

Cefoxitin による *Escherichia coli*, *Proteus morganii*, *Serratia marcescens* の形態変化について

西野武志・戸辺建介・山岸純一・阪中沢昭三
京都医科大学微生物学教室

Cefoxitin は 1972 年米国 Merck Sharp & Dohme Research Laboratories で開発された新しい半合成 cephamycin 系抗生物質である¹⁾²⁾。本薬剤の化学構造は Cephalothin に類似しているが、7位の α 位に methoxy 基を有しており、既存の β -lactam 系抗生物質にないユニークな化学構造を有している。この化学構造の特異性より cephalosporin 系抗生物質とは区別し、cephamycin 系抗生物質と呼ばれている³⁾⁴⁾⁵⁾。

本薬剤はグラム陽性菌群、陰性菌群に対し幅広く抗菌力を有する。とくに7 α 位に methoxy 基を有するために各種細菌の産生する penicillinase, cephalosporinase に対して非常に強い抵抗性を示し、他の β -lactam 系抗生物質に耐性の *Escherichia coli*, インドール陽性の *Proteus*, *Serratia* などの多くに有効である^{6)~10)}。

Penicillin や cephalosporin などの β -lactam 系抗生物質をグラム陰性桿菌に作用させた場合、菌体が伸長化し、spheroplast が形成されるという研究はすでに数多く報告されている^{11)~15)}。私どもも Cephalexin, Carbenicillin, Ticarcillin, T-1220, PC-904 などの薬剤をグラム陰性桿菌に作用させた時の形態変化について観察し、著明な filament 形成が認められることをすでに報告した^{16)~19)}。

今回私どもは新しく開発された cephamycin 系抗生物質 Cefoxitin による *E. coli*, *Proteus morganii*, *Serratia marcescens* の形態変化について位相差顕微鏡や走査電子顕微鏡を用い検討を行ったので報告する。

I. 実験材料および実験方法

1. 使用菌株および使用薬剤

菌株としては臨床分離大腸菌 *Escherichia coli* No. 29, インドール陽性のモルガン菌 *Proteus morganii* No. 101, 霊菌 *Serratia marcescens* T-55 (東京女子医大・清水喜八郎教授分与株) を用い、薬剤としては Cefoxitin (CFX), Cephalothin (CET), Cefazolin (CEZ) のいずれも力価の明らかなものを用いて行った。なお 10^7 cells/ml の菌液を使用した場合の MIC は、*E. coli* No. 29 の場合 3 剤とも $6.25 \mu\text{g/ml}$ であり、*Pr. morganii* No. 101 の場合 CFX は $6.25 \mu\text{g/ml}$, CET, CEZ は $>100 \mu\text{g/ml}$ であり、*Ser. marcescens* T-55 の場合 CFX は $12.5 \mu\text{g/ml}$, CET, CEZ はいずれも $>100 \mu\text{g/ml}$ であ

った。

2. 位相差顕微鏡による観察

スライドガラス上で薬剤を含ませたフィルム寒天を作製し、一方約 3 時間振盪培養を行った対数期途上の菌液をカバーグラスに移植し、これを寒天上にかぶせ、パラフィンで封入した。この標本を 37°C 恒温装置付の位相差顕微鏡 (日本光学) により観察した。

3. 走査電子顕微鏡による観察

いずれの菌株も Tryptosoya broth (日水) を用いて前培養を行い、この菌液を Heart infusion broth (日水) で 10^{-4} に希釈し、 37°C で静置培養を行った。培養約 4~5 時間後の対数期途上 (10^7 cells/ml) に薬剤を作用させ、*E. coli* No. 29 の場合 1, 2, 4 時間後に、*Pr. morganii* No. 101, *Ser. marcescens* T-55 の場合 1, 3 時間後に生菌数を測定すると同時に菌体を集菌し、電子顕微鏡の試料とした。すなわち 1% glutaraldehyde 溶液にて前固定を行い、KELLENBERGER らの方法²⁰⁾に従って、1% OsO_4 で本固定後、アルコール系列で脱水を行った。これを酢酸イソアミールに置換し、臨界点乾燥法²¹⁾²²⁾により乾燥を行った。その後カーボン、金にて蒸着し走査電子顕微鏡 JSM-35 (日本電子) で菌体の表面構造を観察した。

II. 実験結果

1. *E. coli* No. 29 の形態変化

1) 位相差顕微鏡による観察

Fig. 1 a は正常な *E. coli* No. 29 の分裂増殖している様子を観察したもので、培養150分後の像である。Fig. 1 b は CFX の $6.25 \mu\text{g/ml}$ を 150分作用させた時の像で、菌体は伸長化し、spheroplast 様構造や溶菌像も観察することができた。Fig. 1 c は CET の $6.25 \mu\text{g/ml}$ を 105分作用させた時の像で、多くの spheroplast 様構造や溶菌像を観察することができた。Fig. 1 d は CEZ の $6.25 \mu\text{g/ml}$ を 150分作用させた時の像で、菌体はあまり伸長化せず、spheroplast 様構造を形成し溶菌していく様子を観察することができた。この様な形態変化をさらに詳細に観察するために次に走査電子顕微鏡を用いて検討した。

2) 走査電子顕微鏡による観察

Fig. 2 は走査電子顕微鏡試料作製時の生菌数の変化

Fig. 1 Phase contrast micrographs of *E. coli* No. 29 (a) Untreated *E. coli* No. 29 cells observed after 150 min. of incubation (b) Cells after 150 min. of exposure to CFX (6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$) (c) Cells after 105 min. of exposure to CET (6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$) Spheroplast-like structures are observed. (d) Cells after 150 min. of exposure to CEZ (6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

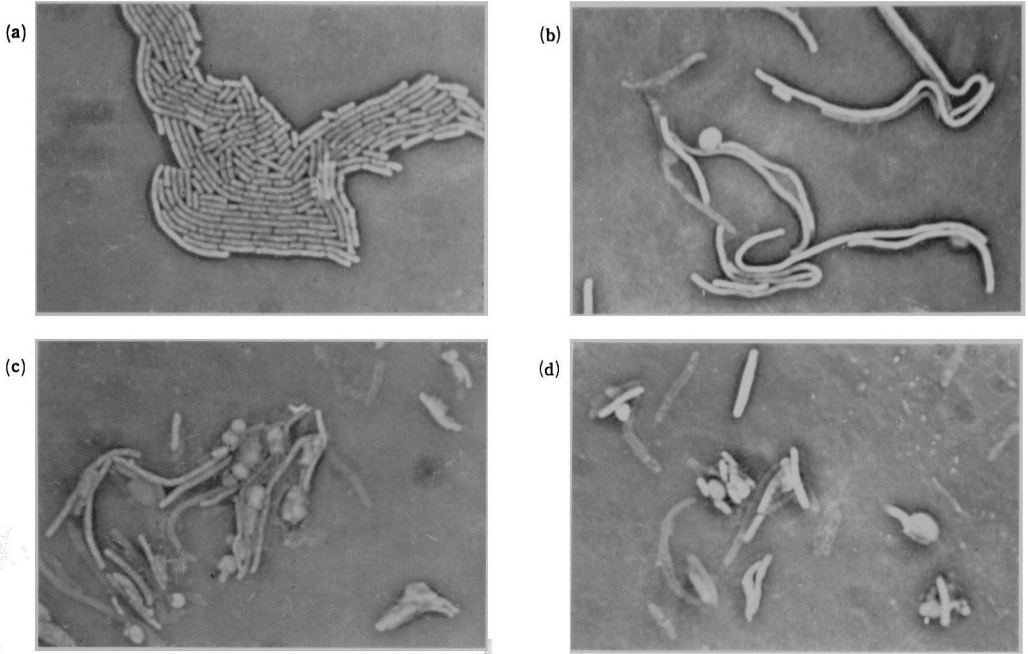
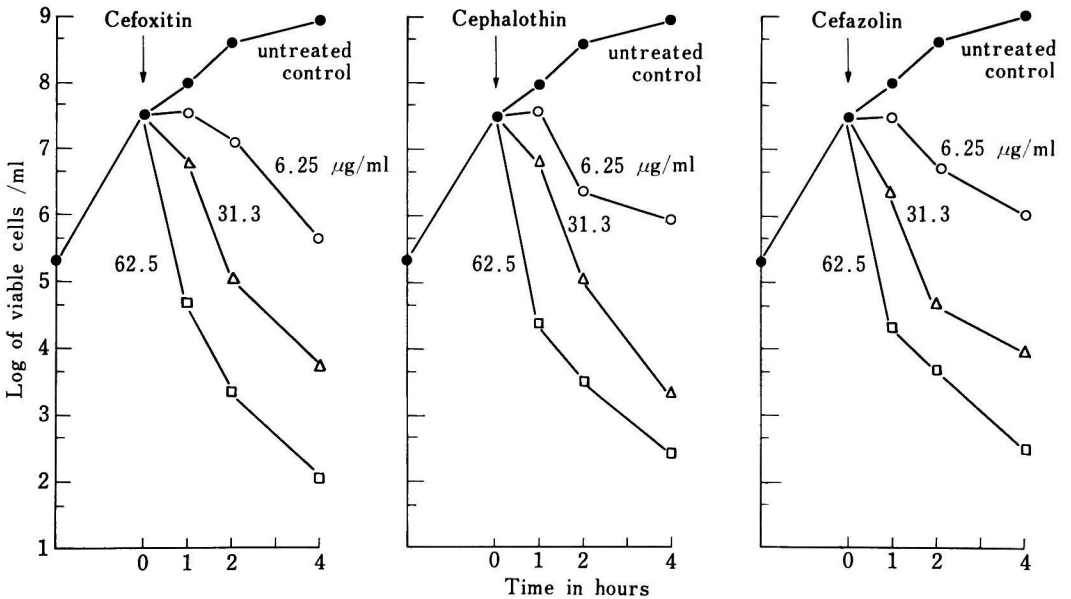


Fig. 2 Effects of cefoxitin, cephalothin and cefazolin against growth curve of *E. coli* No. 29



を示したものである。すなわち、CFX, CET, CEZ のいずれの薬剤でも dose response のある著明な殺菌作用が認められた。

この様な菌数変化時の形態変化を Fig. 3~18 に示した。

Fig. 3 は正常な *E. coli* No. 29 の走査電顕像で、表面構造は smooth な桿状形態を示しており、ちょうど分裂時にある細胞も立体的に捉えることができた。

Fig. 4~6 は CFX の 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ をそれぞれ 1, 2, 4 時間作用させた時の走査電顕像で、菌体は少し elongation し、作用時間の経過と共に表層に凹凸が見られる細胞や spheroplast 様構造を観察することができた。

Fig. 7, 8 は CFX の 62.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ をそれぞれ 1, 2 時間作用させた時の走査電顕像で、菌体表層に bleb 様構造が認められた。

Fig. 9~11 は CET の 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ をそれぞれ 1, 2, 4 時間作用させた時の走査電顕像で、菌体は filament 化し、時間の経過と共に spheroplast 様構造や溶菌像を観察することができた。

Fig. 12, 13 は CET の 62.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ をそれぞれ 1, 2 時間作用させた時の走査電顕像で、CFX を作用させた場合よりも数多くの spheroplast 様構造を立体的に観察することができた。

Fig. 14~16 は CEZ の 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ をそれぞれ 1, 2, 4 時間作用させた時の走査電顕像で、CFX や CET を作用させた場合と同様な像を観察することができた。

Fig. 17, 18 は CEZ の 62.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ をそれぞれ 1, 2 時間作用させた時の走査電顕像で、多くの spheroplast 様構造が認められた。

Fig. 3 Untreated *E. coli* No. 29 cells observed by scanning electron microscope

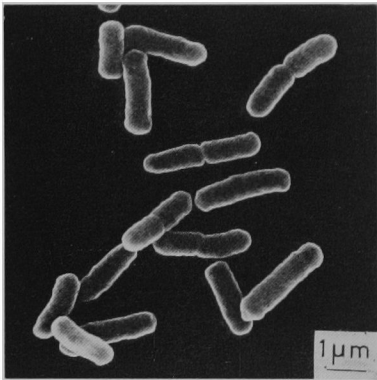


Fig. 4 Scanning electron micrograph of *E. coli* No. 29 exposed to 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of CFX for 1 hour

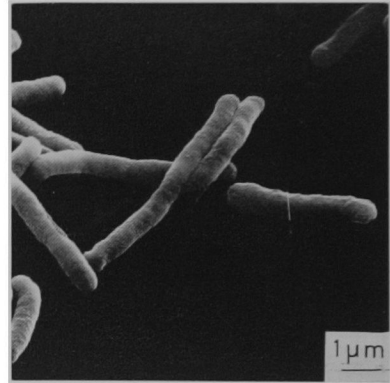


Fig. 5 Scanning electron micrograph of *E. coli* No. 29 exposed to 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of CFX for 2 hours

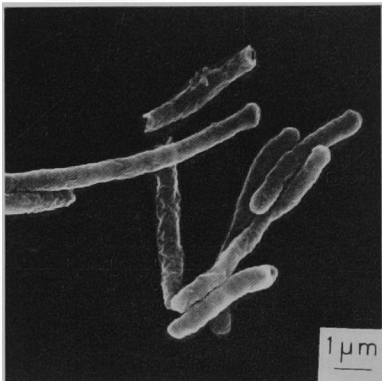


Fig. 6 Scanning electron micrograph of *E. coli* No. 29 exposed to 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of CFX for 4 hours

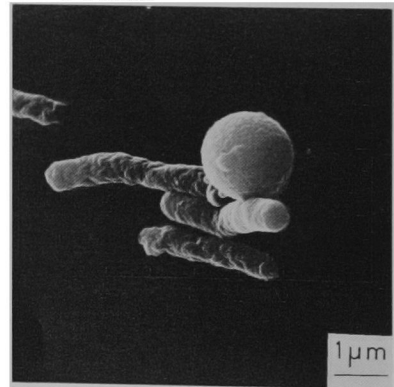


Fig. 7 Scanning electron micrograph of *E. coli* No. 29 exposed to 62.5 $\mu\text{g/ml}$ of CFX for 1 hour

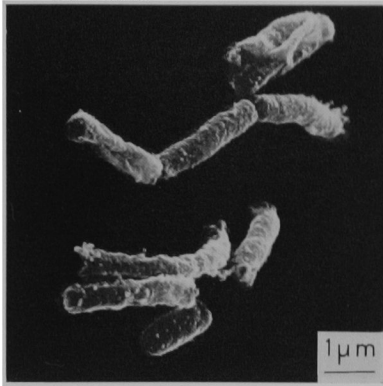


Fig. 8 Scanning electron micrograph of *E. coli* No. 29 exposed to 62.5 $\mu\text{g/ml}$ of CFX for 2 hours

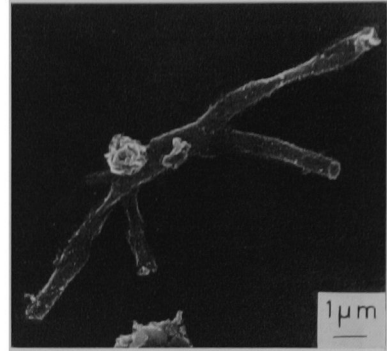


Fig. 9 Scanning electron micrograph of *E. coli* No.29 exposed to 6.25 $\mu\text{g/ml}$ of CET for 1 hour

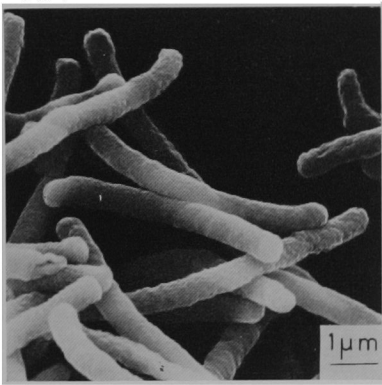


Fig. 10 Scanning electron micrograph of *E. coli* No. 29 exposed to 6.25 $\mu\text{g/ml}$ of CET for 2 hours

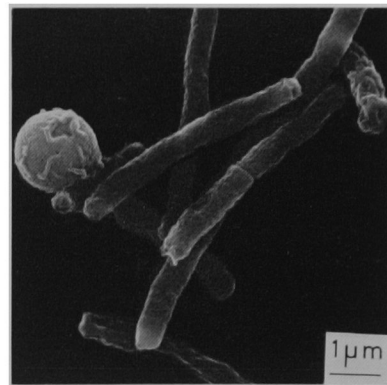


Fig. 11 Scanning electron micrograph of *E. coli* No. 29 exposed to 6.25 $\mu\text{g/ml}$ of CET for 4 hours

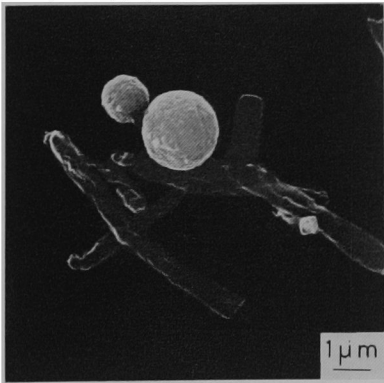


Fig. 12 Scanning electron micrograph of *E. coli* No. 29 exposed to 62.5 $\mu\text{g/ml}$ of CET for 1 hour

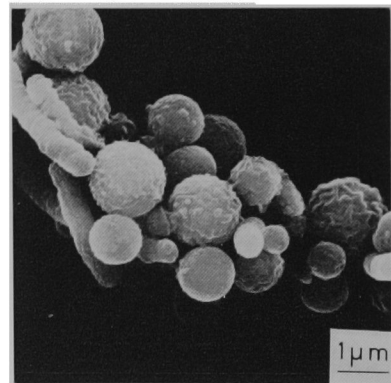


Fig. 13 Scanning electron micrograph of *E. coli* No. 29 exposed to 62.5 $\mu\text{g/ml}$ of CET for 2 hours

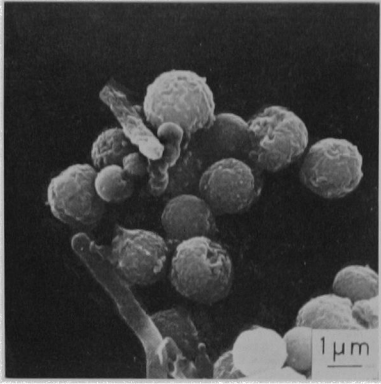


Fig. 14 Scanning electron micrograph of *E. coli* No. 29 exposed to 6.25 $\mu\text{g/ml}$ of CEZ for 1 hour

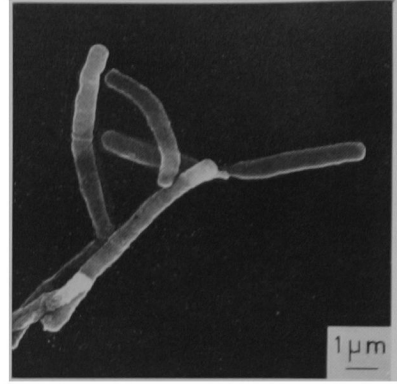


Fig. 15 Scanning electron micrograph of *E. coli* No. 29 exposed to 6.25 $\mu\text{g/ml}$ of CEZ for 2 hours

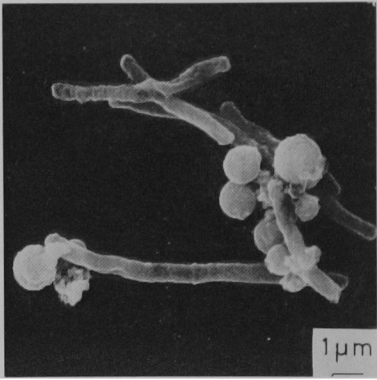


Fig. 16 Scanning electron micrograph of *E. coli* No. 29 exposed to 6.25 $\mu\text{g/ml}$ of CEZ for 4 hours

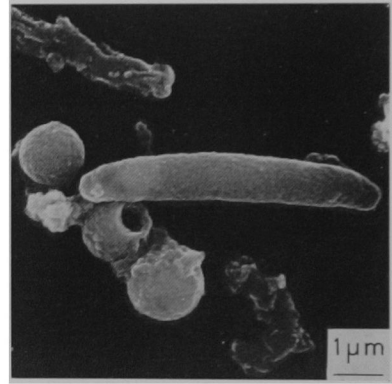


Fig. 17 Scanning electron micrograph of *E. coli* No. 29 exposed to 62.5 $\mu\text{g/ml}$ of CEZ for 1 hour

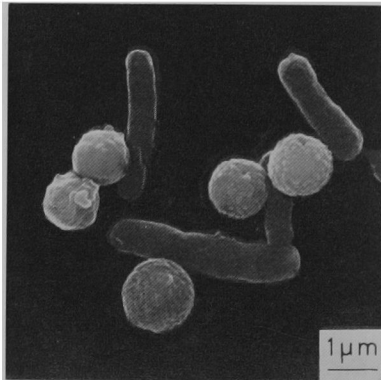
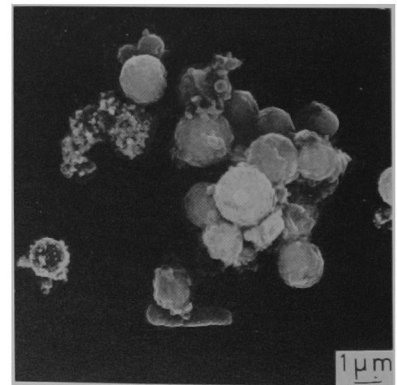


Fig. 18 Scanning electron micrograph of *E. coli* No. 29 exposed to 62.5 $\mu\text{g/ml}$ of CEZ for 2 hours



以上の形態観察より CFX を *E. coli* No. 29 に作用させた場合、菌体は伸長化し、spheroplast 様構造を形成するが、CFX を作用させた場合よりも CET や CEZ を作用させた方が、多くの細胞で spheroplast 様構造を観察することができた。また CFX を作用させた細胞の中には桿状形態のまま溶菌するものも認められた。

次に cephalosporin 耐性の *Pr. morgani* No. 101 ではどのような形態変化が見られるか検討を行った。

2. *Pr. morgani* No. 101 の形態変化

1) 位相差顕微鏡による観察

Fig. 19 a は正常な *Pr. morgani* No. 101 の増殖している様子を観察したもので、培養360分後の像である。Fig. 19 b は CFX の 62.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を70分作用させた時の像で、菌体は殆んど伸長化せず、spheroplast 様構造や溶菌していく様子を観察することができた。Fig. 19 c は CET の 62.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を90分作用させた時の像で、control と殆んど同様に増殖した。Fig. 19 d は CEZ の 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を120分作用させた時の像で、正常な形態をした細胞、filament 化した細胞そして溶菌した細胞も観察することができた。この様に CET、CEZ に耐性の *Pr. morgani* に対しても CFX は優れた抗菌作用を示すことが判ったので、次に走査電子顕微鏡を用いて菌体の外部形態を観察した。

2) 走査電子顕微鏡による観察

Fig. 20 は走査電子顕微鏡試料作製時の生菌数の変化を示したものである。すなわち、 10^7 cells/ml 時に CFX の 6.25, 62.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を作用させた場合、いずれの濃度に於いても殺菌作用が認められた。CET の 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 作用では control と殆んど同様に増殖し、CEZ の 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 作用では1時間後まで少し弱い殺菌作用が見られた。

このような菌数変化時の形態変化を Fig. 21~25 に示した。

Fig. 21 は正常な *Pr. morgani* No. 101 の走査電顕像で、表面構造は smooth な形態を示している。

Fig. 22, 23 は CFX の 62.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ をそれぞれ1, 3時間作用させた時の抗菌像で、菌体は少し filament 化し、表層に凹凸の見られる細胞や溶菌像を観察することができた。

Fig. 24 は CET の 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を3時間作用させた時の走査電顕像で、CET の作用は殆んど認められず、control と同様正常な桿状形態を示した。

Fig. 25 は CEZ の 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を3時間作用させた時の走査電顕像で、一部の細胞に薬剤の影響が見られ、filament 化した細胞や spheroplast 様構造を観察することができた。

Fig. 19 Phase contrast micrographs of *Pr. morgani* No. 101

(a) Untreated *Pr. morgani* No. 101 cells observed after 360 min. of incubation (b) Cells after 70 min. of exposure to CFX (62.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) (c) Cells after 90 min. of exposure to CET (62.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$). (d) Cells after 120 min. of exposure to CEZ (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

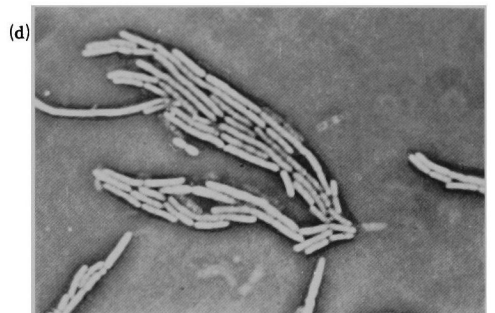
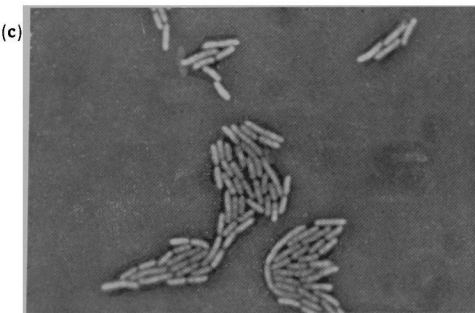
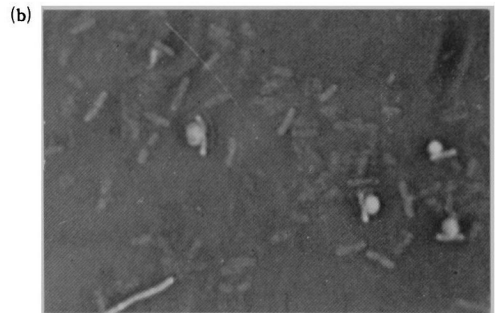
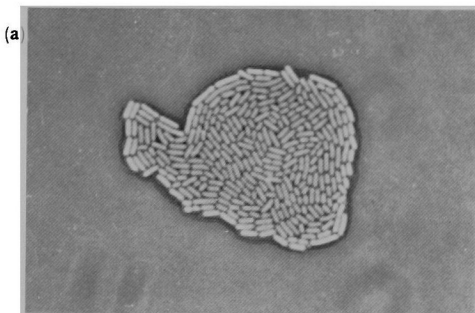


Fig. 20 Effects of cefoxitin, cephalothin and cefazolin against growth curve of *Proteus morganii* No. 101

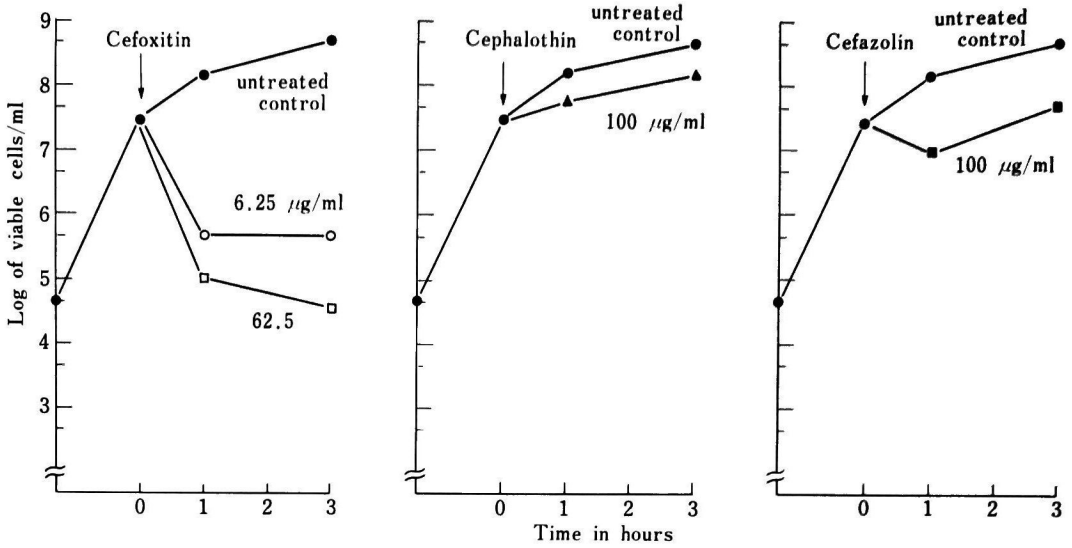


Fig. 21 Untreated *Pr. morganii* No. 101 cells observed by scanning electron microscope

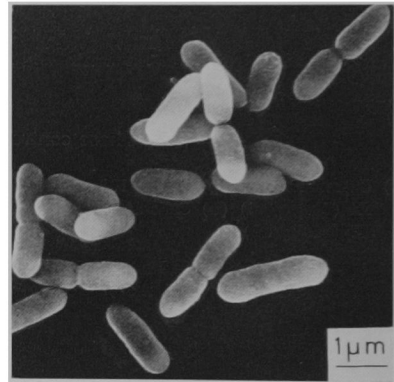


Fig. 22 Scanning electron micrograph of *Pr. morganii* No. 101 exposed to 62.5 $\mu\text{g/ml}$ of CFX for 1 hour

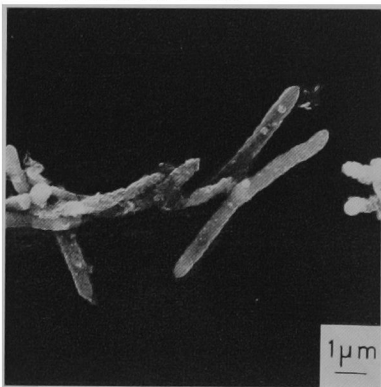


Fig. 23 Scanning electron micrograph of *Pr. morganii* No. 101 exposed to 62.5 $\mu\text{g/ml}$ of CFX for 3 hours

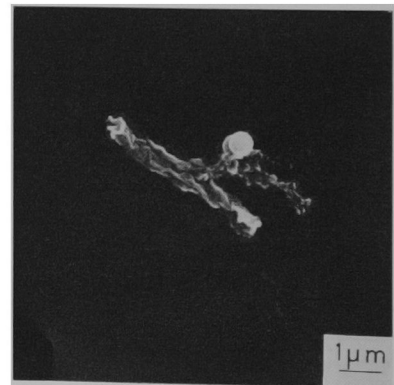
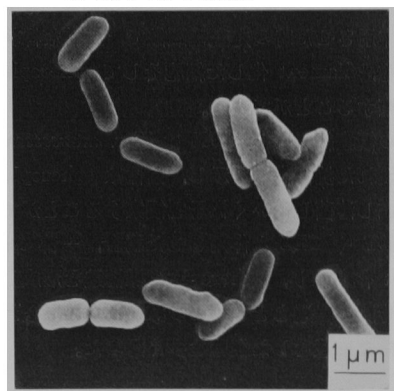


Fig. 24 Scanning electron micrograph of *Pr. morganii* No. 101 exposed to 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of CET for 3 hours



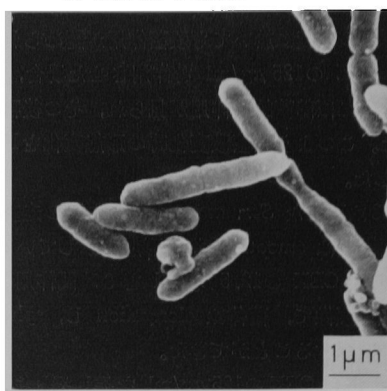
以上の観察結果より CFX を *Pr. morganii* No. 101 に作用させた場合、菌体は少し elongation し、spheroplast 様構造を形成し溶菌するものと思われた。この様に cephalosporin 耐性菌に対しても CFX は優れた抗菌作用を示したので、さらに *Ser. marcescens* T-55 を用い検討を行った。

3. *Ser. marcescens* T-55 の形態変化

1) 位相差顕微鏡による観察

Fig. 26 a は正常な *Ser. marcescens* T-55 の増殖して

Fig. 25 Scanning electron micrograph of *Pr. morganii* No. 101 exposed to 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of CEZ for 3 hours

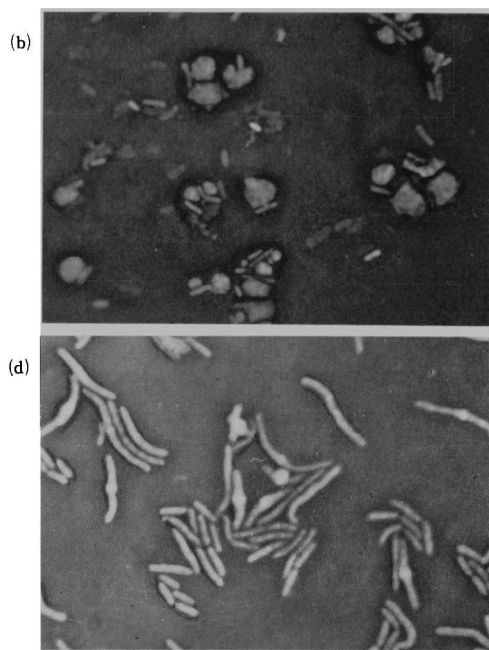
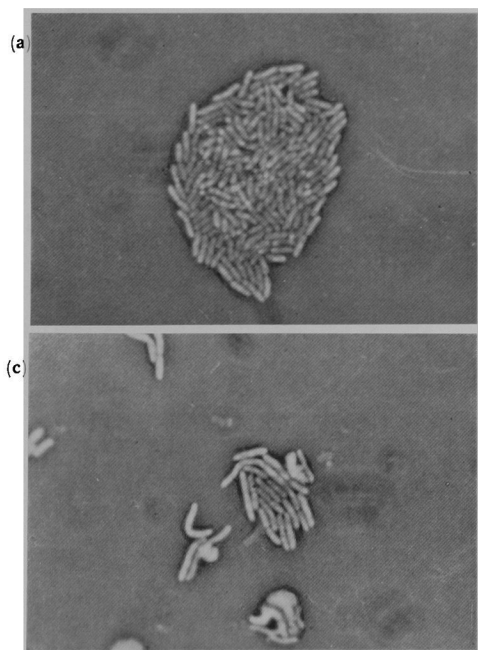


いる様子を観察したもので、培養200分後の像である。

Fig. 26 b は CFX の 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 作用 65分後の像で、著明な spheroplast 様構造を観察することができた。Fig. 26 c, d はそれぞれ CET の 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を 75分、CEZ の 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を 90分作用させた時の像で、MICは両剤とも $>100 \mu\text{g}/\text{ml}$ であるが、薬剤作用短時間内では filament 化した細胞や spheroplast 様構造を観察することができた。この様な形態変化をさらに詳細に観察するために次に走査電子顕微鏡を用いて検討した。

Fig. 26 Phase contrast micrographs of *Ser. marcescens* T-55

(a) Untreated *Ser. marcescens* T-55 cells observed after 200 min. of incubation (b) Cells after 65 min. of exposure to CFX (125 $\mu\text{g}/\text{ml}$) (c) Cells after 75 min. of exposure to CET (125 $\mu\text{g}/\text{ml}$) (d) Cells after 90 min. of exposure to CEZ (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)



2) 走査電子顕微鏡による観察

走査電子顕微鏡試料作製時の生菌数の変化は Fig. 27 に示す様に、CFX の 12.5, 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を作用させた場合、いずれの濃度に於いても殺菌作用が認められた。

CET, CEZ の 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を作用させた場合、作用 1 時間後まではほぼ静菌的な作用が見られ、その後増殖を開始した。このような菌数変化時の形態変化を Fig. 28~33 に示した。

Fig. 28 は正常な *Ser. marcescens* T-55 の走査電顕像で、表面構造は smooth な桿状形態を示している。

Fig. 29 は CEX の 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を 3 時間作用させた時の走査電顕像で、菌体は elongation し、spheroplast 様構造を観察することができた。

Fig. 30, 31 は CFX の 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ をそれぞれ 1, 3 時間

作用させた時の走査電顕像で、菌体は殆んど elongation せず、表層に凹凸のある spheroplast 様構造を認めた。

Fig. 32, 33 は CET, CEZ の 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ をそれぞれ 3 時間作用させた時の走査電顕像で、正常な桿状形態をした細胞、filament 化した細胞そして spheroplast 様構造を観察することができた。

以上の観察結果より CFX は *Ser. marcescens* T-55 に対し優れた抗菌作用を示し、菌体は spheroplast 様構造を形成し溶菌していく様子を観察することができた。また CET や CEZ を作用させた場合、一部の細胞は filament 化したり、spheroplast 様構造を形成したりしたが、時間の経過とともにこの様な細胞は見られなくなり、正常な形態をした細胞を多く認めた。

Fig. 27 Effects of cefoxitin, cephalothin and cefazolin against growth curve of *Serratia marcescens* T 55

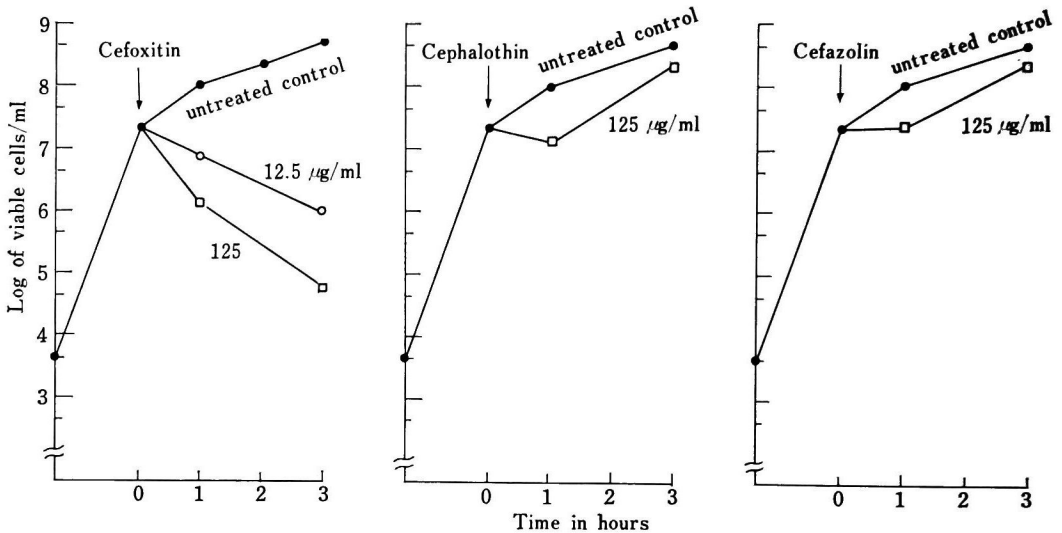


Fig. 28 Untreated *Ser. marcescens* T-55 cells observed by scanning electron microscope

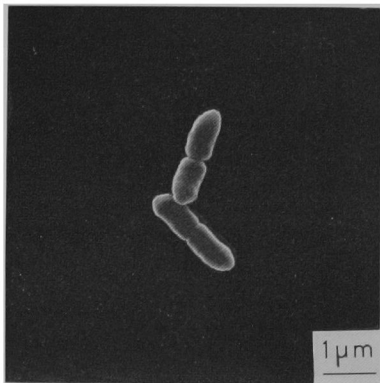


Fig. 29 Scanning electron micrograph of *Ser. marcescens* T-55 exposed to 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of CFX for 3 hours

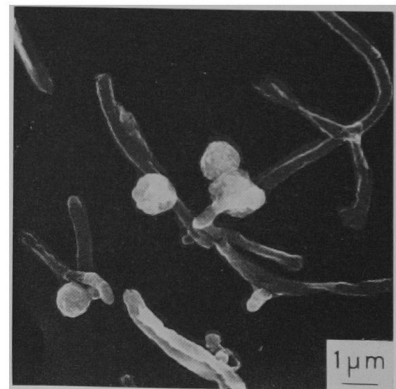


Fig. 30 Scanning electron micrograph of *Ser. marcescens* T-55 exposed to 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of CFX for 1 hour

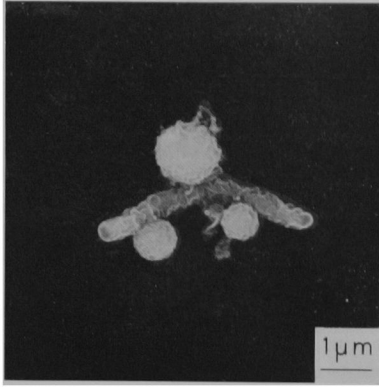


Fig. 31 Scanning electron micrograph of *Ser. marcescens* T-55 exposed to 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of CFX for 3 hours

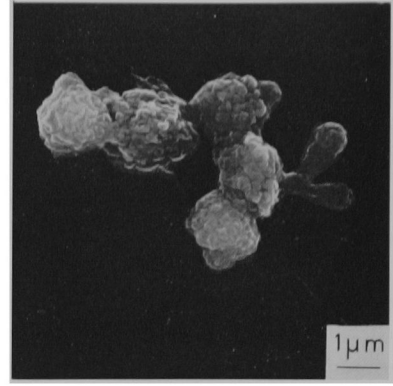


Fig. 32 Scanning electron micrograph of *Ser. marcescens* T-55 exposed to 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of CET for 3 hours

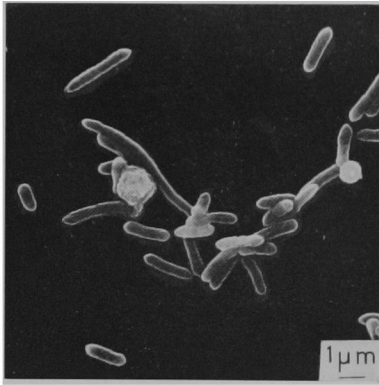
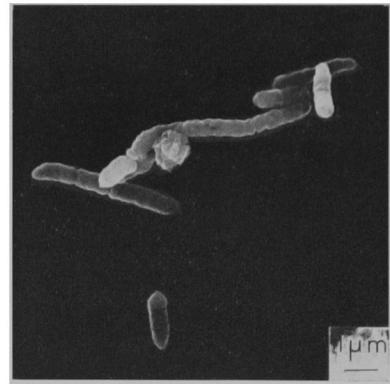


Fig. 33 Scanning electron micrograph of *Ser. marcescens* T-55 exposed to 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of CEZ for 3 hours



III. 考 察

S.B. ZIMMERMAN, E.O. STAPLEY²³⁾ はすでに Cefoxitin を *Enterobacter cloacae* (β -lactamase 非産生株) に作用させた時の形態変化について観察し、Cefoxitin を作用させた場合、Cephalothin, Cefazolin そして Benzylpenicillin を作用させた時と全く同様な filament 形成が見られ、その filament の長さは Cephalexin, Cephadrine, Cephapirin, Carbenicillin, Ticarcillin を作用させた時よりも遙かに短かいと報告している。また 7 位あるいは 6 位に芳香性の置換基を持たない Cephaloridine, Cephacetrile, cephalosporin C, 6-aminopenicillanic acid, 7-aminocephalosporanic acid, FL-1060 などでは filament 形成が認められなかったと報告している。

今回私どもは Cefoxitin による *E. coli* No. 29 の形態変化について、対照薬剤として Cephalothin, Cefazolin を用いて検討したところ、Cefoxitin の filament 形成能

は他の 2 剤とほぼ同様であったが、Cefoxitin の場合、その溶菌過程に於いて spheroplast 様構造をあまり観察することができず、桿状形態のまま溶菌する細胞も数多く認められた。最近 B.G. SPRATT ら²⁴⁾²⁵⁾ は penicillin 作用時における *E. coli* の形態変化を決定する因子として penicillin binding protein の存在を述べている。すなわち cell elongation に影響を与えるのは binding protein 1 であり、cell shape および cell division に影響するのはそれぞれ binding protein 2 および 3 であるとしており、それ以外にも binding protein が存在することを報告している。Cefoxitin の binding protein に対する親和性が Cephalothin や Cefazolin と少し異なるために、このような形態的な差が *E. coli* で見られるのかも知れず、今後 binding protein に対する親和性について検討したいと考えている。

また Cefoxitin による cephalosporin 耐性の *Pr. morgani* No. 101, *Ser. marcescens* T-55 の形態変化

について検討したところ、菌体は少し elongation し、spheroplast 様構造を形成し溶菌していく様子を観察することができた。CET や CEZ は両菌種に対して耐性 (>100 $\mu\text{g/ml}$) であるため、作用後短時間内では一部の細胞に変化が見られたが、時間の経過と共に分裂、増殖した。この様に Cefoxitin は cephalosporinase を産生する *Pr. morgani* No. 101, *Ser. marcescens* T-55 に対しても優れた抗菌作用を示すことが形態的に確かめられ、今後これらの菌種に対する臨床的な効果が期待される。

要 約

今回私どもは新しく Merck 社で開発された Cefoxitin による *Escherichia coli* No. 29, *Proteus morgani* No. 101, *Serratia marcescens* T-55 の形態変化について、比較薬剤として Cephalothin および Cefazolin を用い、位相差顕微鏡、走査電子顕微鏡により検討を行った結果、次の様な成績がえられた。

1) *E. coli* No. 29 では Cefoxitin を作用させた場合、Cephalothin や Cefazolin と同様な形態変化を示し、菌体は filament 化し、spheroplast 様構造を形成した。しかし Cephalothin や Cefazolin を作用させた時の方が、多くの細胞で spheroplast 様構造を観察することができた。

2) *Pr. morgani* No. 101, *Ser. marcescens* T-55 では Cefoxitin の作用により、菌体は少し elongation し、spheroplast 様構造を形成し溶菌した。しかし Cephalothin や Cefazolin では両菌株に耐性であるため、殆んど変化が認められなかった。

文 献

- 1) WALLICK, H. & D. HENDLIN: Cefoxitin, a semisynthetic cephamycin antibiotic: susceptibility studies. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 5:25~32, 1974
- 2) MILLER, A.K.; E. CELOZZI, Y. KONG, B. A. PELAK, D. HENDLIN & E. O. STAPLEY: Cefoxitin, a semisynthetic cephamycin antibiotic: *in vivo* evaluation. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 5: 33~37, 1974
- 3) ALBERS-SCHONBERG, G.; B. H. ARISON & J. L. SMITH: New β -lactam antibiotics: structure determination of cephamycins A and B. *Tetrahedron Lett.* 29: 2911~2914, 1972
- 4) STAPLEY, E. O.; M. JACKSON, S. HERNANDEZ, S. B. ZIMMERMAN, S. A. CURRIE, S. MOCHALES, J. M. MATA, H. B. WOODRUFF & D. HENDLIN: Cephamycins, a new family of β -lactam Antibiotics. I. Productions by *Actinomycetes*, including *Streptomyces lactamdurans* sp. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 2: 122~131, 1972
- 5) MILLER, T. W.; R. T. GOEGELMAN, R. G. WESTON, I. PUTTER & F. J. WOLF: Cephamycins, a new family of β -lactam antibiotics. II. Isolation and chemical characterization. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 2: 132~135, 1972
- 6) ONISHI, H. R.; D. R. DAoust, S. B. ZIMMERMAN, D. HENDLIN & E. O. STAPLEY: Cefoxitin, a semisynthetic cephamycin antibiotic: resistance to β -lactamase inactivation. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 5: 38~48, 1974
- 7) HAMILTON-MILLER, J. M. T.; D. W. KERRY & W. BRUMFITT: An *in vitro* comparison of cefoxitin, a semisynthetic cephamycin, with cephalothin. *J. Antibiotics* 27: 42~48, 1974
- 8) NEU, H. C.: Cefoxitin, a semisynthetic cephamycin antibiotic: antibacterial spectrum and resistance to hydrolysis by Gram-negative β -lactamases. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 6: 170~176, 1974
- 9) MOELLERING Jr., R. C.; M. DRAY & L. J. KUNZ: Susceptibility of clinical isolates of bacteria to cefoxitin and cephalothin. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 6: 320~323, 1974
- 10) 故中沢昭三, 戸辺建介, 平井芳美, 山岡 暢, 大崎節子, 高井かつみ, 西野武志: 新セファマイシン系抗生物質 Cefoxitin に関する細菌学的研究. *Chemotherapy* 26: (S-1) 41~63, 1978
- 11) DIENES, L.: The development of *Proteus* cultures in the presence of penicillin. *J. Bacteriol.* 57: 529~546, 1949
- 12) FLEMING, A.; A. VOUREKA, I.R.H. KRAMER & W.H. HUGHES: The morphology and motility of *Proteus vulgaris* and other organisms cultured in the presence of penicillin. *J. Gen. Microbiol.* 4: 257~269, 1950
- 13) LEDERBERG, J.: Bacterial protoplasts induced by penicillin. *Proc. N.A.S.* 42: 574~577, 1956
- 14) BURDASH, N. M.; M. A. EHRLICH, H. G. EHRLICH & J. T. PARISI: Electron microscopy of *Proteus vulgaris* exposed to cephalothin. *J. Bacteriol.* 95: 1956~1960, 1968
- 15) PRIOR, R. B. & J. F. WARNER: Morphological alterations of *Pseudomonas aeruginosa* by ticarcillin: a scanning electron microscope study. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 6: 853~855, 1974
- 16) NISHINO, T. & S. NAKAZAWA: Cephalalexin-induced morphological alterations in the surface structure of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* demonstrated by scanning electron microscopy. *Jpn. J. Microbiol.* 17: 383~392, 1973
- 17) 西野武志, 山岸純一, 渡辺泰雄, 中沢昭三: 緑膿菌に対する T-1220 の抗菌像について. *Chemotherapy* 22: 755~764, 1977
- 18) 西野武志, 尾花芳樹, 後藤直正, 山岸純一, 中沢

- 昭三：緑膿菌に対する Ticarcillin の抗菌像について。Chemotherapy 25 : 2428~2436, 1977
- 19) 西野武志, 山岸純一, 平井芳美, 中沢昭三：緑膿菌に対する PC-904 の抗菌像について。Chemotherapy (in press)
- 20) KELLENBERGER, E. ; A. RYTER & J. SECHAUD : Electron microscope study of DNA-containing plasmids. II. Vegetative and mature phage DNA as compared with normal bacterial nucleoids in different physiological states. J. Biophys. Biochem. Cytol. 4 : 671~678, 1958
- 21) ANDERSON, T. F. : Techniques for the preservation of three-dimensional structure in preparing specimens for the electron microscope. Trans. S. Y. Acad. Sci. 13 : 130~134, 1951
- 22) HORIDGE, G. A. & S. J. TAMM : Critical point drying for scanning electron microscopic study of ciliary motion. Science 163 : 817~818, 1969
- 23) ZIMMERMAN, S. B. & E. O. STAPLEY : Relative morphological effects induced by cefoxitin and other β -lactam antibiotics *in vitro*. Antimicrob. Agents & Chemoth. 9 : 318~326, 1976
- 24) SPRATT, B. G. : Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation and shape of *Escherichia coli* K 12. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 72 : 2999~3003, 1975
- 25) SPRATT, B. G. & A. B. PARDEE : Penicillin-binding proteins and cell shape in *E. coli*. Nature 254 : 516~517, 1975

MORPHOLOGICAL ALTERATIONS IN *ESCHERICHIA COLI* NO. 29,
PROTEUS MORGANII NO.101 AND *SERRATIA MARCESCENS* T-55
 EXPOSED TO CEFOXITIN

TAKESHI NISHINO, KENSUKE TOBE, JUN-ICHI YAMAGISHI and SHOZO NAKAZAWA
 Department of Microbiology, Kyoto College of Pharmacy

The effects of cefoxitin (CFX) on the morphology of *E. coli* No.29, *Pr.morganii* No.101 and *Ser. marcescens* T-55 were examined by the phase contrast microscope and the scanning electron microscope. The following results were obtained :

1) CFX induced filament formations and spheroplast-like structures at the minimum inhibitory concentration (MIC) with *E. coli* No.29.

These morphological alterations of *E. coli* No. 29, treated with CFX, were similar to those with cephalothin (CET) and cefazolin (CEZ), used as control drugs.

2) Spheroplast formations and cell lysis were observed when CFX was allowed to act on *Pr.morganii* No.101 and *Ser. marcescens* T-55 (β -lactam antibiotic resistant strain). When treated with CET and CEZ, most cells grew similarly to the untreated controls of *Pr.morganii* No. 101 and *Ser. marcescens* T-55.