

Cefamandole の抗菌力について

三橋 進

群馬大学医学部微生物学教室

Cefamandole sodium (CMD) の *in vitro* の抗菌力を、臨床分離の *Staphylococcus aureus* 100 株, *Streptococcus pyogenes* 98 株, *E. coli* 100 株, *Klebsiella pneumoniae* 100 株, *Proteus indole-* 100 株, *Proteus indole+* 100 株, *Enterobacter cloacae* 100 株, *Serratia marcescens* 100 株および *Haemophilus influenzae* 51 株に対する MIC を、日本化学療法学会感受性測定法に準じて、原液 (10^8 cells/ml) および 100 倍希釈液 (10^6 cells/ml) 接種で測定し、Cefazolin (CEZ) および Cefaloridine (CER) を比較薬として検討した。

その成績は、*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* では CER がすぐれ、CMD は CEZ とほぼ同等もしくはややすぐれていた。*Haemophilus influenzae* では、対象薬のセファロスポリン系では CMD が特にすぐれていた。*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus indole-*, *indole+* などのグラム陰性菌については、CMD は対照において CEZ, CER と同等もしくはすぐれていた。

さらに、本剤の β -lactamase に対する安定性を O'CALLAGHAN らによる photometric assay⁴ によって検討したが、R 因子支配による *Klebsiella pneumoniae* の PCase および各種の Cephalosporinase (CSase) に CEZ と同程度の安定性を示した。

CMD は広域スペクトラムを有する新セファロスポリン系抗生素である^{1,2}。今回臨床分離のグラム陽性菌、グラム陰性菌に対する抗菌力および β -lactamase に対する CMD の安定性の検討を行なったので報告する。

I. 実験材料および方法

1) 使用薬

CMD は塩野義製薬から提供された粉末を用いた。Ampicillin (ABPC) は富山化学から、CEZ は藤沢薬品から、CER は塩野義製薬から分与を受けた。

2) 使用菌株

使用菌株は、すべてヒト病巣由来株で群馬大学医学部耐性菌研究施設の stock culture を用いた。

3) 使用培地

感受性測定には、heart infusion 寒天培地 (HIA, 栄研) を使用した。*Haemophilus influenzae* には $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ のヘミンと $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ の NAD を加えた brain heart infusion 寒天培地 (BHIA, 栄研) を用いた。*Streptococcus pyogenes* には brain heart infusion 寒天 (BH IA, 栄研) を用いた。

4) 抗菌力測定

HIA を用い日本化学療法学会標準法³ 記載の寒天平板希釈法によった。すなわち、被験菌のペプトン水 18 時間培養原液を希釈してつくった 10^8 cells/ml または、 10^6 cells/ml 菌液を一白金耳、薬剤含有培地平板に接種し、 37°C 18 時間培養後、被験菌の発育の認められない最小濃度をもって、minimum inhibitory concentration

(MIC) とした。

S. pyogenes は、ペプトン水のかわりに BHI 液体培地を、*H. influenzae* は $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ ヘミンと $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ の NAD 加 BHI 液体培地を用いた。

5) β -lactamase sample の調整と β -lactamase 活性の測定

培養菌液を 0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.0) にて洗浄後、同緩衝液に懸濁し、超音波破碎した。その後 $10,000 \times g$ 30 分間、冷却下遠心し、その上澄液を粗酵素液とした。 β -lactamase 活性の測定は O'CALLAGHAN らによる photometric assay⁴ によった。

II. 実験成績

1) 臨床分離株に対する抗菌力

臨床分離の *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyo-*

Fig. 1 Antibacterial activity of CMD against *S. aureus* (100 strains, 10^8 cells/ml)

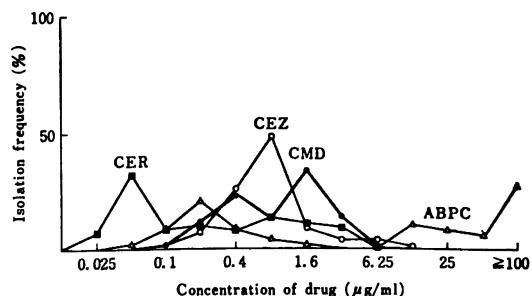


Fig. 2 Antibacterial activity of CMD against *S. aureus* (100 strains, 10^8 cells/ml)

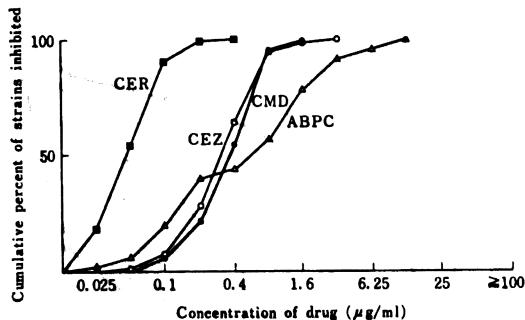


Fig. 3 Antibacterial activity of CMD against *S. pyogenes* (98 strains, 10^8 cells/ml)

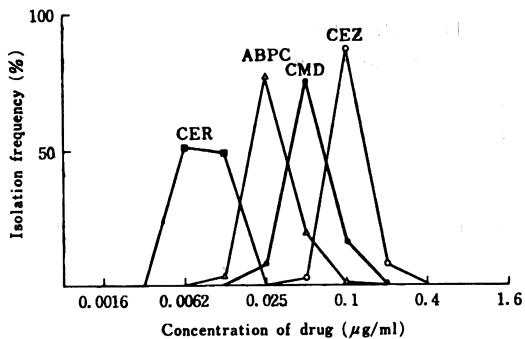
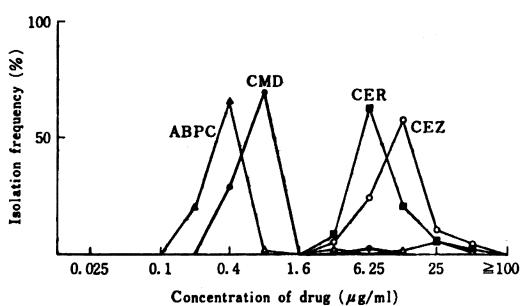


Fig. 4 Antibacterial activity of CMD against *H. influenzae* (51 strains, 10^8 cells/ml)



genes, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* グループ, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae* について調べた。

S. aureus 10^8 cells/ml 接種時の MIC ピークは、CER 0.05, CEZ 0.8, CMD は $0.4 \mu\text{g}/\text{ml}$ と $1.6 \mu\text{g}/\text{ml}$ の二つのピークを示した (Fig. 1)。 10^8 cells/ml 接種では、累積曲線から 50% 阻止をみると、CER $0.05 \mu\text{g}/\text{ml}$

Fig. 5 Antibacterial activity of CMD against *E. coli* (100 strains, 10^8 cells/ml)

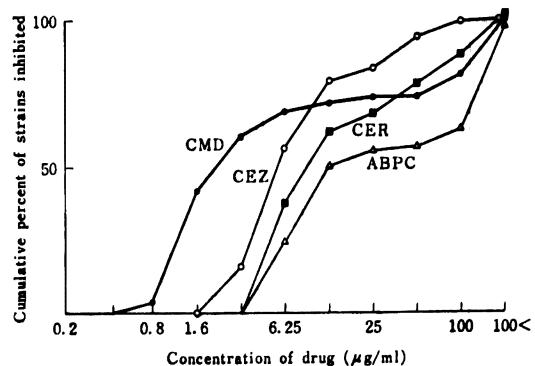


Fig. 6 Antibacterial activity of CMD against *E. coli* (100 strains, 10^8 cells/ml)

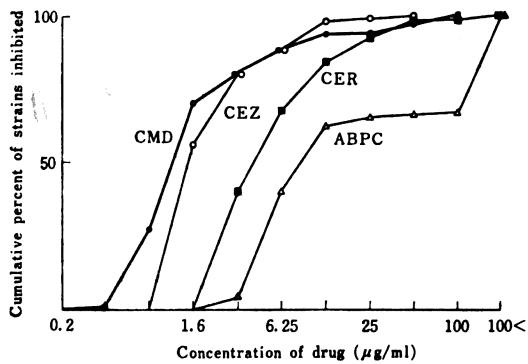


Fig. 7 Antibacterial activity of CMD against *K. pneumoniae* (100 strains, 10^8 cells/ml)

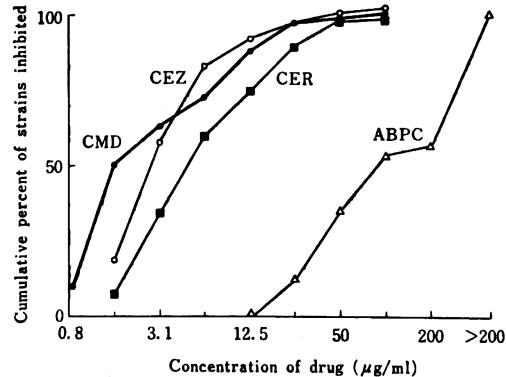


Fig. 8 Antibacterial activity of CMD against *Proteus* indole negative species (100 strains, 10^6 cells/ml)

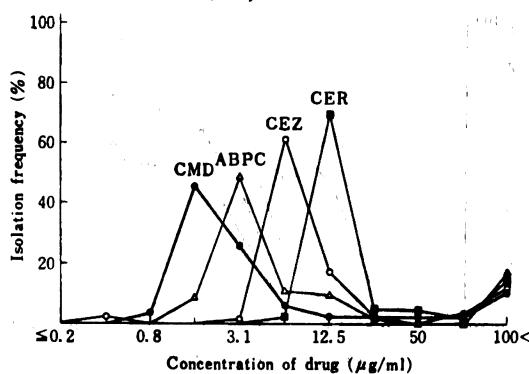
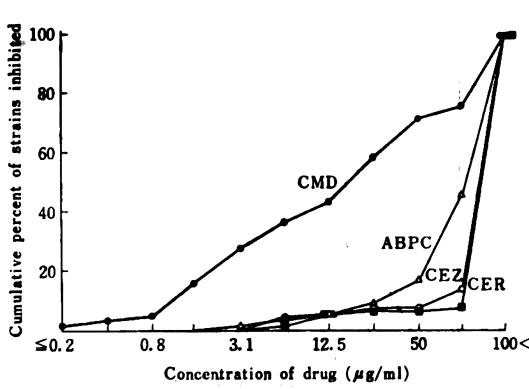


Fig. 9 Antibacterial activity of CMD against *Proteus* indole positive species (100 strains, 10^6 cells/ml)



ml, CEZ, CMD はほぼ同じで約 $0.3 \mu\text{g}/\text{ml}$, ABPC は約 $0.8 \mu\text{g}/\text{ml}$ であった (Fig. 2)。

S. pyogenes でのピークは, CER 0.006~0.012, ABPC 0.025, CMD 0.05, CEZ 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ にあり, ともに高い感受性を示した (Fig. 3)。*H. influenzae* のそれは, ABPC 0.4, CMD 0.8, CER 6.25, CEZ 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり, ABPC, CMD 群と CER, CEZ の二群にわかれた (Fig. 4)。

E. coli では, 10^6 cells/ml 接種では CMD が一番有効であった (Fig. 5)。 10^6 cells/ml 接種では, CMD は CEZ と同等もしくは少しまさり, 次に CER, ABPC の順であった (Fig. 6)。

K. pneumoniae 10^6 cells/ml 接種時の MIC は, CMD は CEZ よりややよく, 次に CER, ABPC の順であった (Fig. 7)。 10^6 cells/ml 接種においても効果の順は同じであった。*Proteus* indole - 菌, 10^6 cells/ml の接

Fig. 10 Antibacterial activity of CMD against *E. cloacae* (100 strains, 10^6 cells/ml)

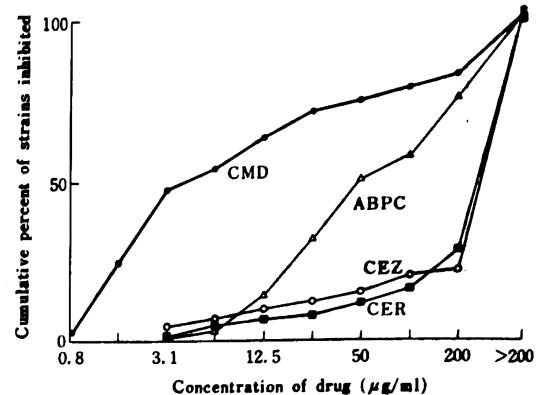
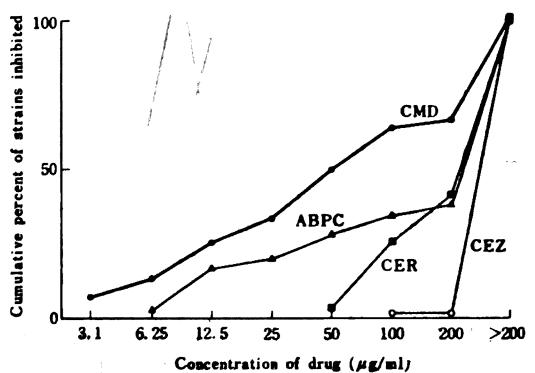


Fig. 11 Antibacterial activity of CMD against *S. marcescens* (100 strains, 10^6 cells/ml)



種時の MIC ピークは, CMD 1.6, ABPC 3.1, CEZ 6.3, CER 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった (Fig. 8)。 10^6 cells/ml においても CMD>ABPC>CEZ>CER の順であった。*Proteus* indole + 菌 10^6 cells/ml では, CMD および対照薬はともに $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の MIC であった。 10^6 cells/ml 接種では, ABPC, CEZ, CER はほとんど $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の MIC であったが, CMD の 50% 阻止 MIC 値は約 $20 \mu\text{g}/\text{ml}$ であり, 他薬に比べて有効であった (Fig. 9)。*E. cloacae* 10^6 cells/ml に対する抗菌力は, CMD>ABPC>CEZ, CER の順であったが, 約半数の株は CMD 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の MIC を示した。 10^6 cells/ml 接種時の 50% 阻止 MIC 値は, CMD 約 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$, ABPC 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, CEZ, CER ともに 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上であった (Fig. 10)。

S. marcescens 10^6 cells/ml では, CMD および対照薬とともに無効であったが, 10^6 cells/ml における 50% 阻止 MIC 値は, CMD 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, ABPC, CER, CEZ とも

Table 1 Stability of five β -lactam antibiotics to PCase-type β -lactamase

Enzyme source	Type	Specific activity (u/mg protein)	Substrates				
			CMD	CER	CEZ	ABPC	PCG
<i>E. coli</i> W3630 Rms 212 ⁺	I	80	21.5	70	24	105	100
<i>E. coli</i> W3630 Rms 213 ⁺	II	4.5	10	43	33	841	100
<i>P. aeruginosa</i> ML4759 Rms 149 ⁺	IV	0.4	0.3	18.9	4.0	135	100
<i>K. pneumoniae</i> GN69	Kleb. PCase	116	1.8	26	17	218	100

Photometric assay, *Vmax* ratioTable 2 Stability of five β -lactam antibiotics to CSase-type β -lactamase

Enzyme source	Specific activity (u/mg protein)	Substrates				
		CMD	CER	CEZ	CET	PCG
<i>P. aeruginosa</i> GN918	123	2.4	100	401	539	25
<i>P. vulgaris</i> GN76	154	176	100	292	70	22
<i>C. freundii</i> GN346	870	156	100	167	57	26
<i>E. coli</i> GN5482	50	2.4	100	288	574	29
<i>E. cloacae</i> GN7471	6,353	0.3	100	70	117	79

Photometric assay, *Vmax* ratio

に 200 μ g/ml 以上であった (Fig. 11)。

2) β -lactamase に対する安定性

Table 1 に Penicillinase (PCase) に対する安定性を示した。R 因子支配による I 型, II 型, IV 型 PCase および chromosome 支配による *K. pneumoniae* の PCase に対しては, CMD は CER より安定で, CEZ とほぼ同程度の安定性を示した。Table 2 に chromosome 支配の各種の Cephalosporinase (CSase) に対する安定性を示した。*P. aeruginosa*, *E. coli*, *E. cloacae* の各 CSase に対しては, 強い抵抗性を示した。しかし, *P. vulgaris*, *C. freundii* の CSase に対しては, CER の 1.5~1.7 倍分解された。

III. 考 察

本実験では, 新セファロスポリン系抗生物質 CMD は, 臨床分離株に対して, *Proteus* indole+ sp. および *H. influenzae* に特にすぐれた抗菌力を示し, β -lactamase を産生するセファロスポリン耐性の *E. coli*, *Klebsiella* の大部分に有効であり, 既知 β -lactam 抗生物質より広い抗菌スペクトルを示した。また, *S. aureus*

に対しても, CMD 6.25 μ g/ml で全株の発育を抑えており, 充分に有効な範囲内であると考えられる。

概して, CMD はグラム陰性菌およびグラム陽性菌に広い抗菌スペクトルを有し, グラム陰性菌に対する CMD の *in vitro* 抗菌力は, 総じて CEZ, CER と同等もしくはすぐれていた。とくに, CMD は CEZ および CER に耐性の *Proteus* indole+ 菌および *E. cloacae* に対してもすぐれた抗菌力を示した。

また, CMD は β -lactam 抗生物質に対する耐性機作に重要な役割を果たすといわれる β -lactamase に対して比較的安定であると考えられる。

文 献

- 1) NEU, H. C.: Cefamandole, a cephalosporin antibiotic with an unusually wide spectrum of activity. *Antimicr. Agents & Chemoth.* 6: 177~182, 1974
- 2) BODEY, G. P. & S. WEAVER: *In vitro* studies of cefamandole. *Antimicr. Agents & Chemoth.* 9: 452~457, 1976
- 3) 日本化学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法。

- Chemotherapy 23: 1~2, 1975
4) O'CALLAGHAN, C. H.; P. W. MUGGLETON & G. W. ROSS:
Effects of β -lactamase from gram-negative organisms
on cephalosporins and penicillins. Antimicrob. Agents &
Chemoth. 1968: 57~63

IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CEFAMANDOLE

SUSUMU MITSUHASHI

Department of Microbiology, School of Medicine Gunma University

In vitro antibacterial activity of cefamandole (CMD), was studied using clinical isolates of gram-positive and gram-negative bacteria. The results are summarized as follows:

1. The MIC levels of CMD against *S. aureus* and *S. pyogenes* were almost the same and were much lower than those of cefazolin (CEZ).
2. The MIC level of CMD against *H. influenzae* was much lower than those of CEZ and cephaloridine (CER).
3. The MIC levels of CMD against *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus* group were the same and were much lower than those of CEZ and CER.
4. CMD was stable against penicillinases and cephalosporinases extracted from *P. aeruginosa*, *E. coli*, *E. cloacae* and *K. pneumoniae*, but it was hydrolyzed by cephalosporinases from *P. vulgaris* and *C. freundii*, and its relative rate of hydrolysis was similar to that of CEZ.