

Cefotiam (SCE-963) の嫌気性菌および好気性菌に対する抗菌作用

渡辺 邦友・江崎 孝行・村田加寿美・渡辺 泉・今村 博務

甲畑 俊郎・二宮 敬宇・上野 一恵・鈴木 祥一郎

岐阜大学医学部微生物学教室

Cefotiam (CTM, SCE-963)は、武田薬品工業株式会社において研究開発された新しい cephalosporin 系の薬剤である。本剤の好気性グラム陰性桿菌に対する抗菌力は、既存の cephalosporin 系の薬剤に比し数倍強力であり、また本剤の抗菌スペクトラムは *Haemophilus influenzae*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, インドール陽性の *Proteus* などまでに拡大しているという。

著者らは、CTM の嫌気性菌および好気性菌に対する抗菌作用を Cefazolin, Cefoxitin, Ampicillin などに対照薬剤として検討した。

実験材料および方法

1. 供試菌株

嫌気性菌86株と好気性菌174株を用いた。嫌気性菌86株には、*Bacteroides fragilis* 14株、*B. thetaiotaomicron* 8株、*B. vulgatus* 7株、*B. distasonis* 6株、*B. ovatus* 3株、*B. praecutis* 1株、*B. melaninogenicus* 3株、*Fusobacterium varium* 6株、*F. necrophorum* 5株、*F. nucleatum* 3株、*F. gonidiaformans* 1株、*Eubacterium lentum* 1株、*E. limosum* 1株、*Propionibacterium acnes* 3株、*P. glanulosum* 2株、*Bifidobacterium adolescentis* 4株、*Clostridium perfringens* 3株、*Peptococcus variabilis* 6株、*P. asaccharolyticus* 2株、*P. prevotii* 1株、*Peptostreptococcus anaerobius* 2株、*Ps. productus* 1株、*Peptococcus* sp. 1株、*Veillonella parvula* 2株が含まれ、好気性菌174株には、*Salmonella typhimurium* 1株、*Shigella sonnei* 1株、*Escherichia coli* 52株、*Klebsiella pneumoniae* 19株、*Serratia marcescens* 18株、*Enterobacter cloacae* 6株、*Proteus vulgaris* 5株、*P. mirabilis* 8株、*P.morganii* 14株、*P. rettgeri* 5株、*Pseudomonas aeruginosa* 27株、*P. putida* 4株、*Staphylococcus aureus* 3株、*S. epidermidis* 11株が含まれる。

2. 供試薬剤

CTM, Penicillin-G (PCG), Ampicillin (ABPC), Cefazolin (CEZ), Cephalothin (CET), Cefoxitin (CFX) の6剤を用いた。これらの薬剤は、武田薬品工業株式

社、明治製菓、塩野義製薬、藤沢薬品工業株式会社から分与を受け、力価の明らかなものを実験に供した。

3. 感受性測定法

嫌気性菌の場合は、著者らの教室で標準化した GAM 寒天培地 (ニッスイ) を用いる希釈法によった¹⁾²⁾。接種菌液は GAM ブイヨン (ニッスイ) での24時間培養菌液を0.05%の滅菌酵母エキス水溶液で Mc FARLAND #1の半分の濁度に調整したものを用いた。このように調整された菌液は、24時間培養菌液を100倍から1,000倍に希釈したものとはほぼ同等である。

培養は、全てアネロボックス³⁾ (平沢製作所) 内で行い、37°C 18~24時間後に判定した。

好気性菌の場合は、日本化学療法学会の定める感受性測定法に従った²⁾。

4. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

嫌気性菌9株を用いて、基礎培地、培地 pH、接種菌量の3つの因子について検討した。基礎培地として、GAM 寒天培地、TEP 寒天培地 (栄研)、5%ヒト血液加 Brain heart infusion agar (BBL)、5%ヒト血液加 Brucella agar (BBL) の4種類の培地を用いて MIC (最小発育阻止濃度) を測定した。GAM 寒天培地の滅菌前の pH を5.0、6.0、7.0および8.0と変化させて、MIC を測定した。

GAM ブイヨンでの24時間培養菌液を0.05%酵母エキス水溶液で100倍希釈法にて2段階希釈し、原液、 10^{-2} 希釈液および 10^{-4} 希釈液を用いて MIC を測定した。

5. *B. fragilis* の産生する β -lactamase に対する安定性

β -lactamase を産生する *B. fragilis* 5株を用い⁴⁾、本剤の β -lactamase に対する安定性を PCG, CET, CEZ, CFX と比較した。

6. *F. necrophorum* 感染マウスに対する治療効果

感染菌株として *F. necrophorum* を用いた。CTM の本菌株に対する MIC は $3.13 \mu\text{g/ml}$ で、対照とした CEZ の本菌株に対する MIC は $1.56 \mu\text{g/ml}$ であった。マウスは ddN 系の雄を用いた。体重は 18g 前後のものを用いた。*F. necrophorum* の GAM 半流動培

Table 1 Antibacterial spectra of CTM against anaerobic bacteria

Organism	Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	
		CTM	CEZ
<i>B. fragilis</i> ss. <i>fragilis</i> 2540		100 *	25
<i>B. fragilis</i> ss. <i>fragilis</i> 2582		25	6.25
<i>B. fragilis</i> ss. <i>fragilis</i> NH-1		100	25
<i>B. fragilis</i> ss. <i>distasonis</i> Ju-11-1		3.13	1.56
<i>B. fragilis</i> ss. <i>vulgatus</i> IM-7CM		25	12.5
<i>B. fragilis</i> ss. <i>thetasotaomicron</i> IMZ-9		100	25
<i>B. fragilis</i> ss. <i>ovatus</i> Ju-6-1		100	50
<i>B. melaninogenicus</i> ss. <i>melaninogenicus</i> GUI-1011		0.19	0.19
<i>B. melaninogenicus</i> ss. <i>intermedius</i> O-33		50	6.25
<i>B. melaninogenicus</i> ss. <i>asaccharolyticus</i> Gy-2		0.19	0.19
<i>B. praeacutus</i> ATCC 25539		0.78	0.19
<i>F. necrophorum</i> S-45		0.19	0.19
<i>F. necrophorum</i>		3.13	1.56
<i>F. nucleatum</i>		0.39	0.19
<i>F. varium</i> ATCC 8501		12.5	12.5
<i>F. varium</i> M-39		3.13	3.13
<i>F. gonidiaformans</i> Tomo 176		12.5	6.25
<i>E. lentum</i> E13.1.4		100	50
<i>E. limosum</i> E 531		100	12.5
<i>P. acnes</i> ATCC 11827		0.19	0.19
<i>P. granulorum</i>		1.56	1.56
<i>B. adolescentis</i> ATCC 15705		1.56	0.78
<i>C. perfringens</i>		0.76	0.19
<i>Ps. anaerobius</i> 3923-3		12.5	0.78
<i>Ps. productus</i> ATCC 27340		25	6.25
<i>P. variabilis</i> ATCC 14956		50	12.5
<i>P. variabilis</i> NH-3		1.56	0.19
<i>V. parvula</i> NH-5		0.39	0.19
<i>V. parvula</i> KW 2.2		0.39	0.19

* Test medium : GAM agar, Inoculum : 10^6 cells/ml

地 (ニッスイ) での24時間培養菌液を 0.3 ml 皮下注射し, 3 日後に接種部位に腫瘍を形成させたマウスを 1 群 5 匹として実験に供した。

CTM, CEZ とともに投与量は 5 mg/マウス, 1 mg/マウスで 1 日 1 回 6 日間の皮下注射であった。7 日目のマウスの生存率, 腫瘍残存率および剖検後の細菌学的検索結果より効果を判定した。

実験成績および考察

A. 嫌気性菌

抗菌スペクトラム: 成績は Table 1 に示した。CTM は *B. distasonis* を除く *B. fragilis* group に 25~100 $\mu\text{g/ml}$ の MIC を示した。また *B. melaninogenicus* ss. *intermedius* には 50 $\mu\text{g/ml}$ の MIC を示した。その

他 *F. varium*, *F. gonidiaformans*, *E. lentum*, *E. limosum*, *Ps. productus*, *Ps. anaerobius* には 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示した。しかしその他の菌種には全て 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 以下の MIC を示した。対照とした CEZ と比較すると, 抗菌力の点では, CTM の方が CEZ よりもやや劣ると思われた。

嫌気性菌 (53 株) に対する MIC の相関: CTM の嫌気性菌 53 株に対する MIC を CEZ, CFX, ABPC の MIC と比較し, 相関図に示した (Fig. 1, 2, 3)。

CTM の抗菌力は, 供試した全菌株とも CEZ, CFX, ABPC の抗菌力よりやや劣るかあるいは同等の成績であった。

抗菌力によらず諸因子の影響: 成績を Table 2, 3, 4 に示した。培地の種類の MIC におよぼす影響に

については、Brain heart infusion agar, TEP 寒天培地で測定した MIC は Brucella agar, GAM 寒天培地で測定した MIC よりやや低く現われる傾向を示した。培地 pH の MIC におよぼす影響については、pH 6.0, 7.0, 8.0 で測定した MIC の変動はほとんどなかった。pH 5.0 での MIC は pH 6.0~8.0 での MIC より低くでることがあった。接種菌量の MIC におよぼす影響については *B. fragilis* group, *C. perfringens* など発育の非常により菌種で強く現われた。

B. fragilis の産生する β -lactamase に対する安定性: PCG に対する β -lactamase 活性を 100 として, CET, CEZ, CFX に対する β -lactamase 活性を比較した成績を Table 5 に示した。

CTM は CET, CEZ よりも β -lactamase に対して安定であったが, CFX よりも β -lactamase に対して

Fig. 1 Correlogram of MIC of CTM to CEZ against anaerobes

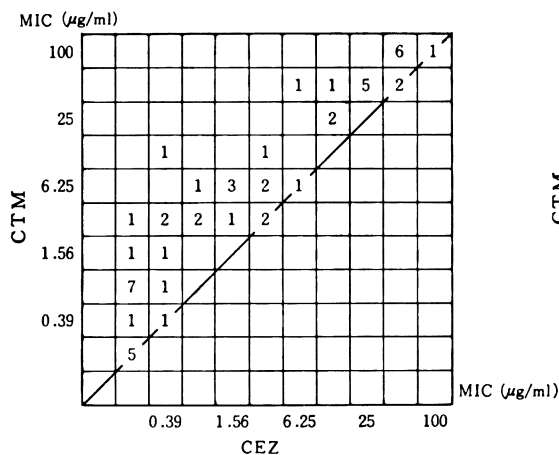


Fig. 2 Correlogram of MIC of CTM to CFX against anaerobes

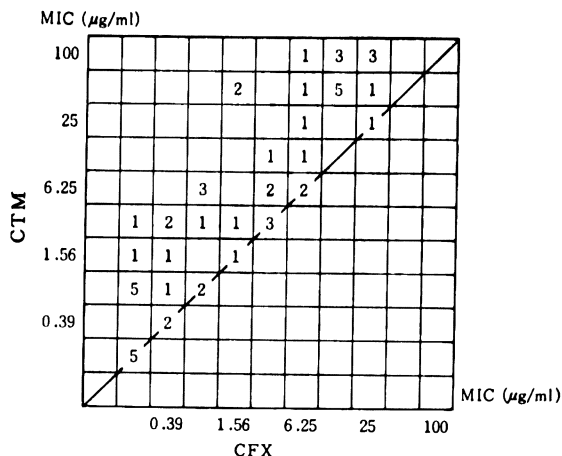


Fig. 3 Correlogram of MIC of CTM to ABPC against anaerobes

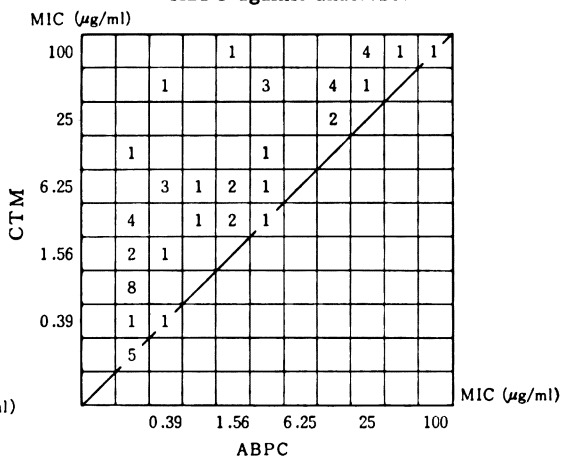


Table 2 MIC of CTM on four different media

Organism	MIC (μ g/ml)			
	BHI	TEP	Brucella	GAM
<i>P. acnes</i> ATCC 11827	0.19	0.19	0.19	0.19
<i>E. lentum</i> E13.1.4	6.25	12.5	25	50
<i>C. perfringens</i> JAM 3.1	0.78	0.78	0.78	1.56
<i>P. variabilis</i> B-40	0.19	0.19	0.19	0.78
<i>Ps. anaerobius</i> B-30	3.13	1.56	3.13	6.25
<i>B. fragilis</i> ss. <i>fragilis</i>	12.5	12.5	25	25
<i>B. fragilis</i> ss. <i>vulgatus</i> IM7CM	12.5	12.5	50	50
<i>F. necrophorum</i> S-45	0.19	0.19	0.19	0.19
<i>V. parvula</i> KW 2.2	0.19	0.39	0.19	0.78

* BHI : Brain heart infusion agar+human blood (5%)

TEP : TEP agar

Brucella : Brucella agar+human blood (5%)

GAM : GAM agar

** Inoculum : 10^6 cells/ml

Table 3 Influence of medium pH on MIC of CTM

Organism \ pH	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	5	6	7	8
<i>P. acnes</i> ATCC 11827	0.19	0.19	0.19	0.19
<i>E. lentum</i> E13.1.4	12.5	50	50	50
<i>C. perfringens</i> JAM 3.1	0.78	3.13	1.56	6.25
<i>P. variabilis</i> B-40	0.19	0.19	0.78	0.78
<i>Ps. anaerobius</i> B-38	0.19	12.5	6.35	6.25
<i>B. fragilis</i> ss. <i>fragilis</i> 2582	0.19	50	25	12.5
<i>P. fragilis</i> ss. <i>vulgatus</i> IM7CM	25	50	50	25
<i>F. necrophorum</i> S-45	0.19	0.19	0.19	0.39
<i>V. parvula</i> KW 2.2	0.39	0.78	0.78	0.78

* Test medium : GAM agar, Inoculum : 10^6 cells/ml

Table 4 Influence of inoculum size on MIC of CTM

Organism	Dilution of inoculum		
	10^0 **	10^{-2}	10^{-4}
<i>P. acnes</i> ATCC 11827	0.19	ND ***	ND
<i>E. lentum</i> E 14.1.4	50	50	50
<i>C. perfringens</i> JAM 3.1	25	6.25	1.56
<i>P. variabilis</i> B-40	6.25	6.25	6.25
<i>Ps. anaerobius</i> B-38	0.78	0.78	0.39
<i>B. fragilis</i> ss. <i>fragilis</i> 2582	100	25	12.5
<i>B. fragilis</i> ss. <i>vulgatus</i> IM7CM	100	50	25
<i>F. necrophorum</i> S-45	0.19	0.19	ND
<i>V. parvula</i> KW 2.2	0.76	0.19	ND

* Test medium : GAM agar

** 24 hr culture in GAM broth was employed as original inoculum

*** Not determined

Table 5 Stability of CTM against β -lactamase of *B. fragilis*

Strain number \ Drug	Relative rate of hydrolysis *			
	CTM	CFX	CEZ	CET
V-284-3	94	3	1095	5675
V-261-2	635	10	1164	24900
V-240-2	155	4	4436	52857
V-328-1	171	9	2254	218
V-158.1.2.2	945	0	34925	10900

* PCG=100

Fig. 4 Chemotherapeutic effect of CTM and CEZ on subcutaneous abscess due to *F. necrophorum*

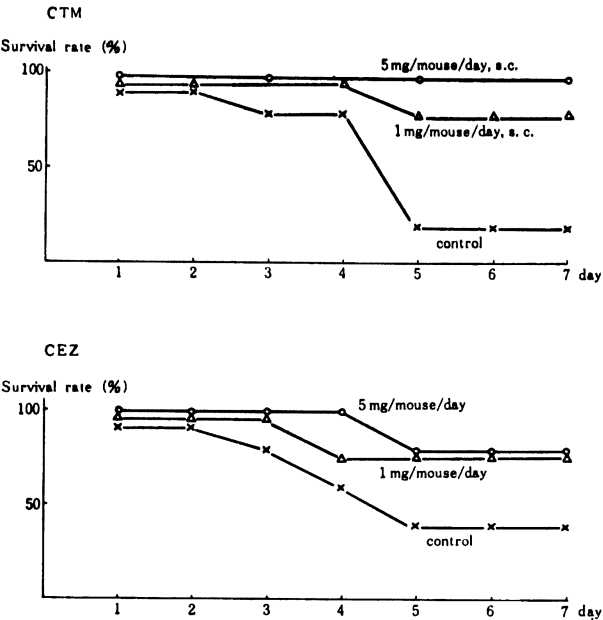


Table 6 Chemotherapeutic effect of CTM on subcutaneous abscess due to *F. necrophorum*

Dosis	Mouse number	Recovery of <i>F. necrophorum</i> from					
		Injection site	Liver	Kidney	Spleen	Lung	Heart
5mg/mouse/day	1	—	—	—	—	—	—
	2	—	—	—	—	—	—
	3	—	—	—	—	—	—
	4	—	—	—	—	—	—
	5	—	—	—	—	—	—
1mg/mouse/day	1	+	+	+	+	+	+
	2	—	—	—	—	—	—
	3	—	—	—	—	—	—
	4	—	—	—	—	—	—
	5	—	—	—	—	—	—
Control	1	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+	+

不安定であった。

マウス実験的嫌気性菌感染症に対する治療効果：本実験条件で、薬剤を投与しなかった対照群において、7日目で5匹中4匹が死亡した。しかし CTM 1mg/マウス投与群では5匹中1匹が死亡、CTM 5mg/マウス投与群では5匹中5匹とも生残していた。CTMによる治療効果が認められた。対照とした CEZ 1mg/マウス投与群では5匹中1匹が死亡、CEZ 5mg/マウス投与群でも5匹中1匹が死亡した (Fig. 4)。

マウス死亡時およびマウス屠殺時の剖検後のマウス各

臓器 (肺, 肝, 脾・腎) および局所からの菌の回収の有無を Table 6 に示した。

B. 好気性菌

抗菌スペクトラム：CTM は *E. cloacae*, *P. aeruginosa* に対しては 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示した。CTM の *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. sonnei* に対する MIC は 10^6 個接種で、CEZ よりも 3~5 倍小さく現われた (Table 7)。

臨床分離株に対する MIC の分布：菌種別に Table 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 に成績を

Table 7 Antibacterial spectra of CTM and CEZ against aerobic bacteria

Organism	Drug Inoculum size	CTM		CEZ	
		10^6	10^8	10^6	10^8
<i>S. aureus</i> ATCC 25923		0.39	0.39	0.19	6.25
<i>S. epidermidis</i> ATCC 14990		0.39	0.39	0.39	0.39
<i>E. coli</i> ATCC 25922		0.19	1.56	1.56	3.13
<i>S. typhimurium</i> ATCC 1311		0.19	1.56	1.56	1.56
<i>S. sonnei</i> ATCC 11060		0.76	0.76	25	12.5
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 27736		1.56	6.25	1.56	12.5
<i>E. cloacae</i> ATCC 13047		100	100	100	100
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9721		100	100	100	100

Table 8 Susceptibility of 51 strains of *E. coli* to CTM and CEZ

Drug	Inoculum size (/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										
		≤ 0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
CTM	10^6	26	6			2	3			3	6	5
	10^8	1	4	1	3	5	16	2	2	1	2	14
CEZ	10^6				19	7	4	2	2	1	2	12
	10^8		2		1	4	5	14	2	4	4	15

Table 9 Susceptibility of 18 strains of *K. pneumoniae* to CTM and CEZ

Drug	Inoculum size (/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										
		≤ 0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
CTM	10^6	11	3	1	2							1
	10^8	3	2	2	3	3	1	2		1		1
CEZ	10^6				5	5	4		2	1		1
	10^8				1	3	2	4	4		1	3

Table 10 Susceptibility of 18 strains of *S. marcescens* to CTM and CEZ

Drug	Inoculum size (/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										
		≤ 0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
CTM	10^6						1					17
	10^8											18
CEZ	10^6								1			17
	10^8									1	1	16

Table 11 Susceptibility of 5 strains of *E. cloacae* to CTM and CEZ

Drug	Inoculum size (/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										
		≤ 0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
CTM	10^6	1		1								3
	10^8											5
CEZ	10^6								1			4
	10^8											5

Table 12 Susceptibility of 5 strains of *P. vulgaris* to CTM and CEZ

Drug	Inoculum size (/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										
		≤ 0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
CTM	10^6	1									1	3
	10^8									1	1	3
CEZ	10^6								2			3
	10^8							1				4

Table 13 Susceptibility of 8 strains of *P. mirabilis* to CTM and CEZ

Drug	Inoculum size (/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										
		≤ 0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
CTM	10^6	1	4	1							1	1
	10^8								4	1		3
CEZ	10^6				3			2				3
	10^8						1	4				3

Table 17 Susceptibility of 4 strains of *P. putida* to CTM and CEZ

Table 18 Susceptibility of 10 strains of *S. epidermidis* to CTM and CEZ

Drug	Inoculum size (/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										
		≤ 0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
CTM	10^6	1	1	3			1	2		1		1
	10^8	1	1	1	3			2		1		1
CEZ	10^6	2	1	2				2				1
	10^8	1	1	1	1	1		3	1			1

Table 19 Susceptibility of 2 strains of *S. aureus* to CTM and CEZ

Drug	Inoculum size (/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										
		≤ 0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
CTM	10^6		1	1								
	10^8		1	1								
CEZ	10^6	1	1									
	10^8				1		1					

示した。

CTM の *E. coli* に対する MIC の分布は、接種菌量によりかなり異なった。すなわち 10^6 個接種では、 $0.19 \mu\text{g/ml}$ 以下にあったピークは、 10^8 個接種では $6.25 \mu\text{g/ml}$ へと移った。しかしいずれの菌量においても、対照の CEZ より小さい MIC を示した。*K. pneumoniae* の場合にも、*E. coli* の場合と同様に接種菌量により MIC の分布は異なるが、CEZ より小さい MIC を示した。*P. mirabilis* では 10^6 個接種で 8 株中 6 株が $0.78 \mu\text{g/ml}$ 以下であった。

S. marcescens, *E. cloacae*, *P. vulgaris*, *P.morganii*, *P. rettgeri*, *P. aeruginosa*, *P. putida*, *S. aureus*, *S. epidermidis* の場合は、CEZ とほぼ同様の成績であった。

ま と め

Cefotiam (SCE-963) の嫌気性菌および好気性菌に対する抗菌力を検討した。

Cefotiam の嫌気性菌に対する抗菌力は、CEZ, CFX, ABPC よりもやや劣った。臨床材料から最もよく分離される *B. fragilis* に対しては $50 \sim 100 \mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示した。

また *F. varium*, *E. lentum*, *E. limosum*, *Ps. anaero-*

bius, *Ps. productus* (MIC $12.5 \sim 100 \mu\text{g/ml}$) を除く菌種には低い MIC を示した。

Cefotiam の *B. fragilis* 由来の β -lactamase に対する安定性は、CFX よりは劣ったが、CEZ, CET よりははるかに優れていた。

F. necrophorum (MIC $3.13 \mu\text{g/ml}$) を感染させたマウスを使って、Cefotiam の治療効果を確認した。Cefotiam の 1 mg/マウス 、1 日 1 回 6 日間の皮下注射で死亡率は改善された。

Cefotiam の好気性菌に対する抗菌力は、*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* の 3 菌種において CEZ よりも優れた。また Cefotiam の MIC は、接種菌量により大きな影響を受けた。

文 献

- 1) 渡辺邦友：嫌気性菌の薬剤感受性試験の標準化について、第二報、再現性について。Chemotherapy 22: 1495~1501, 1974
- 2) 小沢 敦 編：臨床細菌学、手技篇。講談社、1977
- 3) 上野一恵：嫌気性培養用チェンバー。検査と技術 5: 267~268, 1977
- 4) 村田加寿美：Bacteroides の β -lactamase 活性。第 8 回嫌気性菌感染症研究会、講演記録、37~41, 1978

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CEFOTIAM (SCE-963) AGAINST ANAEROBES AND AEROBES

KUNITOMO WATANABE, TAKAYUKI EZAKI, KAZUMI MURATA,
IZUMI WATANABE, HIROMU IMAMURA, SHUNRO KOBATA,
KEIU NINOMIYA, KAZUE UENO and SHOICHIRO SUZUKI
Department of Microbiology, School of Medicine, Gifu University

Present paper described results of the following studies on cefotiam (SCE-963), a new cephalosporin: (1) Antibacterial activity against stock cultures of anaerobes (86 strains). (2) Influence of medium used, medium pH, and inoculum size on antimicrobial activity of anaerobes. (3) Resistance to hydrolysis of β -lactamase derived from *Bacteroides fragilis*. (4) Chemotherapeutic effect on experimental anaerobic infections in mice due to *Fusobacterium necrophorum*. (5) Antibacterial activity against stock cultures of aerobes (174 strains).

From the results, cefotiam was inferior to cefazolin (CEZ) according to antibacterial activity against anaerobes but superior to CEZ according to antibacterial activity against aerobes, especially strains of *E. coli*, *K. pneumoniae* and *P. mirabilis*. Cefotiam was more resistant to hydrolysis of β -lactamase extracted from *B. fragilis* than CEZ and cephalothin but less resistant than cefoxitin.