS) とグリコヘモグロビン値 (HbA_{1c}) で糖尿病の control 状態を見ると不良の症例が認められた。またその他の臨床検査値では血液検査値、肝機能検査値、腎機能検査値、免疫学的検査値に軽度異常値が散見された。症例 11~22 はインスリン非使用群であるが罹病期間が短い症例、合併症のない症例、糖尿病の control 状態の良好な症例が多く認められた。その他の臨床検査値を見るとインスリン使用群と同様、軽度異常者が散見された。ただし免疫学的検査値のうち IgA が高値を示す患者数がやや多かった。

インスリン使用群の血清殺菌力は *E. coli* TK-16-1 株に対しては、健常者血清とほぼ同様であった。一方、*P. mirabilis* T-277 株に対して糖尿病患者血清は 10 例中 8 例で () 内の数値が -0.5 以下を示し、糖尿病患者血清の殺菌力は健常者血清より強まっていた。インスリン非使用群の血清の *E. coli* TK-16-1 株に対する殺菌力は 12 例中 4 例に () 内の数値が -0.5 以下を示したが、特に強まっている症例が多いことはなかった。一方、*P. mirabilis* T-277 株に対しては強まっている症例が 12 例中 8 例とインスリン使用群とほぼ同等であった。なお *E. coli*, *P. mirabilis* 以外の菌種、*P. aeruginosa* S-51, *S. aureus* FDA 209 P に対して糖尿病患者血清の殺菌力は健常者血清とほぼ同様であった (Fig. 2)。

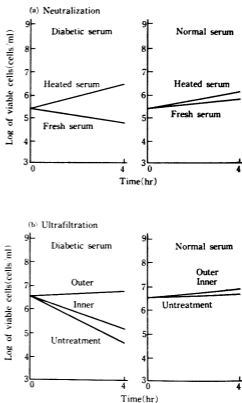
2. 糖尿病患者血清中の殺菌増強因子

糖尿病患者血清中の殺菌増強因子として、糖尿病患者と関連のある glucose および insulin が考えられたのでその影響を調べ Fig. 3 に示した。すなわち健常者血清または NB に glucose (和光純薬) を最終濃度が 1,000 μ g/dl となるように、または insulin (清水製薬) を最終濃度が 100 μ u/ml となるように加えたが、菌の増殖に対し影響は認められなかった。そこで血清成分の関与を考え、非働化血清および遠心限外濾過血清を調製し、菌の

Fig. 2 Bactericidal activity of diabetic serum

Fig. 3 Influence of glucose and insulin on bactericidal activity of serum against *P. mirabilis* T-277

増殖に対する作用を調べた。その結果、糖尿病患者または健常者血清を 56°C 30 min 熱処理するとその殺菌力は減弱した。さらに、分画分子量が 20 万のウルトラフィルターを用いて血清を遠心限外濾過法で分画すると殺菌

Fig. 4 Influence of neutralization and ultrafiltration on bactericidal activity of serum against *P. mirabilis* T-277

増強因子は遠心内液、すなわち 20 万以上の高分子画分に存在することがわかった。

3. 糖尿病患者血清中における β -lactam 系抗生剤の sub-MIC での殺菌作用

Table 2 Mean values of bactericidal activity at 1/4 MIC of antibiotics
(Strain: *P. mirabilis* T 277)

Antibiotic	Nutrient broth(n=9)	Normal serum(n=9)	Diabetic serum(n=9)
Control	2.5*	0.6	-0.7
PIPC	-0.4*	-0.6*	-1.5*
CBPC	0.9*	0.5	-0.8
CPZ	-1.1*	-0.2*	-1.3
CEZ	2.1	0.5	-0.8
CBPZ	-1.5*	0 *	-1.1
CMZ	2.2	0.5	-0.8

* log CFU(4hr) - log CFU(0hr).

* P<0.05 vs. Control by t test.

Table 3 Mean values of bactericidal activity at 1/4 MIC of antibiotics
(Strain: *E. coli* TK 16 1)

Antibiotics	Nutrient broth(n=9)	Normal serum(n=9)	Diabetic serum(n=9)
Control	2.5*	-0.4	-0.2
PIPC	-1.8*	-0.9	-0.8*
CBPC	1.6*	-0.5	-0.4
CPZ	-1.1*	-1.0	-0.9*
CEZ	2.3	-0.4	-0.2
CBPZ	-0.2*	-0.6	-0.4
CMZ	2.4	-0.6	-0.3

* log CFU(4hr) - log CFU(0hr).

* P<0.05 vs. Control by t test.

a) *P. mirabilis* T-277 株の場合

糖尿病患者血清中における β -lactam 系抗生剤の殺菌作用を健常者血清中および NB 中と比較し Table 2 に示した。NB 中での control は 2.5 に増殖したのに対し、PIPC -0.4, CBPC 0.9, CPZ -1.1 および CBPZ -1.5 といずれも control に比べ菌の増殖を阻止した。しかし、CEZ および CMZ の増殖阻止作用は弱かった。次に健常者血清中の control は 0.6 に増殖したのに対し、PIPC -0.6, CPZ -0.2 および CBPZ 0 と菌の増殖を阻止した。しかし、CBPC, CEZ および CMZ はほとんど抗菌作用を示さなかった。また糖尿病患者血清中の control は -0.7 と増殖を阻止されたのに加え、さらに PIPC は -1.5 と菌の増殖を阻止した。次に CPZ は -1.3, CBPZ は -1.1 と control より生菌数を減少させたが CBPC, CEZ および CMZ はほとんど影響がみられなかった。

b) *E. coli* TK-16-1 株の場合

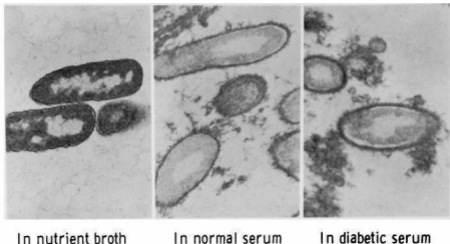
被験菌として *E. coli* TK-16-1 株を用いた場合を Table 3 に示した。NB 中で control は 2.5 に増殖したのに対し、PIPC -1.8, CBPC 1.6, CPZ -1.1 および CBPZ -0.2 と菌の増殖を阻止したが、CEZ および

CMZ の増殖阻止作用は弱かった。次に健常者血清中の control は -0.4 とやや増殖を阻止されたのに加え、PIPC -0.9 および CPZ -1.0 はやや生菌数を減少させた。しかし、CBPC, CEZ, CBPZ および CMZ はほとんど影響がみられなかった。また糖尿病患者血清中の control は -0.2 とやや増殖を阻止されたのに加え、PIPC -0.8 および CPZ -0.9 と生菌数を減少させた。しかし、CBPC, CEZ, CBPZ および CMZ はほとんど影響がみられなかった。

III. 考 察

抗生剤を投与した場合、血液や病巣に MIC 以上の薬剤濃度が得られるのは、一般に数時間程度で次回投与までの間 MIC 以下となることが多い。そこで適正な抗生剤療法を考える時 MIC 以下の濃度、すなわち sub-MIC における抗生剤の作用についても検討を加える必要がある^{2,9)}。一方、感染症の治療においては宿主、細菌、薬剤の三者が密接に関連しあっており、宿主が何らかの理由で抵抗力が減弱している、いわゆる compromised host⁹⁾ について関心が寄せられている。compromised host の背景因子としては、重症糖尿病、癌、白血病、重症肝疾患などの疾患、副腎皮質ステロイド剤、免疫抑

Fig. 5 Electron micrographs of bacterial cells



制剤などの使用、また新生児、高齢者などがあげられている。そこで今回、compromised host の対照として糖尿病患者をとりあげた。糖尿病患者と感染症の関連を臨床面で見るとインスリンの実用および抗生剤の進歩に伴い死因としての感染症は著減しているものの、尿路感染症、皮膚や軟部組織の感染症、真菌感染症などは依然として多く、注目されている^{12)~15)}。また基礎面で見ると糖尿病の感染悪化因子としては、栄養障害、血管障害、神経障害、多核白血球の機能障害などが考えられている^{14)~16)}。しかし、液性因子、ホルモン因子などについてはあまり明らかにされていないので、糖尿病患者の液性因子とし血清をとりあげ、その殺菌力を中心に検討した。

糖尿病患者の血清殺菌力は、*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* に対しては、健康者血清と同程度であったが、*P. mirabilis* に対しては強まっていた。このことは糖尿病患者が易感染であるという点から考えると興味ある事象である。この殺菌因子としては分子量が20万以上で、非酸化で弱められる易熱性物質が推定された。さらに電子顕微鏡を用いて *P. mirabilis* の形態学的な観察を行なった (Fig. 5)。しかし、糖尿病患者血清中では、健康者血清中と同様、菌体のまわりに血清成分の付着した像が観察されたが、糖尿病患者血清の殺菌力が増強していることを裏付けるような細胞膜の変化は認められなかった。なお NB 中では全くこのような付着物の存在は認められなかった。

ところで、前沢¹⁷⁾は糖尿病治療法および抗生物質療法が進歩によって患者の予後は著しく改善されているが、感染症合併例、特に不顕性尿路感染の多いことを指摘し

ている。我々が検討した糖尿病患者について不顕性感染を明確にするデータはないが、ESR, IgG などからみると数症例にその可能性は考えられる。しかし、血清の *P. mirabilis* に対する殺菌力の増強との関連を考えた場合、ESR, IgG などが異常な患者と殺菌力の強まっている患者は一概に一致するとはいえない。また不顕性尿路感染は女性に多いといわれているが殺菌力の強まっている患者が特に女性に偏ってはいないことより、その関連性はあまりないと思われる。なお、症例 4、症例 12 においては、尿の細菌培養で *Enterococcus* が検出されたが、症例 12 でのみ、*P. mirabilis* に対する血清殺菌力は強まっており、感染の有無と血清殺菌力との関連はあまりないと思われる。一方、糖尿病患者の免疫グロブリンを調べると、IgA についてはインスリン使用群で非使用群より上昇している症例が多くみられ、IgM については両群共あまり変わらなかった。このことは L. M. DALDERUP¹⁸⁾ らの成績と一致していたが、IgG についてはインスリン使用群でやや下降する傾向はみられず、彼らの成績とは異なっていた。しかし、免疫学的検査と *P. mirabilis* に対する殺菌力の増強との間に相関は認められなかった。

次に糖尿病患者血清中での β -lactam 系抗生剤の殺菌作用をみると、PIPC, CPZ および CBPZ は NB 中でも糖尿病患者血清中でも殺菌的または静菌的に作用した。しかし、CBPC, CEZ および CMZ は NB 中では菌の増殖を阻止したが、糖尿病患者血清中ではほとんど抗菌作用を示さなかった。PIPC, CPZ および CBPZ は化学構造上共通の moiety として 2-3-dioxopiperazine 基を保有しており、対照薬剤に比べて血清中で殺菌力が優れた

成績が得られたことは、構造との関連を考えると興味深い。 β -Lactam 系抗生剤の作用機序は細菌細胞壁合成阻害であり、 β -Lactam 系抗生剤で菌が完全に殺菌されなかった場合でも壁構造の不完全な菌体が形成され、その菌体の血清抵抗性に差異があることも考えられる。今後、ペニシリン結合蛋白質との親和性¹⁰⁾や薬剤の外膜透過性¹¹⁾の面からの検討も必要と思われる。

糖尿病患者が易感染であるといわれているのでその血清殺菌力は弱まっているのではとの予想に反して糖尿病患者の血清殺菌力は健常者と同程度か、菌種によって強まっていた。今のところ血清殺菌力と臨床検査値に明確な相関は認められず、また殺菌因子の詳細は不明であるがさらに検討を加える必要があろう。また何故、糖尿病患者が易感染であるかについても臨床症状との関連、白血球の機能との関連などの面から検討する必要があろう。

なお、本論文の要旨は第 32 回日本化学療法学会東日本支部総会にて発表した。

文 献

- 1) 四辻 彰, 田井 賢, 笹倉かの子, 柿澤裕美, 岡本直子, 保田 隆, 才川 勇, 上田 泰: β -Lactam 系抗生剤の sub-MIC に関する研究 (第 1 報) ヒトおよび各種動物血清中での殺菌作用。Chemotherapy 31: 1047~1054, 1983
- 2) 上田 泰: 抗菌薬の sub-MICs。臨床と微生物 12: 5, 1985
- 3) 松本文夫: sub-MICs をとりまく臨床上的諸問題。臨床と微生物 12: 6~12, 1985
- 4) 生方公子: 菌体から見た sub-MICs の問題点について。臨床と微生物 12: 13~23, 1985
- 5) 小川正俊: 生体防御能と sub-MICs—動物感染防御実験からの考察—。臨床と微生物 12: 25~33, 1985
- 6) 西田 実: *In vitro* kinetic model における抗菌作用から見た sub-MIC の問題点について。臨床と微生物 12: 35~42, 1985
- 7) 坂 義人, 土井達郎, 西浦常雄: 尿路感染症における MIC について。臨床と微生物 12: 43~50

1985

- 8) 紺野昌俊: 抗菌物質の評価と sub-MICs の接点—現状と将来—。臨床と微生物 12: 51~57, 1985
- 9) 上田 泰: Opportunistic Infection. 感染症学, 基礎と臨床 (編集: 上田 泰, 他), メジカルビュー社, 東京, pp. 94~99, 1982
- 10) NOGUCHI, H.; M. MATSUHASHI, J. ITOH, N. MATSUBARA, M. TAKADA & S. MITSUHASHI: Affinities of β -LACTAM antibiotics to bind to penicillin-binding protein in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* in relation to their antibacterial potencies. Microbial Drug Resistance. Vol. 2 (MITSUHASHI, S. Ed.) Japan Scientific Societies Press, Tokyo, pp. 361~387, 1979
- 11) ZIMMERMANN, W. & A. ROSSELET: Function of the outer membrane of *Escherichia coli* a permeability barrier to beta-lactam antibiotics. Antimicrob. Agents Chemother. 12: 368~372, 1977
- 12) 湯美義仁: 糖尿病と感染症。Medicina 22: 1994~1997, 1985
- 13) DONOHUE-PORTER, P.: Insulin-dependent diabetes mellitus. Nursing Clinics of North America 20: 191~198, 1985
- 14) EDWARDS, J. E. JR.: Infection and diabetes mellitus. The western journal of medicine 80: 515~521, 1979
- 15) BAGDADE, J. D.: Infection in diabetes. Postgraduate medicine 59: 160~164, 1976
- 16) DELESPESE, G.; J. DUCHATEAU, P. A. BASTENIE, J. P. LAUVAUX, H. COLLET & A. GOVAERTS: Cell-mediated immunity in diabetes mellitus. Clin. Exp. Immunol. 18: 461~467, 1974
- 17) 前沢秀憲: 糖尿病の感染症。糖尿病のすべて (編集: 葛谷信貞) 南江堂, 東京, pp. 541~547, 1973
- 18) FARID, N. R. & J. ANDERSON: Immunoglobulin and complement in diabetes mellitus. The Lancet II: 92, 1973

STUDIES ON THE SUB-MIC OF β -LACTAM ANTIBIOTICS

—BACTERICIDAL ACTIVITY IN DIABETIC SERUM—

AKIRA YOTSUJI, HIROMI KAKIZAWA, YUUKO ITO,
TAKASHI YASUDA and ISAMU SAIKAWA
Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.

SEIJI OHGAKU and SABURO YANO
The First Department of Internal Medicine,
Toyama Medical & Pharmaceutical University

YASUSHI UEDA
The Jikei University, School of Medicine

The activity of β -lactam antibiotics was studied at sub-minimum inhibitory concentration (sub-MIC) in diabetic serum. Bactericidal activity in diabetic serum was similar to that in normal serum against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus*. However, stronger bactericidal activity against *Proteus mirabilis* was observed in diabetic serum. This alteration was presumed to be due to heat unstable substance. And its molecular weight was estimated to be more than 200,000.

Piperacillin, cefoperazone and cefbuparazone showed bactericidal and bacteriostatic activity in nutrient broth, in normal serum and in diabetic serum. While carbenicillin, cefazolin and cefmetazole slightly inhibited the growth of bacteria in nutrient broth, but they hardly showed bactericidal activity in normal serum and in diabetic serum.