

## Cefoxitin の偏性嫌気性菌に対する試験管内抗菌活性について

佐藤 謙一・光岡 知足

理化学研究所動物薬理研究室

Cefoxitin (CFX) は、Merck Sharp and Dohme Research Laboratories (MSDRL) で、cephamycin C から誘導された半合成抗生物質で、通性嫌気性菌に対して広範囲な抗菌スペクトルを示すことが明らかにされている<sup>1,2)</sup>。一方、このものの偏性嫌気性菌に対する抗菌活性については、SUTTER ら<sup>3)</sup>、および、FRANCIS ら<sup>4)</sup>が、他のセファロsporin系製剤を対照として比較検討しており、CFX は、とくに *Bacteroides fragilis* に高い抗菌活性を示すことを明らかにしている。我々は、研究室保存の13菌種86株の偏性嫌気性菌と *Lactobacillus* 属16株に対して、Cefazolin (CEZ) および Cephalothin (CET) を対照薬剤として表記の検討をしたので報告する。

## I. 実験材料および方法

## 1. 使用菌株

対象菌株は、以下の14菌種102株とした。すなわち、*Bacteroides* spp. 33株、*Fusobacterium* spp. 14株、*Eubacterium* spp. 12株、*Bifidobacterium* spp. 9株、*Lactobacillus* spp. 16株、*Clostridium* spp. 5株、*Megasharella* および *Veillonella* spp. 3株、*Peptococcus* および *Peptostreptococcus* spp. 5株、さらに、*Leptotrichia buccalis*、*Selenomonas ruminantium*、*Succinivibrio dextrinosolvens*、*Propionibacterium acnes*、*Actinomyces bovis* 各1株である。実験に際して、これら保存株を、EG または BL 平板培地<sup>5)</sup> を用いて再分離し、それに発育した単一集落を、EG-FILDES 液体培地<sup>6)</sup>、または、*Lactobacillus* 属は、BRIGGES 液体培地<sup>7)</sup> に接種し、10%CO<sub>2</sub> 加スチールウール嫌気培養法によって、37°C、24時間増菌培養した。その新鮮菌液を、さらに、McFARLAND No. 1 まで、当日作製の EG-FILDES 液体培地で希釈（菌数：10<sup>6</sup>~10<sup>7</sup> 個/ml）したものを試験菌液として用いた。

## 2. 使用薬剤および感受性測定用培地の調整

Sodium cefoxitin (CFX, MSDRL, Lot No. 620, 338 01B-39), Sodium cefazolin (CEZ, セファメジン, Lot No. ZA-1060 藤沢薬品), Sodium cephalothin (CET, ケフリン, Lot No. 8 BL 89 A 塩野義製薬) を用いた。これらを正確に秤量し、滅菌蒸留水で1,000 µg/ml の溶液とし、これを2段階希釈して、1.0 µg/ml までの12段階希釈系列を作製した。感受性測定用培

地としては、BRUCELLA 寒天培地 (BBL) を使用した。培地は121°C、15分滅菌後、約50°Cに冷却し、それにヒト血液5%、および塩酸 L-シスチンを0.05%の割合に添加した。薬剤希釈寒天平板は、この血液加 BRUCELLA 培地9容に、上記各薬剤の希釈液1容を混和する方法により調製した。

## 3. 感受性測定法

各菌株の感受性測定は、寒天平板希釈法により行なった。すなわち、上記各試験菌液を、modified STEERS replicator<sup>8)</sup> を用いて、前記感受性測定用培地に接種し、直ちに10%CO<sub>2</sub> 加スチールウール嫌気培養法によって、37°C、48時間培養した。培養後、肉眼的な観察により、完全発育阻止した最低濃度を測定し、それを各薬物の最小発育阻止濃度 (MIC) 値として表現した。

## II. 実験成績

各菌株に対する CFX, CEZ および CET の MIC は、Table 1 および 2 に示すとおりである。まずグラム陰性桿菌群について見ると、*B. fragilis* ss *fragilis* に対する CFX の MIC は、すべての菌株に対して12.5 µg/ml 以下を示したが、CEZ および CET では、12.5~50 µg/ml を示し、本菌種に対する CFX の抗菌活性は他2剤にくらべて明らかに高いことが示された。*B. fragilis* ss *vulgatus* に対しては、CFX の MIC は、6株中5株に3.2 µg/ml、1株に0.4 µg/ml を示し、CEZ および CET の MIC は約半数の株に12.5~50 µg/ml を示し、他の半数に対しては、CFX と同程度の値を示した。

*B. fragilis* ss *thetaitaomicron* に対して、CFX の MIC は全株とも25 µg/ml 以下を示したのに対し、CEZ は25~100 µg/ml、さらに CET は全株に対して100 µg/ml 以上を示すなど、CFX は *B. fragilis* 群に対して他剤にくらべて有意に高活性であることが示された。

他の *Bacteroides* 属に対しては、*B. clostridiiformis* 2株を除き、3薬剤とも3.2 µg/ml 以下の高い活性を示した。

また、*Fusobacterium* 属に対しては、CET がやや低活性の傾向にあり、CFX と CEZ の抗菌活性には、ほとんど差が認められなかった。

グラム陽性桿菌群では、有芽胞菌である *Clostridium*

Table 1 Susceptibility of Gram-negative anaerobes to CFX, CEZ and CET

Organisms	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	CFX	CEZ	CET
<i>Bacteroidaceae</i>			
<i>Bacteroides fragilis</i>			
ss <i>fragilis</i> , 2360 (Ueno)	3.2	25	50
ss <i>fragilis</i> , 2362 (Ueno)	6.3	12.5	12.5
ss <i>fragilis</i> , Pa-2-11	6.3	25	25
ss <i>fragilis</i> , NCTC 9343	6.3	25	50
ss <i>fragilis</i> , 2271 (Werner)	12.5	50	50
ss <i>fragilis</i> , 3676 (Werner)	12.5	50	50
ss <i>fragilis</i> , 6869 (Werner)	12.5	50	50
ss <i>fragilis</i> , Pa-5-16	12.5	12.5	12.5
ss <i>fragilis</i> , PO-5-121	12.5	50	50
ss <i>fragilis</i> , NCTC 9344	12.5	50	50
ss <i>vulgatus</i> , AM-45 (Werner)	3.2	3.2	6.3
ss <i>vulgatus</i> , F-92 (Werner)	3.2	12.5	12.5
ss <i>vulgatus</i> , PO-5-117	3.2	12.5	12.5
ss <i>vulgatus</i> , E (1) (Werner)	3.2	3.2	25
ss <i>vulgatus</i> , PO-2-48	3.2	50	50
ss <i>vulgatus</i> , PO-5-120	0.4	0.4	0.4
ss <i>thetaiotaomicron</i> , E-50 (Werner)	6.3	25	100
ss <i>thetaiotaomicron</i> , E (13) (Werner)	12.5	100	100
ss <i>thetaiotaomicron</i> , AS-126 (Werner)	12.5	25	100
ss <i>thetaiotaomicron</i> , E (1) (Werner)	25	50	100
ss <i>thetaiotaomicron</i> , NCTC 10582	25	>100	>100
ss <i>distasonis</i> , ATCC 8503	0.4	0.4	3.2
ss <i>distasonis</i> , E-32 (Werner)	25	25	50
<i>B. melaninogenicus</i>			
ss <i>melaninogenicus</i> , NCTC 9336	0.2	0.2	1.6
ss <i>melaninogenicus</i> , NCTC 9337	0.2	0.2	1.6
ss <i>melaninogenicus</i> , #485 (Finegold)	0.2	$\leq 0.1$	0.2
ss <i>intermedius</i> , ATCC 25611	$\leq 0.1$	$\leq 0.1$	$\leq 0.1$
ss <i>intermedius</i> , VPI 4197	0.2	0.2	3.2
ss <i>asaccharolyticus</i> , w-9 1611	0.4	0.4	1.6
<i>B. oralis</i> , ATCC 15930	0.2	0.2	1.6
<i>B. eggerthii</i> , T5-42-B1 (Moore)	3.2	3.2	3.2
<i>B. clostridiiformis</i> , 22 (Barnes)	50	50	50
<i>B. clostridiiformis</i> , 353 (Barnes)	50	25	50
<i>Fusobacterium nucleatum</i> , PAS 141			
<i>F. nucleatum</i> , PAS 143	6.3	6.3	25
<i>F. necrophorum</i> , III-1An-5B (Kanoë)	6.3	6.3	12.5
<i>F. necrophorum</i> , III-1An-5B (Kanoë)	0.2	0.2	0.2
<i>F. necrophorum</i> , NCTC 7155 (Barnes)	0.2	0.2	0.2
<i>F. necrophorum</i> , NCTC 7155 (Barnes)	1.6	1.6	1.6
<i>F. necrophorum</i> , 2377 (Ueno)	1.6	1.6	1.6
<i>F. necrophorum</i> , 2377 (Ueno)	12.5	12.5	25
<i>F. necrophorum</i> , 2392 (Ueno)	12.5	12.5	25
<i>F. varium</i> , ATCC 8501	25	25	25
<i>F. varium</i> , Sebald 53	6.3	6.3	12.5
<i>F. varium</i> , H277 (PAS)	6.3	25	25
<i>F. varium</i> , H277 (PAS)	12.5	6.3	12.5
<i>F. necrogenes</i> , ATCC 25556	0.8	0.4	0.8
<i>F. necrogenes</i> , NCTC 10723	0.8	0.4	0.8
<i>F. necrogenes</i> , NCTC 10723	1.6	1.6	1.6
<i>F. mortiferum</i> , ATCC 9817	1.6	1.6	1.6
<i>F. mortiferum</i> , ATCC 9817	25	25	50
<i>F. perfoetens</i> , CCI (PAS)	25	25	50
<i>F. perfoetens</i> , CCI (PAS)	6.3	6.3	25
<i>F. symbiosum</i> , ATCC 14940	25	25	50
<i>Leptotrichia buccalis</i> , ATCC 14201	$\leq 0.1$	$\leq 0.1$	0.8
Uncertain affiliation rods			
<i>Selemonas ruminantium</i> , GA 192 (Bryant)	0.2	1.6	1.6
<i>Succinovibrio dextrinosolvens</i> , GA 24	0.2	0.1	0.4
<i>Veillonellaceae</i>			
<i>V. alcalescens</i> , ATCC 17745	0.4	0.2	0.2
<i>V. parvula</i> , ATCC 10795	0.4	0.2	0.2
<i>Megasphaera elsdenii</i> , ATCC 25940	0.4	0.2	0.2

Table 2 Susceptibility of Gram-positive anaerobes to CFX, CEZ and CET

Organisms	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	CFX	CEZ	CET
<i>Bacillaceae</i>			
<i>Clostridium perfringens</i> , 22	0.8	1.6	1.6
<i>C. ramosum</i> , VPI 4496	0.8	0.8	0.8
<i>C. ramosum</i> , VPI 679	1.6	1.6	1.6
<i>C. oroticum</i> , ATCC 13619	25	12.5	50
<i>C. indolis</i> , ATCC 25771	25	12.5	25
<i>Propionibacteriaceae</i>			
<i>Propionibacterium acnes</i> , ATCC 6919	1.6	0.4	0.4
<i>Eubacterium alactolyticum</i> , VPI 0419	0.4	0.4	0.4
<i>E. rectale</i> , VPI 0989	0.4	3.2	3.2
<i>E. limosum</i> , VPI 5167	0.8	1.6	1.6
<i>E. limosum</i> , ATCC 8486	1.6	6.3	6.3
<i>E. ruminantium</i> , ATCC 17233	0.4	0.2	0.2
<i>E. nitritogenes</i> , ATCC 25547	0.8	0.4	0.4
<i>E. moniliforme</i> , VPI 5518	0.8	0.8	0.8
<i>E. tortuosum</i> , VPI IIIO-IA	0.2	0.8	0.8
<i>E. combesii</i> , ATCC 25545	0.8	0.8	0.8
<i>E. tenue</i> , ATCC 25553	$\leq 0.1$	$\leq 0.1$	$< 0.1$
<i>E. lentum</i> , 515 (Beerens)	0.8	6.3	6.3
<i>E. biforum</i> , VPI IIIO-1B	0.4	0.4	0.4
<i>Actinomyces bovis</i> , W827 (Georg)	1.6	1.6	6.3
<i>Bifidobacterium infantis</i> , S12	6.3	3.2	6.3
<i>B. breve b</i> , S46	6.3	3.2	12.5
<i>B. adolescentis</i> , E194	0.8	1.6	1.6
<i>B. adolescentis</i> , E305	1.6	0.4	1.6
<i>B. bifidum</i> , E319	0.8	1.6	1.6
<i>B. longum</i> , E194	3.2	12.5	12.5
<i>B. eriksonii</i> , ATCC 15423	0.4	1.6	1.6
<i>B. eriksonii</i> , W829 (Georg)	0.4	0.4	0.4
<i>B. eriksonii</i> , VPI 1935	0.4	0.4	0.4
<i>Lactobacillaceae</i>			
<i>L. helveticus</i> , ATCC 15009	12.5	0.4	1.6
<i>L. lactis</i> , (I) 8244	12.5	$\leq 0.1$	$< 0.1$
<i>L. lactis</i> , (I) 35	12.5	0.2	0.8
<i>L. acidophilus</i> , ATCC 4356	12.5	1.6	1.6
<i>L. acidophilus</i> , NCTC 1723	12.5	1.6	1.6
<i>L. acidophilus</i> , ATCC 332	50	1.6	1.6
<i>L. salivarius</i> , ATCC 11742	25	1.6	1.6
<i>L. belbruckii</i> , ATCC 9649	12.5	$\leq 0.1$	$< 0.1$
<i>L. plantarum</i> , L 866	$> 100$	50	25
<i>L. plantarum</i> , 17-5	100	25	6.3
<i>L. plantarum</i> , ATCC 8014	100	25	6.3
<i>L. plantarum</i> , 1-4	100	25	6.3
<i>L. casei</i> , L 944	$> 100$	50	25
<i>L. brevis</i> , ATCC 14869	$> 100$	12.5	12.5
<i>L. fermentum</i> , ATCC 14931	$> 100$	3.2	6.3
<i>L. leichmannii</i> , ATCC 4797	12.5	0.2	0.8
<i>Peptococcaceae</i>			
<i>Peptococcus assacharolyticus</i> , VPI 5045	0.8	1.6	1.6
<i>P. prevotii</i> , ATCC 9321	0.2	0.2	0.2
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> , 4330 (Moore)	$\leq 0.1$	0.2	0.4
<i>P. intermedius</i> , VPI 3372	0.2	0.2	0.4
<i>P. intermedius</i> , EBF 77/25	1.6	1.6	1.6



に対して3薬剤とも同様の活性を示し、なかでも *C. perfringens*, *C. ramosum* に対しては高活性 (MIC: 0.8~1.6  $\mu\text{g/ml}$ ) を示し、*C. oroticum*, *C. indolis* に対しては低活性 (MIC: 12.5~50  $\mu\text{g/ml}$ ) であった。

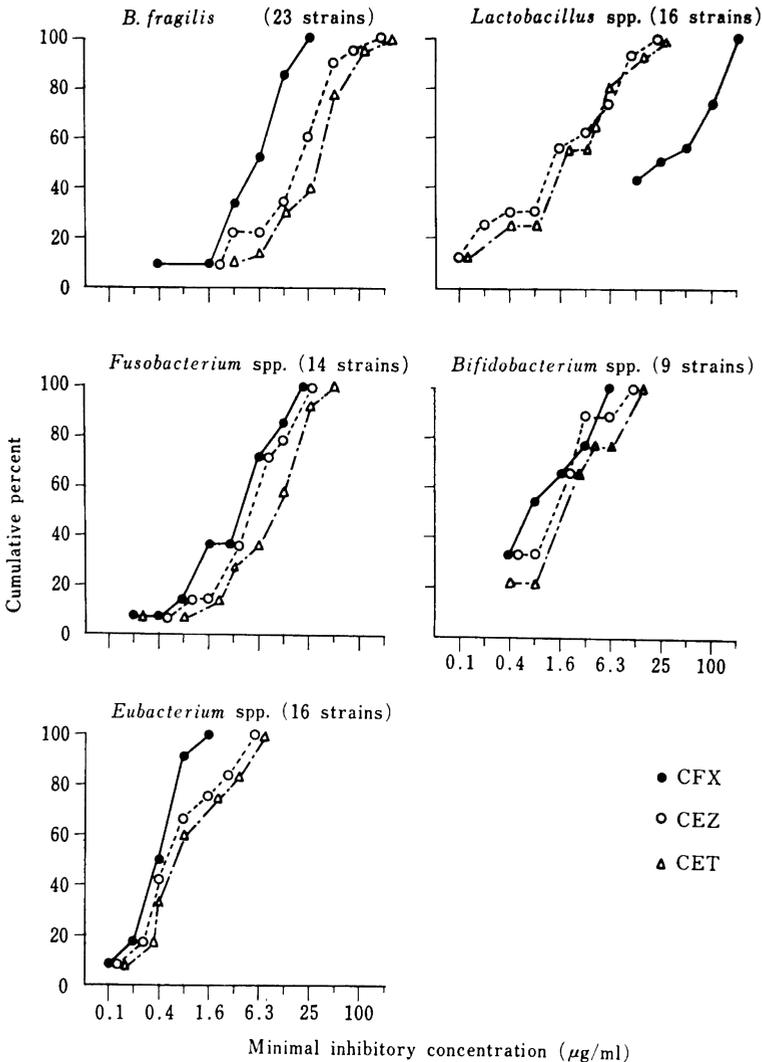
また、無芽胞菌群のうち、*Eubacterium* 属に対しては CFX は、MIC: 0.1~1.6  $\mu\text{g/ml}$ 、また *Bifidobacterium* 属に対しては 6.3  $\mu\text{g/ml}$  以下で、CEZ および CET と比較し、同程度か、菌株により、やや高い活性を示した。

反対に、微好気性菌が多い *Lactobacillus* 属に対して、CFX の MIC は 12.5~50  $\mu\text{g/ml}$  および 100  $\mu\text{g/ml}$  以

上を示す2群に大別され、いずれも低活性であるのに対して、*L. plantarum* に対して CEZ が 25~50  $\mu\text{g/ml}$ 、CET が1株に 25  $\mu\text{g/ml}$  を示したのを除けば、両薬剤の MIC はすべて 0.1~12.5  $\mu\text{g/ml}$  の範囲に入る高い活性を示した。

その他、グラム陰性球菌の *V. alcalescens*, *V. parvula* および *M. elsdenii* に対しては、3薬剤ともほぼ同程度の高い活性 (MIC: 0.2~0.4  $\mu\text{g/ml}$ ) を示し、グラム陽性球菌の *Peptococcus*, および *Peptostreptococcus* に対しても、MIC: 0.1~1.6  $\mu\text{g/ml}$  の高い活性を示した。

Fig. 1 Cumulative percentage of anaerobic bacteria inhibited by increasing concentrations of CFX, CEZ and CET



以上、総括して Table 3 (67頁)および Fig. 1 に、各菌種の感受性分布を示したが、*B. fragilis* は CFX に対して比較的感受性が高く、CEZ および CET に対して 25 $\mu$ g/ml以上の耐性株が40~60%みられたのに対して、CFX に対しては全株とも25 $\mu$ g/ml以下に感受性を示した。一方、*Lactobacillus* 属は、CFXに対して、MIC: 25 $\mu$ g/ml以上を示す菌株が50%以上、逆に CEZ および CET に対しては、ほとんどが25 $\mu$ g/ml以下の感受性を示した。その他の菌種は、CFX, CEZ および CET に対して、ほぼ同程度の感受性を示した。

### III. 考 察

以上のように、CFX は通性嫌気性菌に対すると同様、偏性嫌気性菌に対しても高い抗菌活性を示すことが明らかにされ、その活性の程度は、ほとんどの菌種に対して、対照薬剤の CEZ および CET と、ほぼ同程度であったが、菌種によっては特徴的なパターンがみられた。そのうちで、とくに注目すべきことは、他の cephalosporin 系抗生物質に対して耐性を示す *B. fragilis* に対して、CFX は比較的高い抗菌活性を示したことである。ANDERSON ら<sup>9)</sup>、および DELBENE ら<sup>10)</sup>は、*B. fragilis* は  $\beta$ -lactamase を高度に産生し、cephalosporin 系製剤に耐性を示すことを明らかにしている。CFX は、種々の通性嫌気性菌が産生する  $\beta$ -lactamase 活性に対して高い抵抗性を示すことが明らかにされており<sup>21)</sup>、*B. fragilis* の産生する  $\beta$ -lactamase の活性に対しても、嫌気条件下で、同様に抵抗性を示し、その結果として他剤にくらべて高い抗菌活性を発揮したと思われる。また *B. fragilis* は、*Peptococcaceae* と同様、比較的高頻度に臨床材料から分離され<sup>12)</sup><sup>13)</sup>、種々の感染性疾患の原因菌の1つとみなされるようになってきていることを考慮すると、本菌属単独、あるいは通性嫌気性菌との混合感染症に対して CFX は高い臨床効果を発揮することが予測される。

*Lactobacillus* 属に対しては、CFX は対照の CEZ および CET に比較して、その抗菌活性は有意に低いことが明らかにされたが、このことが、今後 CFX の臨床適応において、宿主の正常細菌叢、とくに腸内細菌叢にどのような影響を与えるかが注目される点であろう。

### 結 論

Cefoxitin の偏性嫌気性菌に対する試験管内抗菌活性について、CEZ および CET を対照として、比較検討し、以下の結論を得た。

1. CFX は、CEZ および CET にくらべ、*B. fragilis* に対して、有意に高い抗菌活性を示した。反対に、*Lactobacillus* 属に対しては、CFX は有意に低い活性であることが明らかにされた。

2. その他の菌種に対しては、CEZ および CET とほぼ同程度の抗菌活性を示すことが示された。

### 謝 辞

稿を終るにあたり、本研究の実施に際し、ご指導、ご協力頂いた、研究室各位に感謝いたします。

なお、本研究は昭和50年1月から昭和51年2月に実施した。

### 文 献

- 1) WALLICK, H. & D. HENDLIN: Cefoxitin, a semisynthetic cephamycin antibiotic: susceptibility studies. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 5: 25~32, 1974
- 2) NEU, H. C.: Cefoxitin, a semisynthetic cephamycin antibiotic: antibacterial spectrum and resistance to hydrolysis by gram-negative  $\beta$ -lactamase. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 6: 170~176, 1974
- 3) SUTTER, V. L. & S. M. FINEGOLD: Susceptibility of anaerobic bacteria to carbenicillin, cefoxitin, and related drugs. *J. Infect. Dis.* 131: 417~422, 1975
- 4) FRANCIS, P. T.; N. V. JACOBUS, J. G. BARTLETT & S. L. GORBACH: Susceptibility of anaerobes to cefoxitin and other cephalosporins. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 7: 128~132, 1975
- 5) MITUOKA, T.; T. SEGA & S. YAMAMOTO: Eine verbesserte Methodik der qualitativen und quantitativen Analyse der Darmflora von Menschen und Tieren. *Zbl. Bacteriol. I. Orig.* 195: 455~496, 1965
- 6) FILDES, P.: New medium for the growth of *Bacterium influenzae*. *Br. J. Exp. Pathol.* 1: 129~130, 1920
- 7) BRIGGS, M.: An improved medium for *Lactobacillus*. *J. Dairy Res.* 20: 36~40, 1963
- 8) STEERS, E.; E. L. FOLTS & B. S. GRAVES: An inocula replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 9: 307~311, 1959
- 9) ANDERSON, J. D. & R. B. SYKES: Characterization of a  $\beta$ -lactamase obtained from a strain of *Bacteroides fragilis* resistant to  $\beta$ -lactam antibiotics. *J. Med. Microbiol.* 6: 201~206, 1973
- 10) DEL BENE V. E. & W. E. FARRAR, JR.: Cephalosporinase activity in *Bacteroides fragilis*. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 3: 369~372, 1973
- 11) ONISHI, H. R.; D. R. DAoust, S. B. ZIMMERMAN, D. HENDLIN & E. O. STAPLEY: Cefoxitin, a semisynthetic cephamycin antibiotic: resistance to beta-lactamase inactivation. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 5: 38~44, 1974
- 12) BODER, S. T.; M. G. KOENING & J. S. GOODMAN: Bacteremic *Bacteroides* infections. *Ann. Intern. Med.* 73: 537~545, 1970
- 13) GOODMAN, J. S.: Infections due to anaerobic

non-sporeforming bacilli. In A. BALOWS(ed.):  
"Anaerobic Bacteria: Role in Disease", p. 219~

233, Charles C. Thomas Publisher, Springfield,  
1972

## A STUDY ON THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CEFOXITIN AGAINST ANAEROBIC BACTERIA

KEN-ICHI SATOH and TOMOTARI MITUOKA  
The Institutes of Physical and Chemical Research

*In vitro* antimicrobial activity of cefoxitin, a semi-synthetic cephamycin antibiotic, was studied against 102 strains of anaerobes in comparison with cefazolin and cephalothin. Of these antibiotics, cefoxitin showed the highest activity against *Bacteroides fragilis*, though it was less active against *Lactobacillus* spp. than other antibiotics. Against other genera of anaerobes, no significant difference in antimicrobial activity was found among the antibiotics examined.