

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 Cephaloridine (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 は対照においた 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物質である^{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 $10 \mu\text{g/ml}$ のヘミンと $2 \mu\text{g/ml}$ 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 (BHIA, 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 $10 \mu\text{g/ml}$ ヘミンと $2 \mu\text{g/ml}$ 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)

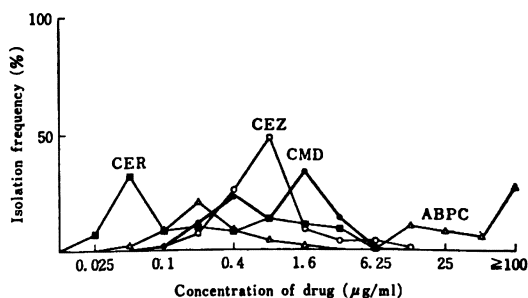


Fig. 2 Antibacterial activity of CMD against *S. aureus* (100 strains, 10^8 cells/ml)

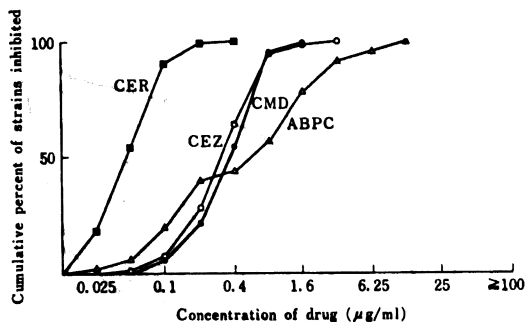


Fig. 3 Antibacterial activity of CMD against *S. pyogenes* (98 strains, 10^8 cells/ml)

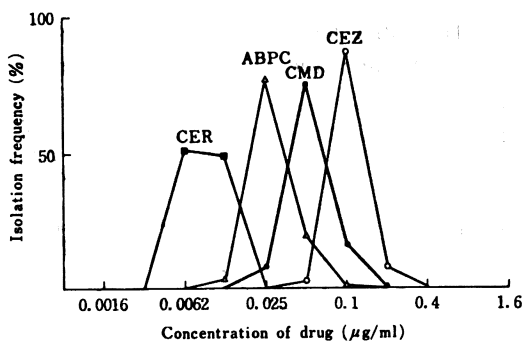
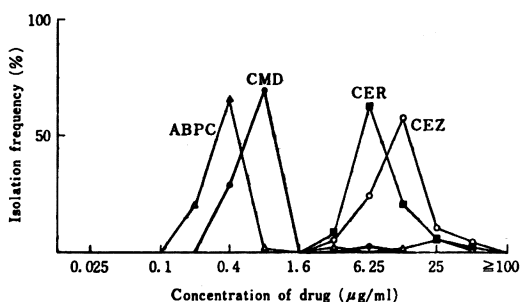


Fig. 4 Antibacterial activity of CMD against *H. influenzae* (51 strains, 10^6 cells/ml)



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 μ g/ml と 1.6 μ g/ml の二つのピークを示した (Fig. 1)。 10^6 cells/ml 接種では, 累積曲線から 50% 阻止をみると, CER 0.05 μ g/

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

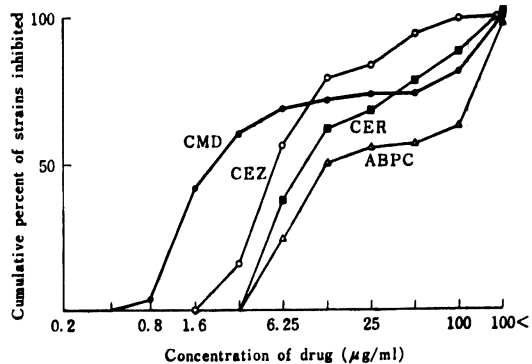


Fig. 6 Antibacterial activity of CMD against *E. coli* (100 strains, 10^6 cells/ml)

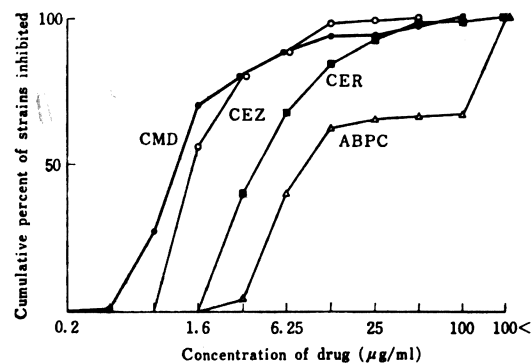


Fig. 7 Antibacterial activity of CMD against *K. pneumoniae* (100 strains, 10^6 cells/ml)

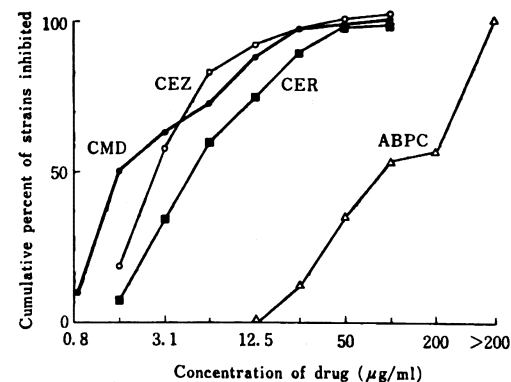


Fig. 8 Antibacterial activity of CMD against *Proteus* indole negative species (100 strains, 10^6 cells/ml)

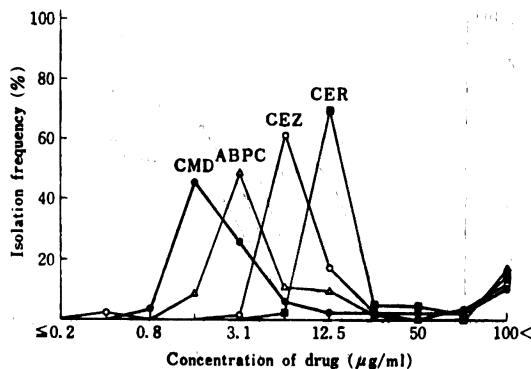
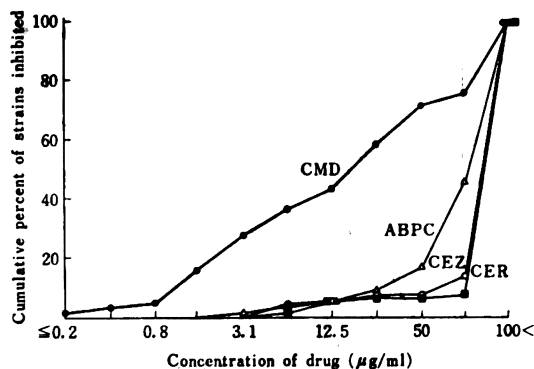


Fig. 9 Antibacterial activity of CMD against *Proteus* indole positive species (100 strains, 10^6 cells/ml)



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

S. pyogenes でのピークは, CER $0.006 \sim 0.012$, ABPC 0.025 , CMD 0.05 , CEZ $0.1 \mu\text{g/ml}$ にあり, と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 $12.5 \mu\text{g/ml}$ 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)。 10^5 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)。 10^5 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)

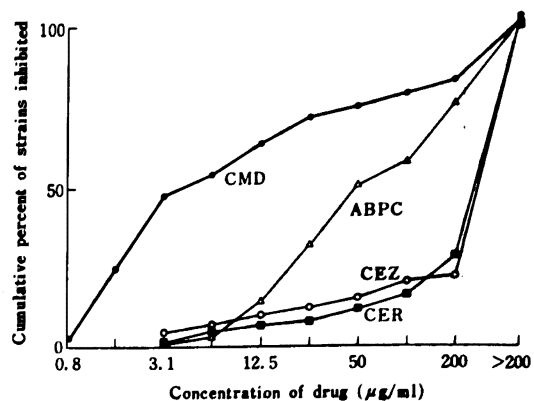
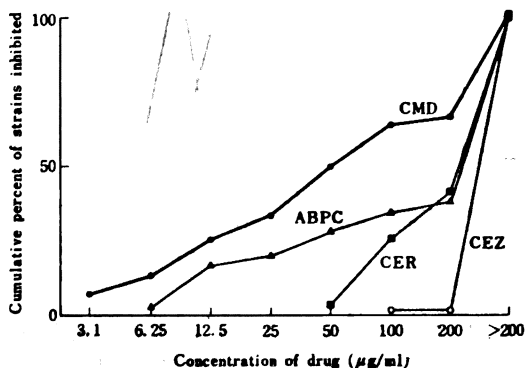


Fig. 11 Antibacterial activity of CMD against *S. marcescens* (100 strains, 10^6 cells/ml)



種時の MIC ピークは, CMD 1.6 , ABPC 3.1 , CEZ 6.3 , CER $12.5 \mu\text{g/ml}$ であった (Fig. 8)。 10^6 cells/ml においても $\text{CMD} > \text{ABPC} > \text{CEZ} > \text{CER}$ 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 $50 \mu\text{g/ml}$ 以上の MIC であった。 10^6 cells/ml 接種では, ABPC, CEZ, CER はほとんど $50 \mu\text{g/ml}$ 以上の MIC であったが, CMD の 50% 阻止 MIC 値は約 $20 \mu\text{g/ml}$ 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, $\text{CMD} > \text{ABPC} > \text{CEZ}$, CER の順であったが, 約半数の株は CMD $100 \mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示した。 10^6 cells/ml 接種時の 50% 阻止 MIC 値は, CMD 約 $4 \mu\text{g/ml}$, ABPC $50 \mu\text{g/ml}$, CEZ, CER とともに $200 \mu\text{g/ml}$ 以上であった (Fig. 10)。

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

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, V_{max} 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, V_{max} 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sporin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sporin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ラムを示した。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, 十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ラムを有し, 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. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 6: 177~182, 1974
- 2) BODEY, G. P. & S. WEAVER: *In vitro* studies of cefamandole. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 9: 452~457, 1976
- 3) 日本化学療法学会: 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 &
Chemother. 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.