

Cefotiam (SCE-963) に関する基礎的検討

富岡 一・小林芳夫

慶應義塾大学医学部附属病院中央検査部・内科

わが国ではすでに多くの cephalosporin 系抗生素の登場をみているが、これらに比べてグラム陰性桿菌に対する抗菌力がはるかに優れ、また β -lactamase に對し安定性が高いとされる Cefotiam (CTM, SCE-963) が新しく開発されたので、臨床応用に先立ち、まずこの抗茵薬に関する基礎的検討を行った。

実験材料ならびに方法

被検菌株：1973年から1977年までに慶應義塾大学病院中央臨床検査部微生物室細菌係において血液培養検体より分離・同定した *Escherichia coli* 31株、*Klebsiella pneumoniae* 16株と *Enterobacter cloacae* 16株を被検菌株として用いた。

供試薬物：CTM (武田薬品工業：Lot RC-3)、Cefazolin (CEZ, 藤沢薬品工業：Lot 401573K) および Cephalothin (CET, 塩野義製薬：Lot IEB03E) の標準品を各社より提供をうけて使用した。

最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法：日本化学会標準法¹⁾に従い測定した。平板培地の作製には Bacto-heart infusion agar を用いた。接種菌液は Bacto-heart infusion broth による一昼夜培養菌液の原液と phosphate buffered saline solution Dulbecco (−) (PBS : pH 7.2) による100倍希釀菌液を用いた。各薬剤の各濃度の薬液作製にも PBS を使用した。MIC の判定は37°C 18時間培養後に行った。

E. cloacae の CEZ 不活化能の測定法：すでに報告した Double Disc Method²⁾で行った。

検定菌には *Bacillus subtilis* ATCC 6633を用い、これを10⁶/ml になるよう Bacto heart infusion agar に加えて検討した。

結 果

1. 抗菌力の検討

Table 1 に *E. coli* に対する CTM, CEZ および CET の培養菌液の原液接種時の MIC を示した。Table 1 に示すごとく *E. coli* 31株中27株に対する CTM の MIC は0.1 μ g/ml 以下から1.56 μ g/ml に分布し、そのうち10株に対しては0.2 μ g/ml の MIC であった。残る4株には6.25 μ g/ml～25 μ g/ml の MIC であった。CEZ の MIC は31株中30株に対し 1.56 μ g/ml～100 μ g/ml で、そのうち14株に対しては3.13 μ g/ml の MIC であった。残る1株は400 μ g/ml の耐性株であった。CET の MIC は31株中27株に対し 12.5 μ g/ml～100 μ g/ml で、そのうち MIC が25 μ g/ml の株が27株中10株を占めた。残る4株は200 μ g/ml～400 μ g/ml の耐性株であった。すなわち CTM は CEZ および CET より *E. coli* に対し明らかに優れた抗菌力を示した。

Table 2 に100倍希釀菌液接種時の CTM, CEZ および CET の *E. coli* 31株に対する MIC を示した。CTM の *E. coli* に対する MIC は、12株に対し 0.2 μ g/ml～0.39 μ g/ml、残る19株に対しては0.1 μ g/ml 以下であった。これに対し CEZ は31株に対し 0.39 μ g/ml～6.25 μ g/ml で、そのうち1.56 μ g/ml の MIC を示した株が14ともっと多かった。また CET でも31株に

Table 1 Comparison of the antibacterial activities of cephalosporins against *Escherichia coli*

Antibiotics	No. of strains with indicated MIC (μ g/ml)												
	≤ 0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400
Cefotiam	5	10	3	4	5		1	2	1				
Cefazolin					3	14	5	1	3	2	2		1
Cephalothin								3	10	9	5	1	3

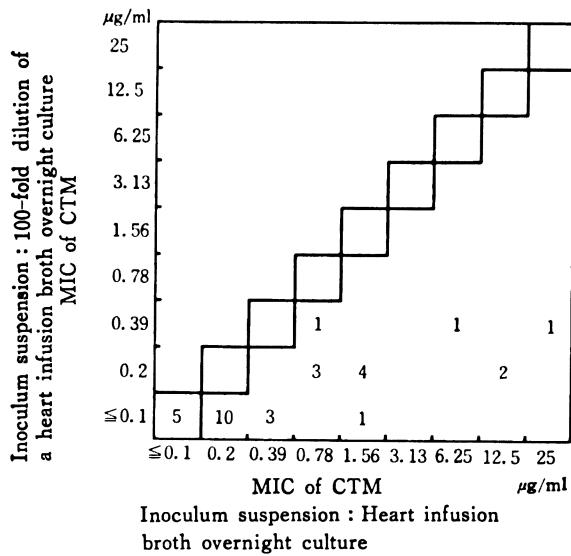
One loopful of an overnight culture in heart infusion broth was used as an inoculum.

Table 2 Comparison of the antibacterial activities of cephalosporins against *Escherichia coli*

Antibiotics	No. of strains with indicated MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)												
	≤ 0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	≥ 400
Cefotiam	19	9	3										
Cefazolin			1	6	14	6	3						
Cephalothin				1	1	15	8	5	1				

One loopful of a 100-fold dilution of an overnight culture in heart infusion broth was used as an inoculum.

Fig. 1 Effect of inoculum size on minimum inhibitory concentration of CTM against *Escherichia coli*



対する MIC は $1.56 \mu\text{g}/\text{ml} \sim 50 \mu\text{g}/\text{ml}$ で、そのうち 15 株が $6.25 \mu\text{g}/\text{ml}$ の MIC に位置した。100 倍希釈菌液接種時において示された CTM の抗菌力は原液接種時の成績よりさらに CEZ, および CET にくらべ優れていた。そこで CTM の *E. coli* に対する MIC における接種菌量の影響を検討して Fig. 1 に示した。Fig. 1 に示したごとく、原液接種時の CTM の MIC が $6.25 \mu\text{g}/\text{ml} \sim 12.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ であった 4 株に対して、100 倍希釈菌液を用いた際の MIC は $0.2 \mu\text{g}/\text{ml} \sim 0.39 \mu\text{g}/\text{ml}$ と明らかに低かった。すなわち CTM の *E. coli* に対する MIC は原液と 100 倍希釈菌液とで大きく変動する傾向を認めた。

K. pneumoniae 16 株に対する CTM, CEZ および CET の培養菌液の原液接種時と、100 倍希釈菌液接種時の MIC を Table 3 および Table 4 に示した。Table 3 に示したごとく CTM の原液接種時の MIC は 9 株に対し $0.2 \mu\text{g}/\text{ml} \sim 1.56 \mu\text{g}/\text{ml}$, 2 株に対しては $6.25 \mu\text{g}/\text{ml} \sim 12.5 \mu\text{g}/\text{ml}$, 1 株に対しては $50 \mu\text{g}/\text{ml}$, 4 株に対しては $200 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上であった。これに対し

Table 3 Comparison of the antibacterial activities of cephalosporins against *Klebsiella pneumoniae*

Antibiotics	No. of strains with indicated MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)												
	≤ 0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	≥ 400
Cefotiam		3	4	1	1		1	1		1		2	2
Cefazolin					1	4	3		1	1		6	
Cephalothin					1	1			7		2		5

One loopful of an overnight culture in heart infusion broth was used as an inoculum.

Table 4 Comparison of the antibacterial activities of cephalosporins against *Klebsiella pneumoniae*

Antibiotics	No. of strains with indicated MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)												
	≤ 0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	≥ 400
Cefotiam	4	3	2	2		2	1				1	1	0
Cefazolin				1	8		1		1		1	1	3
Cephalothin				1	2	4	2	1		2		2	2

One loopful of a 100-fold dilution of an overnight culture in heart infusion broth was used as an inoculum.

Fig. 2 Effect of inoculum size on minimum inhibitory concentration of CTM against *Klebsiella pneumoniae*

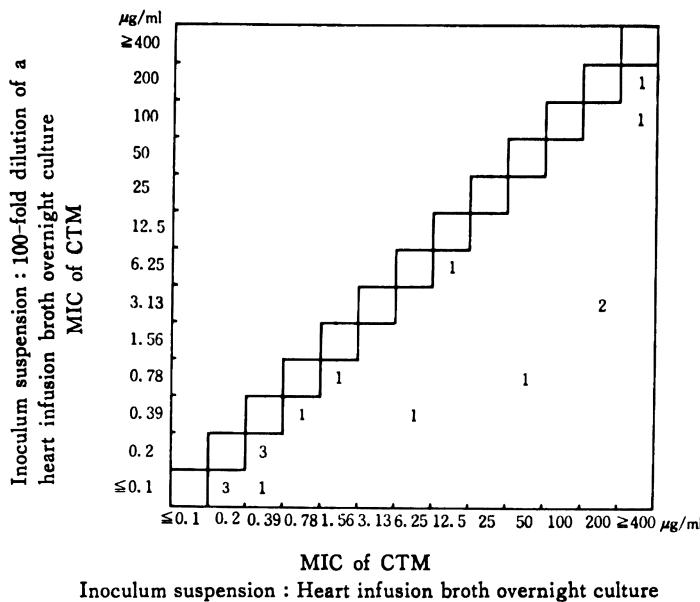


Table 5 Comparison of the antibacterial activities of cephalosporins against *Enterobacter cloacae*

Antibiotics	Rate of dilution of the inoculum broth	No. of strains with indicated MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)									
		0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	>400
Cefotiam	10^0										16
	10^{-2}	2				1	2	1	1	4	2
Cefazolin	10^0										16
	10^{-2}										1
Cephalothin	10^0										16
	10^{-2}										16

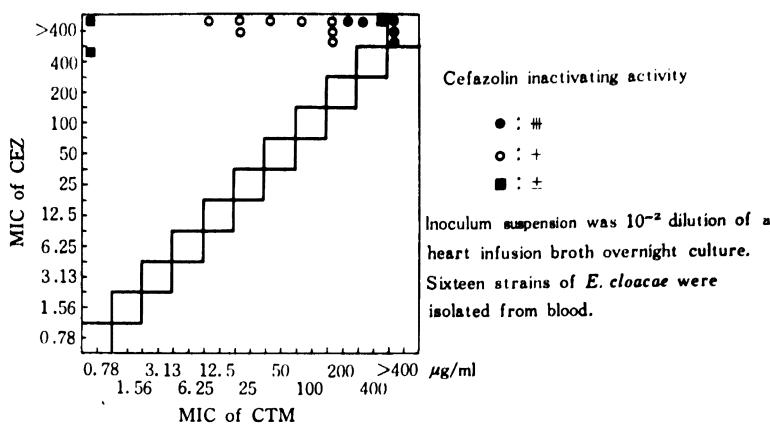
CEZ は 8 株に対し $1.56 \mu\text{g}/\text{ml}$ ~ $6.25 \mu\text{g}/\text{ml}$, 2 株に対し $25 \mu\text{g}/\text{ml}$ ~ $50 \mu\text{g}/\text{ml}$, 6 株に対し $400 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の MIC であった。また CET の MIC は 2 株に対し $3.13 \mu\text{g}/\text{ml}$ ~ $25 \mu\text{g}/\text{ml}$, 7 株に対し $25 \mu\text{g}/\text{ml}$, 2 株に対し $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ で, 残る 5 株は $400 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上であった。すなわち *K. pneumoniae* 16 株に対しても CTM は CEZ および CET よりはるかに優れた抗菌力を示した。

100 倍希釈菌液接種時における CTM, CEZ および CET の *K. pneumoniae* に対する抗菌力は培養原液接種時より優れていた。すなわち CTM では Table 4 に示すとく, 2 株に対し $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ ~ $200 \mu\text{g}/\text{ml}$ の MIC であったが, 残る 14 株中 11 株までに対する MIC は $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以下から $0.78 \mu\text{g}/\text{ml}$ であった。残る 3 株に対する MIC も $3.13 \mu\text{g}/\text{ml}$ ~ $6.25 \mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

しかし CEZ では 16 株中 8 株に対しその MIC は $1.56 \mu\text{g}/\text{ml}$ で $0.78 \mu\text{g}/\text{ml}$, $6.25 \mu\text{g}/\text{ml}$, $25 \mu\text{g}/\text{ml}$, $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ および $200 \mu\text{g}/\text{ml}$ の MIC の株も各 1 株ずつみとめられた。残る 3 株は MIC が $400 \mu\text{g}/\text{ml}$ の株であった。また CET でも 10 株でその MIC が $0.78 \mu\text{g}/\text{ml}$ ~ $12.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ を示し, 各 2 株ずつに対しては $50 \mu\text{g}/\text{ml}$, $200 \mu\text{g}/\text{ml}$ および $400 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上であった。100 倍希釈菌液接種時でも CTM の *K. pneumoniae* に対する抗菌力は CEZ および CET よりはるかに優れていた。

Fig. 2 に CTM の *K. pneumoniae* に対する MIC におよぼす接種菌量の影響を検討した成績を示した。Fig. 2 に示すとく, 原液接種時の MIC が $400 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上であった 2 株に対しては 100 倍希釈菌液接種時の MIC も $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ ~ $200 \mu\text{g}/\text{ml}$ であったが, 原液

Fig. 3 Cefazolin inactivating activities of *Enterobacter cloacae* and minimum inhibitory concentrations of cefazolin and CTM for these strains



接種時の MIC が $200 \mu\text{g}/\text{ml}$ であった 2 株と $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ であった 1 株に対しては 100 倍希釈菌液接種時の MIC は $3.13 \mu\text{g}/\text{ml}$ あるいは $0.78 \mu\text{g}/\text{ml}$ と明らかに MIC が低下していた。残る菌株においても 100 倍希釈菌液の MIC は原液での MIC より低値であった。しかしこの変動は *E. coli* における程著明ではなかった。

次に *E. cloacae* 16 株に対する原液接種時と 100 倍希釈菌液接種時の CTM, CEZ および CET の MIC を Table 5 にあわせて示した。Table 5 に示すとく、原液接種時では 16 株全株に対し、CTM, CEZ および CET の MIC は $400 \mu\text{g}/\text{ml}$ を上まわっていた。しかし 100 倍希釈菌液接種時では CEZ および CET の MIC が 16 株全株に対し $400 \mu\text{g}/\text{ml}$ またはそれを上まわっていたのに対し、CTM では 2 株に対し $0.78 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、残る 14 株中 9 株に対しても $12.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ ~ $200 \mu\text{g}/\text{ml}$ であった。5 株に対する MIC は $400 \mu\text{g}/\text{ml}$ であった。CTM は 100 倍希釈菌液を用いた際の MIC でみれば、*E. cloacae* に抗菌力を示してくれる場合をみとめた。

そこでこれら 16 株の CEZ 不活化能を測定しこれら 16 株に対する CTM の MIC との関係を比較検討した。Fig. 3 に示すとく、CTM の 100 倍希釈菌液での MIC が $0.78 \mu\text{g}/\text{ml}$ であった 2 株の CEZ 不活化能は低く (±) であったのに対し、CTM の MIC が $400 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上であった 5 株中 4 株までが CEZ 不活化能が (++) であった。残る 1 株の CEZ 不活化能は (±) であった。また $6.25 \mu\text{g}/\text{ml}$ ~ $200 \mu\text{g}/\text{ml}$ であった 9 株中 8 株までの CEZ 不活化能は中等度 (+) と判定された。従って 1 株の例外はあったが、*E. cloacae* に対する CTM の MIC が 100 倍希釈により大きく低下した

株は CEZ 不活化能が低い傾向にあったことが明らかとなつた。

考 按

新しく開発された cephalosporin 系抗生剤である CTM の *E. coli*, *K. pneumoniae* に対する *in vitro* における抗菌力を検討した。その結果 CTM のこれら菌種に対する MIC は接種菌量が培養菌液の原液を用いた場合でも、100 倍希釈菌液を用いた場合でも、現在頻用されている CEZ および CET よりあきらかに低値であり、*in vitro* における抗菌力からみる限り今後臨床的にも大いに期待が持てる抗生剤であると考えられた。

In vitro の抗菌力が臨床的にただちに投与量に反映するといきれないにしても、投与量の減量の可能性が認められ、この点で従来の抗生剤の大量投与に伴なう副作用を解決する面があろうかと思われた。

また *E. cloacae* に対する抗菌力を検討した結果、100 倍希釈菌液接種での MIC でみた場合に限られたが、従来の CET, CEZ では考えられなかった抗菌活性を一部の *E. cloacae* に限られたとはいえた。しかし今回認め得た程度では *E. cloacae* による菌交代症の阻止はなお困難であると推定できよう。

なお CEZ に対する被検菌株毎の不活化能を検討した成績と CTM の MIC との関係では、CEZ 不活化能が高度の CEZ 高度耐性株では、CTM の MIC も比較的高値であり、CEZ 不活化能が低く CEZ の MIC の高い株では CTM の MIC がきわめて低かったことからみて、CEZ 不活化能に対する抵抗性は臨床的に期待できる程ではないように思われた。

結語

3. *E. cloacae* の產生する不活化物質に対し Cefotiam は CEZ よりやや安定であった。

Cefotiam (SCE-963) の *E. coli*, *K. pneumoniae* および *E. cloacae* に対する抗菌力を比較した。その結果、

1. Cefotiam は *E. coli*, *K. pneumoniae* に対し CEZ, CET より優れた抗菌力を示した。
2. Cefotiam は100倍希釀菌液接種では *E. cloacae* に対し, CEZ, CET よりは優れた抗菌力を示した。

文献

- 1) 日本化学会療法学会：最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法。Chemotherapy 23: 1~2, 1975
- 2) 富岡 一, 増田剛太：グラム陰性桿菌の β -lactam 抗生剤不活化物質とその新簡易測定法。感染症学雑誌 48: 99~106, 1976

**IN VITRO ACTIVITY OF CEFOTIAM (SCE-963)
AGAINST GRAM NEGATIVE RODS**

SUSUMU TOMIOKA and YOSHIO KOBAYASHI

Department of Internal Medicine and Central Laboratory,
Keio University, School of Medicine

The antibacterial activities of cefotiam (SCE-963), cefazolin and cephalothin against 31 strains of *Escherichia coli*, 16 strains of *Klebsiella pneumoniae* and 16 strains of *Enterobacter cloacae* were studied by the twofold agar dilution method. All strains were isolated from bloods of patients admitted to Keio-University Hospital from 1973 to 1977. The antibacterial activity of cefotiam showed to be definitely stronger against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* than cefazolin and cephalothin. None of the 3 tested antibiotics could inhibit the growth of 16 strains of *Enterobacter cloacae* even at 400 μ g/ml, when overnight cultures in heart infusion broth were used as inocula suspensions. However, cefotiam at 0.78 μ g/ml inhibited the growth of 2 strains of *E. cloacae* when 100 fold dilutions of overnight cultures were used. The cefazolin-inactivating activity of these 2 strains was obviously lower than the other strains.