

Cefamandole の *in vitro* 抗菌作用

吉田 正・元川 清司・亀田 康雄

村上 和久・中野 雅夫

塩野義製薬株式会社研究所

合成 Cephalosporin 薬 Cefamandole の *in vitro* 抗菌作用を検討した。本薬は、グラム陽性菌に強い抗菌力を有し、緑膿菌を除くグラム陰性菌に広範囲の抗菌スペクトルを示した。なかでも、インドール陽性 *Proteus* 群、*Enterobacter* 群に抗菌力強く、*H. influenzae* に Ampicillin と同等の活性を示したことは本剤の大きな特徴である。臨床分離株の感受性分布から、本剤は $0.78 \mu\text{g/ml}$ 以下で *S. aureus*, *H. influenzae* の全株を阻止し、 $3.1 \mu\text{g/ml}$ では *P. mirabilis*, *Klebsiella* sp. の 90% 以上、*E. coli*, *C. freundii* の 80%, *Enterobacter* の 70%, インドール陽性 *Proteus* の 60% が感受性であった。*Proteus* の中では、*P. vulgaris* の感受性が、その他の菌種にくらべて低い。Cefazolin, Cefoxitin に対する本剤の交差感受性から、*Serratia marcescens*, *P. vulgaris* については Cefoxitin より劣ったが、他のグラム陰性菌には Cefamandole の方に感受性の高い菌株が多く分布した。グラム陰性菌に対する生菌数変化からみた殺菌作用は、他剤よりも遙かに低い濃度域で認められた。作用菌の形態変化からみて、溶菌効果は速やかに発現し、殺菌力の強いことを示唆した。

グラム陰性菌に由来する β -lactamase のうち、Penicillinase 型酵素にやや不安定の傾向があったが、Cephalosporinase 型では加水分解されにくいことを明らかにした。このことは、*Enterobacter*, *Proteus* の本薬に対する高い感受性によく反映した。

結 言

Cefamandole は、1972年米国 Eli Lilly 社の研究所において開発された Cephalosporin 誘導体であり、*Enterobacter* sp., インドール陽性 *Proteus* にも抗菌力を示し、従来のセファロスポリンよりも広範囲の抗菌スペクトルを有することが見出されている¹⁾。Eli Lilly 社では開発当初安定性、純度に難点を認めたために Na 塩 (CMD) での開発を断念したが、その Formyl ester 体、すなわち Nafate (CMD-Nafate) で問題を解決し、欧米での臨床応用がなされている^{2,3)}。最近、製法改良研究の進展により、Na 塩の安定なものが供給される様になり、わが国ではこの形で研究開発が進められることになった。CMD および CMD-Nafate の化学構造式は Fig. 1 に示したとおりである。

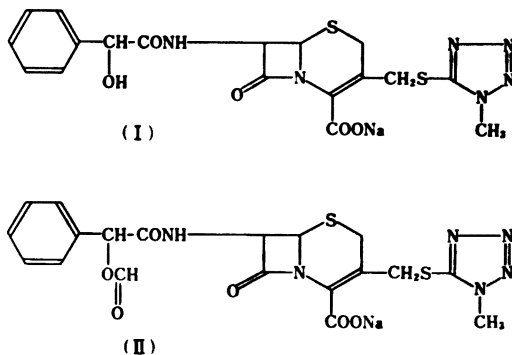
本報は主として Na 塩について、試験管内抗菌作用に関する種々の検討を行ない、他の既知 Cephalosporin 系抗生物質との比較を行なったので、その成績を報告する。

I. 実験材料および実験方法

1) 使用薬

Cefamandole (CMD, Eli Lilly), Cefazolin (CEZ, Fujisawa), Cefoxitin (CFX, Merck-Sharp & Dohme), Cephaloridine (CER, Shionogi), Cephalothin (CET, Shionogi), Ampicillin (ABPC, Banyu) を力価濃度で使用した。以上の薬剤は、CER を除き Na 塩を使用した。一部に比較実験の目的で Cefamandole Nafate

Fig. 1 Structural formulas of cefamandole sodium (I) and cefamandole nafate (II)



(CMD-Nafate, Eli Lilly) を使用した。

2) 試験菌株

標準菌株は、当研究所保存株を使用した。臨床材料由来の菌株は、塩野義製薬株式会社臨床検査室で分離同定されたものを用いた。

3) 抗菌力測定法

日本化学療法学会により定められた最小発育阻止濃度測定標準法⁴⁾に従って MIC 値を測定した。

増菌用培地には、Trypto-Soy Broth (TSB, 栄研) を用いたが、streptococci にはこれに馬血清を 1% 濃度に加えた培地を使用した。*Haemophilus influenzae* に

は Brain Heart Infusion Broth (BHIB, 栄研) に 5% Bacto-FILDS enrichment (Difco) を添加した培地を使用した。感受性測定用培地として, Sensitivity Test Agar (STA, 栄研) を使用したが, streptococci にはこれに馬血清を 5% 加えた。*H. influenzae* には STA に 3% Bacto-FILDS enrichment を添加して使用した。増菌用培地で 37°C, 20 時間培養した菌液を TSB で次のように希釈して 10^8 cells/ml および 10^6 cells/ml の二段階に調製した。すなわち, グラム陽性菌は原液および 100 倍希釈液を, グラム陰性菌は 10 倍および 1,000 倍希釈液をそれぞれ使用した。ただし, *H. influenzae* は 100 倍希釈液を 10^6 cells/ml の菌液とした。菌液を, 接種装置により, 一白金耳 (約 1 μ l) 点滴接種し, 37°C, 20~22 時間培養後 MIC 値を測定した。

4) 抗菌力に及ぼす各種因子の影響

寒天平板希釈法は, 前記 (3) に従った。液体希釈法は, 薬物含有培地に前記 (3) で調製した菌液を 1/100 容接種することによって, それぞれの接種菌量を合わせた。37°C, 20~22 時間培養後, 肉眼判定により菌の増殖による濁りを認めない最低濃度を MIC とした。培地には, 栄研製の Trypto-Soy Agar および Broth, MUELLER-HINTON Agar, Heart Infusion Agar および Broth, Nutrient Agar および Broth, Sensitivity Test Agar と Difco 製の MUELLER-HINTON Broth を使用した。また, pH の影響を検討する培地には, Difco 製の Antibiotic Medium No. 3 を K_2HPO_4 および KH_2PO_4 を配合して, 最終濃度 0.03 M になるように添加して, pH 6, 7 および 8 の培地を調製した。血清の影響は, 馬血清 (東洋血清 K.K.) および 56°C, 30 分で非活化した人血漿を 10~50% 含有させた TSB 培地で検討した。

5) 殺菌作用の測定法

(a) 生菌数の変化: 培地は TSB (栄研) を用いた。増菌原液を適宜希釈して, 2 時間静置培養して 10^5 ~ 10^6 cells/ml の対数増殖期となし, 最終濃度の 10 倍濃度の薬物溶液を 1/10 容加えて 37°C で静置培養を続けた。薬物添加時から経時的に一部を採取し, TSB で適宜希釈したのち HI Agar に混和して, 37°C, 20~22 時間培養後, コロニー計測により生菌数を測定した。

(b) MBC の経時の変化: 96 の well をもつ Microtiter 用 U-plate (Cooke 社製) に, 検体の TSB 溶液の希釈系列 (各 50 μ l) を作成する。次に, TSB で培養した対数増殖期の菌液を約 1×10^7 cells/ml に調製して 50 μ l 添加することにより接種し, 37°C で静置培養する。培養液は, 約 0.1 μ l を定量的に各 well から採取できるように工夫した装置によって, 経時的 (1, 2, 3,

4, 5, 24 時間) に採取し, Nutrient Agar (NA, Nissui) の寒天平板上に点滴接種する。接種平板は, 37°C 20 時間培養し, 接種位置に形成される集落数を計測して, 集落数が 10 個以下になる最低濃度を最小殺菌濃度 (MBC) として判定した。この方法での MBC における殺菌率は少なくとも 98% に相当する。薬剤含有の培養液はそのまま培養を続け, 作用後 24 時間に, 菌増殖による混濁を肉眼的に判定して, MIC を求めた。

6) 位相差顕微鏡による作用菌の形態観察

対数増殖期の菌液を約 5×10^7 cells/ml に調製し, その一白金耳を, 2 倍希釈の薬物含有寒天平板 (STA) に接種し, 37°C で培養する。平板は 1 時間毎に取り出し, cover glass をのせて位相差顕微鏡 (日本光学製, 倍率 $\times 1,000$) で作用菌の形態を撮影した。

7) β -lactamase 標品の調製法

(a) 粗酵素標品の調製: 作用菌の培養には, 乾燥ブイオン (Nissui) を用いた。37°C, 24 時間培養後, 3,000 $\times$ g, 20 分間の遠心で集菌し, 0.1 M Potassium phosphate buffer (pH 7.0) で一回洗浄後, 同 buffer に懸濁し, 氷冷下, sonicator (大岳製作所 20 kHz) で 2 分間超音波破砕した。誘導酵素産生菌については, 37°C で一夜静置培養した菌液を培地で 10 倍希釈し, 37°C, 2 時間振盪培養し, Penicillin G を最終濃度 100 μ g/ml に加えた (*P. aeruginosa* の場合 1 mg/ml を用いた)。さらに 2 時間振盪培養後, 集菌し, 上記の buffer で 1 回洗浄後, 再浮遊して, 同様に超音波処理を行なった。破砕した菌液を, 33,000 $\times$ g, 30 分遠心し, その上清を粗酵素標品として用いた。

(b) 部分精製標品の調製: *E. coli* 6, *E. cloacae* 214 の粗酵素標品は CM-Sephadex C-50 カラムを用い, *E. coli* W-3110 RTM, *Klebsiella* sp. 363 の粗酵素標品は DEAE-Sephadex A-25 カラムを用いて, クロマトグラフィーを 1 回行ない, 活性画分を集め, 上記 buffer に対して透析したものを部分精製品として使用した。

8) β -lactamase 活性測定法

(a) Bioassay 法: Microtiter 用 U-plate に, 粗酵素標品を 2 倍希釈し, 薬剤を最終濃度 250 μ g/ml 加えた (CEX のみ 500 μ g/ml とした)。37°C, 2 時間反応後, 残存量を, *E. coli* B を検定菌とする Agar well 法で測定した。酵素希釈率を対数で横軸に, 活性残存率を縦軸とするグラフを作図し, 基質の 50% を不活化する酵素量を求めて, CER を基準として, 各薬物の相対加水分解速度を計算した。

(b) 紫外部吸収法: β -ラクタム結合の開裂に伴う薬物の紫外特異吸収の減少を利用して, 酵素活性を測定し

た⁵⁻⁸⁾。各薬剤に特有な β -ラクタムの吸収波長における吸光度を知るために、あらかじめ比活性の強い *Klebsiella* sp. 363 の酵素で完全分解させたものと分解前の差スペクトルから、分解された基質量と ΔOD との比例関係を確認しその係数によって定量した。反応は、30°C の温水を循環させた日立ダブルビーム分光光度計 200~20 形の Cell holder 中においたキューベットの中で

行なった。酵素添加および酵素無添加の ΔOD の変化を、日立 200 形卓上記録計で記録し、加水分解速度を算出した。Lineweaver-Burk plot よりミカエリス定数 K_m および V_{max} を求めた。

II. 実験結果

1) 抗菌スペクトラム

Table 1 Antibacterial spectra of cefamandole and other β -lactam antibiotics

Inoculum size: One loopful of 10^6 cells/ml

Organisms	MIC (μ g/ml)			
	CMD	CFX	CEZ	CER
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.025	0.39	0.1	0.0125
<i>B. anthracis</i>	0.2	12.5	0.39	0.1
<i>B. cereus</i> IFO 3001	6.25	12.5	3.13	0.78
<i>S. aureus</i> FDA 209P JC-1	0.1	0.78	0.1	0.0125
<i>S. aureus</i> Smith	0.78	1.56	0.78	0.05
<i>S. aureus</i> ATCC 12600	0.1	0.78	0.2	0.0125
<i>S. aureus</i> ATCC 9144	0.2	1.56	0.2	0.025
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0.2	1.56	0.2	0.0125
<i>S. aureus</i> C-14 (ABPC-R)	0.39	3.13	0.39	0.1
<i>S. epidermidis</i> ATCC 14490	0.2	1.56	0.39	0.05
<i>S. pyogenes</i> C-203	0.05	1.56	0.2	0.0125
<i>S. pyogenes</i> ATCC 10389	0.05	1.56	0.1	0.0125
<i>S. faecalis</i>	50	>100	50	12.5
<i>S. pneumoniae</i> I	0.1	1.56	0.1	0.025
<i>S. pneumoniae</i> II	0.1	1.56	0.1	0.025
<i>S. pneumoniae</i> III	0.2	3.13	0.2	0.025
<i>C. diphtheriae</i> Tront	$\leq$ 0.0125	0.025	0.025	$\leq$ 0.006
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.78	1.56	1.56	3.13
<i>E. coli</i> ATCC 1175	0.78	3.13	1.56	3.13
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0.78	3.13	1.56	3.13
<i>K. pneumoniae</i> SRL-1	0.39	1.56	1.56	1.56
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 27736	0.39	3.13	1.56	3.13
<i>K. pneumoniae</i> IFO 3512	0.2	0.78	0.78	3.13
<i>S. typhimurium</i>	0.1	0.78	1.56	1.56
<i>S. typhimurium</i> ATCC 13311	0.2	0.78	0.78	1.56
<i>S. typhi</i>	0.1	0.78	1.56	1.56
<i>S. paratyphi</i> A	0.2	0.78	1.56	3.13
<i>S. sonnei</i> Ohara	0.1	0.78	1.56	3.13
<i>S. sonnei</i> ATCC 11060	6.25	25	6.25	6.25
<i>S. flexneri</i> var Y	0.2	3.13	1.56	1.56
<i>S. dysenteriae</i>	0.2	3.13	1.56	3.13
<i>P. mirabilis</i> PR-4	0.78	1.56	3.13	6.25
<i>P. mirabilis</i> IFO 3849	3.13	6.25	12.5	12.5
<i>P. vulgaris</i> CN-329	1.56	3.13	100	>100
<i>P. vulgaris</i> ATCC 6380	0.78	1.56	100	100
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	0.39	1.56	12.5	12.5
<i>P.morganii</i> IFO 3848	0.2	1.56	25	50
<i>P. inconstans</i> IFO 12930	0.1	1.56	0.39	3.13
<i>E. cloacae</i> ATCC 13047	>100	>100	>100	>100
<i>E. cloacae</i> 233	3.13	>100	>100	>100
<i>C. freundii</i> IFO 12681	3.13	12.5	25	25
<i>S. marcescens</i> ATCC 13880	12.5	12.5	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> D	>100	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 25619	>100	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9721	>100	>100	>100	>100

Agar dilution method

Medium: Sensitivity test agar (STA)

(*Streptococcus*, *Corynebacterium*: STA + 5% Horse serum)

グラム陽性菌 17 株, グラム陰性菌 28 株に対する抗菌力を CET, CEZ, CER, CFX と比較して, Table 1, 2 に示した。

CMD はグラム陽性菌に対し CET よりやや劣るが, CEZ と同程度の抗菌力を示し, *B. cereus*, *S. faecalis* を除く菌種で 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の MIC であった。グラム陰性菌では, 被検薬中最も低い MIC 値を示し, 接種菌

量の低い時とくに優性が明らかである。また, 従来の Cephalosporin に感受性の低い *Proteus* 菌, *Enterobacter* に強い抗菌力を示すことが特徴的である。*Proteus* 菌の中では, インドール陽性群に活性が強いが, 接種菌量を大きくすると抗菌力の低下が顕著に認められ, *Serratia*, *Enterobacter* でも同様の傾向を示した。CMD は, 他薬と同様に *Pseudomonas aeruginosa* に対しては

Table 2 Antibacterial spectra of cefamandole and other β -lactam antibioticsInoculum size: One loopful of 10^8 cells/ml

Organisms	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)			
	CMD	CFX	CEZ	CER
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.025	0.78	0.2	0.025
<i>B. anthracis</i>	0.2	12.5	0.39	0.1
<i>B. cereus</i> IFO 3001	6.25	25	6.25	1.56
<i>S. aureus</i> FDA 209P JC-1	0.2	1.56	0.2	0.025
<i>S. aureus</i> Smith	1.56	3.13	1.56	0.1
<i>S. aureus</i> ATCC 12600	0.2	3.13	0.2	0.025
<i>S. aureus</i> ATCC 9144	0.39	3.13	0.39	0.05
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0.39	3.13	0.39	0.05
<i>S. aureus</i> C-14 (ABPC-R)	1.56	3.13	1.56	3.13
<i>S. epidermidis</i> ATCC 14490	0.78	3.13	0.78	1.56
<i>S. pyogenes</i> C-203	0.05	1.56	0.2	0.0125
<i>S. pyogenes</i> ATCC 10389	0.05	1.56	0.2	0.0125
<i>S. faecalis</i>	50	> 100	50	12.5
<i>S. pneumoniae</i> I	0.1	1.56	0.1	0.025
<i>S. pneumoniae</i> II	0.1	1.56	0.1	0.025
<i>S. pneumoniae</i> III	0.2	3.13	0.2	0.025
<i>C. diphtheriae</i> Tront	$\leq$ 0.0125	0.025	0.025	$\leq$ 0.006
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	1.56	6.25	3.13	3.13
<i>E. coli</i> ATCC 1175	1.56	6.25	3.13	6.25
<i>E. coli</i> ATCC 25922	1.56	6.25	3.13	6.25
<i>K. pneumoniae</i> SRL-1	0.78	3.13	1.56	3.13
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 27736	1.56	3.13	1.56	3.13
<i>K. pneumoniae</i> IFO 3512	0.2	0.78	1.56	3.13
<i>S. typhimurium</i>	0.2	1.56	1.56	3.13
<i>S. typhimurium</i> ATCC 13311	0.39	1.56	1.56	1.56
<i>S. typhi</i>	0.1	0.78	1.56	1.56
<i>S. paratyphi</i> A	0.2	0.78	3.13	3.13
<i>S. sonnei</i> Ohara	0.2	1.56	1.56	3.13
<i>S. sonnei</i> ATCC 11060	6.25	50	6.25	6.25
<i>S. flexneri</i> var Y	0.39	3.13	1.56	3.13
<i>S. dysenteriae</i>	0.2	3.13	3.13	3.13
<i>P. mirabilis</i> PR-4	1.56	3.13	6.25	6.25
<i>P. mirabilis</i> IFO 3849	3.13	6.25	12.5	12.5
<i>P. vulgaris</i> CN-329	> 100	3.13	> 100	> 100
<i>P. vulgaris</i> ATCC 6380	> 100	3.13	> 100	> 100
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	25	3.13	> 100	> 100
<i>P. morganii</i> IFO 3848	0.78	3.13	> 100	> 100
<i>P. inconstans</i> IFO 12930	0.1	3.13	25	100
<i>E. cloacae</i> ATCC 13047	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>E. cloacae</i> 233	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>C. freundii</i> IFO 12681	6.25	50	> 100	100
<i>S. marcescens</i> ATCC 13880	100	25	> 100	> 100
<i>P. aeruginosa</i> D	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 25619	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9721	> 100	> 100	> 100	> 100

Agar dilution method

Medium: Sensitivity test agar (STA)

(Streptococcus, Corynebacterium: STA + 5% Horse serum)

抗菌力を示さなかった。

2) 臨床分離株の感受性分布と交差感受性

臨床由来の *S. aureus* 24 株, *E. coli* 112 株, *Klebsiella* sp. 111 株, *Citrobacter* 18 株, *Enterobacter* 114 株, *P. mirabilis* 39 株, インドール陽性 *Proteus* 149 株, *Serratia* 41 株, *H. influenzae* 20 株合計 628 株に対して, CMD をはじめ CFX, CEZ, CET, CER, ABPC の MIC 値を測定し, 分布の成績を Table 3 (a~e) にま

とめた。CMD, CEZ, CFX 3 剤については, 菌種毎に累積分布図と交差感受性を接種菌量をかえて比較した (Fig. 2~47)。

(a) *S. aureus* 24 株 (Fig. 2~4)

CMD の 10^8 cells/ml 接種時の MIC は $0.1 \sim 0.39 \mu\text{g/ml}$ に分布し, ピーク値は $0.39 \mu\text{g/ml}$ にあり, CET よりやや劣るが, CEZ とほぼ同等の感受性分布を示した。 10^8 cells/ml 接種時では, CMD のピークは 0.39

Table 3-a Susceptibility distribution of clinical isolates

Organisms (strains)	Inoculum size (cells/ml)	Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$)											
			≤ 0.1	0.2	0.4	0.8	1.6	3.1	6.3	12.5	25	50	100	>100
<i>Staphylococcus aureus</i> (24)	10^8	CMD		4	8	4	7	1						
		CFX						23		1				
		CEZ		1	12	9	1	1						
		CER	11		6	4	2		1					
		CET		10	13	1								
		ABPC	1	7	3						1	7	3	2
	10^6	CMD	1	8	15									
		CFX					22	2						
		CEZ		10	14									
		CER	23	1										
		CET	3	21										
		ABPC	6	5		5	5	2	1					
<i>Escherichia coli</i> (112)	10^8	CMD		1	4	21	26	13	10	10	8	3	3	13
		CFX					3	21	50	31	5			2
		CEZ				5	39	26	18	9	4	6	3	2
		CER					3	32	31	11	17	5	2	11
		CET					1	9	8	20	44	14	7	9
		ABPC					3	16	35	7	1	2		48
	10^6	CMD		1	15	36	29	12	9	4	4		1	1
		CFX				2	19	53	30	3	3		2	
		CEZ			1	20	60	15	8	5	1			2
		CER				1	19	48	19	9	9	5		2
		CET				1	12	12	50	21	9	5		2
		ABPC					12	26	24	2			1	47
<i>Klebsiella</i> sp. (111)	10^8	CMD			2	8	37	33	4	8	6	5	2	6
		CFX					2	34	48	21	5	1		
		CEZ				1	36	31	7	12	5	13	4	2
		CER					1	21	60	14	4	1	5	5
		CET					1	12	47	21	13	9	5	3
		ABPC				1				1		7	20	82
	10^6	CMD		5	16	50	20	8	5	4	1	2		
		CFX				3	28	63	11	3	2	1		
		CEZ				8	65	14	16	3	4	1		
		CER					12	79	9	1	5	2	3	
		CET				4	33	46	16	4	4	3	1	9
		ABPC				1			2	10	30	46	6	13

~1.56 $\mu\text{g/ml}$ に広く分布するようになり、接種菌量により MIC が 4 倍以上の差を示す株が 8 株認められ、CEZ の 3 株、CET の 1 株に比べてやや変動が大きい、CER (13 株) よりも少ない。被検株には、Penicillin 耐性株 13 株が含まれているが、CMD と Penicillin との交差耐性は認められず、むしろ CEZ との相関性が強い。

(b) *E. coli* 112 株 (Fig. 5~7)

10^8 cells/ml 接種における CMD の MIC は、 $0.2 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ に幅広く分布したが、 $0.39 \sim 1.56 \mu\text{g/ml}$ に分布するものが 81 株あり、CEZ の 2 倍、CFX の 4 倍程度優れていた。一方、高菌量接種で、CMD の MIC 値が 4 倍以上に上昇する株は 47 株あり、CEZ の 29 株、CFX の 20 株に比べて、接種菌量の影響を受けやすいことが認められた。CEZ との間で交差感受性を調べると、低菌量では 43% が CMD に強い感受性を示

Table 3-b Susceptibility distribution of clinical isolates

Organisms (strains)	Inoculum size (cells/ml)	Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$)											
			≤ 0.1	0.2	0.4	0.8	1.6	3.1	6.3	12.5	25	50	100	>100
Indole (+) <i>Proteus</i> (149)	10^8	CMD	3	2		2	4	8	7	4	3	15	33	68
		CFX				1	5	28	55	20	26	9	1	4
		CEZ		1		2						1	4	141
		CER				1						1	1	146
		CET				1						1	2	145
		ABPC			1	1	1		1		6	13	9	117
	10^6	CMD	6	3	9	27	23	18	9	5	4	11	16	18
		CFX				4	15	50	31	39	5	1		4
		CEZ		3	1	1	1	2	5	4	10	4	16	102
		CER			3						3	3	13	127
		CET		1	1	1					6	5	18	117
		ABPC		1		2	4	4	8	6	8	15	37	64
<i>Proteus vulgaris</i> (56)	10^8	CMD												56
		CFX						18	35	3				
		CEZ												56
		CER												56
		CET												56
		ABPC												56
	10^6	CMD					1	10	3	3	3	5	16	15
		CFX					5	29	22					
		CEZ											11	45
		CER											2	54
		CET										1	4	51
		ABPC						2	2			3	10	39
<i>Proteus morganii</i> (49)	10^8	CMD					2	2			1	2	30	12
		CFX							4	8	25	7	1	4
		CEZ										1	3	45
		CER										1		48
		CET												49
		ABPC									1	1	1	46
	10^6	CMD		1	3	16	14	5	1	1		5		3
		CFX						3	5	32	4	1		4
		CEZ								1	2	1	2	43
		CER									1		2	46
		CET									1		3	45
		ABPC					1	1		1		8	19	19

したもの、概ね良く相関している。高菌量では、CMD に強い感受性を示す株が 34% あり、逆に CEZ の方に強い感受性をもつものも 37% あり、MIC 値が逆転する菌株がほぼ同数分布して、相関性が認められなくなる。CMD では 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC をもつ株が13株認められ、これらの株はすべて ABPC 耐性であり、CFX には感受性であった。

(c) *Klebsiella* sp. 111 株 (Fig. 8~10)

CMD の MIC は 0.2~50 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、ピークは 0.78 $\mu\text{g/ml}$ (50 株) にあり、対照薬のどれよりも優れた抗菌力を示した。高菌量接種時における MIC の上昇は、CMD が他の Cephalosporin に比べて大きく認められたが、それでもなお、優れた抗菌力を維持しており、*E. coli* の場合と異なっており、CEZ との間で MIC 値が逆転する菌株は認められず、むしろ感受性の相関するものが多い。また、高菌量で CMD よりも CFX 到有

Table 3-c Susceptibility distribution of clinical isolates

Organisms (strains)	Inoculum size (cells/ml)	Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$)											
			≤ 0.1	0.2	0.4	0.8	1.6	3.1	6.3	12.5	25	50	100	>100
<i>Proteus rettgeri</i> (18)	10^8	CMD	3	1				2	2			8	2	
		CFX				1	2	2	8	2	1	2		
		CEZ		1		2								15
		CER				1							1	16
		CET				1						1	1	15
		ABPC			1	1	1				2	4	2	7
	10^6	CMD	5		2	3	4	2	2					
		CFX				3	2	9	1	2	1			
		CEZ		3				1	1	1	4			8
		CER			3								3	12
		CET		1	1	1							4	11
		ABPC		1		2	2	1	2	1	1	2	5	1
<i>Proteus inconstans</i> (26)	10^8	CMD		1		2	2	4	5	4	2	5	1	
		CFX					3	8	8	7				
		CEZ											1	25
		CER												26
		CET											1	25
		ABPC							1		3	8	6	8
	10^6	CMD	1	2	4	8	4	1	3	1	1	1		
		CFX				1	8	9	3	5				
		CEZ			1	1	1	1	4	2	4	3	3	6
		CER									2	3	6	15
		CET									5	4	7	10
		ABPC					1	2	4	2	7	2	3	5
<i>Proteus mirabilis</i> (39)	10^8	CMD				4	22	13						
		CFX						11	23	5				
		CEZ						3	20	14	2			
		CER							11	28				
		CET						2	22	14	1			
		ABPC				2	18	19						
	10^6	CMD			1	17	19	2						
		CFX					1	28	9	1				
		CEZ						19	17	3				
		CER						2	34	3				
		CET						12	23	4				
		ABPC				8	22	9						

意に感受性の高くなる菌株は 16% にすぎず, *E. coli* の場合 (22%) よりも少なかった。

(d) *Proteus mirabilis* 39 株 (Fig. 11~13)

CMD は 0.78~1.56 $\mu\text{g/ml}$ に鋭いピークで分布しており, ABPC の抗菌力とよく相関したが, 対照 Cephalosporin に比べて 2~8 倍強い抗菌力を示した。この場合, 接種菌量による MIC の変動は, 他剤と同様に殆ん

ど認められなかった。

(e) インドール陽性 *Proteus* sp. 149 株 (Fig. 14~28)

CMD の感受性は 2 峰性の分布を示し, 10^6 cells/ml では 25 $\mu\text{g/ml}$ を境にして, 0.78 $\mu\text{g/ml}$ と ≥ 100 $\mu\text{g/ml}$ にピークを示した。MIC が 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以下の菌株の分布量の方が大きく 67% に達し, CEZ, CET, CER

Table 3-d Susceptibility distribution of clinical isolates

Organisms (strains)	Inoculum size (cells/ml)	Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$)											
			≤ 0.1	0.2	0.4	0.8	1.6	3.1	6.3	12.5	25	50	100	>100
<i>Enterobacter</i> sp. (114)	10^8	CMD					1	7	16	15	15	5	16	39
		CFX								1	1	1	9	102
		CEZ						1					1	112
		CER							1				1	112
		CET							1					113
		ABPC							1	2	3	5	12	91
	10^6	CMD			5	36	39	6	13	1	1	3	10	
		CFX						1	1	2			17	93
		CEZ						1	7	3	3	9	4	87
		CER							2	2	4	2	3	101
		CET							1		4	8	7	94
		ABPC						2	4	7	18	14	22	47
<i>Enterobacter cloacae</i> (89)	10^8	CMD					1	4	13	10	10	5	14	32
		CFX								1	1	1	8	78
		CEZ						1					1	87
		CER							1				1	87
		CET							1					88
		ABPC							1	2	2	4	11	69
	10^6	CMD			4	28	31	4	11	1	1	1		9
		CFX							1	1	1		15	71
		CEZ						1	4	2	2	5	3	72
		CER							2	1	4	1		81
		CET							1		3	2	4	79
		ABPC						2	3	7	17	13	20	27
<i>Enterobacter aerogenes</i> (25)	10^8	CMD						3	3	5	5		2	7
		CFX											1	24
		CEZ												25
		CER												25
		CET												25
		ABPC									1	1	1	22
	10^6	CMD			1	8	8	2	2				3	1
		CFX									1		2	22
		CEZ							3	1	1	4	1	15
		CER								1		1	3	20
		CET									1	6	3	15
		ABPC							1		1	1	2	20

および ABPC 耐性株に対しても優れた抗菌力を示した。すなわち、CEZ および ABPC は低濃度域の分布が、それぞれ 11% と 17% にすぎず、CET, CER はさらに低くいずれも 2% であり、殆んど無効である。CFX は 3.13~12.5 $\mu\text{g/ml}$ に大部分の株 (81%) が分布し、分布の範囲が広がらないことで特徴があり、CMD との交差感受性に相関は認められなかった。高菌量を接種した

場合、CEZ, CET, CER いずれの薬物にも殆んど全ての株が耐性を示したのに比べると、CMD は低濃度域に小さいピークを持っているが、12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以下の分布株数は 20% に低下した。CFX はこれに対して菌量による影響を受けにくく、低菌量の場合と同様の分布傾向を示した。以上はこの *Proteus* 群に含まれる 4 菌種をまとめた成績であるが、Fig. 17~28 に *P. vulgaris* 56 株、

Table 3-e Susceptibility distribution of clinical isolates

Organisms (strains)	Inoculum size (cells/ml)	Antibiotics	MIC (μg/ml)												
			≤0.1	0.2	0.4	0.8	1.6	3.1	6.3	12.5	25	50	100	>100	
<i>Citrobacter freundii</i> (18)	10 ⁸	CMD					6	3	4	2				3	
		CFX								1			7	10	
		CEZ						1						17	
		CER							1					17	
		CET								1				17	
		ABPC						1			5		7	5	
	10 ⁶	CMD		1	10	3			1		1			2	
		CFX							1		1	2	7	7	
		CEZ						1	1	2	1	5	3	5	
		CER						1					5	12	
		CET								2	1	3	6	6	
		ABPC						1	5	4	2	2	1	3	
<i>Serratia marcescens</i> (41)	10 ⁸	CMD											1	40	
		CFX									4	12	16	9	
		CEZ												41	
		CER												41	
		CET												41	
		ABPC									2	5	8	26	
	10 ⁶	CMD						1		2	10	9	9	10	
		CFX									11	14	8	5	3
		CEZ													41
		CER													41
		CET													41
		ABPC										2	7	4	9
<i>Haemophilus influenzae</i> (20)	10 ⁸	CMD	1	2	7	7	3								
		CFX				4	3	12	1						
		CEZ				1	5	4	6	3	1				
		CER					5	4	7	4					
		CET				3	8	3	6						
		ABPC		3	11	6									
	10 ⁶	CMD	1	2	9	8									
		CFX				5	5	10							
		CEZ				1	8	4	3	4					
		CER				1	7	6	4	2					
		CET			1	4	8	2	5						
		ABPC		6	9	5									

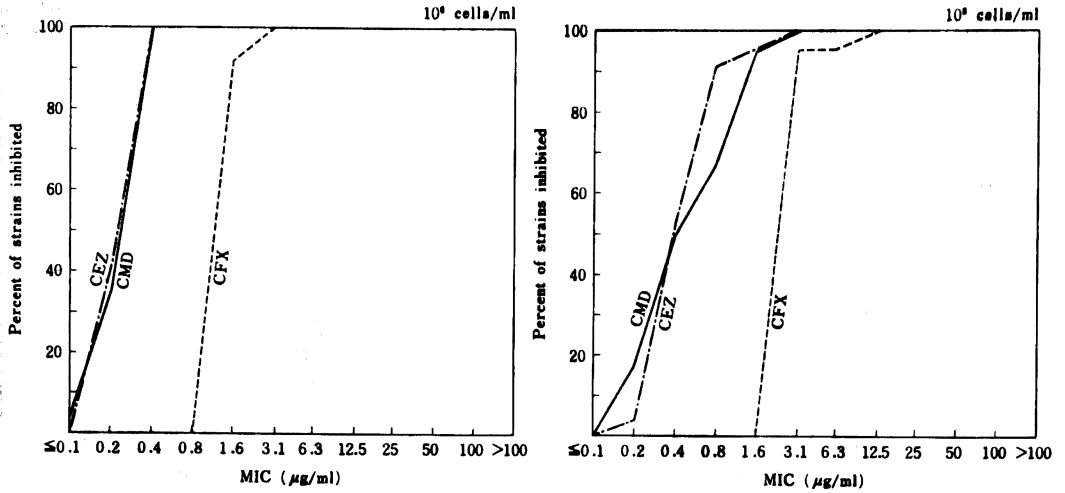
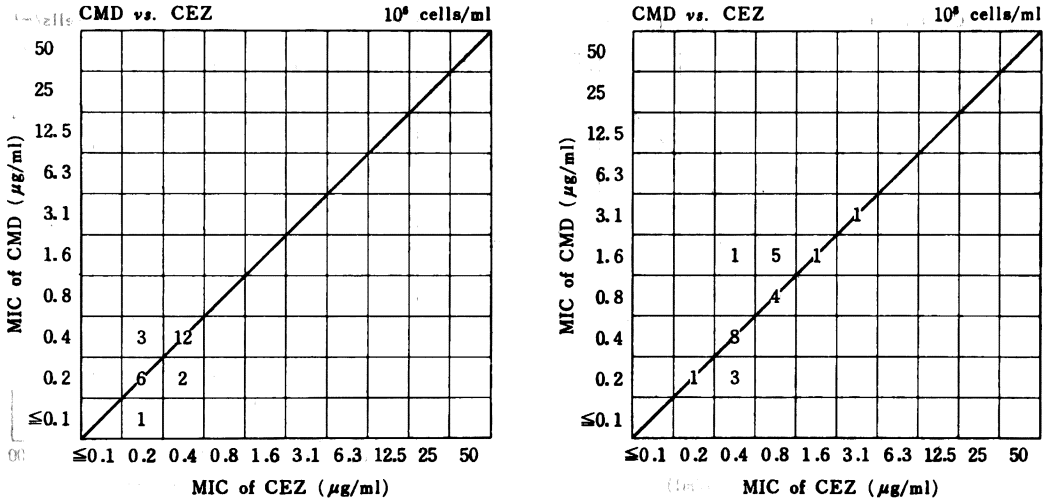
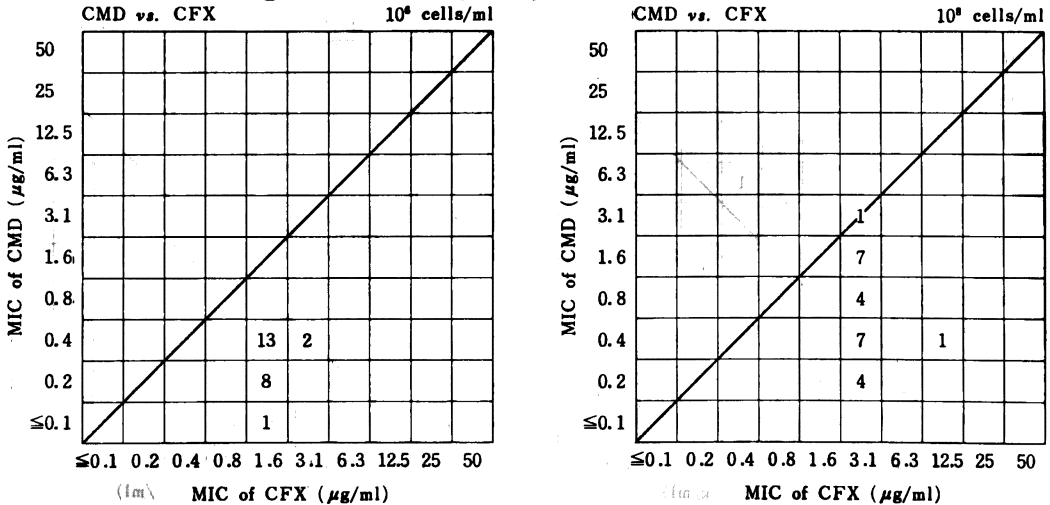
Fig. 2 Susceptibility distribution of clinical isolates—*S. aureus* 24 strainsFig. 3 Cross susceptibility of *S. aureus* (24 strains)Fig. 4 Cross susceptibility of *S. aureus* (24 strains)

Fig. 8 Susceptibility distribution of clinical isolates——*Klebsiella* sp. 111 strains

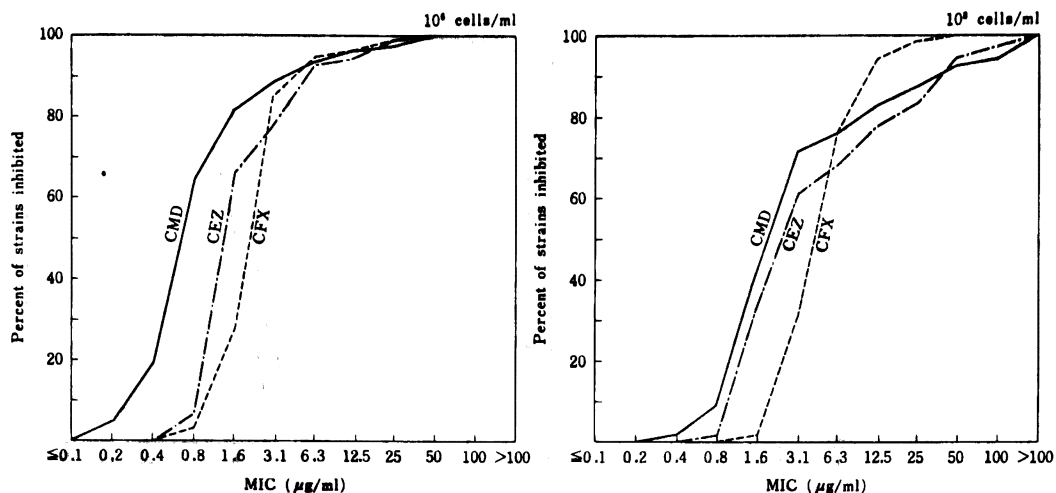


Fig. 9 Cross susceptibility of *Klebsiella* sp. (111 strains)

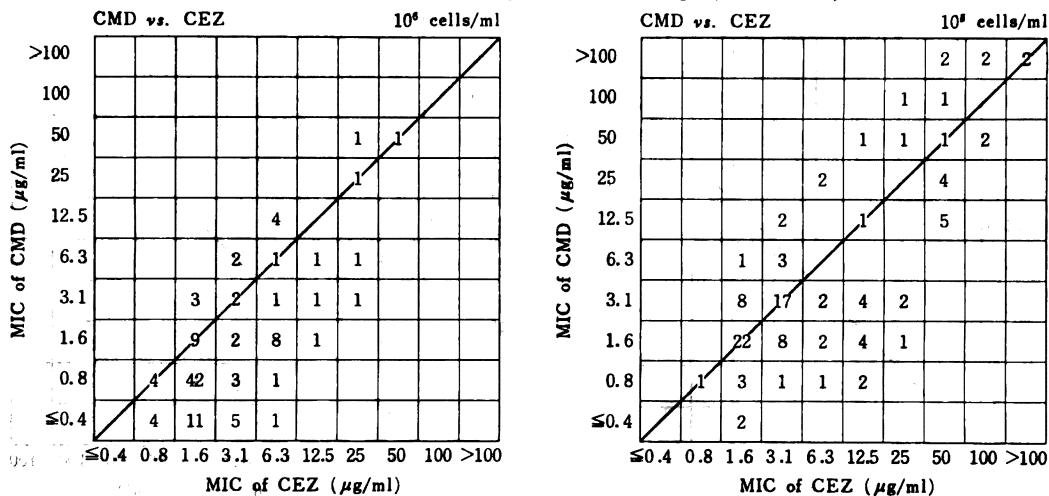


Fig. 10 Cross susceptibility of *Klebsiella* sp. (111 strains)

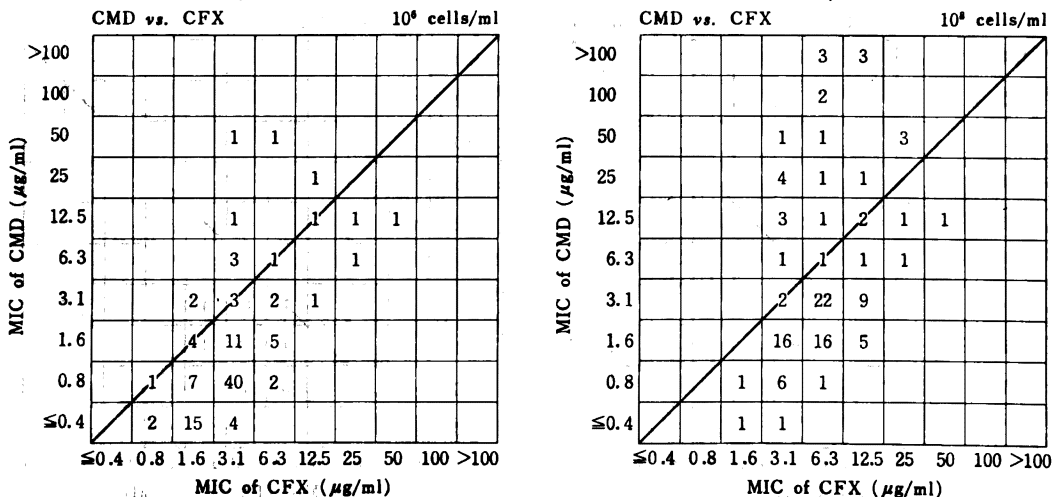


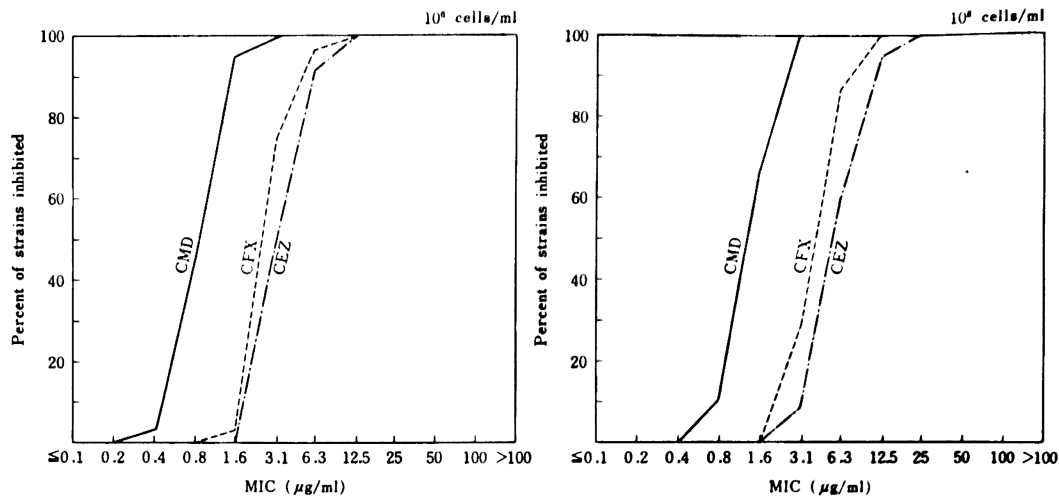
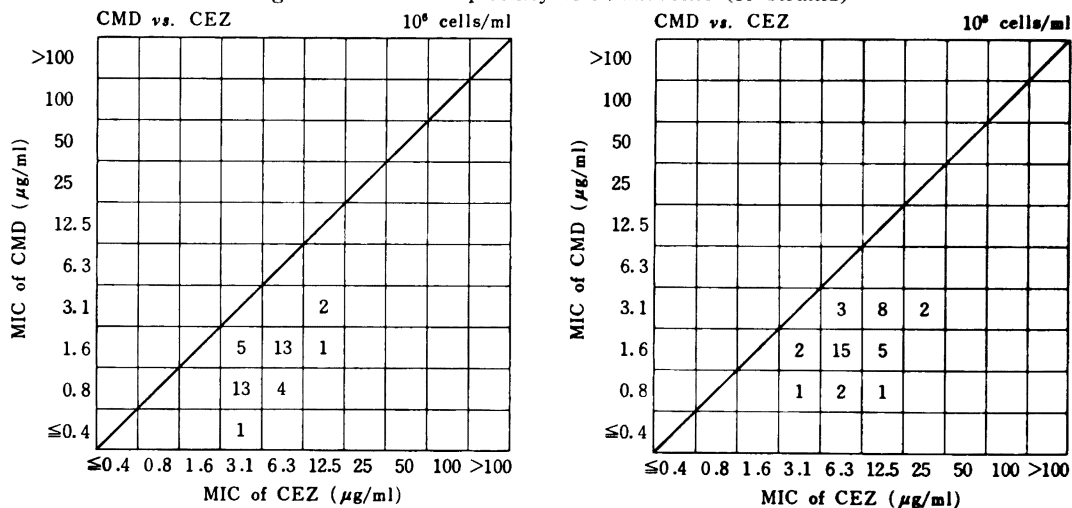
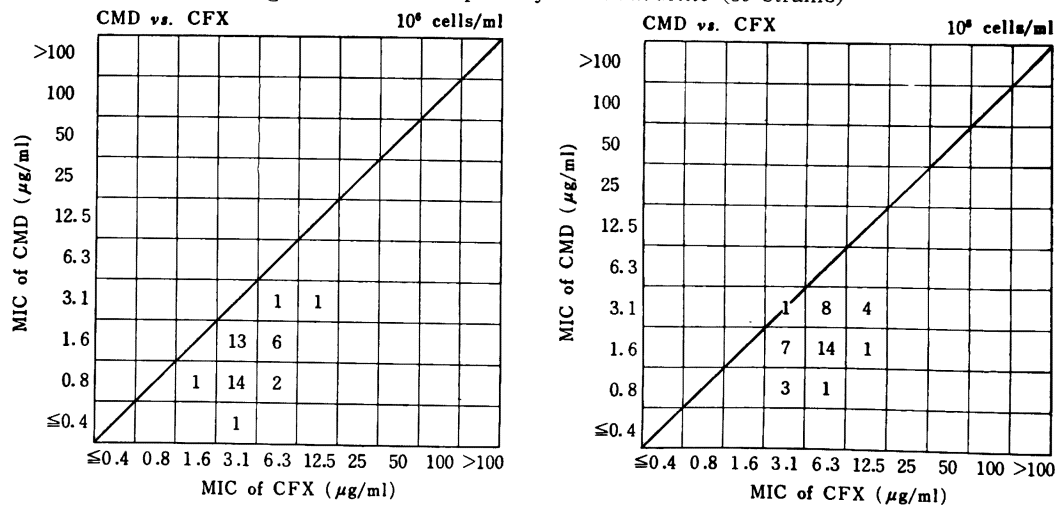
Fig. 11 Susceptibility distribution of clinical isolates *P. mirabilis* 39 strainsFig. 12 Cross susceptibility of *P. mirabilis* (39 strains)Fig. 13 Cross susceptibility of *P. mirabilis* (39 strains)

Fig. 14 Susceptibility distribution of clinical isolates ----- Indole (+) *Proteus* 149 strains

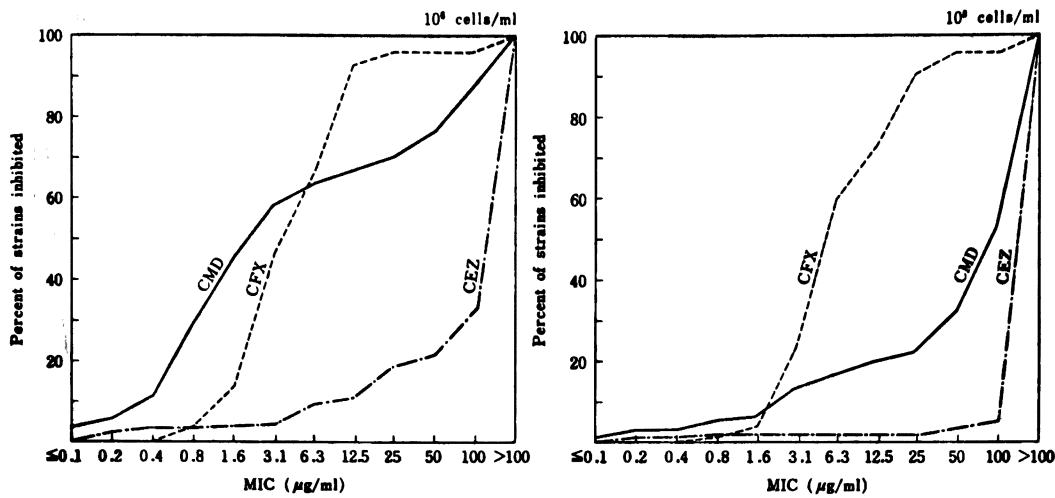


Fig. 15 Cross susceptibility of indole (+) *Proteus* (149 strains)

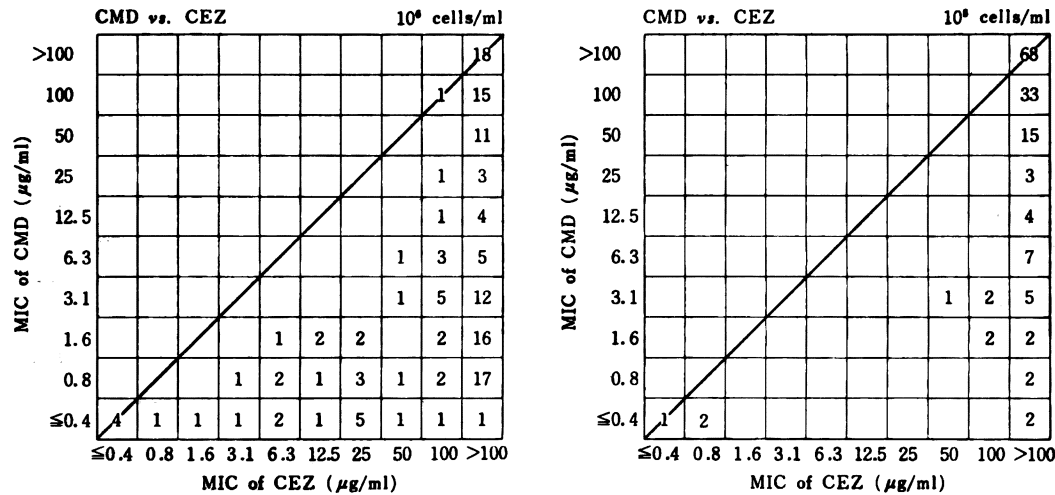


Fig. 16 Cross susceptibility of indole (+) *Proteus* (149 strains)

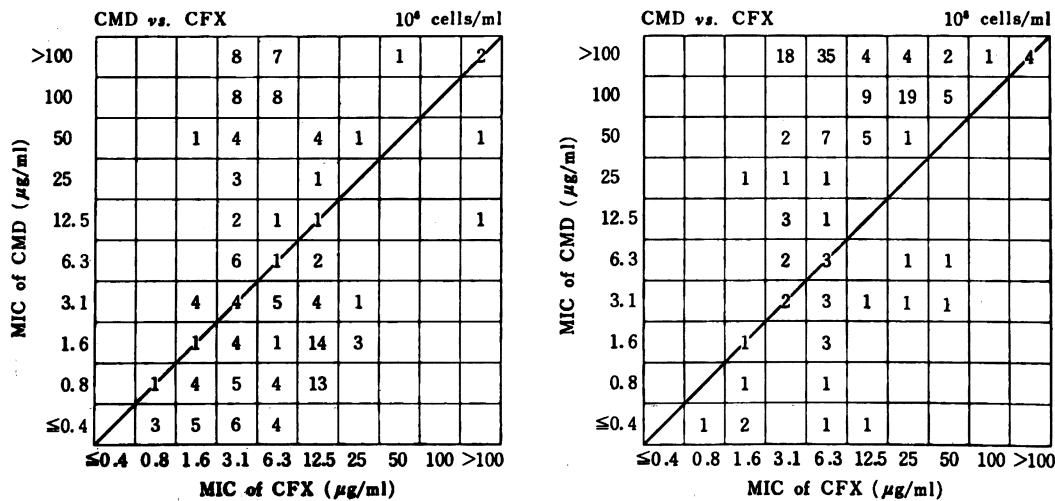


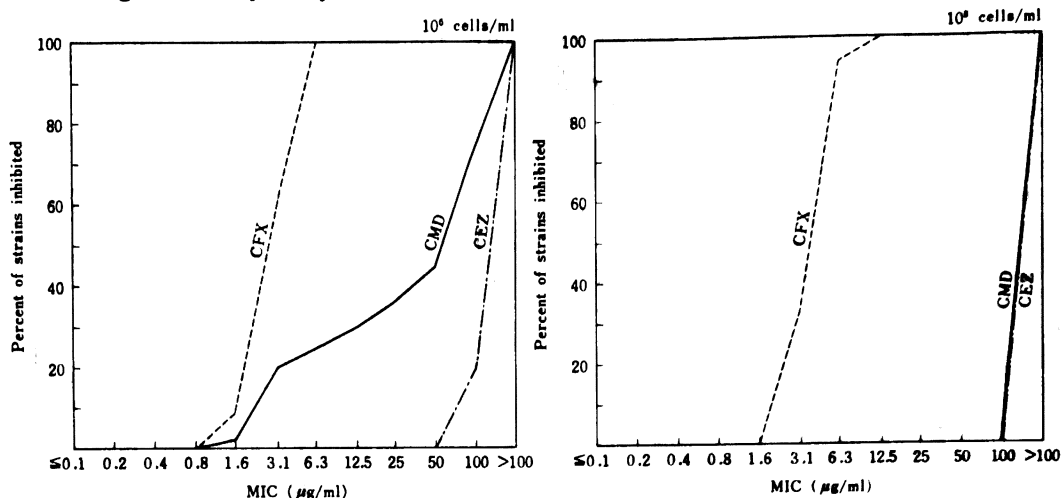
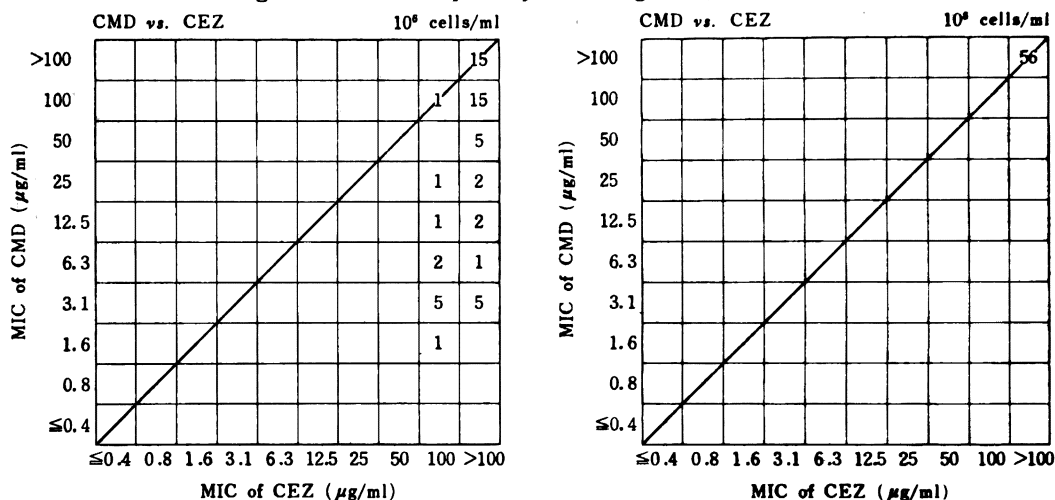
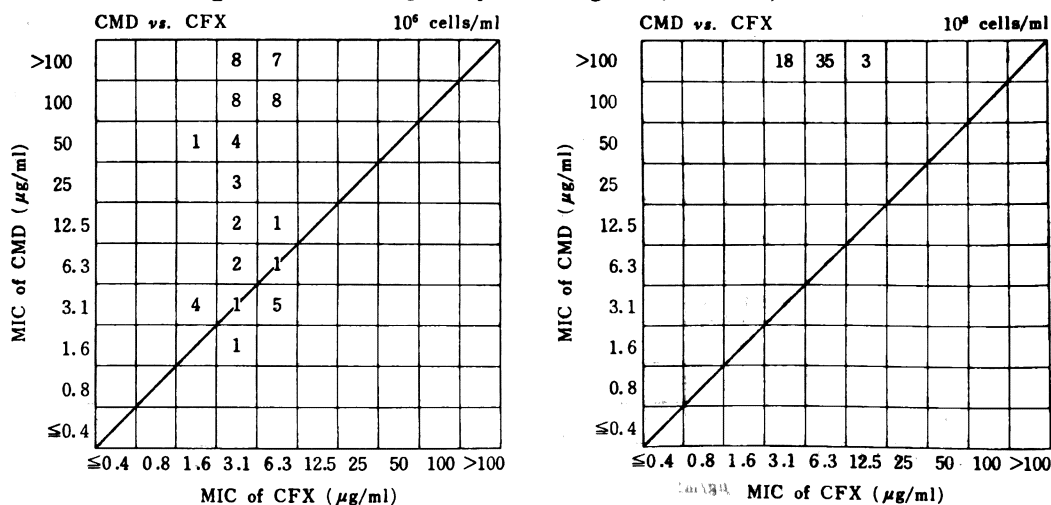
Fig. 17 Susceptibility distribution of clinical isolates—*P. vulgaris* 56 strainsFig. 18 Cross susceptibility of *P. vulgaris* (56 strains)Fig. 19 Cross susceptibility of *P. vulgaris* (56 strains)

Fig. 20 Susceptibility distribution of clinical isolates———*P. morganii* 49 strains

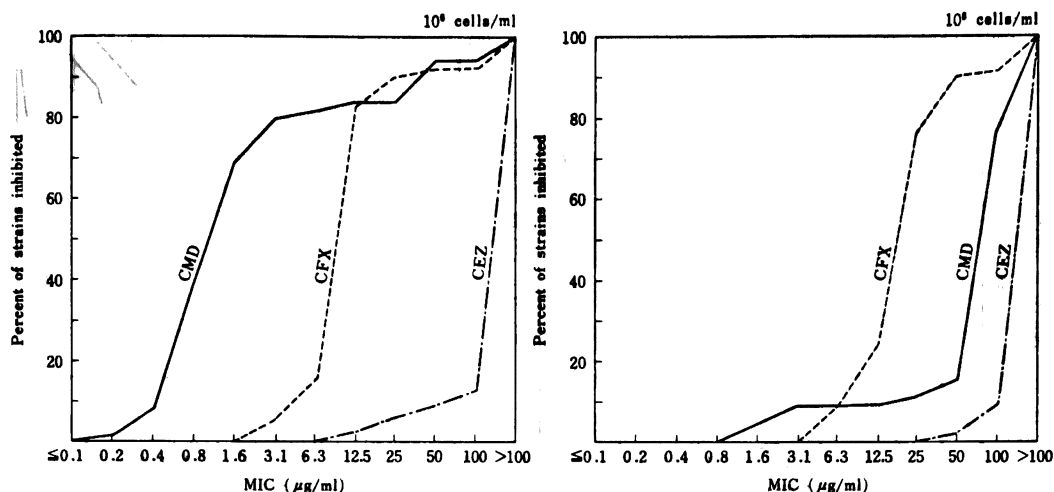


Fig. 21 Cross susceptibility of *P. morganii* (49 strains)

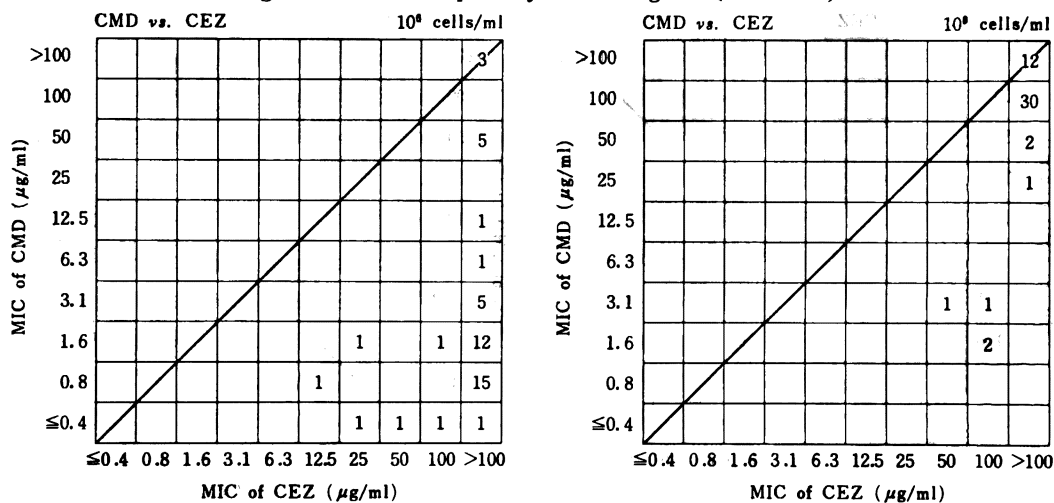


Fig. 22 Cross susceptibility of *P. morganii* (49 strains)

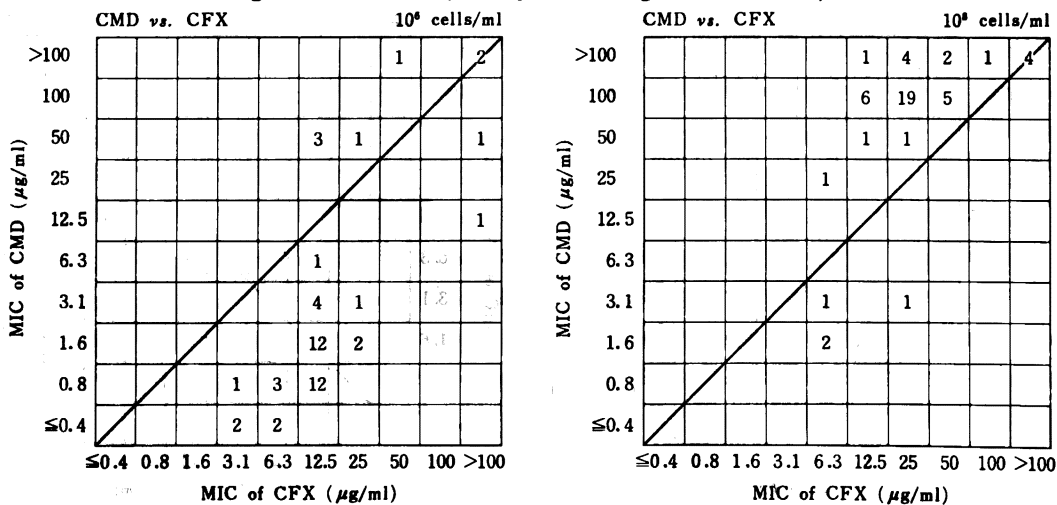


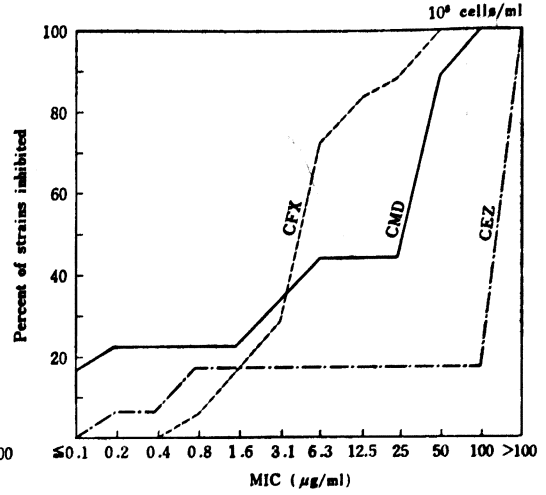
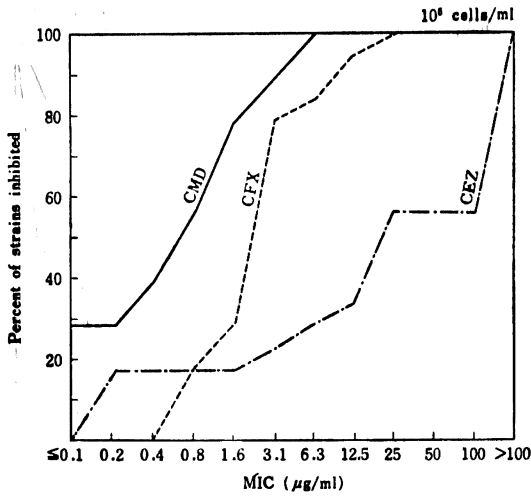
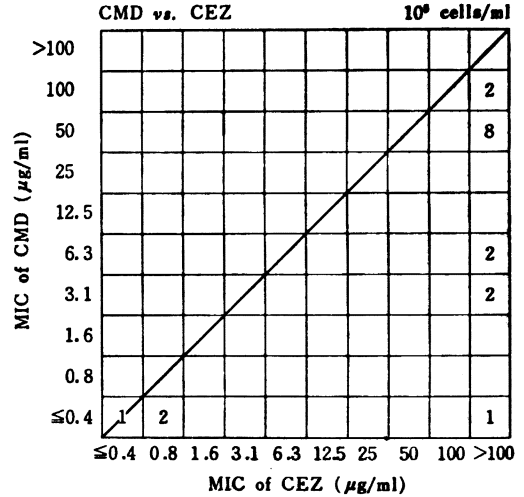
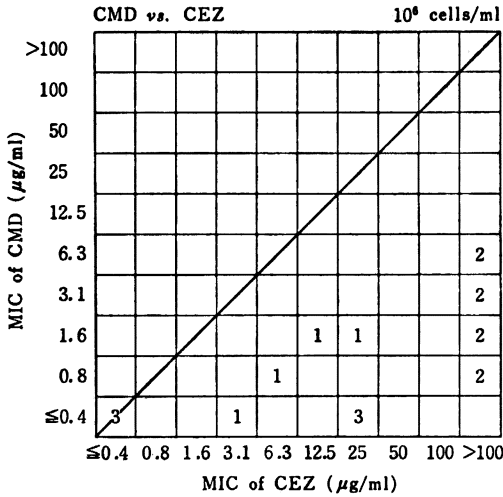
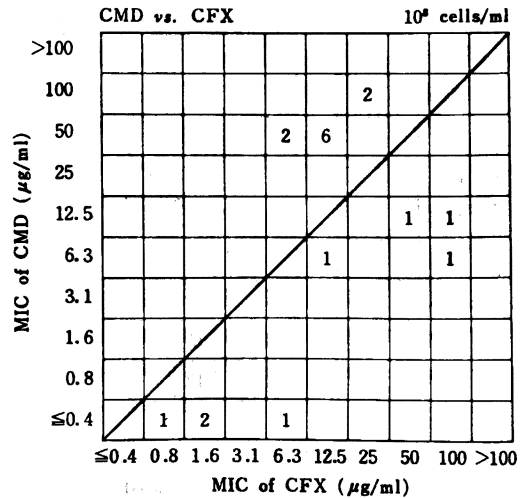
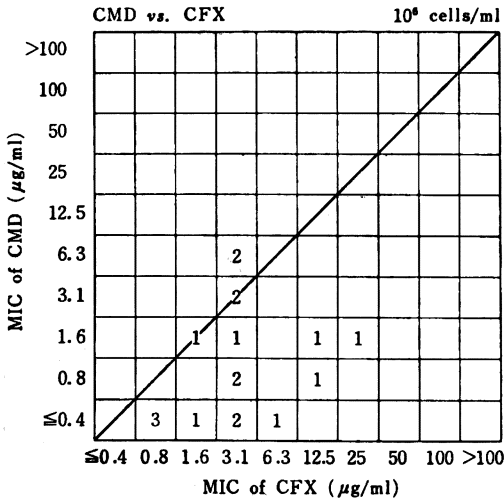
Fig. 23 Susceptibility distribution of clinical isolates *P. rettgeri* 18 strainsFig. 24 Cross susceptibility of *P. rettgeri* (18 strains)Fig. 25 Cross susceptibility of *P. rettgeri* (18 strains)

Fig. 26 Susceptibility distribution of clinical isolates—*P. inconstans* (26 strains)

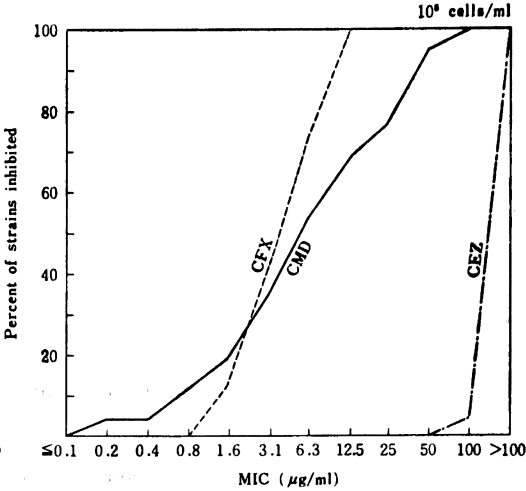
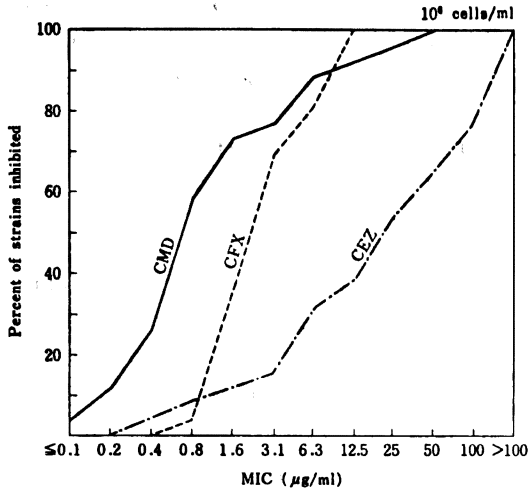


Fig. 27 Cross susceptibility of *P. inconstans* (26 strains)

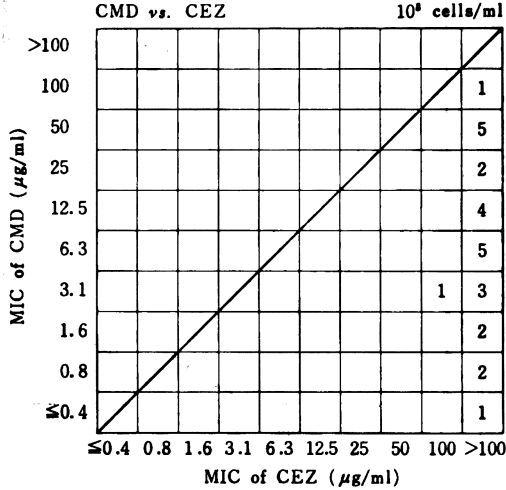
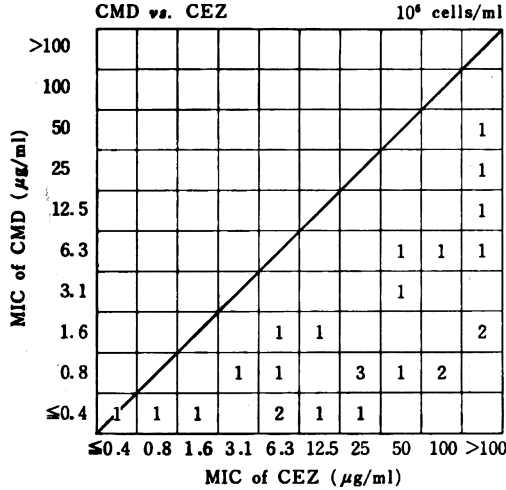
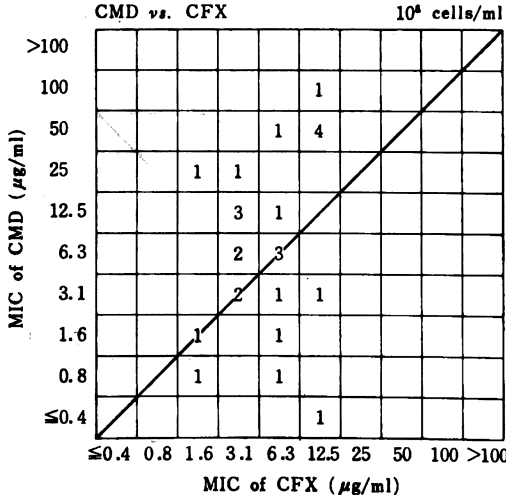
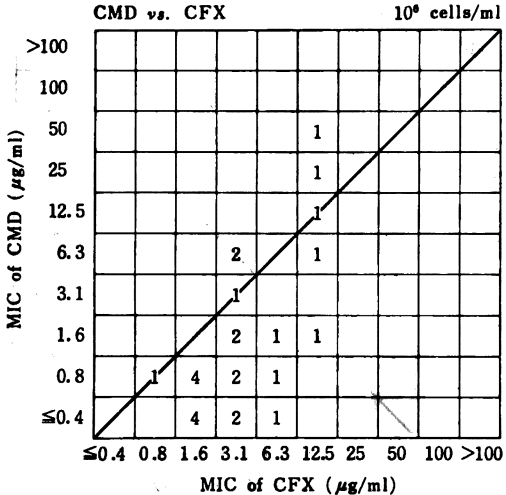


Fig. 28 Cross susceptibility of *P. inconstans* (26 strains)



P.morganii 49 株, *P. rettgeri* 18 株, *P. inconstans* 26 株に分けて, それぞれの成績を示した。 *P. vulgaris* に対して, CMD は低菌量接種では, CEZ, CET, CER よりも優れた抗菌力を示したが, CFX よりも感受性の高い株は 10% にすぎず, CFX よりも劣っている (Fig. 17~19)。接種菌量を高くすると, MIC はすべて 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上となり, CFX 以外の抗菌薬と同様に無効である。したがって, 10^8 cells/ml の接種でも抗菌力を示した CFX の優位は一層明らかである。 *P. morganii* (Fig. 20~22), *P. rettgeri* (Fig. 23~25) および *P. inconstans* (Fig. 26~28) の 3 菌種は, CMD に対し 10^8 cells/ml 接種でも感受性を示す株の多い点, *P. vulgaris* の場合と異なっている。しかも, 10^8 cells/ml

接種では, CFX よりも CMD の方が優位にあることが分かった。4 菌種の中では, *P. inconstans* の CMD 感受性は優れており, 接種菌量の影響も比較的小さいが, 次いで *P. rettgeri*, *P. morganii*, *P. vulgaris* の順に影響を受けやすいことが認められた。

(f) *Enterobacter* sp. 114 株 (Fig. 29~27)

CMD の感受性分布は明確な 2 峰性を示し, 低濃度のピークは 1.56~3.13 $\mu\text{g/ml}$ にある。87% の菌株が CMD に 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以下の MIC 値を示しており, 他薬の ABPC が 11%, CEZ 10%, CFX 2%, CER 4% に比べると, 極めて優れた抗菌力といえ, CEZ および CFX との交差感受性の図から, CMD の優位は明らかにされた。しかしながら, 高菌量接種の場合, CMD の感

Fig. 29 Susceptibility distribution of clinical isolates——*Enterobacter* sp. 114 strains

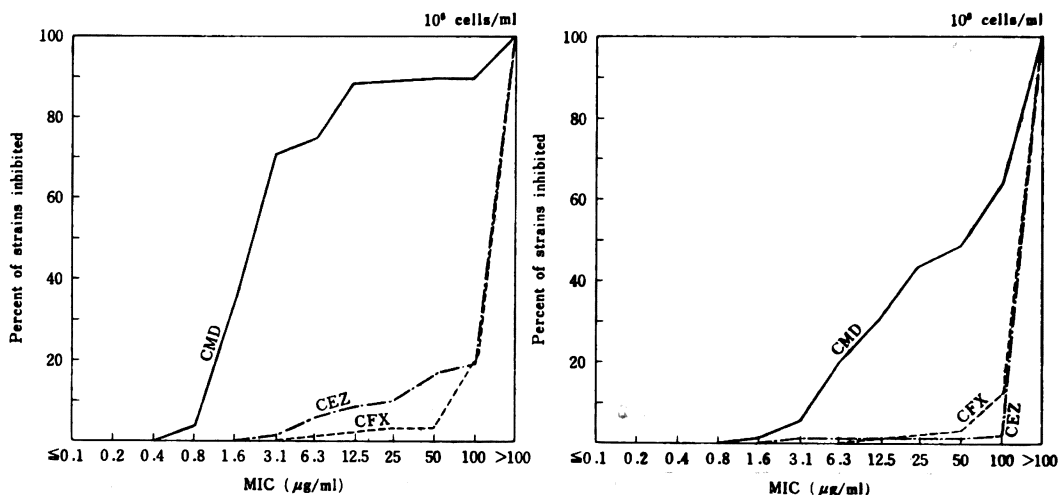


Fig. 30 Crosss susceptibility of *Enterobacter* sp. (114 strains)

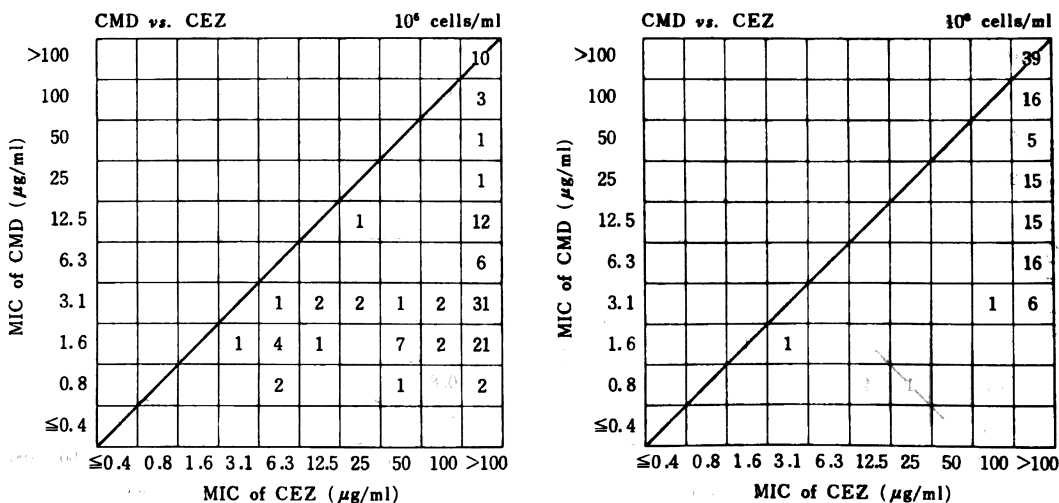


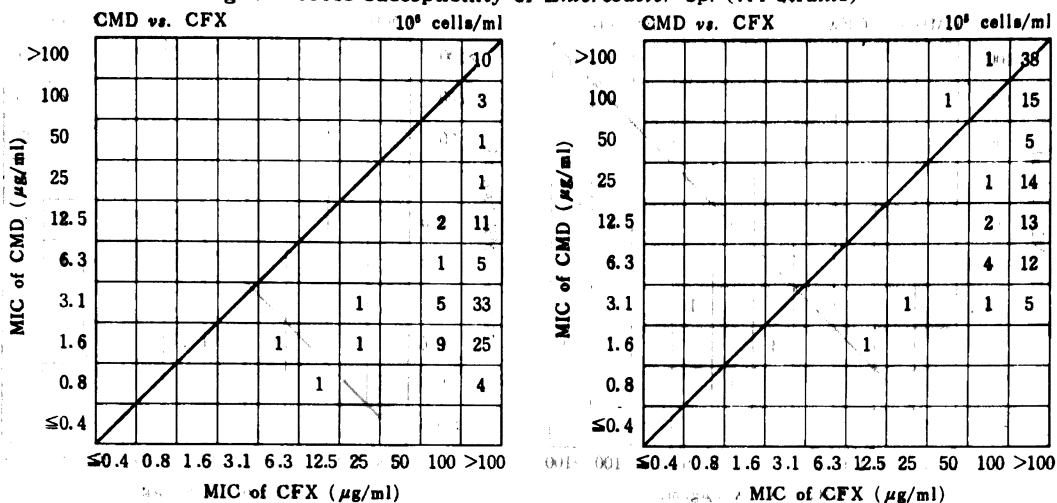
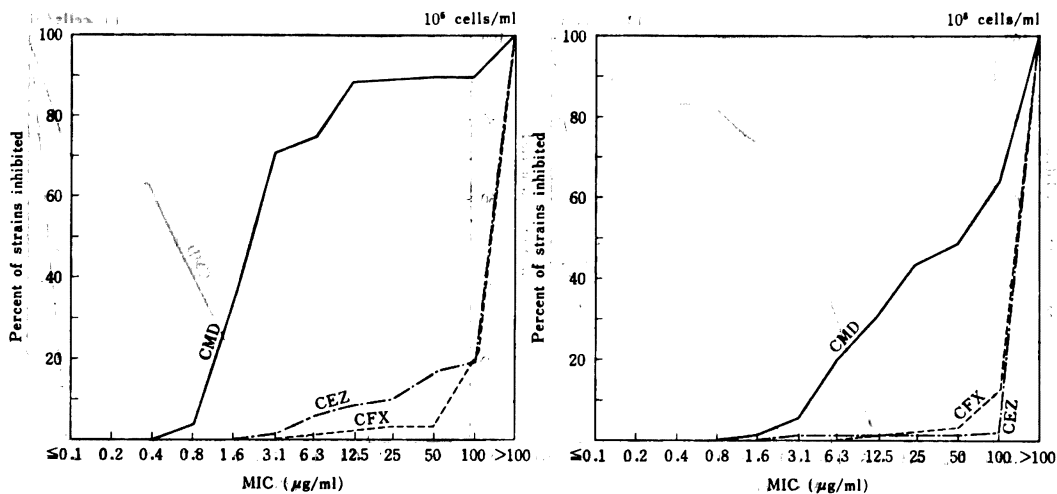
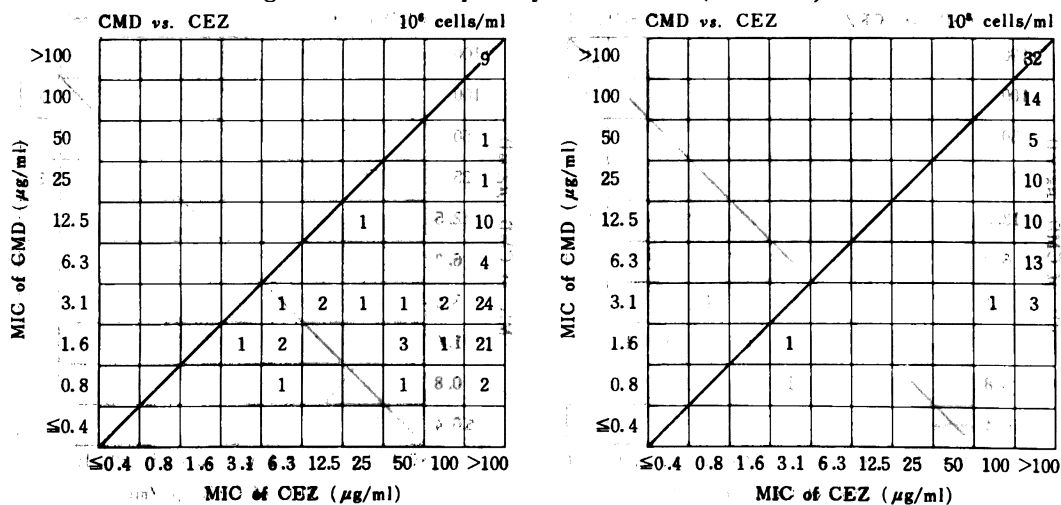
Fig. 31 Cross susceptibility of *Enterobacter* sp. (114 strains)Fig. 32 Susceptibility distribution of clinical isolates — *E. cloacae* 89 strainsFig. 33 Cross susceptibility of *E. cloacae* (89 strains)

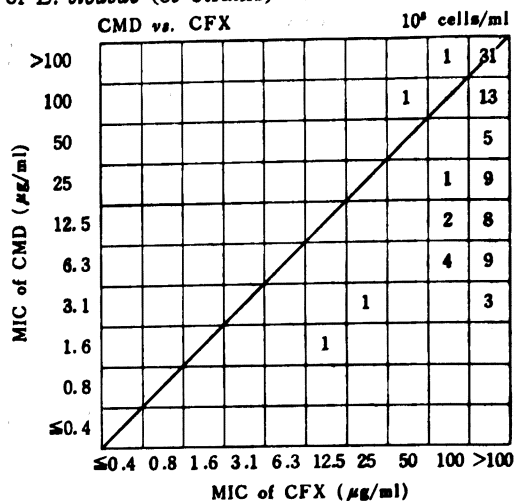
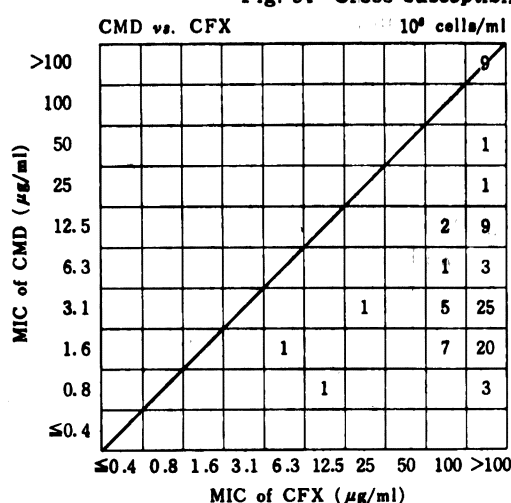
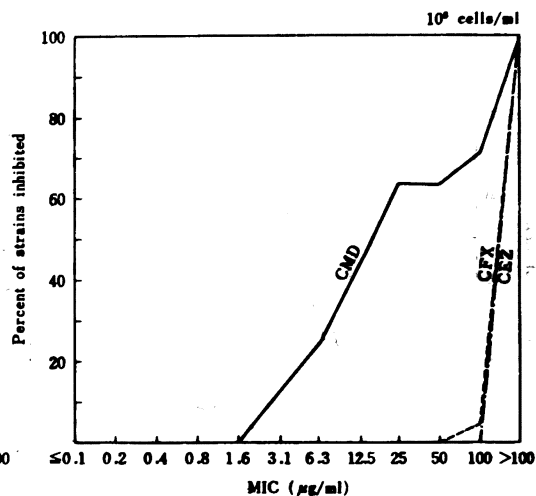
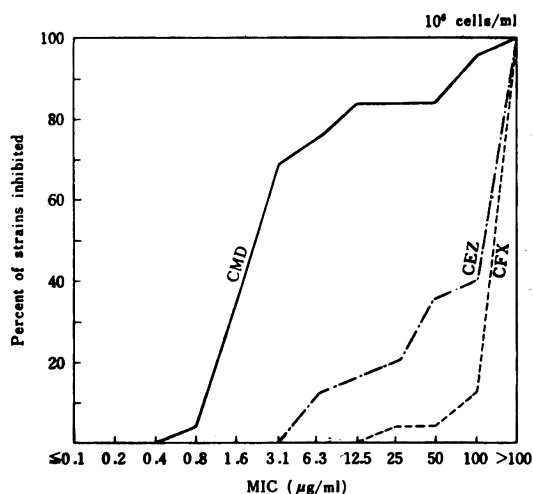
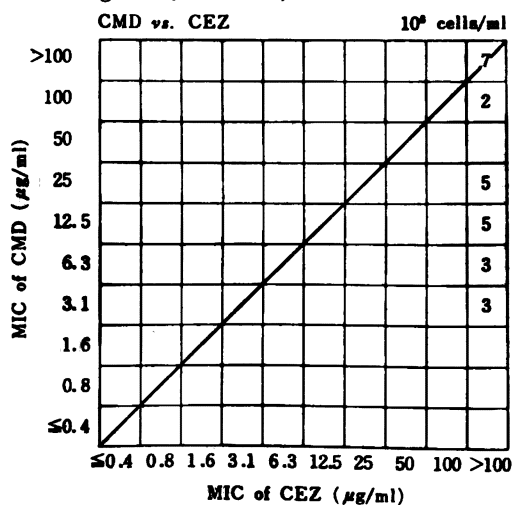
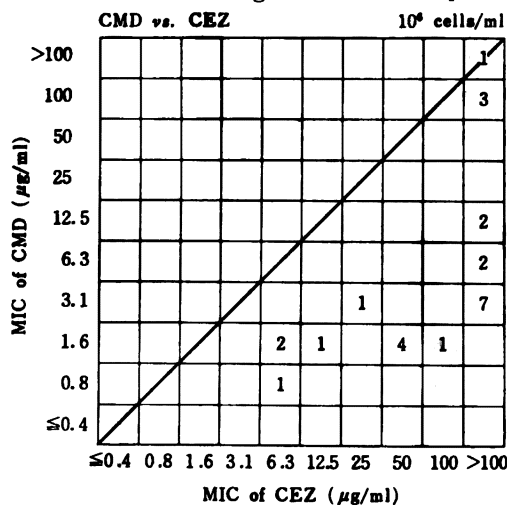
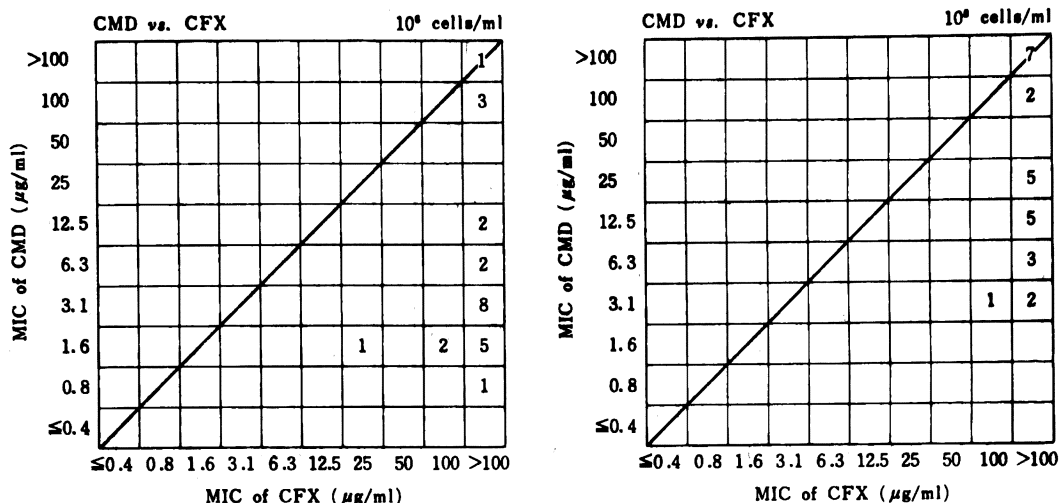
Fig. 34 Cross susceptibility of *E. cloacae* (89 strains)Fig. 35 Susceptibility distribution of clinical isolates — *E. aerogenes* 25 strainsFig. 36 Cross susceptibility of *E. aerogenes* (25 strains)

Fig. 37 Cross susceptibility of *E. aerogenes* (25 strains)

受性低下は著しく、これらの MIC 値の上昇した菌株は多くの場合、寒天平板上の接種部位に数個のコロニーが可成り幅広い濃度範囲で検出されることによって、MIC 値上昇の原因になっていることが特徴的であり、他の菌種における接種菌量の影響の様式と異なっている。*E. cloacae* 89 株 (Fig. 32~34) と *E. aerogenes* 25 株 (Fig. 35~37) に分けて CMD に対する感受性を比較したが、両菌種間に有意差は認められなかった。また、CMD と CEZ、あるいは CFX との交差感受性における相関性は殆んど認められなかった。

(g) *C. freundii* 18 株 (Fig. 38~40)

10⁶ cells/ml 接種で、0.78 µg/ml に感受性ピークがあり、他の対照薬に比べて明らかに強い抗菌力を示し

た。なお、接種菌量によって影響されやすい性質は、*Enterobacter* sp. の場合と共通していたが、高菌量においても CMD の抗菌力は他よりも優れていた。

(h) *S. marcescens* 41 株 (Fig. 41~43)

10⁶ cells/ml 接種では、殆んどの被検株が 25 µg/ml 以上の MIC を示したが、CFX 感受性との相関は認められなかった。接種菌量を上げると、すべての株が CMD に 100 µg/ml 以上の耐性を示した。ABPC、CFX には菌量をかえても 50 µg/ml 以下の濃度で感受性を示す株が分布したが、ABPC の方が耐性株が多く分布し、CFX の方が優れていた。

(i) *H. influenzae* 20 株 (Fig. 44~46)

CMD は 0.39~0.78 µg/ml に感受性のピークを有し、

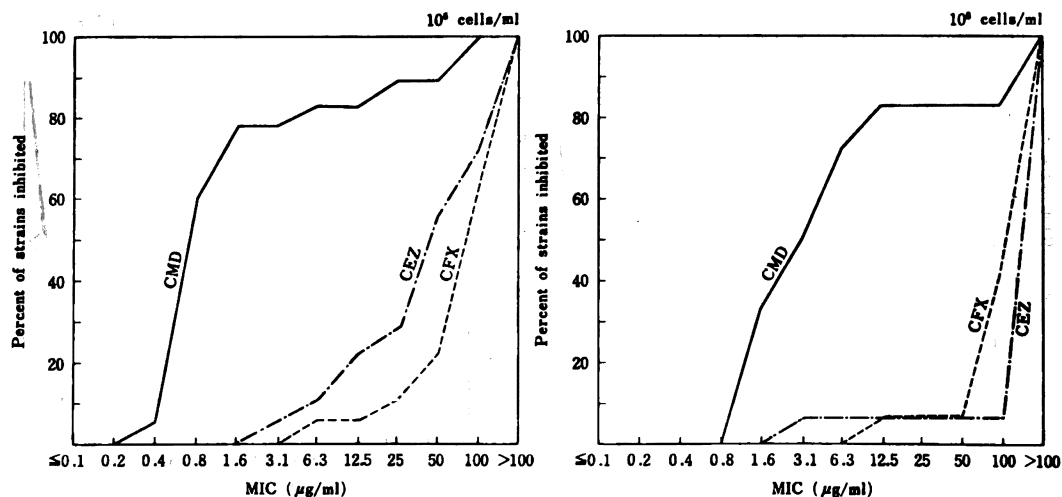
Fig. 38 Susceptibility distribution of clinical isolates——*C. freundii* 18 strains

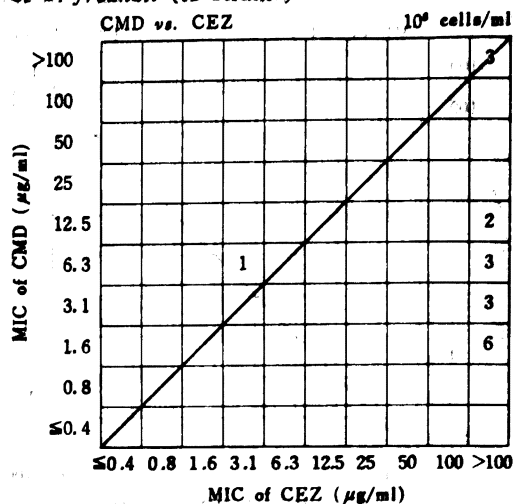
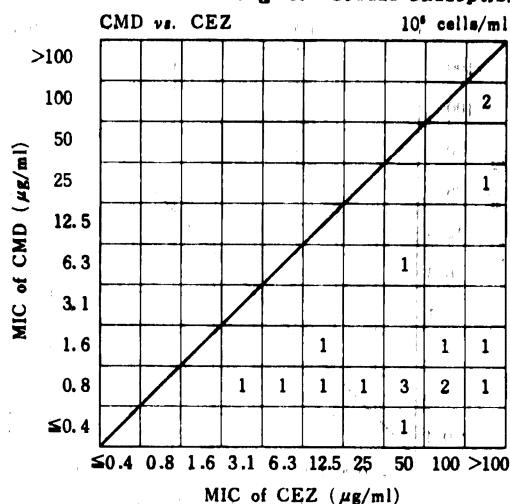
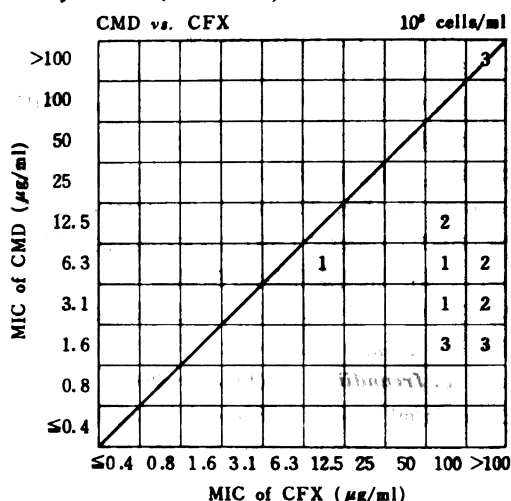
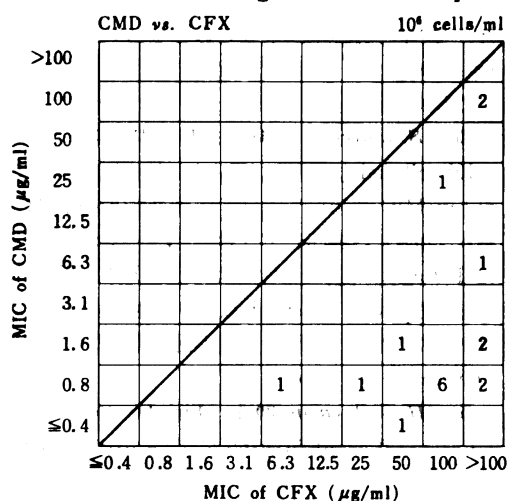
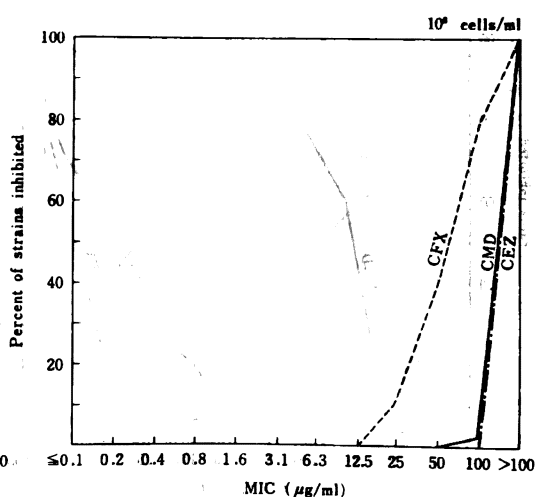
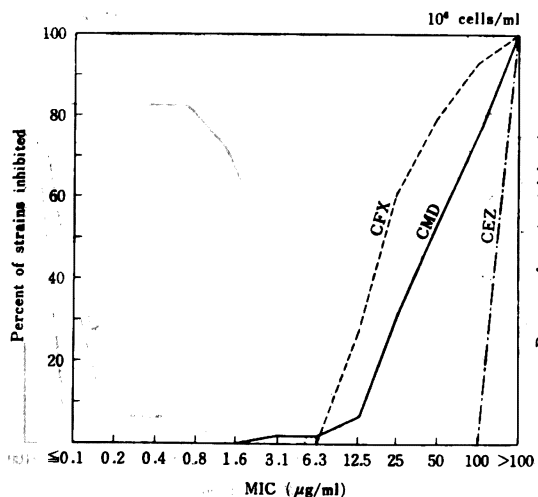
Fig. 39 Cross susceptibility of *C. freundii* (18 strains)Fig. 40 Cross susceptibility of *C. freundii* (18 strains)Fig. 41 Susceptibility distribution of clinical isolates — *S. marcescens* 41 strains

Fig. 42 Cross susceptibility of *S. marcescens* (41 strains)

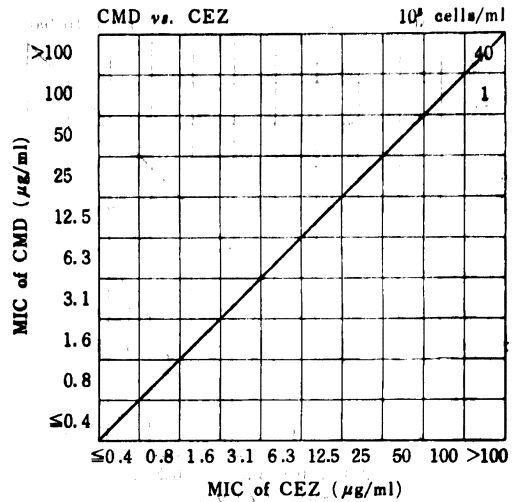
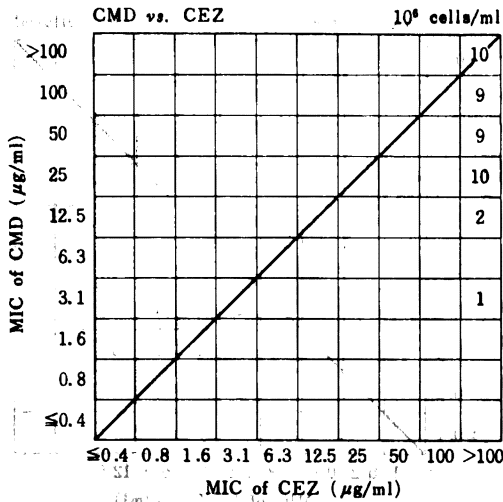


Fig. 43 Cross susceptibility of *S. marcescens* (41 strains)

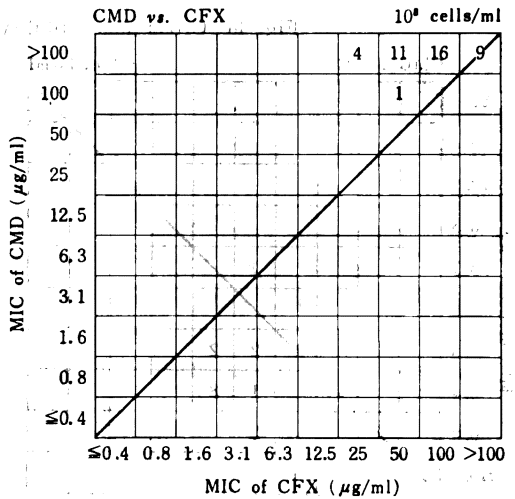
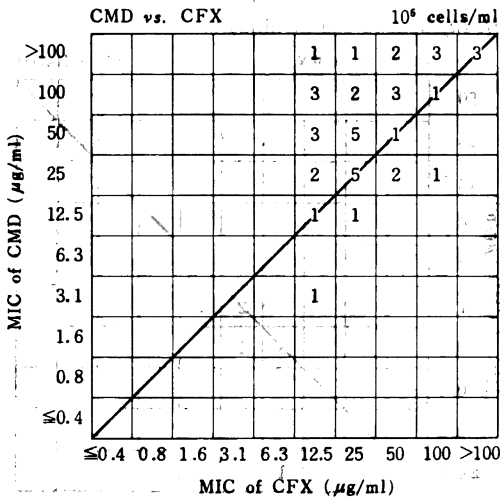


Fig. 44 Susceptibility distribution of clinical isolates *H. influenzae* 20 strains

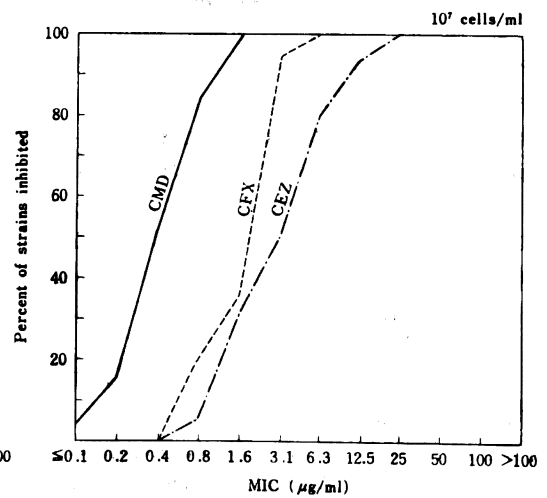
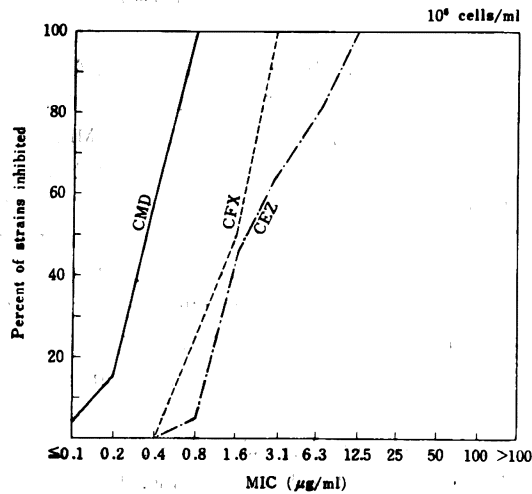
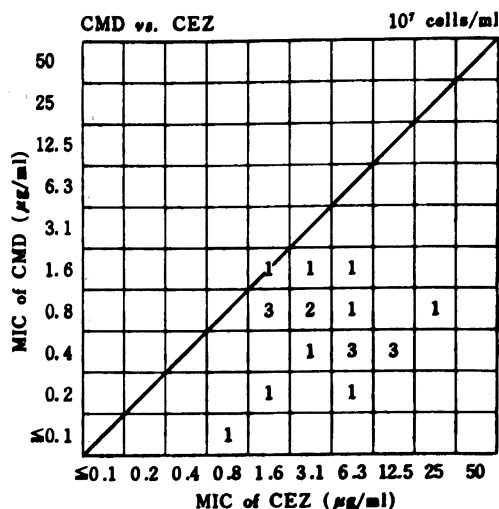
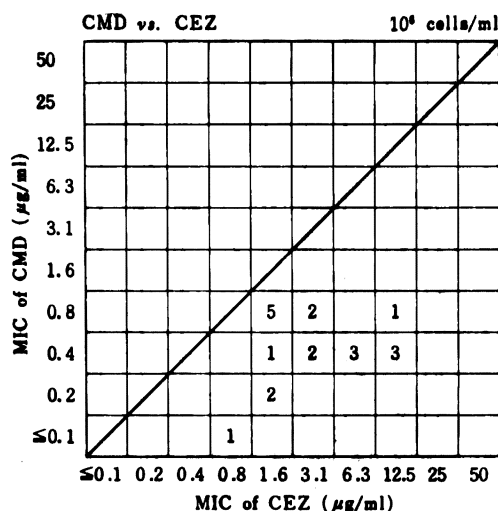
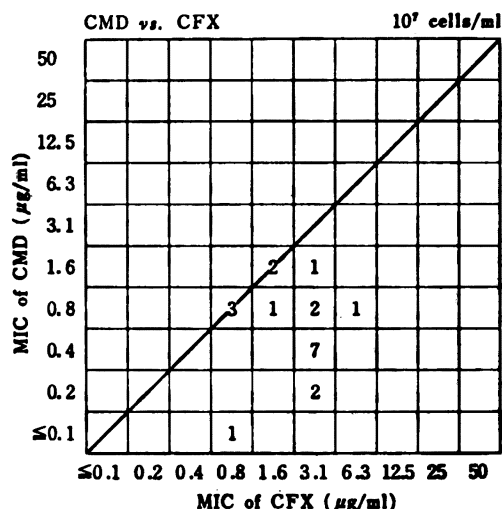
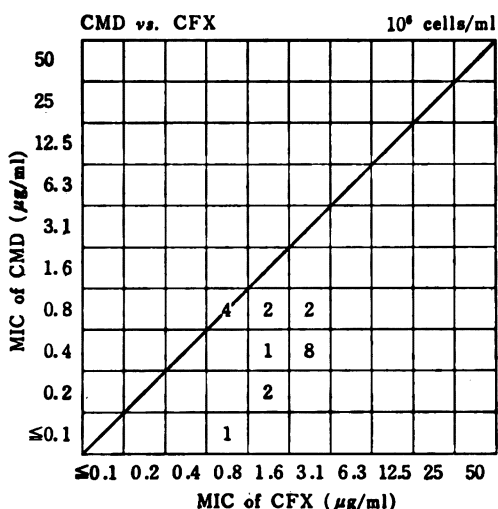


Fig. 45 Cross susceptibility of *H. influenzae* (20 strains)Fig. 46 Cross susceptibility of *H. influenzae* (20 strains)

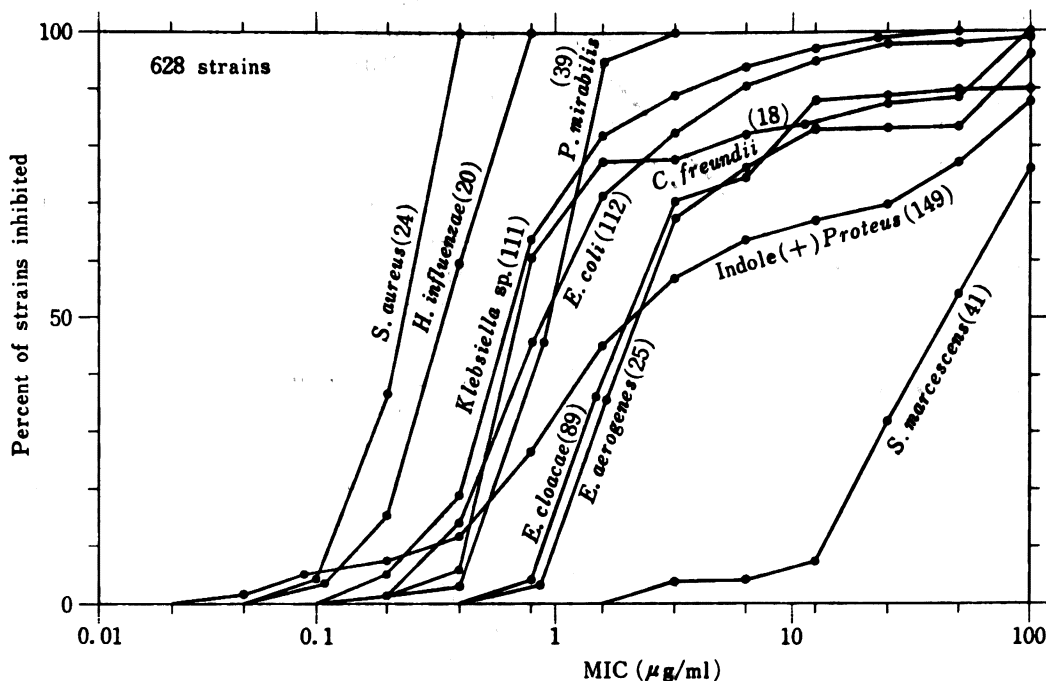
ABPC と同等の抗菌力を示し、他の Cephalosporin のどれよりも優れた活性が認められた。

3) CMD と CMD-Nafate の抗菌力比較

Cafamandole Nafate (CMD-Nafate) は、Cefamandole Sodium (CMD) の Formyl ester であり、弱アルカリ条件で速やかに加水分解されて、CMD に戻るといわれている³⁾。そこで、CMD と CMD-Nafate が通常の抗菌力測定条件で同等の活性を示すかどうかを調べた。まず、*E. coli* 臨床分離菌の 33 株についての MIC 分布を比較したところ、Fig. 48 に示す通り、両者の MIC は極めて良い相関性を示し、接種菌量をかえても、全く有意差が認められなかった。次いで、短時間における活性発現の差を検討するために、*E. coli* 臨床分離菌

の 6 株について、MBC の推移を調べ、結果を Fig. 49 に示した。CMD については、培地 pH を 6 と 7 にかえても 1~24 時間まで各作用時間における MBC 値および 24 時間後の MIC 値に有意の差を認めなかったが、CMD-Nafate については、培地 pH を 7 から 6 にかえると、明らかに MBC 値の増加が認められ、特に短時間における殺菌作用は低下した。また、pH 6 培地では、CMD-Nafate は CMD に比べて活性発現が遅いが、pH 7 培地では、3 時間以降両者の活性に有意差を認めなかった。すなわち、酸性域では Nafate の加水分解が遅く、24 時間でも不完全であることを示している。しかしながら、中性条件では Nafate は比較的速やかに Na 塩に変換していると考えられ、Fig. 48 の成績を裏

Fig. 47 Sensitivity distribution of clinical isolates to cefamandole
Sensitivity test agar "Eiken", one loopful of 10^6 cells/ml



付けている。

4) 抗菌力に及ぼす各種因子の影響

(a) 培地の種類の影響 (Table 4)

Agar dilution 法で 5 種, Broth dilution 法で 4 種の培地を使用して, 6 菌種の MIC を測定して, 培地の影響を調べた。各試験菌に関して, MIC の変動は 1 管以内に収まり, 有意の差を認めなかった。

(b) 培地 pH の影響 (Table 5)

Phosphate buffer で pH 6, 7 および 8 に修正した培地を用いて, Agar dilution 法および Broth dilution 法における MIC を測定した。*S. aureus* の CMD 感受性は, 酸性培地で上昇する傾向を示した。その他のグラム陰性菌については, 反対に pH 7 と pH 8 では同等の抗菌力があるが, pH 6 培地で抗菌力を減弱する傾向を示した。この傾向は, Agar および Broth dilution 法のいずれにも同様に認められたが, *E. cloacae*, *P. vulgaris* については特に顕著に認められた。

(c) 接種菌量の影響 (Table 6)

菌種によって一様ではないが, Agar dilution 法の 10^6 cells/ml 1 白金耳接種と, Broth dilution 法の 10^6 cells/ml で, MIC が顕著に高くなる菌種が認められた。*E. coli* の CET 耐性菌, *E. cloacae*, *P. vulgaris* などがそれで, この傾向は, すでに前述した臨床分離株の感受性分布において認められた結果と一致している。その

他の菌株については比較的影響が少なく, 100 倍の菌量差で 2~4 倍の MIC の変動が認められた。

(d) 血清添加の影響 (Table 7)

人血漿および馬血清を添加した培地で, Broth dilution 法により MIC 値を測定し, CEZ および CER と比較した。CMD は *S. aureus* に対して, 2~4 倍の MIC 上昇を認めることがあったが, *E. coli* 2 株については, 添加濃度を上げて MIC の変動は認められず, CEZ よりも影響を受けにくい傾向であった。

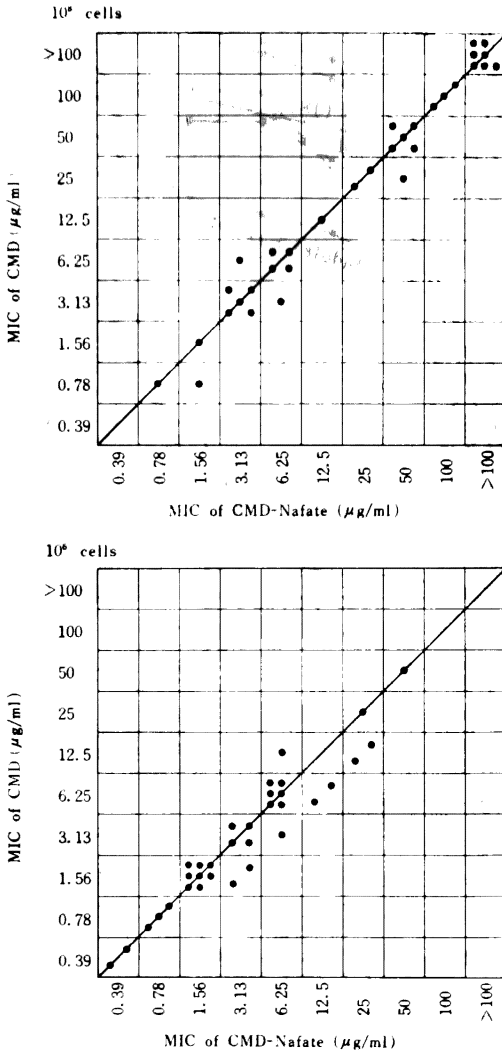
5) 殺菌作用

TS broth に培養した対数増殖期 ($10^6 \sim 10^7$ cells/ml) の *S. aureus* 209P JC-1, *E. coli* NIHJ JC-2, *K. pneumoniae* SRL-1, *E. cloacae* 233 の 4 菌株に対する殺菌作用を, 生菌数の経時変化を測定することにより調べ, Fig. 50~54 に示した。生菌数の測定は 5 時間まで行ない, さらに 24 時間培養後の菌増殖による混濁の認められる濃度について (+) の表示を行ない, 再増殖を判定することにした。

(a) *S. aureus* 209P JC-1

CMD, CFX, CEZ の 3 剤を, 10^7 cells/ml に作用させた場合を Fig. 50 に示した。CMD は $0.2 \mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で生菌数を低下させ, 2~3 時間の作用で殺菌率 99% に達した。CEZ は CMD と殺菌率, 殺菌濃度ともに同様の経過を示しているが, CFX については

Fig. 48 Cross susceptibility of *E. coli* against CMD and CMD-Nafate



CMD と同等の殺菌作用を示すのに 8 倍高い濃度を要した。24 時間まで再増殖しない CMD の最低濃度は 0.2 $\mu\text{g/ml}$ で、CEZ の 1/2, CFX の 1/16 であった。

(b) *E. coli* NIHJ JC-2

初菌数 10^7 cells/ml に作用させた時の、生菌数の変化を Fig. 51 に示した。CMD は 0.2 $\mu\text{g/ml}$ の低濃度から生菌数を低下させ、CEZ, CFX の各 1.56 $\mu\text{g/ml}$ に比べて 1/8 低い濃度から殺菌作用を示した。Fig. 52 に各作用時間における濃度と殺菌率の関係を plot したところ、1.56 $\mu\text{g/ml}$ 以下の濃度で CMD の殺菌率が他の 2 剤より高いことが明らかである。4 時間で 99% 殺菌率を与える濃度で比較しても、CMD は CEZ の 1/16, CFX の 1/8 となる。しかしながら、3.13 $\mu\text{g/ml}$ 以上

の濃度になると、殺菌率でみた CMD の殺菌作用は、他の 2 剤とほぼ同等になることを認め、高濃度では殺菌力に有意の差を見い出せなかった。Agar dilution 法における CMD, CEZ, CFX の MIC (10^8 cells/ml 接種) は、それぞれ 1.56, 3.13, 6.25 $\mu\text{g/ml}$ であり、この値は本実験における MIC 値とよく一致している。したがって、CMD は 1/8 MIC で殺菌作用を示していることになり、CFX の 1/4 MIC, CEZ の 1/2 MIC よりも低いことから、MIC 値からみても短時間の殺菌力の優れていることが認められた。またこのことは、MBC の経時変化を調べた Fig. 49 の結果からも同様に認められる。

(c) *K. pneumoniae* SRL-1

初菌数 10^8 cells/ml に CMD, CEZ を作用させて比較した (Fig. 53)。CMD は 0.39 $\mu\text{g/ml}$ から生菌数を低下させ 0.78 $\mu\text{g/ml}$ では完全に殺菌的であり、140 分で 99% 殺菌率に達し、24 時間後に再増殖しなかった。これに対し CEZ は同様の効果を与えるのに 4~8 倍高濃度の 3.13 $\mu\text{g/ml}$ を要した。しかしながら、12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上の高濃度では、1 時間作用後の生菌数低下が CMD よりも CEZ の方が著しいことを認め、高濃度では極めて初期の作用は、CEZ の方が強い傾向であった。

(d) *E. cloacae* 233

初菌数 3×10^6 cells/ml の対数増殖期に作用させたとき、Agar dilution 法の MIC (3.13 $\mu\text{g/ml}$) に近い濃度 (1.56 $\mu\text{g/ml}$) で生菌数の低下がみられた (Fig. 54)。生菌数の低下は、作用後 3~4 時間で最も顕著であり、*E. coli* 等より作用発現が遅れた。一方再増殖は、25 $\mu\text{g/ml}$ 以下の濃度で 5 時間に始まり 24 時間後にはすべて 10^7 cells/ml まで増殖したが、50 $\mu\text{g/ml}$ の濃度では、24 時間まで再増殖しなかった。初菌数を 100 倍増加させた時は、6.25 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で菌増殖を抑制したか、生菌数の低下は緩慢であり、殺菌率が 99% に達することはなかった。一方、CEZ については、上記の条件で 100 $\mu\text{g/ml}$ まで殺菌作用は認められなかった。

6) 作用菌の形態観察

CMD および CEZ を、0.05~100 $\mu\text{g/ml}$ の濃度を含む培地 (ST-agar) 上に *E. coli* または *K. pneumoniae* を作用させてから、1 時間毎に、形態変化を位相差顕微鏡下に観察した。Fig. 55, 56 に示した形態学的特徴から、細胞が filament 状に伸長する濃度と、bulge 形成部位から溶菌した像を認める濃度、および完全に溶菌像しか認められない濃度の 3 段階に分けて、濃度と作用時間との関係を Fig. 57, 58 に帯グラフで示した。

(a) *E. coli* NIHJ JC-2

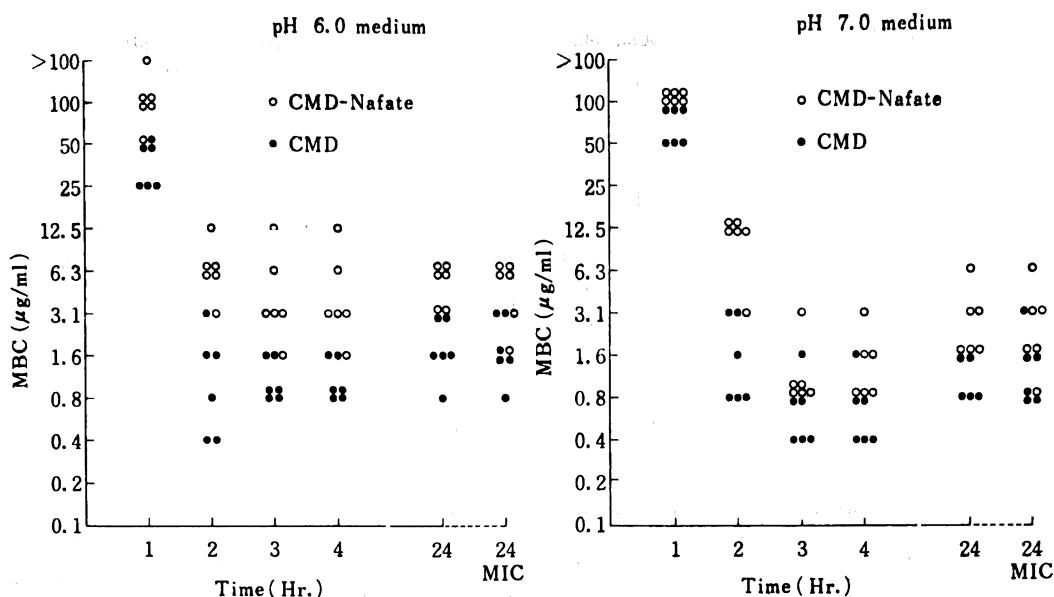
Fig. 49 Time course of MBC against clinical isolates of *E. coli* (6 strains)

Table 4 Effect of media on antibacterial activity of cefamandole

Method ¹⁾	Organism / Medium ²⁾	Agar dilution MIC (μg/ml)					Broth dilution MIC (μg/ml)			
		TS	MH	HI	NT	ST	TS	MH*	HI	NT
	<i>S. aureus</i> 209P JC-1	0.1	0.05	0.1	0.1	0.1	0.05	0.05	0.05	0.05
	<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.78	1.56	0.78	0.78	0.78	0.39	0.2	0.2	0.2
	<i>K. pneumoniae</i> SRL-1	0.39	0.2	0.39	0.2	0.2	0.39	0.2	0.2	0.39
	<i>P.morganii</i> 9	0.78	0.78	1.56	0.78	1.56	0.78	0.78	0.78	0.78
	<i>P. vulgaris</i> CN-329	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.2	0.1	0.2	0.2
	<i>P. mirabilis</i> PR-4	1.56	0.78	1.56	0.78	0.78	0.39	0.39	0.2	0.39

1) Inoculum size: Agar dilution ; one loopful of approximate 10^6 cells/ml
Broth dilution ; approximate 10^4 cells/ml

2) Abbreviations of media: TS ; trypto soy, MH ; MUELLER-HINTON, HI ; heart infusion, NT ; nutrient, ST ; sensitivity test

Media were distributed from Eiken Chemicals except MH* from Difco Lab.

2時間作用菌の形態変化は、Fig. 55 に示した様になり、低濃度で伸長した filament cell の中央部には膨化したいわゆる bulge form が観察され、高濃度になるに従って、細胞内容が bulge 部分から漏出した ghost filament が多くなり、さらに濃度を高くすると、filament 形成が認められずに、完全に溶菌された残滓のみを認めるようになる。これらの変化について、作用濃度の時間的推移を調べると、Fig. 57 に示した結果から、filament を形成し始める濃度は、CEZ の 0.78 μg/ml 対

して、CMD は 0.1~0.05 μg/ml で、1/8 以下の低濃度であった。溶菌像の認められる濃度は、1時間作用では、両者ともに 6.25 μg/ml と同等であるが、2時間以降さらに減少し、CEZ 1.56 μg/ml に対して、CMD は 0.1~0.2 μg/ml で、8~16 倍の差が認められ CMD の強い作用が明らかである。一方、filament 形成なしに溶菌させる濃度は、両剤で殆んど変わらず、1時間で 25 μg/ml、2時間で 12.5 μg/ml、3時間以降で 6.25 μg/ml に漸減して、24時間後には MIC 値 (CEZ : 3.13

Table 5 Effect of medium pH on antibacterial activity of cefamandole

Method ¹⁾ Organism pH ²⁾	Agar dilution MIC (μg/ml)			Broth dilution MIC (μg/ml)		
	6.0	7.0	8.0	6.0	7.0	8.0
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	0.05	0.1	0.1	0.025	0.1	0.1
<i>S. aureus</i> C-14	0.2	0.39	0.78	0.39	0.78	1.56
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.78	0.2	0.2	0.78	0.78	0.78
<i>K. pneumoniae</i> SRL-1	0.78	0.2	0.2	0.78	0.2	0.2
<i>E. cloacae</i> 233	6.25	1.56	1.56	25	1.56	1.56
<i>P. vulgaris</i> CN-329	0.78	0.78	0.39	12.5	0.39	0.2
<i>P. mirabilis</i> PR-4	1.56	1.56	0.78	0.78	0.78	0.78

1) Inoculum size: Agar dilution ; one loopful of approximate 10⁶ cells/mlBroth dilution ; approximate 10⁴ cells/ml

2) Medium: Antibiotic medium No. 3 (Difco) for both of agar and broth medium

Medium pH was adjusted with potassium phosphate buffer (0.03 M, final).

Table 6 Effect of inoculum size on antibacterial activity of cefamandole

Method ¹⁾ Organism Inoculum ²⁾	Agar dilution MIC (μg/ml)				Broth dilution MIC (μg/ml)			
	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁴	10 ³
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	0.2	0.1	0.1	0.05	0.2	0.1	0.1	0.05
<i>S. aureus</i> C-14	1.56	0.78	0.39	0.39	3.13	0.78	0.39	0.39
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.78	0.78	0.78	0.2	1.56	0.78	0.2	0.1
<i>E. coli</i> 377 (CET-resist)	25	1.56	1.56	1.56	50	3.13	1.56	1.56
<i>K. pneumoniae</i> SRL-1	0.78	0.39	0.39	0.39	0.78	0.39	0.39	0.2
<i>E. cloacae</i> 233	>100	6.25	3.13	1.56	>100	3.13	3.13	1.56
<i>P.morganii</i> 9	1.56	0.78	0.78	0.78	1.56	3.13	0.78	0.78
<i>P. vulgaris</i> CN-329	>100	50	0.39	0.39	>100	50	0.39	0.2
<i>P. mirabilis</i> PR-4	3.13	0.78	0.78	0.78	1.56	1.56	0.78	0.39

a) Medium: Sensitivity test agar (Eiken) for agar dilution method and trypto soy broth (Eiken) for broth dilution method

2) Inoculum size (cells/ml): One loopful for agar dilution method and final population for broth dilution method

Table 7 Effect of human plasma and horse serum on antibacterial activity of cefamandole (CMD), cefazolin (CEZ) and cephaloridine (CER) in broth dilution method¹⁾

Antibiotic	Organism	MIC (μg/ml)						
		Human plasma (%)				Horse serum (%)		
		0	10	30	50	0	10	50
CMD	<i>S. aureus</i> 209P JC-1	0.05	0.1	0.1	0.2	0.05	0.05	0.1
	<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.78	0.78	0.39
	<i>E. coli</i> 11	1.56	1.56	1.56	0.78	0.78	0.78	0.39
CEZ	<i>S. aureus</i> 209P JC-1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.05	0.1	0.1
	<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	1.56	3.13	3.13	6.25	3.13	3.13	6.25
	<i>E. coli</i> 11	1.56	3.13	3.13	6.25	1.56	1.56	3.13
CER	<i>S. aureus</i> 209P JC-1	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	3.13	3.13	3.13	3.13	6.25	6.25	6.25
	<i>E. coli</i> 11	6.25	6.25	3.13	3.13	6.25	6.25	1.56

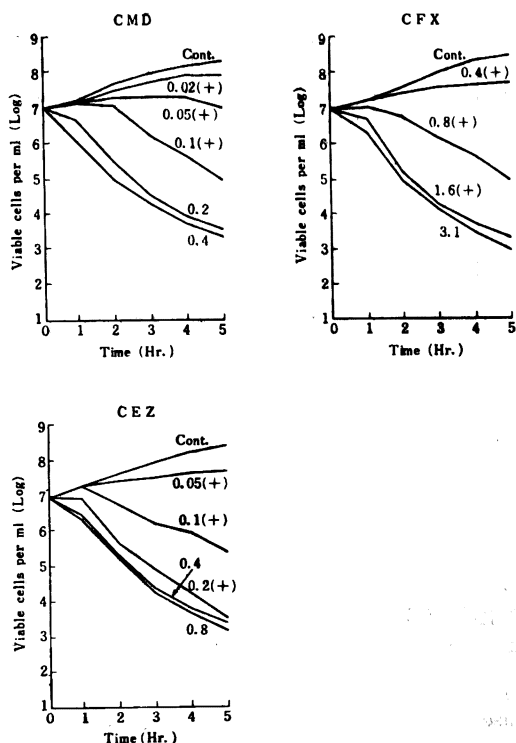
1) Medium: Trypto soy broth (Eiken), Inoculum size: Approximate 10⁸ cells/ml

Fig. 50 Bactericidal activity on *S. aureus* FDA 209P JC-1

Medium: Trypto-Soy Broth

Bacteria: Exponential growth

Regrowth: Visible after 24 hours (+)



$\mu\text{g/ml}$, CMD: $1.56 \mu\text{g/ml}$) まで低下した。MIC 以上の濃度では, CMD よりも CEZ の bulge は大きく, filament が短いままに溶菌した。

(b) *K. pneumoniae* SRL-1

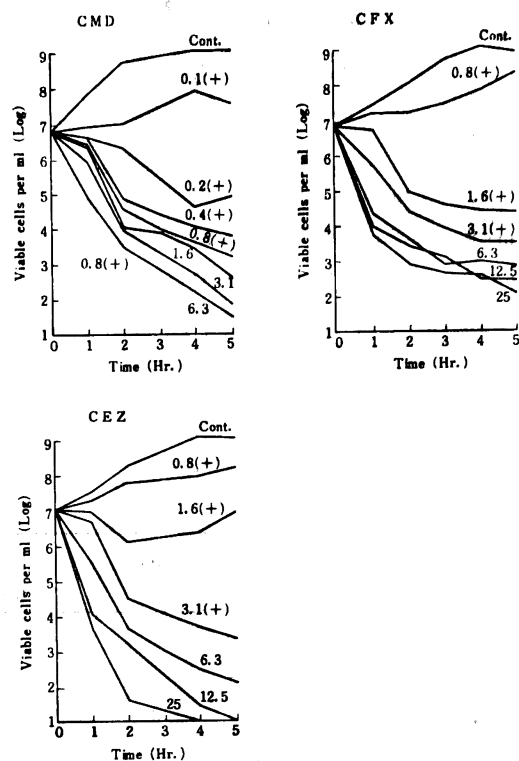
作用菌は, 本菌の非運動性を反映して, filament は屈曲した S 字形状をなし, bulge の形成は, 大腸菌の場合と異なって, 明確に認められなかった (Fig. 56)。作用濃度の推移は, Fig. 58 に示した様になり, CMD の作用菌は 1 時間後に $0.2 \mu\text{g/ml}$ で filament となり, $25 \mu\text{g/ml}$ で溶菌し始めるが, $200 \mu\text{g/ml}$ 作用でも完全に溶菌させることはなかった。2 時間以降では, 溶菌濃度は $0.39 \mu\text{g/ml}$ まで低下し, 4 時間で $0.2 \mu\text{g/ml}$ となり最大に達した。完全溶菌濃度も, 2 時間後の $50 \mu\text{g/ml}$ から作用時間経過と共に低下し, 4 時間で $12.5 \mu\text{g/ml}$ となり, 24 時間後には $0.78 \mu\text{g/ml}$ (MIC) まで低下した。一方, CEZ 作用菌は filament 形成濃度が $0.39 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$ で, CMD よりも 2~4 倍高濃度を要した。部分的溶菌濃度は, 1 時間作用後 $12.5 \mu\text{g/ml}$ で CMD よりもやや低く, 2 時間以降次第に低下して,

Fig. 51 Bactericidal activity on *E. coli* NIHJ JC-2

Medium: Trypto-Soy Broth

Bacteria: Exponential growth

Regrowth: Visible after 24 hours (+)



4 時間で $0.78 \mu\text{g/ml}$ になったが, CMD よりも常に高濃度を要した。しかしながら, 完全溶菌は 5 時間までの観察では CEZ の方が CMD よりも低濃度に認められる傾向にあり, 高濃度での溶菌効果は, CEZ の方がやや強い傾向を認めた。

7) β -lactamase に対する安定性

臨床分離株の中から, CER, CET, PCG, ABPC のうち 2 薬以上に耐性 (MIC: $>100 \mu\text{g/ml}$) の 115 菌株を選び, β -lactamase の産生源として使用した。その内訳は, *E. coli* 15 株, *Klebsiella* sp. 6 株, *P. vulgaris* 7 株, *P. morganii* 7 株, *P. rettgeri* 9 株, *P. inconspicua* 9 株, *P. mirabilis* 1 株, *E. cloacae* 13 株, *E. aerogenes* 9 株, *S. marcescens* 11 株, *C. freundii* 9 株, *H. alvei* 1 株, *P. aeruginosa* 10 株, *S. aureus* 8 株である。グラム陰性菌の産生する β -lactamase は, 諸種の性質の違いから幾つかの型別に分離できることが知られているが, ここでは 107 株それぞれの粗酵素標品について, 各種薬剤の相対加水分解速度を Bioassay 法で求めて, 基質特異性のちがいから β -lactamase を Cephalospo-

Fig. 52 Bactericidal activity on *E. coli* NIHJ JC-2 after different exposure time

Initial viability : 1.0×10^7 cells/ml

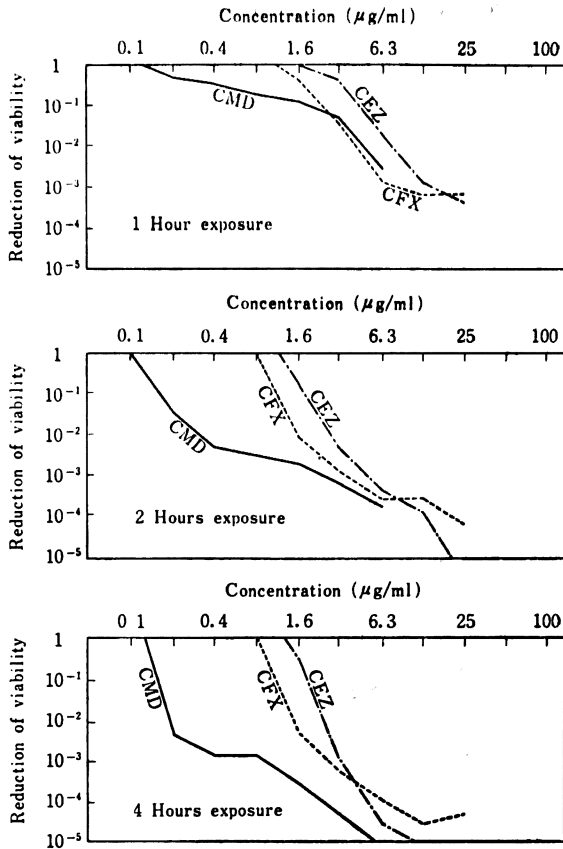
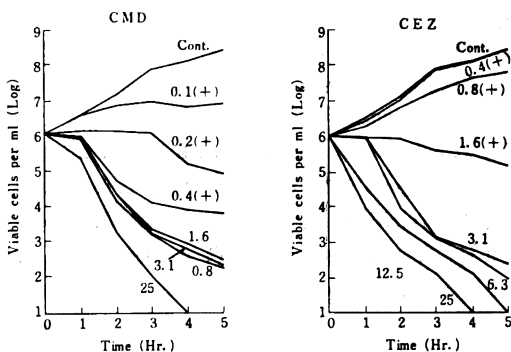


Fig. 53 Bactericidal activity on *K. pneumoniae* SRL-1

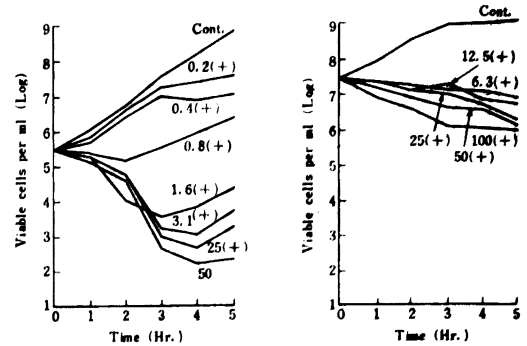
Medium : Trypto-Soy Broth
Bacteria : Exponential growth
Regrowth : Visible after 24 hours (+)



rinase (CS-ase), Penicillinase (PC-ase) に大別した。Fig. 59 に CMD, CEZ, CBPC, ABPC の相対加水分解速度を対数で plot した。また、その中から代表的なも

Fig. 54 Bactericidal activity of cefamandole on *E. cloacae* 233

Medium : Trypto-Soy Broth
Bacteria : Exponential growth
Regrowth : Visible after 24 hours (+)



のにつき、対照薬剤と共にその基質特異性を Table 8 に示した。

CMD は、PC-ase に対しては CEZ, CEX に比べて不安定であるが、一方 CS-ase に対しては、これらの薬剤よりも遙かに安定であった。ただし、*P. vulgaris* の産生する CS-ase に対しては、例外的に高い相対加水分解速度を示した。この様に、CMD の β -lactamase に対する安定性は、酵素の性質、すなわち CS-ase か PC-ase かによって大きく変化し、他の Cephalosporin よりもむしろ Penicillin に類似した挙動を示した。CS-ase 産生株 (*E. coli* 6, *E. cloacae* 214) と、PC-ase 産生株 (*E. coli* W 3110 RTM, *Klebsiella* sp. 363) に由来する β -lactamase を部分精製して、UV 法により V_{max} , K_m 値を求めた。Table 9 から、CMD は CS-ase に高い親和性を示すことから、この薬剤はこれらの酵素に結合するが、加水分解されにくいことを示している。一方、PC-ase に対する性質では、CEZ, CER 等と大きな差を見い出せなかった。

III. 考 察

近年、 β -ラクタム 抗生物質が感染症治療において果たす役割が大きくなっているが、同時に既存の Penicillin, Cephalosporin 剤は未だ完全なものに遠く、諸種の改良が望まれている。CMD は主として、インドール陽性 *Proteus*, *Enterobacter*, *H. influenzae* 等、従来の Cephalosporin が弱点とする菌種にも抗菌スペクトルを拡大する Cephalosporin として開発された^{2,9)}。

諸外国では、臨床では CMD-Nafate が使用された⁹⁾が、本邦では Na 塩として製剤化されたものが検討されているので、両者の抗菌力を比較した。MIC 測定値

Fig. 55 Phase contrast micrographs of *E. coli* morphology

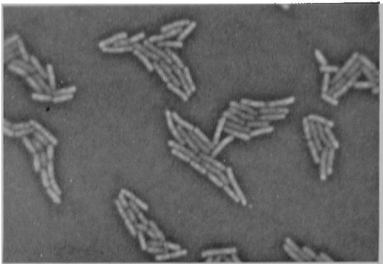
Escherichia coli NIHJ JC-2

Treatment : 2 Hours on sensitivity test agar

MIC : CMD 1.56 $\mu\text{g/ml}$

CEZ 3.13 $\mu\text{g/ml}$

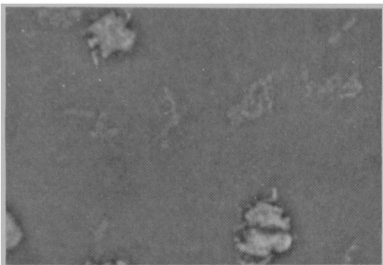
Control



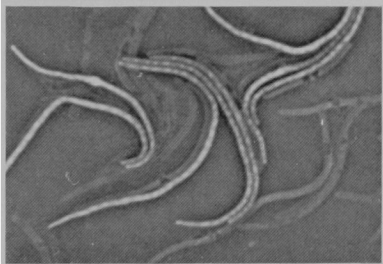
($\mu\text{g/ml}$)

CMD

12.5



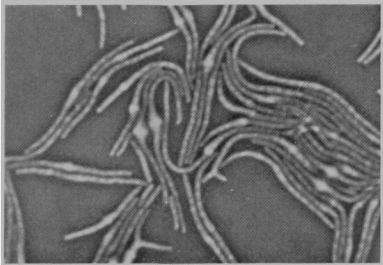
3.1



0.4



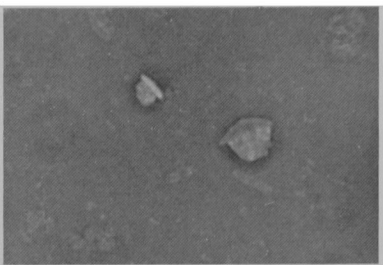
0.1



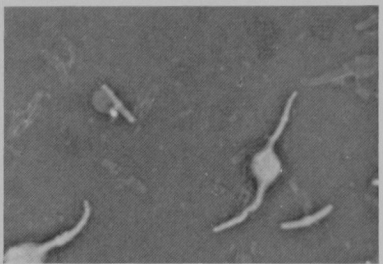
($\mu\text{g/ml}$)

CEZ

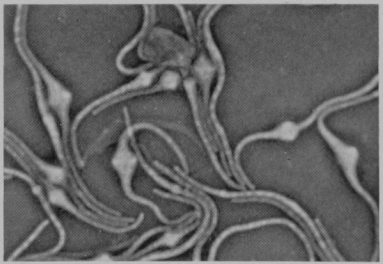
12.5



6.3



1.6



0.8

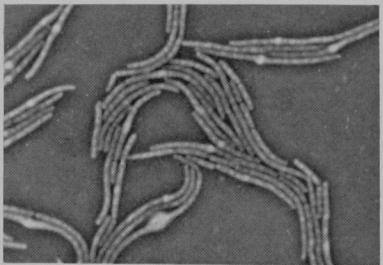


Fig. 56 Phase contrast micrographs of *K. pneumoniae* morphology

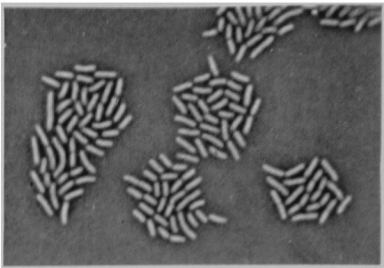
Klebsiella pneumoniae SRL-1

Treatment : 3 Hours on sensitivity test agar

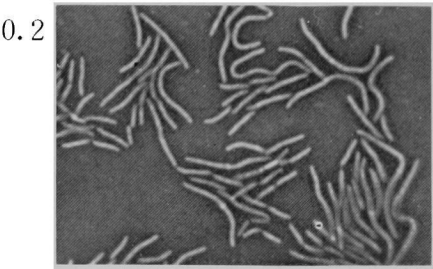
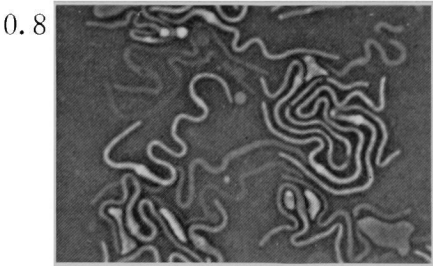
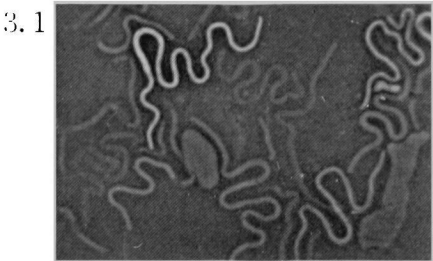
MIC : CMD 0.78 $\mu\text{g/ml}$

CEZ 1.56 $\mu\text{g/ml}$

Control



($\mu\text{g/ml}$) CMD
25



($\mu\text{g/ml}$) CEZ
12.5

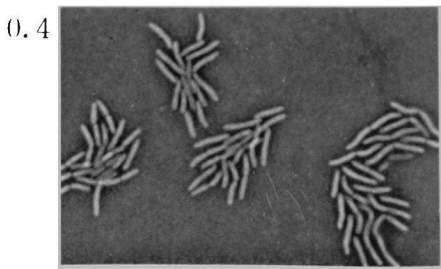
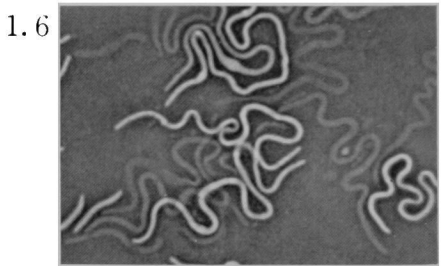
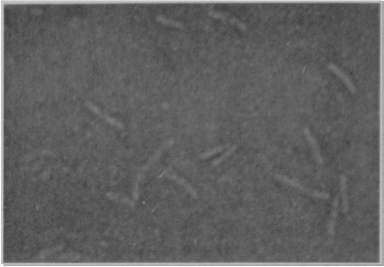
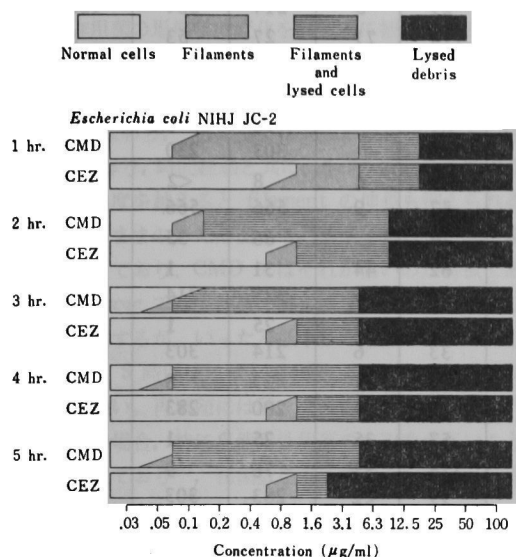
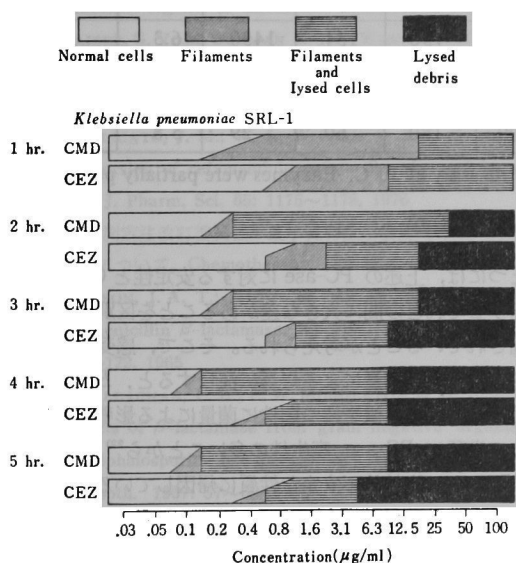
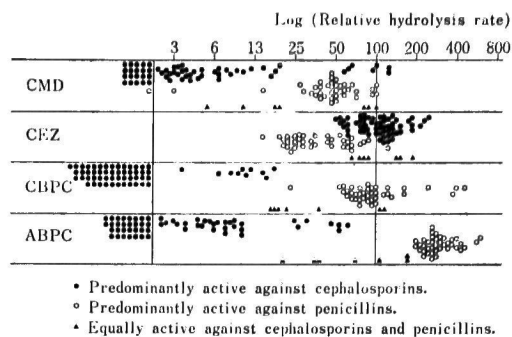


Fig. 57 Morphology of *E. coli* treated with cefamandole and cefazolin

Inoculum size : One loopful of 10^8 cells/ml
 Medium : Sensitivity Test Agar
 MIC : CMD 1.56 $\mu\text{g/ml}$
 CEZ 3.13 $\mu\text{g/ml}$

Fig. 58 Morphology of *K. pneumoniae* treated with cefamandole and cefazolin

Inoculum size : One loopful of 10^8 cells/ml
 Medium : Sensitivity test agar
 MIC : CMD 0.78 $\mu\text{g/ml}$
 CEZ 1.56 $\mu\text{g/ml}$

Fig. 59 Relative sensitivity against β -lactamases from gram-negative bacteria (10^7 strains)

については有意差を認めなかったが、MBC の時間経過に差がみられ、短時間の殺菌作用で、CMD-Nafate の方が劣ることが認められた。酸性 pH で特に顕著な違いがみられることから、抗菌活性は脱 Formyl 化の加水分解に依存していることを示している。MIC 測定の様に、作用時間が長く中性より弱アルカリ性に偏った培地では、Na 塩に水解されて活性発現するので差が認められないと考えられ、TURNER¹⁰⁾ や WOLD¹¹⁾ 等の知見と一致した。しかしながら、CMD-Nafate の臨床用製剤は投与前に Na_2CO_3 で加水分解して CMD に変換させたのち使用されるので問題にならないとされている^{2,3)}。この様な理由から、諸外国においても CMD の細菌学的評価には Nafate でなく、主として Na 塩¹⁾ または Li 塩¹²⁻¹⁴⁾ が用いられている。

本薬は、グラム陽性菌には CEZ と同等の抗菌力を示し、グラム陰性菌には CEZ よりも明らかに優れた抗菌力を示し、諸家の成績を確認した^{1,12,13,15-17)}。その抗菌スペクトルはインドール陽性 *Proteus* 群、*Enterobacter* にも拡がり、*H. influenzae* にも強い抗菌力を認めたことは、本薬の大きな特徴と考えられる。臨床分離株 628 株の感受性分布は、Fig. 47 に示す様に、*S. aureus*、*H. influenzae* は全株が 0.78 $\mu\text{g/ml}$ 以下の MIC を示した。なお、*H. influenzae* は、ABPC 耐性株にも本薬の有効性が報告されている¹⁸⁾。*E. coli*、*Klebsiella* sp. *C. freundii* は、被検株の 70% 以上が 1.56 $\mu\text{g/ml}$ 以下の MIC を示した。*Enterobacter* sp. は、その 70% の菌株が 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 以下の MIC を示した。インドール陽性 *Proteus* 群では、*P. inconspicua*、*P. rettgeri*、*P. morganii* には、CFX よりも優れた感受性分布を示し、殆どどの被検株は 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 以下の MIC を与えたが *P. vulgaris* の感受性分布は高濃度に傾き、CFX よりも劣っていた。

CMD は PC-ase に不安定であったが、CS-ase に遙

Table 8 Relative sensitivity of cefamandole against β -lactamases

Source of β -lactamase	Enzyme type ³⁾	Relative hydrolysis rate ¹⁾						
		CER	CMD	CEZ	CEX	PCG	ABPC	CBPC
<i>E. coli</i> 6	C	100	19	81	- ²⁾	123	5	<3
<i>E. coli</i> 16	P	100	47	23	-	429	400	400
<i>Klebsiella</i> sp. 110	P	100	27	29	5	214	264	123
<i>P. vulgaris</i> 31	C	100	66	115	71	27	53	8
<i>P. morganii</i> 69	C	100	12	81	53	100	5	<1
<i>P. morganii</i> 5	P	100	47	53	-	174	214	53
<i>P. rettgeri</i> 5	C	100	3	81	-	12	0.2	<0.2
<i>P. rettgeri</i> 10	P	100	50	57	-	303	230	76
<i>P. inconstans</i> 27	C	100	<2	141	4	8	<2	<2
<i>P. inconstans</i> 23	P	100	<4	57	9	566	566	373
<i>P. mirabilis</i> 16	CP	100	87	76	-	66	35	18
<i>E. aerogenes</i> 10	C	100	3	62	44	31	1	<0.8
<i>E. aerogenes</i> 3	P	100	38	23	5	325	214	66
<i>E. cloacae</i> 69	C	100	3	53	41	25	1	<0.7
<i>E. cloacae</i> 44	P	100	53	33	6	214	303	100
<i>S. marcescens</i> 46	C	100	8	152	41	23	8	2
<i>S. marcescens</i> 61	P	100	71	35	4	200	283	132
<i>C. freundii</i> 19	C	100	2	57	35	25	1	<1
<i>P. aeruginosa</i> 27	C	100	4	115	35	76	9	<3
<i>P. aeruginosa</i> 18SRP1	P	100	47	19	<2	283	303	93

1) The rate of hydrolysis was determined by the microbiological assay.

Initial substrate concentration was 500 μ g/ml for cephalixin and 250 μ g/ml for the other antibiotics.

2) Not determined.

3) C: Cephalosporinase, P: Penicillinase CP: Intermediate

Table 9 Relative sensitivity and affinity against β -lactamases

Organism	Enzyme type ¹⁾	CMD		CER		CEZ		CEX	
		V_{max}	K_m (μ M)	V_{max}	K_m (μ M)	V_{max}	K_m (μ M)	V_{max}	K_m (μ M)
<i>E. coli</i> 6	C	3.2	64	100	750	134	1430	6.3	17
<i>E. cloacae</i> 214	C	0.21	3.8	100	650	170	2080	9.0	115
<i>E. coli</i> W3110 RTEM	P	33	412	100	787	14	498	0.61	1032
<i>Klebsiella</i> sp. 363	P	109	132	100	180	60	29	5.8	588

The hydrolysis rate was determined by the spectrophotometric assay at 30°C. Enzymes were partially purified.

1) C: Cephalosporinase, P: Penicillinase

かに安定であり CER, CEZ と異なり, PC-ase と CS-ase とで安定性に大きな差が認められた。ただし, *P. vulgaris* の β -lactamase が CS-ase であるにも拘らず, 例外的に CMD はこれらの酵素には不安定であった。Neu¹⁵⁾ や Fu¹⁹⁾ 等も CMD の安定性が酵素によって大きな差をもつことを述べているが, β -lactamase の種類との関連を明らかにしていない。O'CALLAGHAN²⁰⁾ は CMD が β -lactamase に安定であるとし, 一方 SELWYN²¹⁾ は不安定であると主張している。CMD の β -lactamase に関連してのこれらの混乱の原因のひ

とつには, 上述の PC-ase に対する安定性と CS-ase に対するそれとの間に大きな差があることを区別せずに議論されていることが考えられる。そこで, 感受性分布から, その接種菌量による影響に注目すると, *E. coli* のうち高い MIC 値を持つ菌株に菌量による影響が強い。この菌種に PC-ase 産生株の多いことから²²⁾, 本薬の PC-ase に比較的不安定な性質に帰因していると考えられる。しかしながら, CS-ase 産生型の *Enterobacter* に対する本剤の優れた感受性は, CS-ase に安定な特徴が大きく関与している結果であり, 他方インドール陽性

Proteus 群の中で、特に *P. vulgaris* の感受性だけが低いこともこれらの性質をよく反映していると考えられる。

増殖曲線における生菌数の変化から、本薬は *E. coli*, *K. pneumoniae* に MIC 濃度で十分に殺菌的に作用した。CEZ と同様に 2 MIC では再増殖することはなかった。作用菌の形態学的変化を経時的に観察した成績でも、CMD の溶菌作用が CEZ に比べて遙かに低い濃度で始まることを示し、本薬の殺菌活性の強いことを裏付けた。すなわち、低濃度では隔壁形成抑制により filament を作り、時間経過と共に、bulge 部から溶菌するが、ある濃度を越えると filament の伸長も抑えられるためにそのままの形で溶菌する。薬剤によりこの閾値濃度が異なっており、CMD ではそれが低いのが特徴である。*E. cloacae* では生菌数の減少は *E. coli* の場合より遅れて発現するが、いったん低下した菌数は MIC 以上の濃度でも 5 時間後には再び増加し、いわゆる再増殖の傾向が強い。再増殖には種々の理由が考えられるが²³⁾、この菌種の場合、特に自然耐性集落の出現率が多いことが報告されており²⁴⁾、初菌数を多くすると生菌数の低下が起こらないこともこれを裏付けている。

以上の諸成績から、CMD は CS-ase に安定な性質を反映して、グラム陰性菌に対する抗菌スペクトルを広範圏に拡大した Cephalosporin として優れた抗菌薬であることを認めた。

文 献

- 1) WICK, W. E. & D. A. PRESTON: Biological properties of three 3-heterocyclic-thiomethyl cephalosporin antibiotics. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 1: 221~234, 1972
- 2) KAISER, G. V.; M. GORMAN & J. A. WEBBER: Cefamandole — A review of chemistry and microbiology. *J. Infect. Dis. (Suppl.)*: S10~S16, 1978
- 3) INDELICATO, J. M.; W. L. WILHAM & B. J. CELIMELE: Conversion of cefamandole nafate to cefamandole sodium. *J. Pharm. Sci.* 65: 1175~1178, 1976
- 4) MIC 測定法改訂委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改訂について. *Chemotherapy* 22: 1126~1128, 1974
- 5) JANSSON, J. A. T.: A direct spectrophotometric assay for penicillin β -lactamase. *Biochem. Biophys. Acta* 99: 171~172, 1965
- 6) 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.* 1967: 57~63, 1968
- 7) WALLEY, S. G.: A spectrophotometric assay of β -lactamase action on penicillins. *Biochem. J.* 139: 789~790, 1974
- 8) SAMUNI, A.: A direct spectrophotometric assay and determination of MICHAELIS constants for the β -lactamase reaction. *Analyt. Biochem.* 63: 17~26, 1976
- 9) MOELLERING, R. C.: Cefamandole — A new member of the cephalosporin family. *J. Infect. Dis.* 137 (Suppl.): S1~S9, 1978
- 10) TURNER, J. R.; D. A. PRESTON & J. S. WOLD: Delineation of the relative antibacterial activity of cefamandole nafate. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 12: 67~72, 1977
- 11) WOLD, J. S.; R. R. BLACK & R. S. GRIFFITH: Hydrolysis of cefamandole nafate to cefamandole *in vivo*. *J. Infect. Dis.* 137 (Suppl.): S17~S24, 1978
- 12) SHEMONSKY, N. K.; J. CARRIZOSA & M. E. LEVISON: *In vitro* activity and pharmacokinetics in patients of cefamandole, a new cephalosporin antibiotic. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 8: 679~683, 1975
- 13) EICKHOFF, T. C. & J. M. EHRET: *In vitro* comparison of cefoxitin, cefamandole, cephalixin, and cephalothin. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 9: 994~999, 1976
- 14) GRIFFITH, R. S.; H. R. BLACK, G. L. BRIER & J. D. WOLNY: Cefamandole: *In vitro* and clinical pharmacokinetics. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 10: 814~823, 1976
- 15) NEU, H. C.: Cefamandole, a cephalosporin antibiotic with an unusually wide spectrum of activity. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 6: 177~182, 1974
- 16) BODEY, G. P. & S. WEAVER: *In vitro* studies of cefamandole. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 9: 452~457, 1976
- 17) ERNST, E. C.; S. BERGER, M. BARZA, N. V. JACOBUS & F. P. TALLY: Activity of cefamandole and other cephalosporins against aerobic and anaerobic bacteria. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 9: 852~855, 1976
- 18) WATANAKUNAKORN, C. & C. GLOTZBECKER: Evaluation of the capillary beta-lactamase test and antimicrobial susceptibility of *Haemophilus influenzae*. *Am. J. Clin. Pathol.* 68: 351~354, 1977
- 19) FU, K. P. & H. C. NEU: A comparative study of the activity of cefamandole and other cephalosporins and analysis of the β -lactamase stability and synergy of cefamandole and aminoglycosides. *J. Infect. Dis.* 137 (Suppl.): S38~S48, 1978
- 20) O'CALLAGHAN, C. H.: Classification of cephalosporins by their antibacterial activity and pharmacokinetic properties. *J. Antimicrob. Chemother.* 1 (Suppl.): [1~12, 1975
- 21) SELWYN, S.: Cefamandole and β -lactamases. *Br. Med. J.* 1: 1548~1549, 1978
- 22) NEU, H. C.: The role of β -lactamases in the resistance of gram-negative bacteria to penicillin and cephalosporin derivatives. *Infect. Dis. Rev.* 3: 133~150, 1973

- 23) GREENWOOD, D.: Response profiles: A method of evaluating the activity of β -lactam antibiotics against enterobacteria. *Chemotherapy* 23: 11~18, 1977
- 24) FINDELL, C. M. & J. C. SHERRIS: Susceptibility of *Enterobacter* to cefamandole: Evidence for a high mutation rate of resistance. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 6: 970~974, 1976

IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CEFAMANDOLE

TADASHI YOSHIDA, KIYOSHI MOTOKAWA, YASUO KAMEDA,
KAZUHISA MURAKAMI and MASAO NAKANO
Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.

Cefamandole is a semisynthetic cephalosporin for parenteral use. It is highly active against gram-positive and gram-negative bacteria except *Pseudomonas aeruginosa*. It has expanded antibacterial spectra which includes *Enterobacter* and indole-positive *Proteus* and activity equivalent to ampicillin against *Haemophilus influenzae*.

Susceptibility of clinical isolates of pathogenic bacteria to cefamandole was measured by agar dilution method. All of the tested strains of *Staphylococcus aureus* and *H. influenzae* were inhibited at below 0.78 $\mu\text{g/ml}$. At a concentration of 3.13 $\mu\text{g/ml}$, over 90% of the isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Proteus mirabilis*, 80% of *Escherichia coli* and *Citrobacter freundii*, 70% of *Enterobacter* sp. and 60% of indole-positive *Proteus* were susceptible to cefamandole. Most isolates of *Proteus vulgaris* and *Serratia marcescens* were resistant to 100 $\mu\text{g/ml}$. The cross susceptibility of cefamandole to either cefazolin or cefoxitin revealed predominancy of the above-mentioned gram-negative pathogens which were more susceptible to cefamandole than to the others with exception of *S. marcescens* and *P. vulgaris*, to which cefoxitin is most active. A 100-fold increase in the inoculum resulted in decreased susceptibility of some organisms.

Cefamandole was markedly bactericidal even at a concentration less than the agar dilution MIC; this was supported by its rapid lysis of the bacterial cells treated with this antibiotic.

Cefamandole is stable to some of the β -lactamases derived from gram-negative bacteria and tends to be more resistant to hydrolysis by cephalosporinase-type than by penicillinase-type. This appears well reflected to its activity against *Enterobacter* and indole-positive *Proteus*.