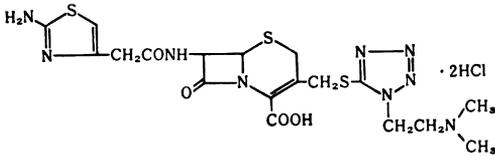


新合成セファロsporin Cefotiam (SCE-963) に関する細菌学的評価

西野武志・岩日朋幸

京都薬科大学微生物学教室

Cefotiam (CTM, SCE-963) は武田薬品工業 (株) 中央研究所において合成された新しい合成セファロsporin¹⁾ で、化学名を7β-[2-(2-aminothiazol-4-yl) acetamido]-3-[[[1-(2-dimethylaminoethyl)-1H-tetrazol-5-yl]-thio] methyl]-ceph-3-em-4-carboxylic acid dihydrochloride といひ、分子式 $C_{18}H_{23}N_5O_4S_3 \cdot 2HCl$ 、分子量 598.54 の白色ないし黄白色の結晶または結晶性の粉末で水に易溶である。



本剤は各種グラム陽性菌およびインドール陽性 *Proteus* を含むグラム陰性菌に対して広範囲な抗菌スペクトラムを示し、とくに近年問題視されているグラム陰性桿菌群に対しては、Cefazolin (CEZ), Cephaloridine (CER) および Cephalothin (CET) などの既存のセファロsporin 剤よりも著しく強い抗菌力を有することが特徴とされている²⁾。

今回、私どもは CTM の細菌学的評価について主として CEZ および CET を比較薬剤として検討したので、その成績を報告する。

実験材料および実験方法

1) 使用薬

CTM (820 μg/mg 力価、武田薬品工業 K.K.), CEZ (933 μg/mg 力価、藤沢薬品工業 K.K.) および CET (959 μg/mg 力価、塩野義製薬 K.K.) を用いた。

2) 抗菌力の測定

教室保存あるいは臨床材料由来の各種グラム陽性および陰性細菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) を日本化学療法学会標準法³⁾ に準じて測定した。通例、増菌用培地には Tryptosoya broth (TSB, 日水) を、測定用培地には Heart infusion agar (HIA, 日水) を用い、約 10^8 cells/ml および約 10^6 cells/ml 菌液を接種し、37°C、20時間培養後の MIC を求めた。レンサ球菌、肺炎球菌、ジフテリア菌は測定用培地として10%馬血液加 HIA

を用いて、37°C、20時間培養後の MIC を求めた。また破傷風菌、ガス壊疽菌は Thioglycollate medium (日水) を用い、前培養菌液1白金耳を接種し、37°C、48時間培養後の MIC を求めた。淋菌、髄膜炎菌は GC agar (栄研) に1%の割合でサプリメント (栄研) を加えた培地を用い、37°C、48時間ローソク培養後の MIC を求めた。

3) 抗菌力におよぼす諸因子の影響

S. aureus 209-P JC, *E. coli* NIHJ JC-2 および *K. pneumoniae* 教室保存株を試験菌として MIC 測定時の接種菌量あるいは測定用培地の pH を変えたときの MIC 値の変動を調べた。馬血清の影響は Heart infusion broth (日水) を用いた液体希釈法によって調べた。

4) 各種細菌由来の β-lactamase に対する安定性

β-Lactamase 標品の調製: *E. coli* 21 および 195 由来の β-lactamase は NEU の方法⁴⁾ に準じて菌体に osmotic shock を施し、そのとき得られた shocked fluid 画分を大量の 0.05 M リン酸緩衝液 (pH 7.2) に透析することによって調製した。*E. coli* 106, *K. pneumoniae* 130 および 138, *P. mirabilis* 121-1, *P. vulgaris* 114, *P. morganii* 111, *P. rettgeri* 105, *P. aeruginosa* E-2 および TP-1 由来の β-lactamase は、いずれも超音波破壊液の 15,000 g 上清を酵素標品として用いた。なお *P. aeruginosa* E-2 の場合には inducer として培養時 Sulbenicillin (1 mg/ml 培養液) を添加した。*S. aureus* S 54 由来の β-lactamase は RICHMOND の方法⁵⁾ に準じて調製した。

β-Lactamase 活性の測定法: セファロsporin 類の水解量は小此木ら⁶⁾ の方法に準じ UV 法によって、また penicillin G (PCG) の水解量は micro-iodometry 法⁷⁾ によって測定した。反応液中の基質濃度はセファロsporin 類の場合は 1,000 μM, PCG の場合は 200 μM とし水解初速度を求めた。そして PCG の水解速度を 100 としたときの各々の基質の相対水解速度を求めた。

5) 増殖曲線におよぼす影響

E. coli NIHJ JC-2, *E. coli* No. 29 および *K. pneumoniae* 教室保存株の 37°C-一夜静置培養液を TSB 培地に適量加え 37°C で数時間振盪培養した。そして対数期途

Table 1 Antibacterial spectrum of CTM, CEZ and CET
Gram-positive bacteria

Test strain	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
	CTM	CEZ	CET
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0.39	0.20	0.20
" Smith	0.78	0.39	0.20
" Terajima	0.78	0.78	0.78
" Neumann	0.78	0.78	0.78
" E-46	0.78	0.78	0.39
" No. 80 (PCG ^r)	1.56	6.25	0.78
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.78	0.78	0.78
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23*	0.05	0.10	0.20
" Cook*	0.10	0.20	0.20
<i>Streptococcus faecalis</i> *	>100	>100	50
<i>Streptococcus viridans</i> *	>100	>100	100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type I*	3.13	0.78	0.39
" type II*	0.20	0.20	0.20
" type III*	0.20	0.20	0.20
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	0.78	0.39	0.39
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.20	0.39	0.10
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.20	0.20	1.56
<i>Bacillus anthracis</i>	0.78	0.20	0.20
<i>Clostridium tetani</i> **	1.56	0.20	0.39
<i>Clostridium perfringens</i> **	3.13	1.56	3.13

Medium : * Heart infusion agar supplemented
with 10% horse blood

** Thioglycollate medium

Table 2 Antibacterial spectrum of CTM, CEZ and CET
Gram-positive bacteria

Test strain	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
	CTM	CEZ	CET
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0.20	0.20	0.10
" Smith	0.39	0.20	0.20
" Terajima	0.39	0.39	0.20
" Neumann	0.39	0.39	0.20
" E-46	0.39	0.39	0.20
" No. 80 (PCG ^r)	0.39	0.39	0.20
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.78	0.78	0.39
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23*	0.05	0.10	0.20
" Cook*	0.10	0.20	0.20
<i>Streptococcus faecalis</i> *	>100	100	50
<i>Streptococcus viridans</i> *	>100	100	50
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type I*	0.78	0.78	0.20
" type II*	0.20	0.10	0.10
" type III*	0.10	0.10	0.10
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	0.78	0.39	0.39
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.10	0.39	0.05
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.10	0.20	0.025
<i>Bacillus anthracis</i>	0.39	0.025	0.025
<i>Clostridium tetani</i> **	1.56	0.20	0.39
<i>Clostridium perfringens</i> **	3.13	1.56	3.13

Medium : * Heart infusion agar supplemented
with 10% horse blood

** Thioglycollate medium

上時に、いろいろな濃度の被験薬剤を加え、以後経時的に試料を採取し10倍希釈系列によるコロニー・カウント法を用いて生菌数を測定した。

6) マウス実験的感染症に対する治療効果

各種感染マウスは、下記菌液をいずれも ddY 系雄性マウス (生後 4 週令, 16~18 g) に腹腔内接種することによって作製した。すなわち *S. pneumoniae* type III の場合には10%馬血清添加肉汁ブイヨンで、37°C, 16時

Table 3 Antibacterial spectrum of CTM, CEZ and CET

Gram-negative bacteria		MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
Inoculum size : 10^8 cells/ml		CTM	CEZ	CET
Test strain				
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> *		0.10	0.39	0.78
<i>Neisseria meningitidis</i> *		0.10	0.78	0.78
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2		0.10	1.56	25
" NIH		0.10	3.13	12.5
" No. 29		0.10	1.56	3.13
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68		50	>100	>100
<i>Salmonella typhi</i> T-287		0.20	1.56	0.78
" O-901		0.10	1.56	0.78
<i>Salmonella paratyphi</i> A		0.20	12.5	0.78
" B		0.10	6.25	0.78
<i>Salmonella enteritidis</i>		0.20	3.13	3.13
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7		0.10	0.78	12.5
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10		0.10	1.56	12.5
<i>Shigella boydii</i> EW-28		0.20	6.25	25
<i>Shigella sonnei</i> EW-33		0.10	6.25	6.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		0.20	3.13	3.13
" NCTC 9632		0.39	3.13	6.25
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394		>100	>100	>100
<i>Enterobacter aerogenes</i>		>100	>100	>100
" NCTC 10006		>100	>100	>100
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540		>100	>100	>100
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736		>100	>100	>100
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19		25	>100	>100
<i>Proteus mirabilis</i> 1287		0.20	12.5	3.13
<i>Proteus morgani</i> Kono		>100	>100	>100
<i>Proteus rettgeri</i> NIH 96		0.025	>100	>100
<i>Proteus inconstans</i> NIH 118		>100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12		>100	>100	>100
" E-2		>100	>100	>100

Medium : *GC medium

間静置培養し生理食塩水で 5×10^3 希釈後、本希釈液を0.25 ml ずつ、*E. coli* No. 29および No. 23の場合には Nutrient broth (NB) で、 37°C 、14時間振盪培養し同培地で 1×10^8 および 1×10^5 希釈後、本希釈液と6% Gastric mucin (Orthana-Kemisk-Fabrik-A/S) 溶液の等量混合液を0.5 ml ずつ、また *K. pneumoniae* 教室保存株の場合には NB で、 37°C 、18時間静置培養し生理食塩水で 1×10^4 希釈後、本希釈液と6% Gastric mucin 溶液の等量混合液を0.5 ml ずつ腹腔内接種した。そして通例菌接種2時間後に1回、1群10匹のマウスを皮下治療した。ED₅₀ 値およびその95%信頼限界値は、7日間経過後の生残率を求め LITCHFIELD-WILCOXON 法⁹⁾ により算出した。

7) マウス体液内濃度の測定

上記と同様の方法により *K. pneumoniae* 教室保存株を感染させたマウスに、各種濃度の CTM あるいは

CEZ を皮下投与後、経時的に1群3匹のマウスから血漿および腹水液を採取した。血漿は腋下動脈から採取した血液を遠心操作して分離した。腹水液は血液採取後のマウスを開腹し、直接 paper disk に滲ませることによって採取した。そしてこれらの検体中の薬剤濃度を CTM は *P. mirabilis* 21100 を、CEZ は *B. subtilis* ATCC 6633 を検定菌とし、薄層 paper disk 法によって測定した。

実験結果

1. 抗菌スペクトラム

教室保存の各種グラム陽性および陰性細菌に対する CTM の *in vitro* 抗菌力を CEZ および CET のそれと比較検討した。

Table 1 は 10^4 cells/ml 菌液を、Table 2 は 10^6 cells/ml 菌液を接種したときのグラム陽性菌群に対する3剤

Table 4 Antibacterial spectrum of CTM, CEZ and CET
Gram-negative bacteria
Inoculum size: 10^8 cells/ml MIC ($\mu\text{g/ml}$)

Test strain	CTM	CEZ	CET
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> *	0.10	0.39	0.78
<i>Neisseria meningitidis</i> *	0.10	0.78	0.78
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.05	0.78	6.25
" NIH	0.05	1.56	6.25
" No.29	0.05	0.78	1.56
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	0.20	25	25
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.05	0.78	0.39
" O-901	0.025	0.78	0.39
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.025	1.56	0.39
" B	0.025	0.78	0.78
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.10	1.56	1.56
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.05	0.78	3.13
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.05	0.78	3.13
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.05	0.78	6.25
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.05	0.78	3.13
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.10	1.56	1.56
" NCTC 9632	0.10	1.56	1.56
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	0.39	100	50
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.78	>100	>100
" NCTC 10006	1.56	>100	>100
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	3.13	>100	>100
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	1.56	>100	>100
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	3.13	12.5	12.5
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.10	3.13	1.56
<i>Proteus morgani</i> Kono	6.25	>100	>100
<i>Proteus rettgeri</i> NIH 96	0.025	0.20	0.20
<i>Proteus inconstans</i> NIH 118	0.05	0.78	50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	>100	>100	>100
" E-2	>100	>100	>100

Medium: *GC medium

の MIC 値を示している。本群に対する CTM の抗菌力は概ね CEZ および CET のそれとほぼ同程度であり、*S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* に対する MIC は各々 0.2~0.39, 0.05~0.1, 0.1~3.13 $\mu\text{g/ml}$ であった。

Table 3 および Table 4 は、それぞれ 10^8 cells/ml および 10^6 cells/ml 菌液を接種したときのグラム陰性菌群に対する MIC 値を示している。総じて、本群に対する CTM の抗菌力は CEZ および CET よりも著しく強く、とくに *Neisseria* 群、*E. coli*, *Salmonella* 群、*Shigella* 群、*K. pneumoniae*, *P. mirabilis* に対する MIC は 0.025~0.39 $\mu\text{g/ml}$ であった。さらに接種菌量 10^6 cells/ml の場合には CEZ および CET に強い

抵抗性を示す *C. freundii*, *Enterobacter* 群、*H. alvei*, *S. marcescens*, インドール陽性 *Proteus* 群に対しても 0.2~6.25 $\mu\text{g/ml}$ 程度の MIC を示した。しかし *P. aeruginosa* に対しては CEZ および CET と同様に >100 $\mu\text{g/ml}$ の MIC を示した。

2. 臨床分離株に対する抗菌力

臨床材料から分離された *S. aureus* 51株, *N. gonorrhoeae* 21株, *E. coli* 60株, *K. pneumoniae* 41株, *P. mirabilis* 24株, *P. vulgaris* 27株, *P. morgani* 27株, *P. rettgeri* 13株, *S. marcescens* 54株の CTM, CEZ および CET に対する感受性分布, 累積百分率および CTM と CEZ の相関性について検討した。

S. aureus: Fig. 1 に示すように、51株に対する

Fig. 1 Sensitivity distribution of clinical isolates
Staphylococcus aureus (51 strains)

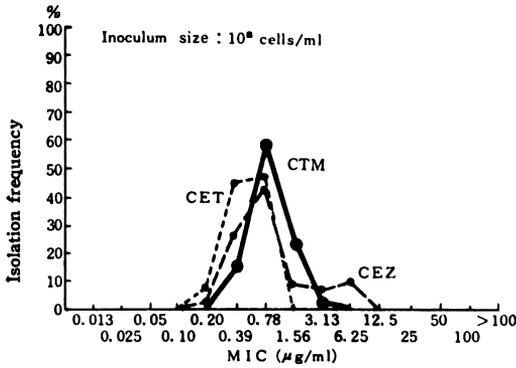


Fig. 2 Cumulative percentage of clinical isolates inhibited by CTM, CEZ and CET
Staphylococcus aureus (51 strains)

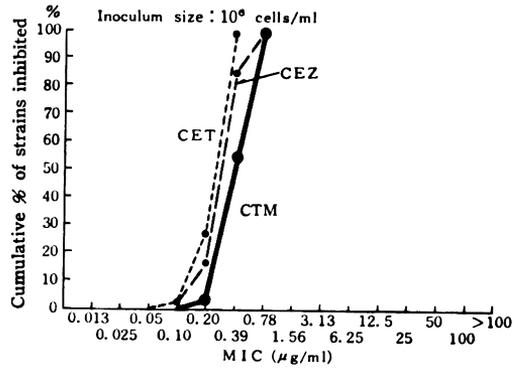
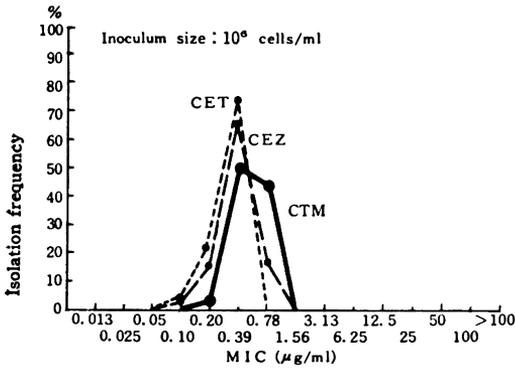
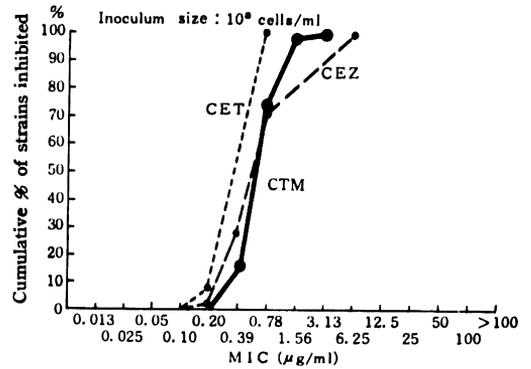
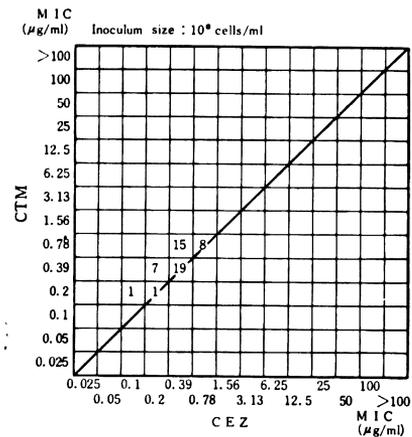
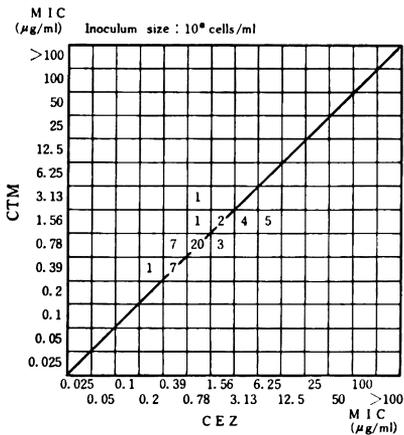


Fig. 3 Cross sensitivity
Staphylococcus aureus (51 strains)



CTM の MIC は、 10^8 cells/ml 接種では $0.39 \sim 3.13 \mu\text{g/ml}$ に、 10^6 cells/ml 接種では $0.20 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$ に分布しており、Fig. 2 の累積曲線から明らかなように CEZ および CET とほぼ同程度かやや大きい値を

示す傾向がみられた。Fig. 3 に示すように、本剤と CEZ 間には高い相関性がみられた。

N. gonorrhoeae : Fig. 4 に示すように、CTM は $0.025, 0.1 \mu\text{g/ml}$ にピークを有する分布を示し、比較

Fig. 4 Sensitivity distribution of clinical isolates *Neisseria gonorrhoeae* (21 strains)

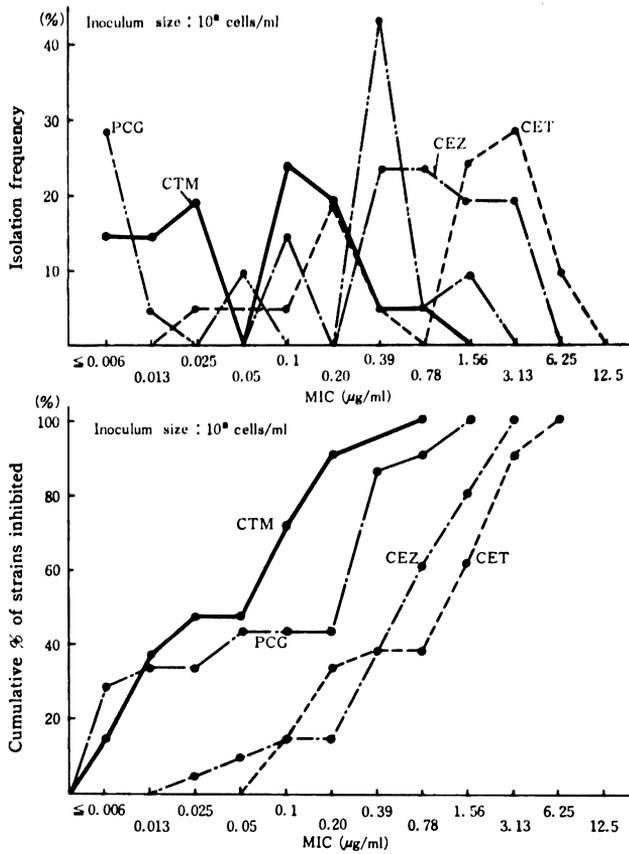
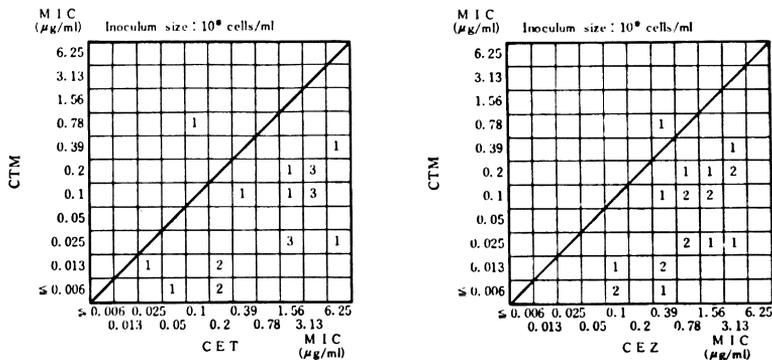


Fig. 5 Cross sensitivity *Neisseria gonorrhoeae* (21 strains)



薬剤として用いた PCG, CET, CEZ よりも優れた抗菌力を示した。また Fig. 5, 6 に示すように本剤と CET, CEZ 間には相関性が認められず, PCG との間では一部の菌株において交差するものが認められた。

E. coli : 60 株に対する CTM の MIC は, 10⁸

cells/ml 接種では 0.05~12.5 µg/ml に, 10⁶ cells/ml 接種では 0.025~1.56 µg/ml に比較的幅広く分布していた (Fig. 7)。しかし Fig. 8 の累積曲線から明らかのように, 本剤は 0.78 µg/ml で 10⁸ cells/ml 接種時に 51/60 株 (85%) に, また 10⁶ cells/ml 接種時に 57/60 株 (95

%)に抗菌力を示し、CEZ および CET よりも明らかに優れていた。また本剤と CEZ 間には、いずれの菌量においても著明な相関性は認められなかった (Fig. 9)。

K. pneumoniae : *E. coli* の場合とほぼ同様に、41株に対する CTM の MIC は、 10^8 cells/ml 接種では

Fig. 6 Cross sensitivity
Neisseria gonorrhoeae (21 strains)

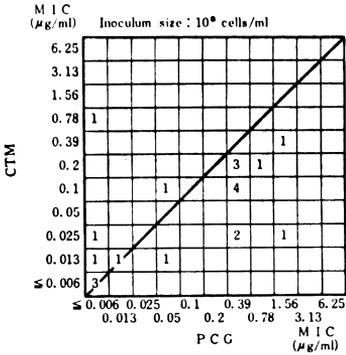
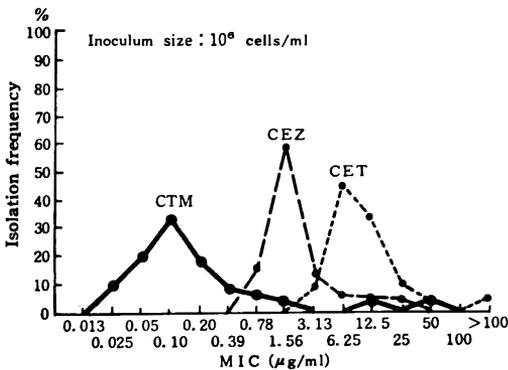
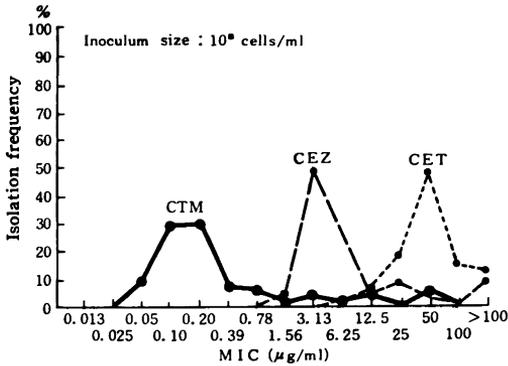


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates
Escherichia coli (60 strains)



$0.10 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ に、 10^8 cells/ml 接種では $0.05 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$ に幅広く分布していた (Fig. 10)。しかし Fig. 11に示すように本菌種の場合にも $0.78 \mu\text{g/ml}$ で 10^8 cells/ml 接種で 28/41株 (68%) の、 10^6 cells/ml 接種で 38/41株 (93%) の発育が阻止され、CEZ および CET よりも明らかに強い抗菌力を示した。本剤と CEZ 間には、いずれの菌量においても相関性は認められなかった (Fig. 12)。

P. mirabilis : Fig. 13に示すように、24株に対する CTM の MIC は、 10^8 cells/ml 接種では $0.78 \mu\text{g/ml}$ に、 10^6 cells/ml 接種では $0.20 \mu\text{g/ml}$ にピークを有する大集団とそれより大きい値を示す小集団に分布していた。しかし Fig. 14に示すように本菌種の場合にも、 10^8 cells/ml 接種時に 19/24株 (79%) が $1.56 \mu\text{g/ml}$ で、 10^6 cells/ml 接種時に 22/24株 (92%) が $0.78 \mu\text{g/ml}$ で発育を阻止され、CEZ および CET よりも明らかに優れていた。また CEZ 耐性株に対しては本剤も無効であったが、CEZ 感性株においては本剤と CEZ 間に著明な相関性は認められなかった (Fig. 15)。

Fig. 8 Cumulative percentage of clinical isolates inhibited by CTM, CEZ and CET
Escherichia coli (60 strains)

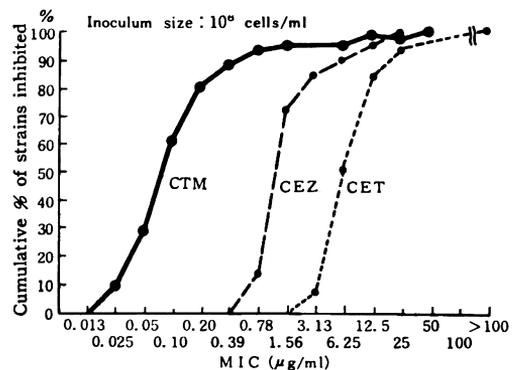
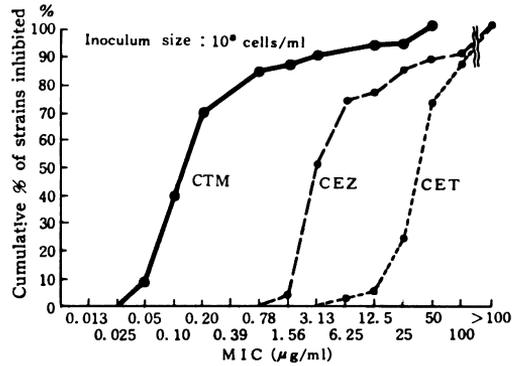


Fig. 9 Cross sensitivity
Escherichia coli (60 strains)

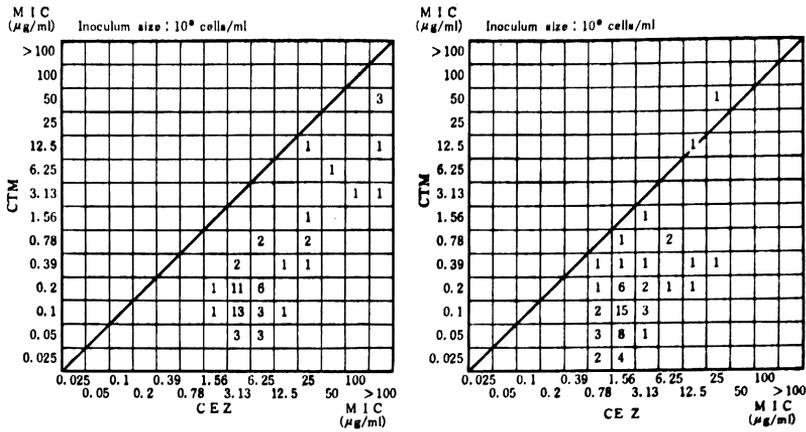


Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates
Klebsiella pneumoniae (41 strains)

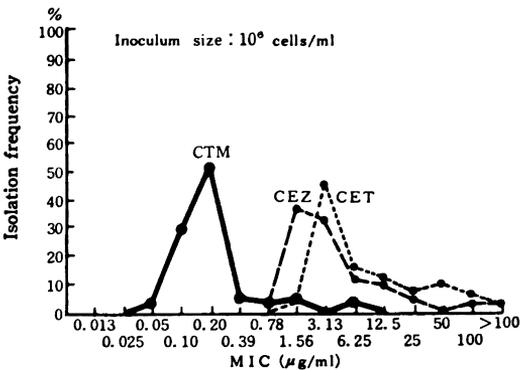
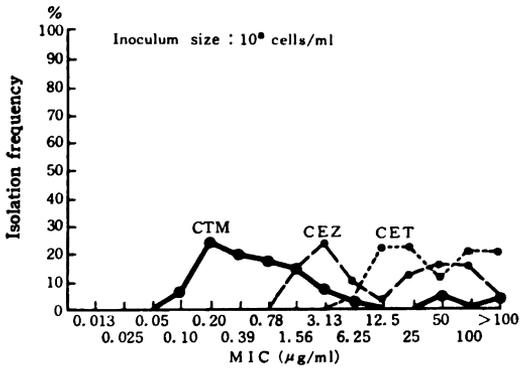


Fig. 11 Cumulative percentage of clinical isolates
inhibited by CTM, CEZ and CET
Klebsiella pneumoniae (41 strains)

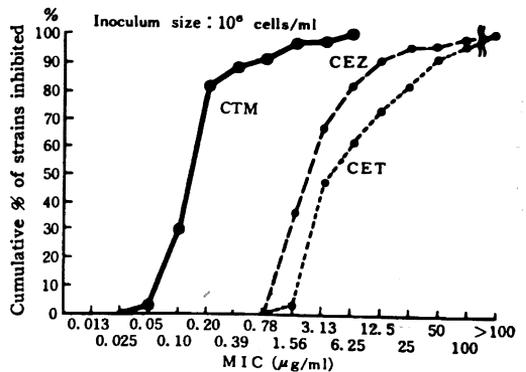
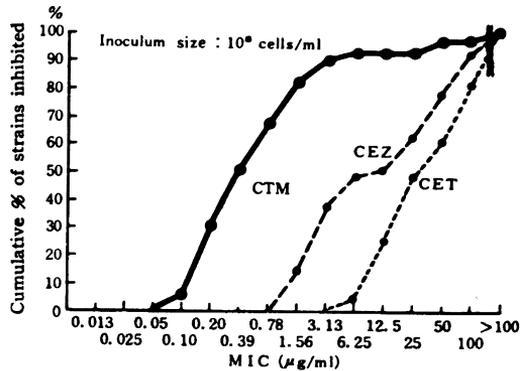


Fig. 12 Cross sensitivity
Klebsiella pneumoniae (41 strains)

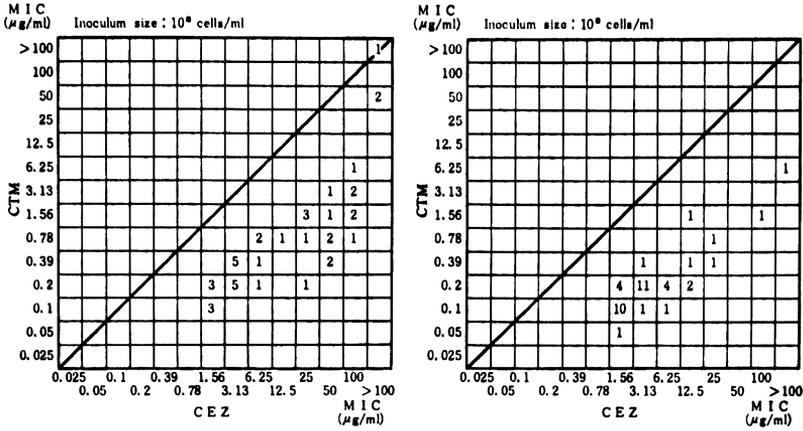


Fig. 13 Sensitivity distribution of clinical isolates
Proteus mirabilis (24 strains)

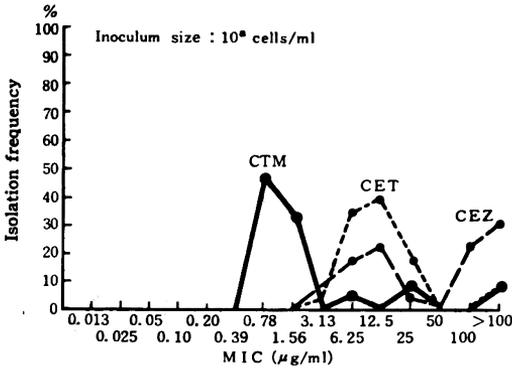


Fig. 14 Cumulative percentage of clinical isolates inhibited by CTM, CEZ and CET
Proteus mirabilis (24 strains)

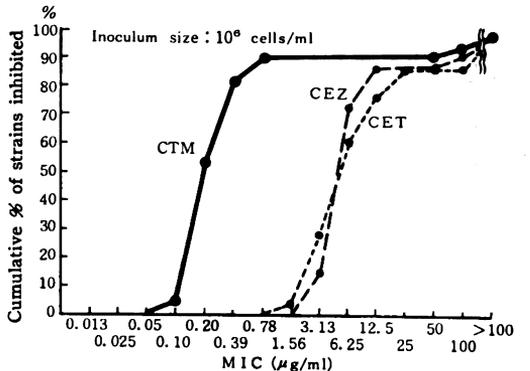
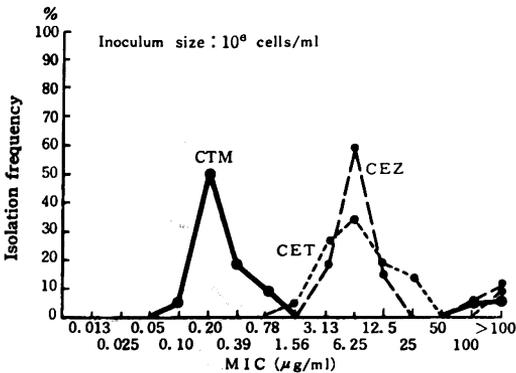
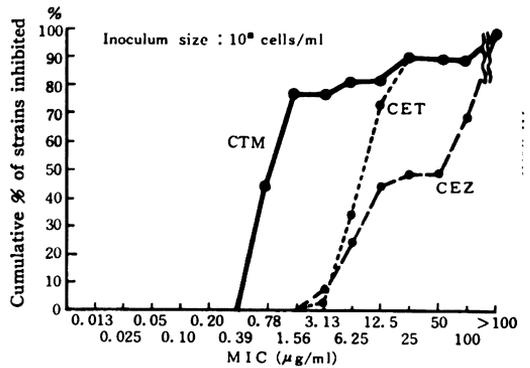


Fig. 15 Cross sensitivity
Proteus mirabilis (24 strains)

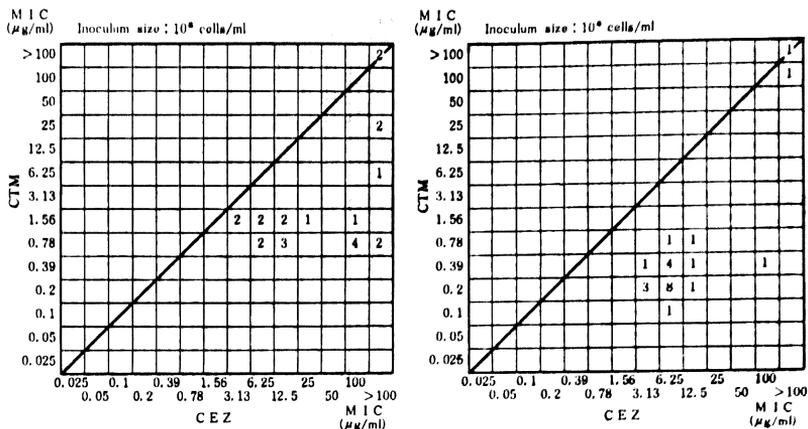


Fig. 16 Sensitivity distribution of clinical isolates
Proteus vulgaris (27 strains)

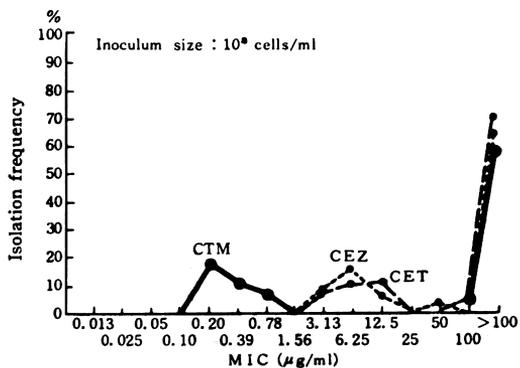


Fig. 17 Cumulative percentage of clinical isolates inhibited by CTM, CEZ and CET
Proteus vulgaris (27 strains)

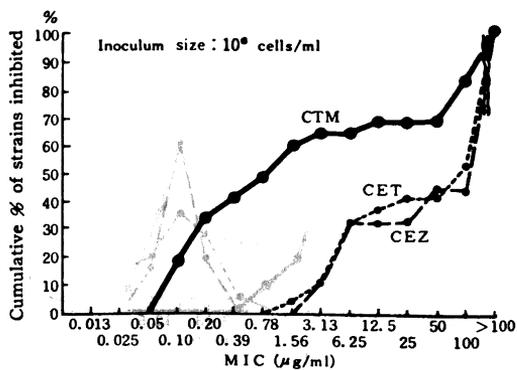
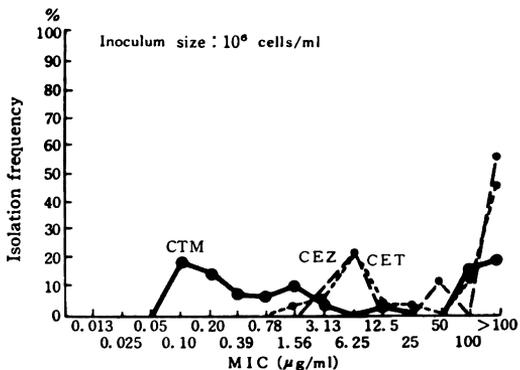
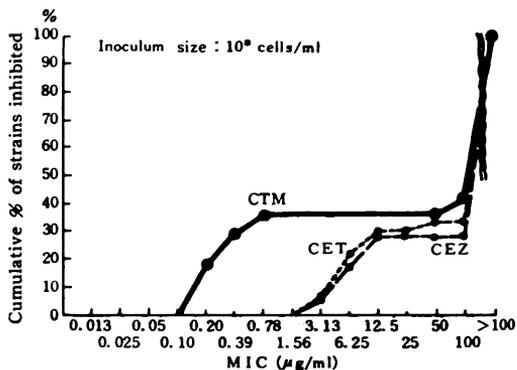


Fig. 18 Cross sensitivity
Proteus vulgaris (27 strains)

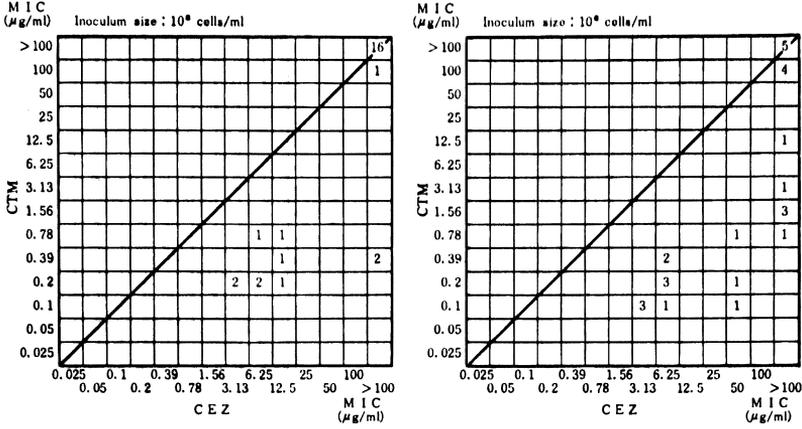


Fig. 19 Sensitivity distribution of clinical isolates
Proteus morganii (27 strains)

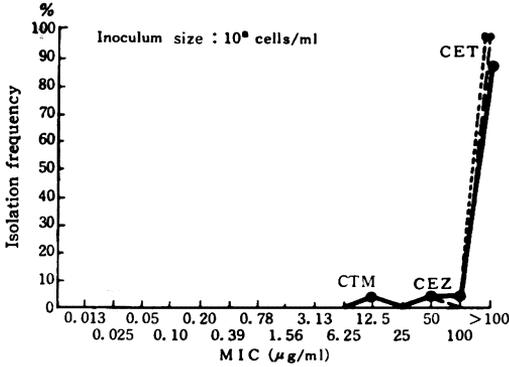


Fig. 20 Cumulative percentage of clinical isolates inhibited by CTM, CEZ and CET
Proteus morganii (27 strains)

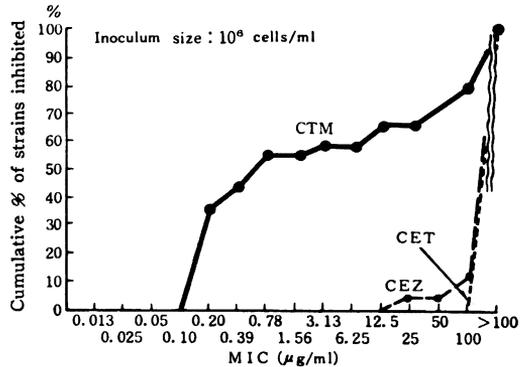
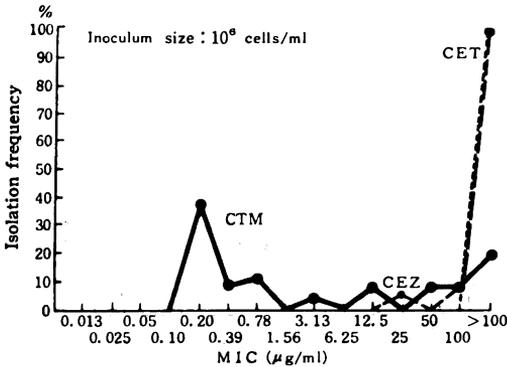
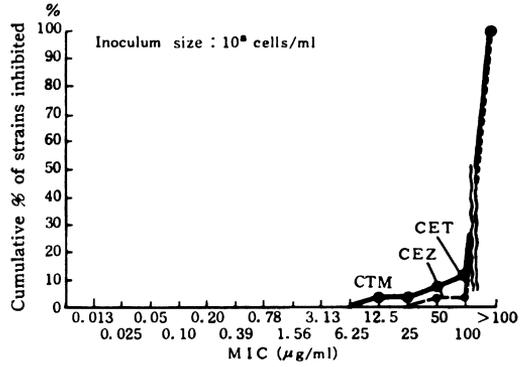


Fig. 21 Cross sensitivity
Proteus morganii (27 strains)

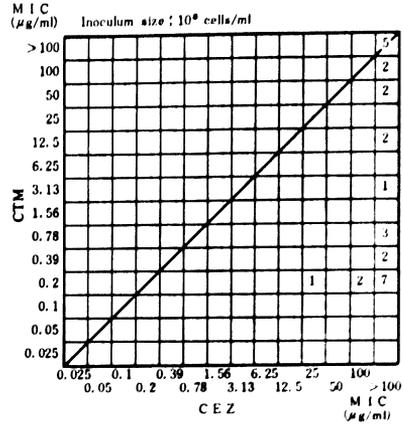
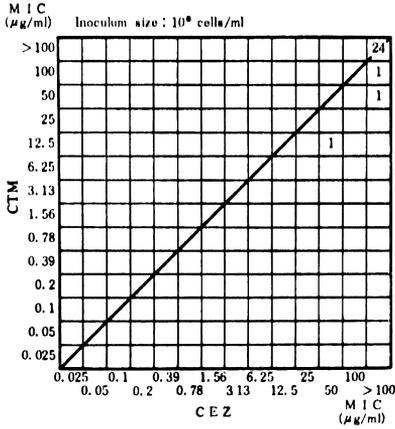


Fig. 22 Sensitivity distribution of clinical isolates
Proteus rettgeri (13 strains)

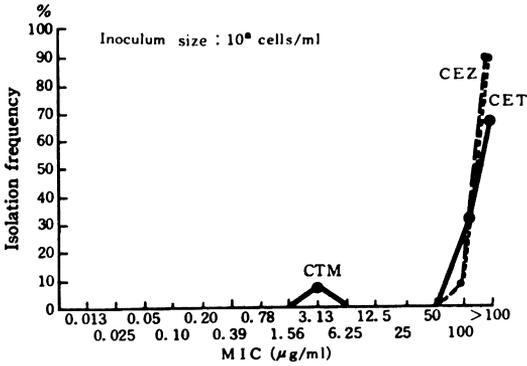


Fig. 23 Cumulative percentage of clinical isolates
inhibited by CTM, CEZ and CET
Proteus rettgeri (13 strains)

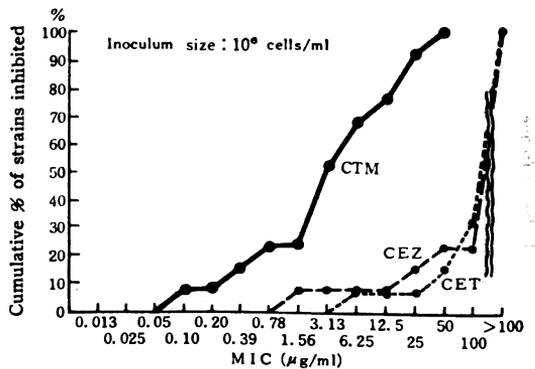
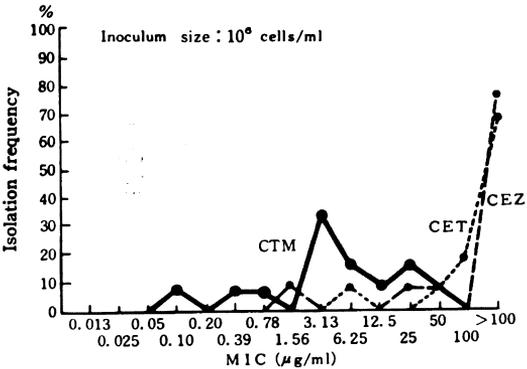
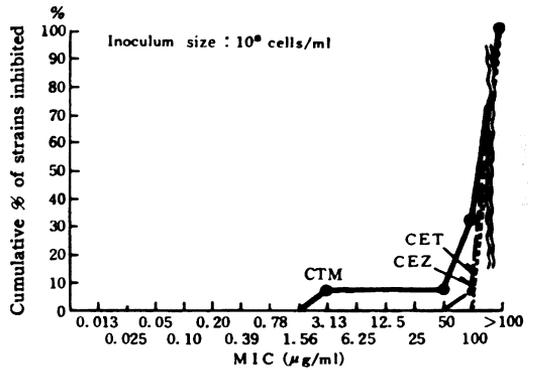


Fig. 24 Cross sensitivity
Proteus rettgeri (13 strains)

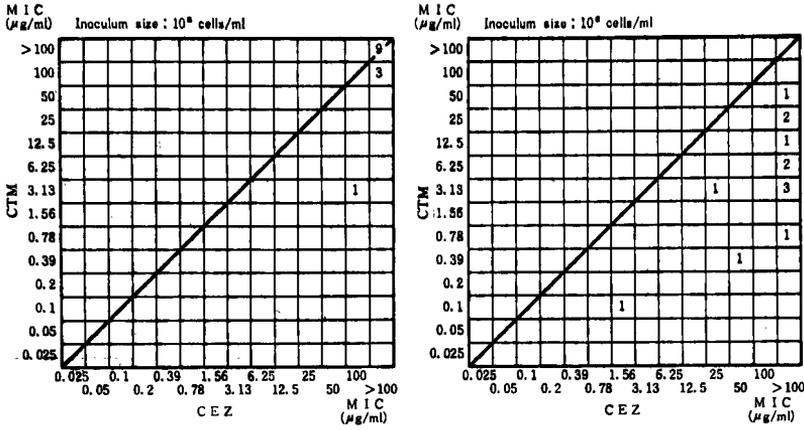


Fig. 25 Sensitivity distribution of clinical isolates
Serratia marcescens (54 strains)

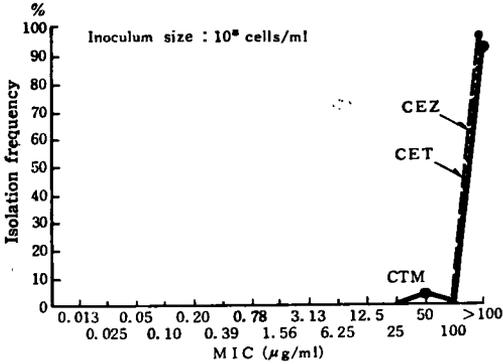


Fig. 26 Cumulative percentage of clinical isolates
inhibited by CTM, CEZ and CET
Serratia marcescens (54 strains)

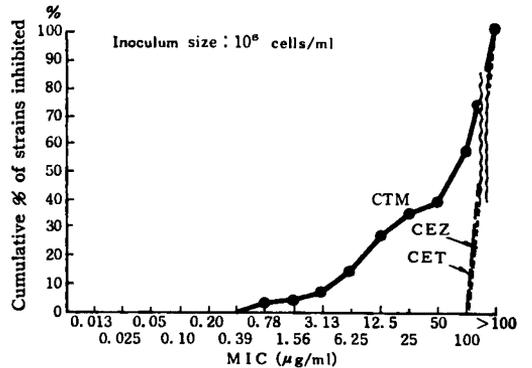
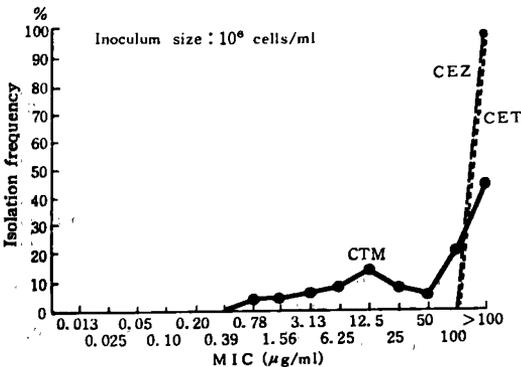
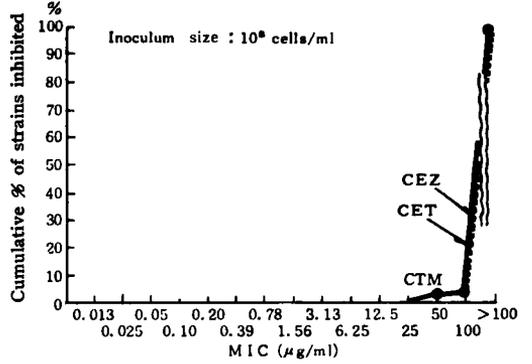
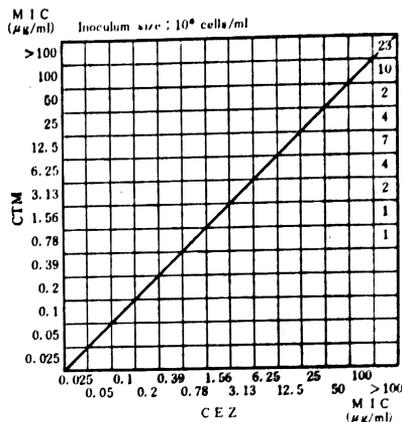
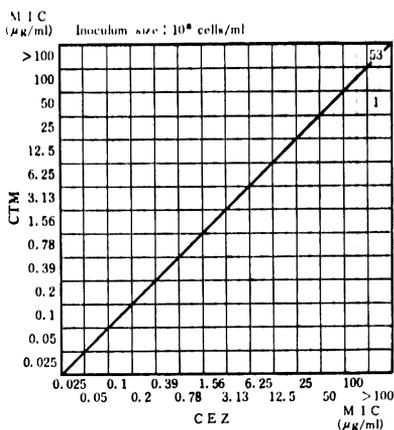


Fig. 27 Cross sensitivity
Serratia marcescens (54 strains)



P. vulgaris: 27 株に対する CTM の MIC は, 10^8 cells/ml 接種では $0.20 \mu\text{g/ml}$ にピークを有する集団と $\geq 100 \mu\text{g/ml}$ の集団に, また 10^6 cells/ml 接種では $0.10 \sim 12.5 \mu\text{g/ml}$ に分布する集団と $\geq 100 \mu\text{g/ml}$ の集団に大別された (Fig. 16)。そして Fig. 17 に示すように 10^8 cells/ml 接種時には 10/27 株 (37%) が $0.78 \mu\text{g/ml}$ で, また 10^6 cells/ml 接種時には 17/27 株 (63%) が $3.13 \mu\text{g/ml}$ で発育を阻止された。さらに Fig. 17 から明らかなように, 10^8 cells/ml 接種時には概ね CEZ 耐性株には本剤も無効であったが, 10^6 cells/ml 接種時には CEZ 耐性株の一部に対して本剤は $0.78 \sim 3.13 \mu\text{g/ml}$ の MIC を示し, 両剤間に相関性は認められなかった (Fig. 18)。

P. morganii: Fig. 19~21 に示すように, 10^8 cells/ml 接種では CTM もまた CEZ, CET と同様 25/27 株 (93%) において $\geq 100 \mu\text{g/ml}$ という大きい MIC を示したが, 10^6 cells/ml 接種においては CEZ, CET とは異なり 15/27 株 (56%) に対して $0.20 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$ という小さい値を示した。

P. rettgeri: 本菌種の場合にも CTM は, 10^8 cells/ml 接種では 12/13 株 (92%) に $\geq 100 \mu\text{g/ml}$ という大きい MIC を示したが, 10^6 cells/ml 接種においては 9/13 株 (69%) に $0.10 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$ という比較的小さい値を示した (Fig. 22~24)。

S. marcescens: 本菌種においても, CEZ, CET と同様, 10^8 cells/ml 接種では 53/54 株 (98%) が $> 100 \mu\text{g/ml}$ という大きい MIC を示したが, 10^6 cells/ml 接種においては, CTM のみが 31/54 株 (57%) に $\leq 100 \mu\text{g/ml}$ の MIC を示した。しかしその値は $0.78 \sim 100 \mu\text{g/ml}$ にわたっており比較的大きい MIC 値を示した

(Fig. 25~27)。

3. 抗菌力におよぼす諸因子の影響

S. aureus 209-P JC, *E. coli* NIHJ JC-2 および *K. pneumoniae* 教室保存株を用いて, 抗菌力におよぼす接種菌量, 培地 pH および馬血清添加の影響を調べた。

Table 5 に示すように, CTM の *S. aureus* 209-P JC に対する MIC 値は接種菌量を変えてもあまり変動しなかったが, *E. coli* NIHJ JC-2 および *K. pneumoniae* の場合には接種菌量が大きくなると MIC 値も有意に大きくなる傾向がみられ, その程度は CEZ, CET よりも幾分か大きかった。

Table 5 Effect of inoculum size on antibacterial activity of CTM, CEZ and CET

Organism	Inoculum size	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		CTM	CEZ	CET
<i>S. aureus</i> 209-P JC	1.4×10^8 cells/ml	0.39	0.39	0.2
	" $\times 10^8$	0.39	0.2	0.2
	" $\times 10^7$	0.39	0.2	0.2
	" $\times 10^6$	0.2	0.2	0.1
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	1.5×10^8 cells/ml	0.39	1.56	25
	" $\times 10^8$	0.2	1.56	12.5
	" $\times 10^7$	0.1	1.56	6.25
	" $\times 10^6$	0.05	0.78	6.25
<i>K.</i> <i>pneumoniae</i>	7.3×10^8 cells/ml	0.39	3.13	3.13
	" $\times 10^8$	0.2	1.56	3.13
	" $\times 10^7$	0.1	1.56	1.56
	" $\times 10^6$	0.1	1.56	1.56

Method: Twofold serial dilution method with heart infusion agar
Inoculum size: A loopful of bacterial suspension ($10^9 \sim 10^6$ cells/ml)

Table 6 Effect of medium pH on antibacterial activity of CTM, CEZ and CET

Organism	Medium pH	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		CTM	CEZ	CET
<i>S. aureus</i> 209-P JC	6.0	0.39	0.1	0.1
	7.0	0.39	0.2	0.2
	8.0	0.78	0.2	0.2
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	6.0	0.39	0.78	3.13
	7.0	0.2	1.56	12.5
	8.0	0.39	1.56	12.5
<i>K. pneumoniae</i>	6.0	0.39	0.78	1.56
	7.0	0.2	1.56	3.13
	8.0	0.2	3.13	3.13

Method : Twofold serial dilution method with heart infusion agar

Inoculum size : A loopful of bacterial suspension (approximately 10^8 cells/ml)

Table 7 Effect of the addition of horse serum to the test medium on antibacterial activity of CTM, CEZ and CET

Organism	Serum (%)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		CTM	CEZ	CET
<i>S. aureus</i> 209-P JC	0	0.39	0.2	0.2
	10	0.39	0.2	0.2
	25	0.39	0.39	0.2
	50	0.39	0.39	0.2
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0	0.78	3.13	12.5
	10	0.78	6.25	25
	25	0.78	6.25	25
	50	0.78	6.25	12.5
<i>K. pneumoniae</i>	0	0.2	1.56	6.25
	10	0.2	1.56	3.13
	25	0.2	1.56	3.13
	50	0.1	3.13	3.13

Method : Twofold serial dilution method with heart infusion broth

Inoculum size : A loopful of bacterial suspension (approximately 10^8 cells/ml)

Table 8 Relative susceptibility of CTM and other β -lactam antibiotics to hydrolysis by various β -lactamases in cell free preparations

Organism (source of enzyme)	Relative rate of hydrolysis (PCG=100)			
	CTM	CEZ	CET	CER
<i>Escherichia coli</i> 21	6.7	7.3	8.5	54
" 195	10	6.5	9.4	55
" 106	87	124	259	187
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 130	12.5	5.6	8.6	56
" 138	4.0	5.7	6.9	52
<i>Proteus mirabilis</i> 121-1	2460	3250	1430	913
<i>Proteus vulgaris</i> 114	21	30	16	24
<i>Proteus morgani</i> 111	47	124	138	158
<i>Proteus rettgeri</i> 105	379	6150	6180	11200
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	139	652	477	348
" TP-1	2.3	4.5	3.6	13
<i>Staphylococcus aureus</i> S 54	<0.8	<0.8	<0.8	1.9

Assay method : cephalosporins (UV method), PCG (Micro-iodometric method)

Substrate concentration : cephalosporins ($1,000\mu\text{M}$), PCG ($200\mu\text{M}$)

Table 6 は培地 pH の影響を示している。CTM の場合には、いずれの菌種においても pH 7.0 で最も小さい MIC 値を示したが、変動の程度は CEZ, CET よりもやや小さい傾向にあった。

また Table 7 に示すように、CTM の抗菌力は、いずれの菌種においても馬血清添加の影響をほとんど受けなかった。

4. 各種細菌由来の β -lactamase に対する安定性

既存のペニシリン、セファロsporin類に高度耐性を示す臨床材料由来の各種細菌から調製した β -lactamase に対する CTM の安定性を CEZ, CET および CER を比較薬剤として検討した (Table 8)。実験に供したグラム陰性細菌由来の β -lactamase 標品は、酵素産生様式および基質特異性に基づいて、山岸、沢井の分類法⁹⁾により次のように群別された¹⁰⁾。すなわち *E. coli* 21, *K. pneumoniae* 130 および 138 由来の β -lactamase は

Fig. 28 Bactericidal action of CTM, CEZ and CET against *E. coli* NIHJ JC-2

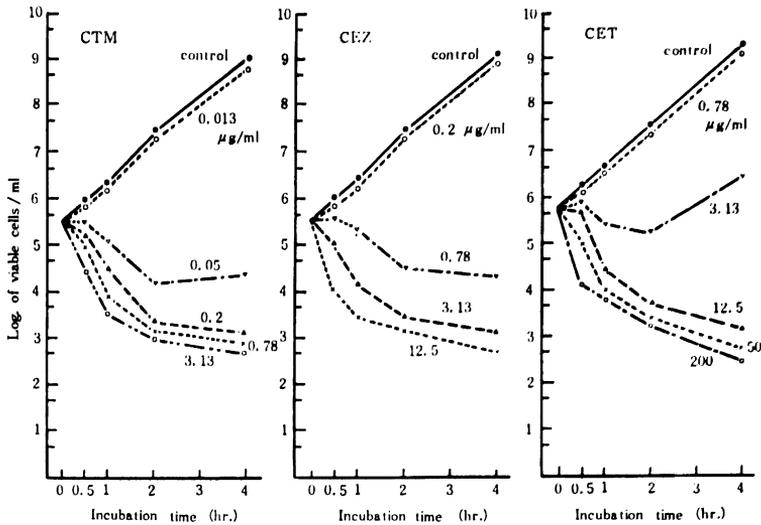
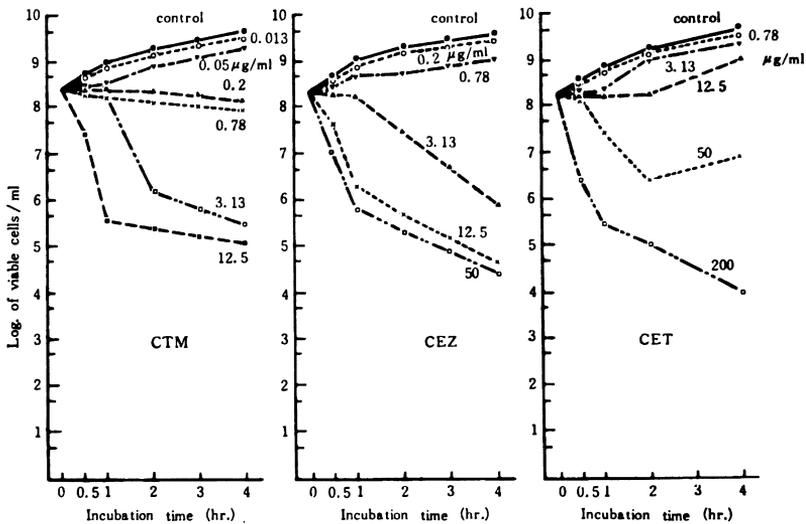


Fig. 29 Bactericidal action of CTM, CEZ and CET against *E. coli* NIHJ JC-2



penicillinase (PCase)-type I に, *E. coli* 195 由来のそれは PCase-type II に, *P. vulgaris* および *P. aeruginosa* TP-1 由来のそれは PCase-type IV かあるいはその類縁型に, また *E. coli* 106, *P. mirabilis* 121-1, *P. morgani* 111, *P. rettgeri* 105 および *P. aeruginosa* E-2 由来のそれは cephalosporinase (CSase) に群別された。CTM は概ねいわゆる PCase-type の β -lactamase によっては PCG の 1/10~1/100 程度の速度で水解される

にすぎず, CEZ および CET と同様比較的安定であった。しかし, いわゆる CSase-type の β -lactamase には CEZ あるいは CET よりも若干安定である傾向がみられたが, 特筆する程ではなく PCG とほぼ同程度か若干水解され易い傾向がみられた。

5. 増殖曲線におよぼす影響

Fig. 28 および Fig. 29 は, *E. coli* NIHJ JC-2 に対する CTM, CEZ および CET の, それぞれ薬剤作用

Fig. 30 Bactericidal action of CTM and CEZ against *E. coli* No. 29

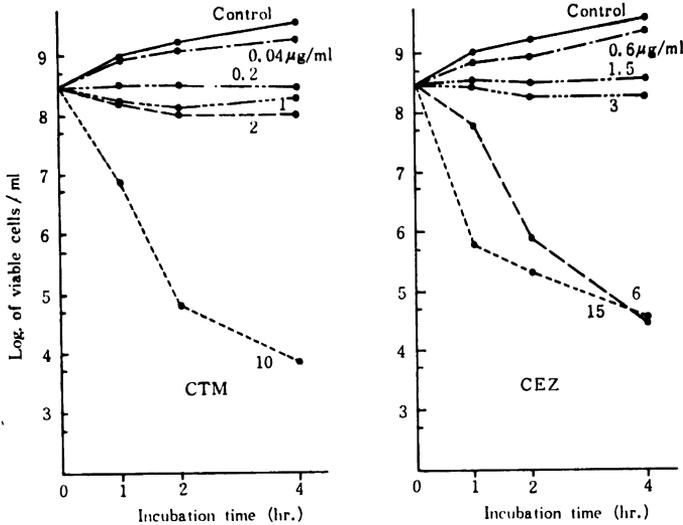
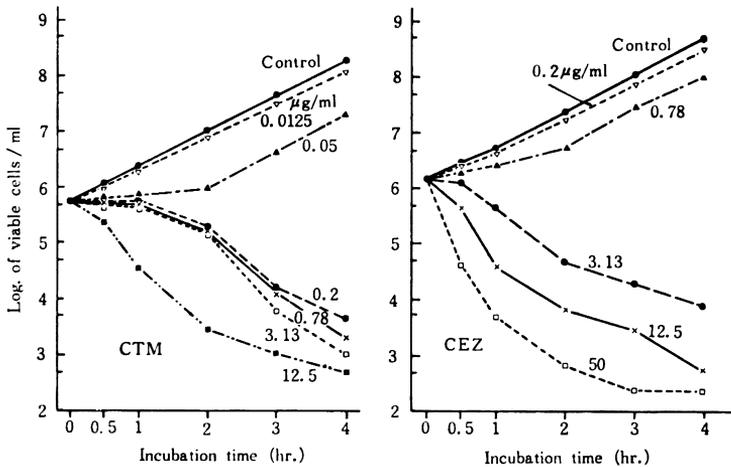


Fig. 31 Bactericidal action of CTM and CEZ against *K. pneumoniae*



時の菌量が 10^5 cells/ml および 10^8 cells/ml のときの抗菌作用型式を示している。薬剤作用時の菌量が 10^5 cells/ml のオーダーの場合には、CTM の $\frac{1}{2}$ ~1 MIC (0.05 μ g/ml) 以上の濃度を作用させると、CEZ および CET の $\frac{1}{2}$ ~1 MIC 以上の濃度を作用させた場合と同様、1 時間目あたりから殺菌的作用が認められた。一方薬剤作用時の菌量が 10^8 cells/ml のオーダーの場合には、CTM の 1~4 MIC (0.2~0.78 μ g/ml) 相当の濃度においてはいわゆる静菌的作用が認められるにすぎず、16~32 MIC (3.13 μ g/ml) 以上の濃度において、はじめて速

やかな殺菌的作用が認められた。

Fig. 30は、*E. coli* No. 29に対する CTM および CEZ の薬剤作用時の菌量が 10^8 cells/ml のときの抗菌作用型式を示している。本菌株においても CTM の 1~10 MIC (0.2~2 μ g/ml) 相当の濃度においては、いわゆる静菌的作用が認められるにすぎず、速やかな殺菌的作用が認められるには10 MIC 以上の濃度を要した。

Fig. 31は、*K. pneumoniae* 教室保存株に対する CTM および CEZ の薬剤作用時の菌量が 10^6 cells/ml 前後のときの抗菌作用型式を示している。CTM の 1~

Table 9 Therapeutic efficacy of CTM, CEZ and CET against experimental infections in mice

Challenge organism	Drug	MIC : $\mu\text{g/ml}$		ED ₅₀ : mg/mouse (95% confidence limits)
		10 ⁶ cells/ml	10 ⁸ cells/ml	
<i>Streptococcus</i> * ¹ <i>pneumoniae</i> type III	CTM	0.20	0.10	1.2 (0.71 - 2.04)
	CEZ	0.20	0.10	0.70 (0.41 - 1.19)
	CET	0.20	0.10	14.00 (8.48 - 23.1)
<i>Escherichia</i> * ² <i>coli</i> No. 23	CTM	0.20	0.05	0.006(0.0027-0.013)
	CEZ	3.13	0.78	0.085(0.053 - 0.11)
	CET	25	6.25	0.78 (0.50 - 1.21)
<i>Escherichia</i> * ³ <i>coli</i> No. 29	CTM	0.10	0.05	0.031(0.017 - 0.056)
	CEZ	1.56	0.78	0.36 (0.21 - 0.61)
	CET	3.13	1.56	0.56 (0.39 - 0.81)
<i>Klebsiella</i> * ⁴ <i>pneumoniae</i>	CTM	0.20	0.10	0.94 (0.63 - 1.41)
	CEZ	3.13	1.56	2.7 (2.0 - 3.65)
	CET	3.13	1.56	11.0 (8.2 - 14.9)

Infective inoculum size : *¹ 5.6×10^3 cells/mouse (500LD₅₀)

*² 1.3×10^4 cells/mouse with 3% mucin (52LD₅₀)

*³ 1.2×10^6 cells/mouse with 3% mucin (210LD₅₀)

*⁴ 4.8×10^3 cells/mouse with 3% mucin (7,300LD₅₀)

Table 10 Effect of administration schedule on therapeutic efficacy of CTM by subcutaneous route against intraperitoneal infection with *Klebsiella pneumoniae*

Administration schedule	1 inject.	2 inject. (1 hr. interval)	4 inject. (1 hr. interval)	6 inject. (1 hr. interval)
Dose (mg/mouse)	No. of survivors*	No. of survivors*	No. of survivors*	No. of survivors*
2.0	9	—	—	—
1.0	6	—	—	—
0.5	3	6	—	—
0.25	3	2	—	—
0.125	0	2	9	10
0.0625	—	1	8	9
0.0313	—	0	8	9
0.0156	—	—	4	7
0.0078	—	—	5	8
0.0039	—	—	0	2
0.0020	—	—	0	0
ED ₉₄ /inject.	2.0	1.2	0.054	0.026
ED ₅₀ /inject.	0.80	0.46	0.018	0.0084
	(0.50-1.28)	(0.26-0.83)	(0.010-0.032)	(0.0047-0.015)
ED ₁₆ /inject.	0.31	0.18	0.0062	0.0028
Total ED ₅₀	0.80	0.92	0.072	0.050
	(0.50-1.28)	(0.52-1.66)	(0.040-0.128)	(0.028-0.090)

* 10 mice per group (): 95% confidence limits

Infective inoculum : 5.0×10^3 CFU/mouse with 3% mucin (5.0×10^3 LD₅₀)

16 MIC (0.2~3.13 $\mu\text{g/ml}$) 相当の濃度においては1時間目あたりまではいわゆる静菌的作用が認められるにすぎず、2~3時間目あたりから漸く著明な菌数の減少が認められはじめた。一方 CEZ の場合には、本菌に対する MIC 値は比較的大きかったが、1~2 MIC (3.13 $\mu\text{g/ml}$) 相当の濃度においても比較的速やかな殺菌的作用

が認められた。

6. マウス実験の感染症に対する治療効果

S. pneumoniae type III, *E. coli* No. 23, *E. coli* No. 29および *K. pneumoniae* 腹腔内感染マウスに対する皮下1回投与時の CTM の治療効果を CEZ および CET のそれと比較検討した (Table 9)。

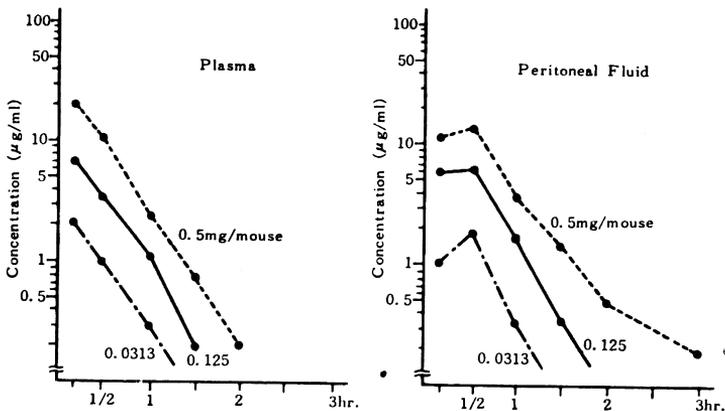
Table 11 Effect of administration schedule on therapeutic efficacy of CEZ by subcutaneous route against intraperitoneal infection with *Klebsiella pneumoniae*

Administration schedule	1 inject.	2 inject. (1 hr. interval)	4 inject. (1 hr. interval)	6 inject. (1 hr. interval)
Dose (mg/mouse)	No. of survivors*	No. of survivors*	No. of survivors*	No. of survivors*
8.0	8	—	—	—
4.0	4	—	—	—
2.0	3	7	—	—
1.0	2	4	10	—
0.5	0	3	8	—
0.25	0	0	4	10
0.125	—	0	1	3
0.0625	—	—	2	1
0.0313	—	—	0	0
0.0156	—	—	0	0
ED ₈₄ /inject.	7.2	3.0	0.76	0.54
ED ₅₀ /inject.	3.0 (1.76-5.10)	1.3 (0.76-2.21)	0.29 (0.18-0.48)	0.21 (0.12-0.38)
ED ₁₆ /inject.	1.3	0.55	0.11	0.08
Total ED ₅₀	3.0 (1.76-5.10)	2.6 (1.52-4.42)	1.16 (0.72-1.92)	1.26 (0.72-2.28)

* 10 mice per group () : 95% confidence limits

Infective inoculum : 4.0×10^3 CFU/mouse with 3% mucin (4.3×10^3 LD₅₀)

Fig. 32 Concentration of CTM in plasma and peritoneal fluid after subcutaneous injection in mice



S. pneumoniae type III に対する CTM の MIC 値は CEZ および CET のそれと同値であったが、本菌感染マウスに対する CTM の ED₅₀ 値は CEZ よりやや大きく、CET より有意に小さかった。

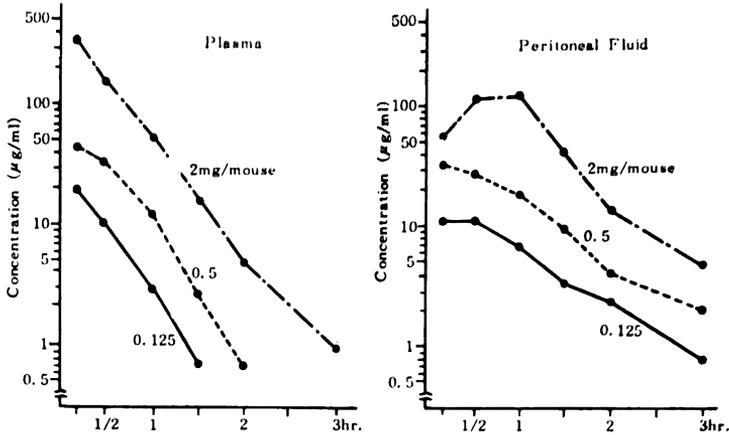
E. coli No. 23 感染マウスに対する CTM の ED₅₀ 値は CEZ の約 1/14, CET の約 1/130 程度であり、MIC 値の相対比とよく相関していた。また *E. coli* No. 29 感染マウスにおいてもほぼ同様の傾向がみられた。

K. pneumoniae に対する CTM の ED₅₀ 値は CEZ の約 1/3 および CET の約 1/12 程度であり、本菌種に対し

ても比較的良好的な治療効果を示した。しかし本菌種の場合には、CTM の MIC 値は 0.1~0.2 µg/ml であり CEZ の MIC 値 (1.56~3.13 µg/ml) の約 1/16 であるので、MIC 値の相対比と ED₅₀ 値の相対比間に必ずしも相関性が認められなかった。

そこで *K. pneumoniae* 感染マウスに対する CTM および CEZ の治療効果におよぼす投与回数の影響を比較検討してみた。Table 10 に示すように、CTM においては投与回数を 4 回あるいは 6 回にふやすと注射当りの ED₅₀ は勿論のこと、total ED₅₀ 値も 1 回投与時の

Fig. 33 Concentrations of CEZ in plasma and peritoneal fluid after subcutaneous injection in mice



1/10以下に著減した。

一方 CEZ の場合には投与回数をやすと注射当りの ED₅₀ 値は減少したものの, total ED₅₀ 値は1回投与時のたかだか1/2程度に減少するにすぎなかった (Table 11)。

7. マウスの血漿および腹水中薬剤濃度

Fig. 32 および Fig. 33 は, CTM および CEZ をマウスに皮下投与したときの血漿および腹水中薬剤濃度の推移を示している。CTM を0.5および0.125 mg/mouse 投与時の血漿中薬剤濃度のピーク値は約20および7 µg/ml 前後であり, CEZ 同量投与時の約1/2であった。腹水中薬剤濃度の推移は, 両剤いずれの場合にも, 血漿中のそれよりも時間的に遅れがみられたが, ピーク値は血漿中のそれとほぼ同程度であった。

考 察

新合成セファロsporin CTM は, グラム陽性および陰性菌に対し幅広い抗菌スペクトラムを示し, とくにグラム陰性菌群に対して著しく強い抗菌力を示すことが注目された。すなわち, 本剤のグラム陽性菌群に対する MIC 値は CEZ あるいは CET のそれとほぼ同程度であったが, グラム陰性菌群の *Neisseria* 群, *E. coli*, *Salmonella* 群, *Shigella* 群, *K. pneumoniae* および *P. mirabilis* に対する MIC 値は CEZ あるいは CET の1/10~1/100であり, 0.025~0.39 µg/ml という小さい値を示した。そして臨床材料由来の *S. aureus* (51株), *N. gonorrhoeae* (21株), *E. coli* (60株), *K. pneumoniae* (41株) および *P. mirabilis* (24株) に対する 10⁸ および 10⁶ cells/ml 接種時の MIC 値は90%以上が 0.2~3.13 µg/ml および 0.1~0.78 µg/ml に分布してい

た。さらにまた, 10⁶ cells/ml 接種の場合のみではあるが, 既存のセファロsporin系薬剤に高度耐性である *C. freundii*, *Enterobacter* 群およびインドール陽性 *Proteus* 群に対しても 6.25 µg/ml 以下の MIC 値を示したことは特筆されるべきことかと思われる。そして臨床材料由来のインドール陽性 *Proteus* 群 (67株) に対する 10⁶ cells/ml 接種時の MIC 値は63%が 0.1~6.25 µg/ml に37%が 12.5~>100 µg/ml に分布していた。しかし, *S. marcescens* および *P. aeruginosa* に対しては多くの既存のセファロsporin系薬剤と同様極めて大きい MIC 値を示した。

臨床材料から分離された, いわゆる β-lactam 系薬剤高度耐性菌が本系薬剤に強い抵抗性を示すのは, 多くの場合それらの細菌が β-lactam 環を水解する酵素 β-lactamase を産生することに基因しているということによく知られているところである^{11,12)}。CTM は, *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* および *P. aeruginosa* 由来のいわゆる PCase type の β-lactamase に対しては CEZ あるいは CET と同様, 比較的安定であった。それゆえ, この種のタイプの β-lactamase 産生株に対しては非産生株とほぼ同程度の抗菌力を示すものと考えられる。一方, *E. coli*, *Proteus* 群および *P. aeruginosa* 由来のいわゆる CSase-type の β-lactamase に対しては, CEZ あるいは CET よりも若干安定である傾向がみられたものの, 特筆する程のものではなく, PCG とほぼ同程度かそれよりも若干速い速度で水解された。しかし本剤はこの種の β-lactamase 産生株の一部に対しては強い抗菌力を示した。従って上に述べた本剤の抗菌力の特徴は必ずしも本剤の β-lactamase に対する安定性のみを基因するとは考え難く, 本剤の抗菌作用機序に

ついで今後の研究の進展に興味もたれる。

いずれにしても、本剤の最大の特徴はグラム陰性桿菌群、とくに近年いわゆる日和見感染の起原菌として注目されている *E. coli*, *K. pneumoniae* あるいは *P. mirabilis* などに対して $0.1 \sim 0.39 \mu\text{g/ml}$ 程度の極めて少量で抗菌力を示すということであった。しかし、それらの菌種に対する本剤の抗菌作用型式は必ずしも殺菌的ではなく、作用濃度により明らかに異なった作用型式を示した。すなわち、概ね $1.56 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$ 以上の濃度においては極めて速やかな殺菌作用が認められたが、それ以下の濃度においてはむしろ静菌的であるように思われた。とくに薬剤作用時の菌量が 10^8 cells/ml 以上の場合にこの傾向大であった。従って、これらの菌種に対する MIC 値は概ね CEZ の $1/10$ 以下という小さい値を示したが、速やかな殺菌的作用が認められはじめる濃度は CEZ の $1/2$ 前後であった。本剤の低濃度域における抗菌作用型式は、先に私どもが指摘した Sulbenicillin¹³⁾, Piperacillin¹⁴⁾, Ticarcillin¹⁵⁾ および Cefsulodine¹⁶⁾ の *P. aeruginosa* に対する作用型式に類似しており、本剤の場合にも、感染菌種あるいは疾患により若干様相は異なるにしても、本質的にはその治療効果は有効濃度以上が保持されている時間の長短によって大きく左右されることを示唆しているように思われる。事実、*K. pneumoniae* 腹腔内感染マウスに対する本剤の治療効果は、投与回数を 4 回あるいは 6 回にふやすと注射当りの ED₅₀ 値は勿論のこと、total ED₅₀ 値も著しく減少したことは、上記考察を支持するものと思われる。また本剤の各種菌腹腔内感染マウスに対する ED₅₀ 値は CEZ あるいは CET のそれよりも明らかに小さかったという成績は、本剤の抗菌作用型式の特徴を充分踏まえた投与方法がとられるならば、実際臨床の場合においても CEZ あるいは CET よりも有意に優れた治療効果が期待出来ることを示しているものと考えられる。

要 約

新合成セファロsporin Cefotiam (SCE-963) の細菌学的評価を行い、次のような成績を得た。

1) Cefotiam はグラム陽性および陰性菌に広範囲な抗菌スペクトラムを示した。とくにインドール陽性 *Proteus* 群を含むグラム陰性菌群に対して既存のセファロsporin 類よりも著しく強い抗菌力を示した。しかし *S. marcescens* および *P. aeruginosa* に対する抗菌力は弱くほとんど無効であった。

2) 臨床材料由来の *S. aureus* (51株), *N. gonorrhoeae* (21株), *E. coli* (60株), *K. pneumoniae* (41株) および *P. mirabilis* (24株) に対する 10^8 および 10^6 cells/

ml 接種時の MIC 値は 90% 以上が $0.2 \sim 3.13 \mu\text{g/ml}$ および $0.1 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$ に分布していた。インドール陽性 *Proteus* 群 (67株) に対する 10^8 cells/ml 接種時の MIC 値は 63% が $0.1 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$ に 37% が $12.5 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ に分布していた。

3) Cefotiam の抗菌力は接種菌量の影響を比較的受け易かった。とくにグラム陰性菌においてその傾向大であった。

4) Cefotiam は、いわゆる PCase-type の各種 β -lactamase に対しては、CEZ および CET と同様、比較的安定であった。しかし、CSase-type の β -lactamase には、CEZ および CET よりも若干安定である傾向がみられたが特筆する程のものではなく、PCG とほぼ同程度かそれより若干水解され易かった。

5) Cefotiam の *E. coli* および *K. pneumoniae* に対する抗菌作用型式は、 $1.56 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$ 以上の高濃度域においては殺菌的であったが、それ以下の低濃度域においては静菌的であった。

6) Cefotiam は、*E. coli* および *K. pneumoniae* 腹腔内感染マウスに対して CET, CEZ より良好な治療効果を示した。また *K. pneumoniae* 感染マウスに対する ED₅₀ 値は、投与回数を 4 回あるいは 6 回にふやすと、注射当りの ED₅₀ 値は勿論のこと、total ED₅₀ 値も 1 回投与時の $1/10$ 以下に著減した。

文 献

- 1) NUMATA, M.; I. MINAMIDA, M. YAMAOKA, M. SHIRAISHI, T. MIYAWAKI & T. NISHIMURA: SCE-963, a new cephalosporin I. Synthesis and structure. 17th, Intersci. Conf. Antimicrob. Agents & Chemoth. Prog. Abstr. 44, 1977, New York
- 2) TSUCHIYA, K.; M. KIDA, M. KONDO, S. GOTO, M. OGAWA, A. TSUJI & S. KUWAHARA: SCE-963, a new cephalosporin II. *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities, 17th, Intersci. Conf. Antimicrob. Agents & Chemoth. Prog. Abstr. 45, 1977, New York
- 3) MIC 測定法改定委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改訂について. Chemotherapy 22: 1126~1128, 1974
- 4) NEU, H. C.: The surface localization of penicillinases in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 32: 258~263, 1968
- 5) RICHMOND, M. H.: Purification and properties of the exopenicillinase from *Staphylococcus aureus*. Biochem. J. 88: 452~459, 1963
- 6) 小此木研二, 木田 誠, 米田雅彦, 三橋 進: Cefotiam (SCE-963) の β -lactamase に対する態

- 度および細菌細胞外膜透過性。Chemotherapy 27 (S-3) : 94~105, 1979
- 7) 小此木研二, 木田 誠, 土屋皖司, 米田雅彦: Mecillinam の *Escherichia coli* に対する抗菌力および β -lactamase に対する態度。Chemotherapy 25 : 94~99, 1977
- 8) LITCHFIELD, J. T. & F. WILCOXON : A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharmacol. Exp. Ther. 96 : 99~113, 1949
- 9) 山岸三郎, 沢井哲夫: グラム陰性菌の β -lactamase について (その分類を中心として)。日本細菌学雑誌 30 : 615~629, 1975
- 10) 西野武志, 岩日朋幸, 尾花芳樹, 吉本 正, 塩見あい: 新合成セファロsporin Cefsulodin (SCE-129) に関する細菌学的評価。Chemotherapy 27 (S-2) : 42~57, 1979
- 11) RICHMOND, M. H. & R. B. SYKES : The β -lactamases of gram-negative bacteria and their possible physiological role. Advan. Microbial. Physiol. 9 : 31~88, 1973
- 12) SYKES, R. B. & M. MATTHEW : The β -lactamases of gram-negative bacteria and their role in resistance to β -lactam antibiotics. J. Antimicrob. Chemoth. 2 : 115~157, 1976
- 13) 岩日朋幸, 中沢昭三: 化学療法剤の投与法に関する実験的解析, I. 緑膿菌に対する Sulbenicillin の効果。Chemotherapy 28 : 337~344, 1978
- 14) 渡辺泰雄, 西野武志, 中沢昭三: 化学療法剤の投与法に関する実験的解析, 4. 緑膿菌に対する T-1220 の効果。Chemotherapy 25 : 747~754, 1977
- 15) 尾花芳樹, 西野武志, 中沢昭三: 化学療法剤の投与法に関する実験的解析, 6. 緑膿菌に対する Ticarcillin の効果。Chemotherapy 25 : 2422~2427, 1977
- 16) 岩日朋幸, 西野武志: 化学療法剤の投与法に関する実験的解析, 10. 緑膿菌に対する Cefsulodin (SCE-129) の効果。Chemotherapy 27 (S-2) : 87~100, 1979

BACTERIOLOGICAL EVALUATION ON CEFOTIAM (SCE-963)

TAKESHI NISHINO and TOMOYUKI IWAHI

Department of Microbiology, Kyoto College of Pharmacy

Bacteriological evaluation was made on cefotiam (SCE-963), a new broad-spectrum cephalosporin antibiotic, and the following results were obtained.

1) Cefotiam showed potent antibacterial activities against gram-positive and gram-negative bacteria. It was especially more potent than commercially available cephalosporins against gram-negative bacteria including indole-positive *Proteus*, *S. marcescens* and *P. aeruginosa* were almost insusceptible to cefotiam.

2) MICs of cefotiam against a great majority of clinical isolates of *S. aureus* (51 strains), *N. gonorrhoeae* (21 strains), *E. coli* (60 strains), *K. pneumoniae* (41 strains) and *P. mirabilis* (24 strains) distributed from 0.2 to 3.13 $\mu\text{g/ml}$ with inoculum size of 10^8 cells/ml and from 0.1 to 0.78 $\mu\text{g/ml}$ with 10^6 cells/ml. Sixty-three % of indole-positive *Proteus* (67 strains) were inhibited by cefotiam at 6.25 $\mu\text{g/ml}$ and lower.

3) MICs of cefotiam varied with inoculum sizes especially against gram-negative bacteria.

4) Cefotiam was as stable as cefazolin and cephalothin to PCase-type β -lactamase. It was, however, hydrolysed by CSase-type β -lactamase, but cefotiam was slightly more stable than cefazolin and cephalothin.

5) Cefotiam showed bactericidal action against *E. coli* and *K. pneumoniae* at 1.56-6.25 $\mu\text{g/ml}$ or higher. At lower concentrations, cefotiam showed bacteriostatic action.

6) Cefotiam was more effective than cefazolin and cephalothin against experimental infection in mice caused by intraperitoneal challenge of *E. coli* and *K. pneumoniae*. In mice infection with *K. pneumoniae*, total ED₅₀ of cefotiam in 4-6 divided administrations was less than 1/10 of ED₅₀ in single administration.