

新しいセファロsporin系抗生物質 Cefuroxime に関する細菌学的評価

大 槻 雅 子・宇 津 井 幸 男・日 置 恵 二

平 畑 賢 一・西 野 武 志

京都薬科大学微生物学教室

新しい Cephalosporin 系抗生物質 Cefuroxime に関する細菌学的評価を既知の Cephalothin と Cefazolin を比較薬として検討し、次のような成績を得た。

1. Cefuroxime は Cephalothin, Cefazolin と同様にグラム陽性菌、陰性菌に幅広い抗菌スペクトラムを有し、その抗菌力は特にグラム陰性菌においてすぐれていた。
2. 臨床分離株に対する感受性分布を検討した結果、ブドウ球菌では Cephalothin が良好な感受性を示したが、indole 陽性の変形菌を含むグラム陰性菌に対しては Cefuroxime が良好な成績を示した。
3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響を検討した結果、グラム陰性菌を用いた場合に Cephalothin, Cefazolin では酸性側で、Cefuroxime ではアルカリ側で抗菌力の増強を認めた。
4. 大腸菌、肺炎桿菌の増殖曲線に及ぼす影響を殺菌作用の面から検討した。3薬とも薬物濃度に応じた殺菌作用を認めることができたが、肺炎桿菌を用いた場合、短時間内における殺菌率に差が認められた。
5. マウスにおける血清中および臓器内濃度を検討したところ Cefuroxime の各臓器における濃度は15分にピークが存在し、腎、肝、血清、肺、脾の順であった。
6. マウス実験の感染症に対する治療効果は肺炎球菌、大腸菌、肺炎桿菌などいずれの菌株を用いた場合にも Cefuroxime の効果が他の2薬よりすぐれていた。特に Cephalothin, Cefazolin 感受性株を用いた場合より、それら耐性株を用いた場合にその差が顕著であった。

Cefuroxime は英国 Glaxo 社の研究所において開発された新しい注射用 Cephalosporin 系抗生物質である^{1),2)}。化学名は Sodium(6R, 7R)-3-carbamoyloxy-methyl-7-[(2Z)-2-methoxyimino (fur-2-yl) acetamido]-cephal-3-em-4-carboxylate で化学構造式は Fig. 1 に示した。分子式 $C_{16}H_{15}N_4NaO_8S$ 、分子量 446.4 の白色ないし淡黄色の結晶性粉末である。

本薬はグラム陽性、陰性菌群に対して広範囲な抗菌力を有し、7位の amino 基に2-methoxyiminofurylacetic acid が結合したことにより β -lactamase 活性を立体的に阻害すると考えられ、 β -lactamase を産生する *Enterobacter*, *Klebsiella*, indole 陽性 *Proteus* などにもすぐれた抗菌力を示すと報告されている^{4),5),6)}。また、本

薬は筋注、静注により比較的高い血中濃度が得られ、生体内で代謝を受けずに尿中に回収される⁷⁾。

今回、われわれは Cephalothin⁸⁾, Cefazolin^{9),10)} を比較薬として Cefuroxime に関する細菌学的評価を検討したので報告する。

I. 実験材料および実験方法

1) 使用菌株

教室保存のグラム陽性菌 20 株、グラム陰性菌 28 株および臨床材料から分離された *Staphylococcus aureus* 51 株, *Neisseria gonorrhoeae* 20 株, *Escherichia coli* 62 株, *Klebsiella pneumoniae* 40 株, *Enterobacter* sp. 13 株, *Serratia marcescens* 54 株, *Proteus vulgaris* 27 株, *Proteus mirabilis* 24 株, *Proteus morgani* 27 株, *Proteus rettgeri* 13 株を使用した。

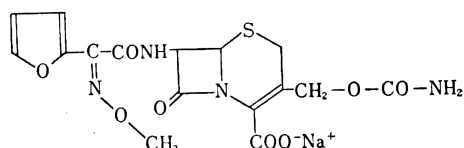
2) 使用薬

Cefuroxime(CXM), Cephalothin (CET), Cefazolin (CEZ) のいずれも力価の明らかなものを使用した。

3) 感受性測定法

前培養に Tryptosoya broth (ニッスイ)、感受性測定用培地に Heart infusion agar (ニッスイ) を用いる日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法¹¹⁾に従

Fig.1 Structure formula of cefuroxime, sodium salt



い、37°C、20時間培養後のMIC($\mu\text{g/ml}$)を求めた。なお、*Streptococcus* 属、*Corynebacterium diphtheriae* は10%馬脱繊維血液加 Heart infusion agar を用いて37°C、20時間培養後のMICを、*Clostridium* 属はThioglycollate medium(ニッスイ)を用いて37°C、48時間培養後のMICを求めた。また、*Neisseria* 属は1%の割合に Supplement(栄研)を加えた Gonococcus medium(栄研)を用いてローソク培養を行ない37°C、48時後のMICを求めた。

4) 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす培地 pH、馬血清添加、接種菌量の影響を *Staphylococcus aureus* 209-P JC、*Escherichia coli* NIH JC-2、*Klebsiella pneumoniae*、*Proteus mirabilis* 1287 株を試験菌として、Heart infusion broth(ニッスイ)を用いた液体希釈法によって37°C、20時間培養後のMICで求めた。すなわち培地pHの影響は培地中のpHを5、6、7、8、9に調整した条件下でのMICの変動、馬血清添加の影響は培地中の馬血清量を0、10、25、50%とした場合のMIC変動により検討した。また、接種菌量の影響は培地中の菌数を *Staphylococcus aureus* 209-P JC 株を用いた場合は $10^3 \sim 10^8$ cells/ml、その他の株の場合には $10^4 \sim 10^7$ cells/mlとしたときのMICの変動により求めた。

5) 殺菌作用

a) *Escherichia coli* No. 29 の場合

Tryptosoya broth で37°C、18時間培養した菌液をHeart infusion broth で希釈し、Biophotometer を用いて培養を行ない、菌数が 10^7 cells/mlに達したとき種々の濃度の試験薬を作用させた。以後6時間目まで生菌数の測定を行なった。

b) *Escherichia coli* ST-0198、*Klebsiella pneumoniae* の場合

Tryptosoya broth で37°C、18時間培養した菌液をHeart infusion broth で希釈し、振とう培養を行なった。約2~2.5時間後の対数期に種々の濃度の試験薬を作用させ、4時間まで生菌数を測定した。

6) マウスでの血清中、臓器内濃度

ddY 系雄マウス1群4匹を用い、CXM, CET, CEZ を1 mg/mouse (50 mg/kg)皮下投与した。以後7.5、15、30、60、90、120分目に採血、臓器(肝臓、腎臓、肺臓、脾臓)摘出を行ない、血清分離あるいは臓器ホモジネートを作製し、*Bacillus subtilis* ATCC 6633 を検定菌とするディスク法により求めた。

7) マウス実験的感染症に対する治療効果

ddY 系雄マウス、体重 19 ± 1 g、1群10匹を用い、*Streptococcus pneumoniae* type III の場合を除いて、

6% gastric mucin (Orthana-Kemisk-Fabrik-A/S) と等量混合した菌液を0.5 ml マウス腹腔内に接種し、2時間後に1回、CXM, CET, CEZ で皮下治療を行なった。7日間マウスの生死を観察し、7日目の生存率よりED₅₀を求めた。

a) *Streptococcus pneumoniae* type III 感染症

Streptococcus pneumoniae type III を10%馬血清加肉汁ブイヨンを用いて37°C、17時間培養を行なった。この菌液を生理食塩水で希釈し、0.25 ml (500LD₅₀)をマウス腹腔内に接種した。

b) Cephalosporin 耐性 *Escherichia coli* No. 21 感染症

臨床分離の cephalosporin 耐性 *Escherichia coli* No. 21 を Nutrient broth(ニッスイ)で37°C、14時間振とう培養後、同培地で希釈を行ない6% gastric mucin と等量混合した。この菌液12LD₅₀ (2.1×10^7 cells/mouse)をマウス腹腔内に接種した。

c) *Escherichia coli* No. 29 感染症

臨床分離の *Escherichia coli* No. 29 の菌液を上記b)と同様の方法で調整し、100LD₅₀ (1.0×10^8 cells/mouse)をマウス腹腔内に接種した。

d) *Escherichia coli* ST-0198 感染症

臨床分離 *Escherichia coli* ST-0198 の凍結保存液を融解後 Heart infusion broth で希釈を行ない6% gastric mucin と等量混合した。この菌液60LD₅₀ (8.0×10^3 cells/mouse)をマウス腹腔内に接種した。

e) *Klebsiella pneumoniae* 感染症

Klebsiella pneumoniae を Nutrient broth で37°C、18時間静置培養を行ないこの菌液を生理食塩水で希釈し、6% gastric mucin と等量混合した。5,000 LD₅₀ (5.5×10^3 cells/mouse)をマウス腹腔内に接種した。

f) *Klebsiella pneumoniae* 138 感染症

臨床分離の Cephalosporin 耐性 *Klebsiella pneumoniae* 138 の菌液を上記b)と同様の方法で調整し、70 LD₅₀ (2.5×10^7 cells/mouse)をマウス腹腔内に接種した。

g) *Serratia marcescens* T-55 感染症

臨床分離の *Serratia marcescens* T-55 を上記b)と同様の方法で菌液調整し、400 LD₅₀ (4.5×10^6 cells/mouse)をマウス腹腔内に接種した。

h) *Proteus morganii* 101 感染症

臨床分離の Cephalosporin 耐性 *Proteus morganii* 101 を上記b)と同様の方法で菌液調整し、100 LD₅₀ (5.0×10^6 cells/mouse)をマウス腹腔内に接種した。

II. 実験結果および考察

1. 抗菌スペクトラム

Table 1 Antibacterial spectrum

Gram-positive bacteria

Test strain	CXM	CET	CEZ
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0.78	0.19	0.19
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	1.56	0.19	0.19
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	1.56	0.78	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> Neumann	1.56	0.78	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	1.56	0.39	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 80 (PC-R)	1.56	0.78	1.56
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3.13	0.78	0.78
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23	0.011	0.09	0.19
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	0.011	0.19	0.19
<i>Streptococcus faecalis</i>	>100	50	100
<i>Streptococcus viridans</i>	>100	100	100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type I	0.011	0.19	0.09
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type II	0.011	0.19	0.09
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type III	0.011	0.19	0.19
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.09	0.09	0.78
<i>Bacillus subtilis</i> ATTC 6633	1.56	0.022	0.19
<i>Bacillus anthracis</i>	12.5	0.19	0.19
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	0.78	0.39	0.39
<i>Clostridium tetani</i>	0.19	0.19	0.19
<i>Clostridium perfringens</i>	3.13	3.13	1.56

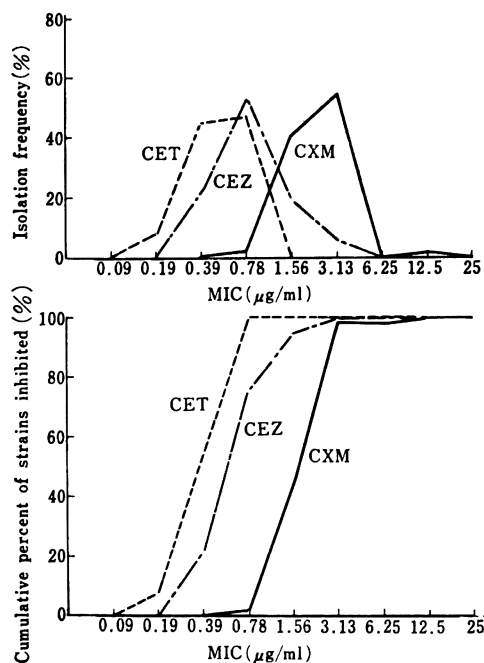
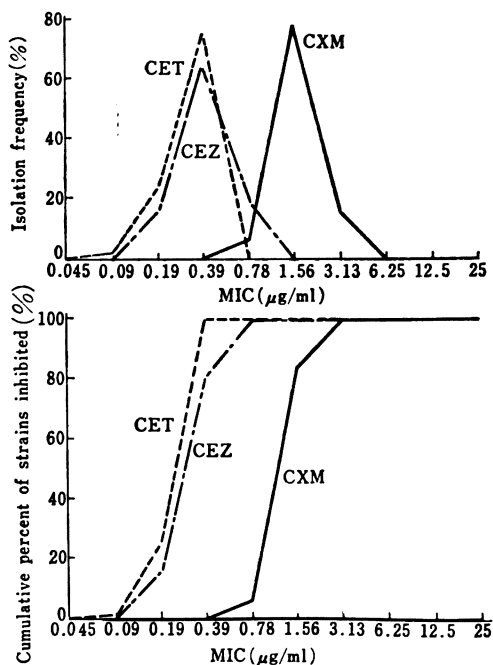
MIC ($\mu\text{g/ml}$)Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. aureus* 51 strains (10^6 cells/ml)Fig. 3 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. aureus* 51 strains (10^6 cells/ml)

Table 2 Antibacterial spectrum

Gram-negative bacteria

Test strain	CXM	CET	CEZ
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0.022	0.39	0.39
<i>Neisseria meningitidis</i>	0.045	0.39	0.39
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	6.25	25	3.13
<i>Escherichia coli</i> NIH	0.78	12.5	3.13
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	6.25	>100	>100
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.78	0.78	0.78
<i>Salmonella typhi</i> O-901	0.39	0.78	1.56
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.78	1.56	3.13
<i>Salmonella paratyphi</i> B	1.56	1.56	3.13
<i>Salmonella enteritidis</i>	12.5	6.25	3.13
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	3.13	6.25	3.13
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	1.56	6.25	1.56
<i>Shigella boydii</i> EW-28	3.13	25	3.13
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	1.56	12.5	1.56
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.78	3.13	3.13
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	1.56	3.13	6.25
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	12.5	>100	>100
<i>Enterobacter aerogenes</i>	6.25	>100	>100
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10036	50	>100	>100
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	50	>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	0.39	3.13	6.25
<i>Proteus morgani</i> Kono	50	>100	>100
<i>Proteus rettgeri</i> NIH 96	≤0.19	>100	>100
<i>Proteus inconstans</i> NIH 118	12.5	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	>100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Nc-5	>100	>100	>100

MIC (μg/ml)

Fig. 4 Cross sensitivity (10⁸cells/ml) *S. aureus* 51 strains

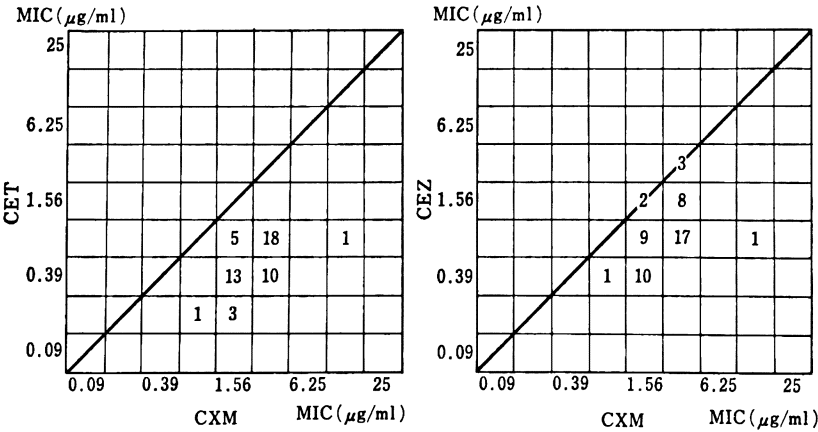
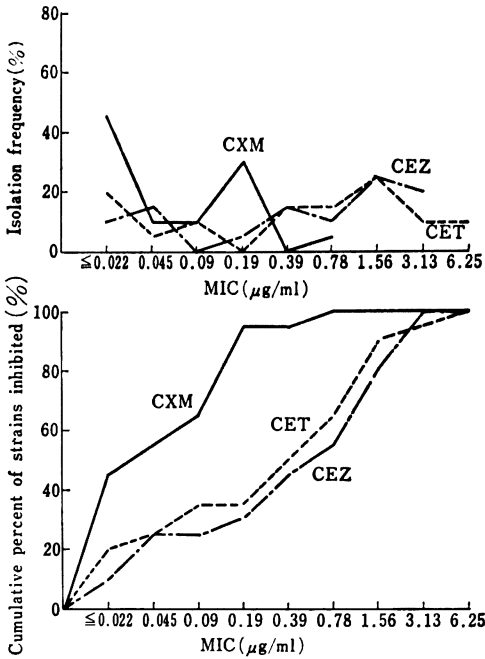


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates *Neisseria gonorrhoeae* 20 strains (10^8 cells/ml)



教室保存のグラム陽性菌、陰性菌に対する試験管内抗菌力について検討した結果を Table 1, 2 に示した。CXM は CET, CEZ 同様グラム陽性菌、陰性菌に幅広い抗菌スペクトラムを有している。その抗菌力を比較すると *Staphylococcus* では、CXM は 0.78~1.56 $\mu\text{g/ml}$ に感受性を示し、CET, CEZ に比べるとやや劣るようで

ある。*Streptococcus faecalis* および *Streptococcus viridans* には $>100 \mu\text{g/ml}$ と感受性を示さなかったが、CET, CEZ も 50~100 $\mu\text{g/ml}$ であった。しかし、*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* には、CXM は 0.011 $\mu\text{g/ml}$ に感受性を示し、他の 2 薬に比べてすぐれていた。一方、グラム陰性菌では、*Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* に対して CXM が 0.022~0.045 $\mu\text{g/ml}$ に感受性を示し、CET, CEZ に比べると 8~16 倍すぐれた効果を示した。また *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Proteus mirabilis* に対して、CXM は 0.39~12.5 $\mu\text{g/ml}$ に、CET は 0.78~25 $\mu\text{g/ml}$, CEZ は 0.78~6.25 $\mu\text{g/ml}$ に感受性を示し、CXM は CEZ とほぼ同等かやや良好な抗菌力を有していた。しかし、CET や CEZ が $>100 \mu\text{g/ml}$ である *Citrobacter*, *Enterobacter Hafnia*, indole 陽性の *Proteus* には $\leq 0.19\sim 50 \mu\text{g/ml}$ に感受性を示し、これら耐性菌にも有効であった。*Pseudomonas aeruginosa* には $>100 \mu\text{g/ml}$ と 3 薬とも抗菌力を示さなかった。

以上のことにより、CXM は CET, CEZ 同様グラム陽性菌、陰性菌に有効であるが、グラム陰性菌に対する抗菌力がすぐれていることが特徴であると思われる。

2. 臨床分離株に対する感受性分布と感受性相関

臨床的に分離された *Staphylococcus aureus* 51 株, *Neisseria gonorrhoeae* 20 株, *Escherichia coli* 62 株, *Klebsiella pneumoniae* 40 株, *Enterobacter* sp. 13 株, *Serratia marcescens* 54 株, *Proteus vulgaris* 27 株, *Proteus mirabilis* 24 株, *Proteus morgani* 27 株, *Proteus rettgeri* 13 株に対する感受性分布、累積分布と 10^8 cells/ml 接種時の感受性相関を検討した成績を Fig. 2~30 に示した。

Fig. 6 Cross sensitivity (10^8 cells/ml) *Neisseria gonorrhoeae* 20 strains

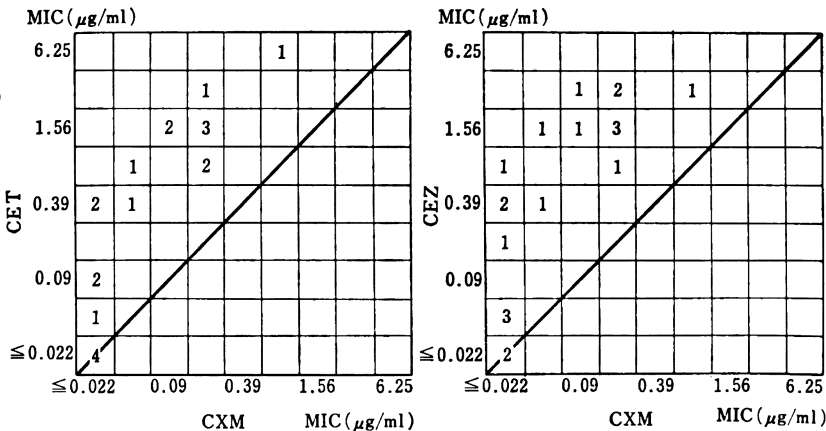


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates *Escherichia coli* 62 strains (10^8 cells/ml)

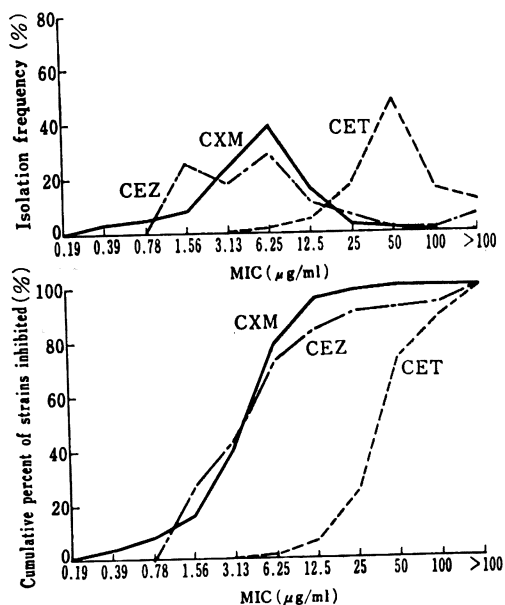


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates *Escherichia coli* 62 strains (10^6 cells/ml)

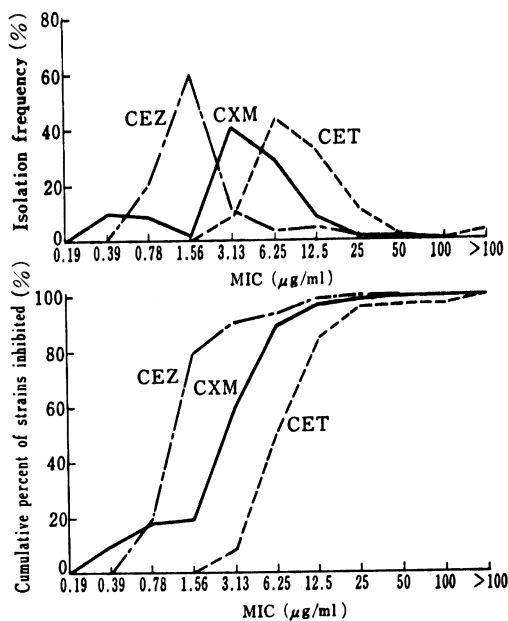
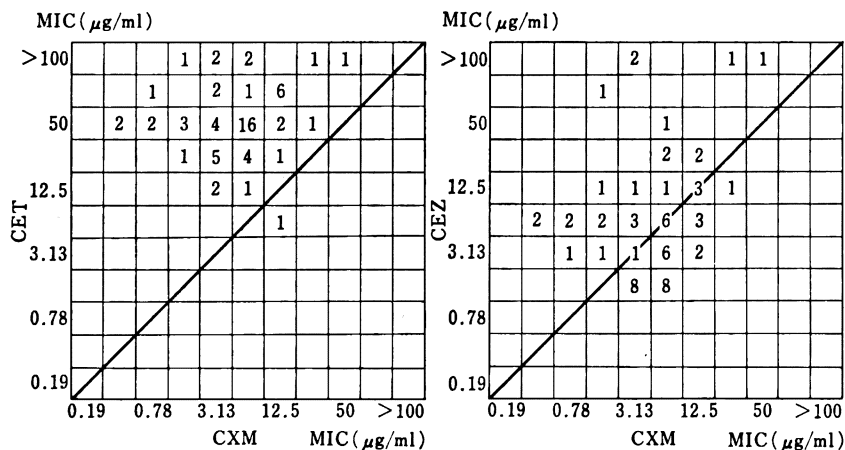


Fig. 9 Cross sensitivity (10^8 cells/ml) *Escherichia coli* 62 strains



a) *Staphylococcus aureus* の場合

Fig. 2 は、接種菌量が 10^8 cells/ml, Fig. 3 は接種菌量が 10^6 cells/ml の場合の成績でどちらも表の上段は感受性の分布、下段はそのときの分布を累積百分率で示している。 10^8 cells/ml 接種時の成績を見ると、CXM は $0.78 \sim 25 \mu\text{g/ml}$, CET は $0.19 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$, CEZ は $0.39 \sim 3.13 \mu\text{g/ml}$ に分布し、CXM では $3.13 \mu\text{g/ml}$, CET では $0.39 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$, CEZ では $0.78 \mu\text{g/ml}$ にピークを有する 1 峰性の分布が認められ、CET, CEZ,

CXM の順に良好な感受性を示した。 10^6 cell/ml 接種時には 10^8 cell/ml 接種時に比べ 2 倍程度感受性が良好となった。中でも CEZ の感性化が著しく、CET とほぼ同等の成績を示した。感受性相関は Fig. 4 に示すとおりで、CET より CEZ との間では相関関係が認められた。

b) *Neisseria gonorrhoeae* の場合

Fig. 5 に示すように CXM では $\leq 0.022 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$, CET では $\leq 0.022 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$, CEZ では $\leq$

Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates *Klebsiella pneumoniae* 40 strains (10^8 cells/ml)

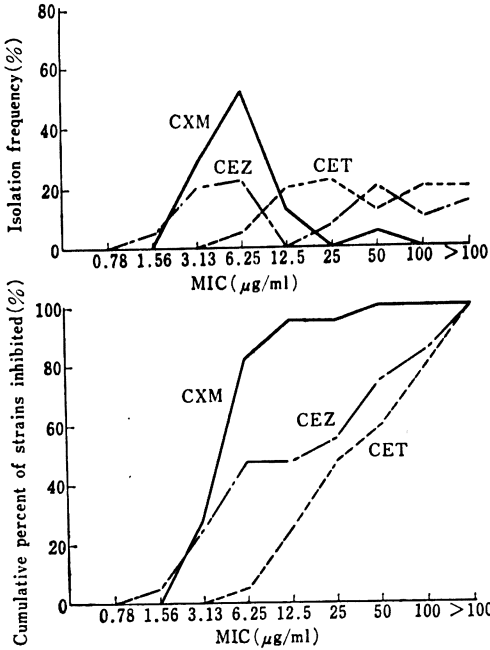


Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates *Klebsiella pneumoniae* 40 strains (10^6 cells/ml)

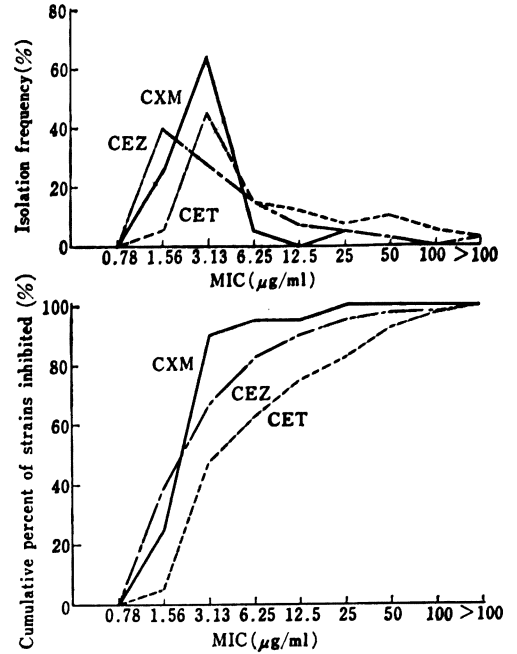
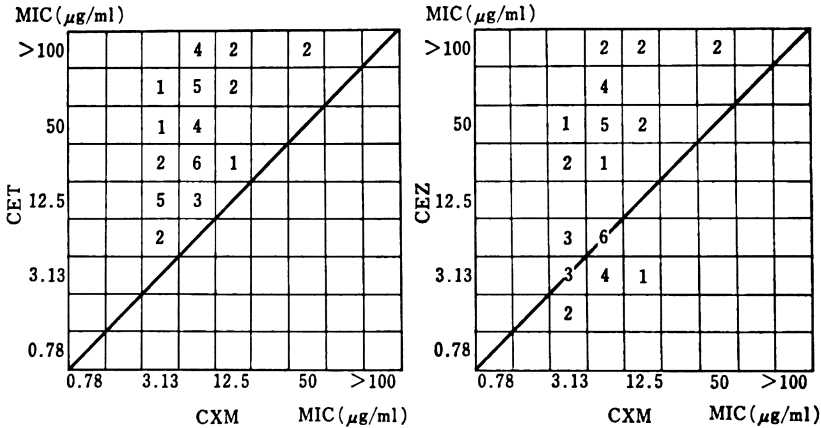


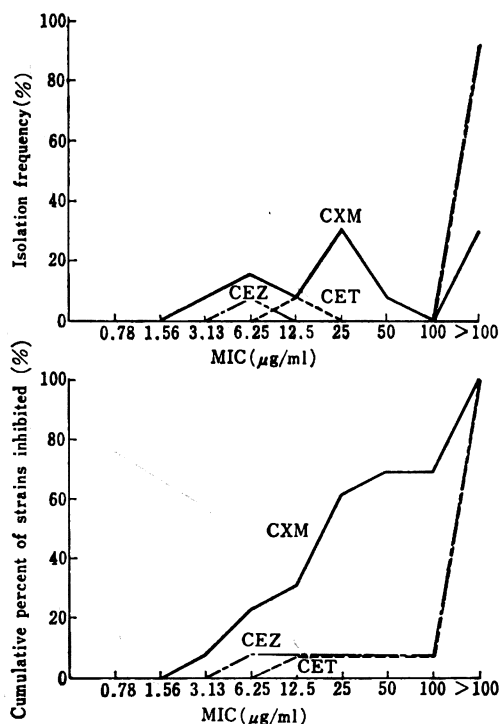
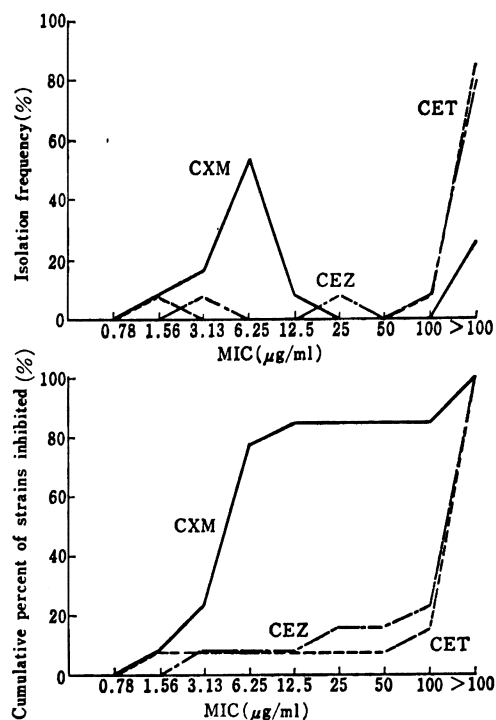
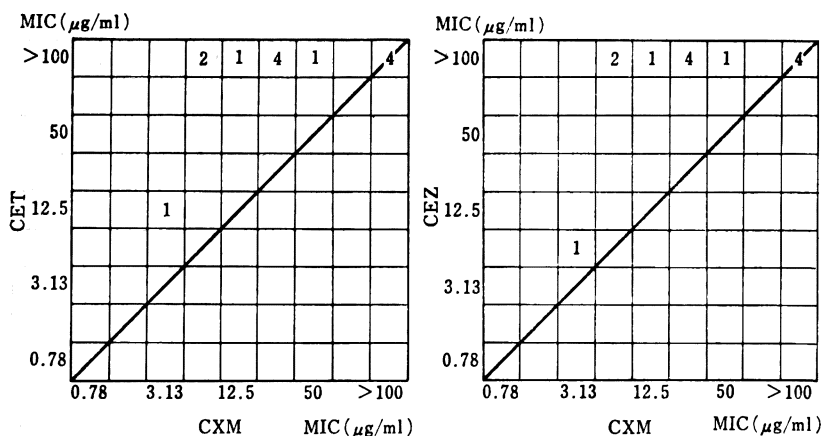
Fig. 12 Cross sensitivity (10^8 cells/ml) *Klebsiella pneumoniae* 40 strains



0.022~3.13 $\mu\text{g/ml}$ に分布し, CXM は CET, CEZ に比べて良好な感受性を示し, 0.045 $\mu\text{g/ml}$ 以下に 50% の株が MIC を有していた。この場合の感受性相関は Fig. 6 で CXM と CET, CEZ 間に相関関係は認められなかった。

c) *Escherichia coli* の場合

Fig. 7 は 10^8 cells/ml 接種時の成績で, CXM は 0.39 ~50 $\mu\text{g/ml}$, CET は 6.25~>100 $\mu\text{g/ml}$, CEZ は 1.56 ~>100 $\mu\text{g/ml}$ に分布し, CXM, CEZ はほとんど同じ分布を示した。Fig. 8 は 10^6 cells/ml 接種時の成績で, CXM は 10^8 cells/ml 接種時とほとんど変わらない分布であったが, CET, CEZ の感性化が認められた。Fig. 9 は

Fig. 13 Sensitivity distribution of clinical isolates *Enterobacter* sp. 13 strains (10^8 cells/ml)Fig. 14 Sensitivity distribution of clinical isolates *Enterobacter* sp. 13 strains (10^8 cells/ml)Fig. 15 Cross sensitivity (10^8 cells/ml) *Enterobacter* sp. 13 strain

相関関係を見たものであるが、CET とは相関関係は認められず、CEZ との間で MIC の低い部分で相関関係が認められた。CEZ >100 $\mu\text{g/ml}$ の耐性菌に対しては、CXM は ≤ 50 $\mu\text{g/ml}$ で増殖抑制を示した。

d) *Klebsiella pneumoniae* の場合

10^8 cells/ml 接種時の成績は Fig. 10 に示すとおりで、

CXM は 3.13~50 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、6.25 $\mu\text{g/ml}$ にピークを有する 1 峰性の分布を呈したが、CET では 6.25~ >100 $\mu\text{g/ml}$ 、CEZ では 1.56~ >100 $\mu\text{g/ml}$ の幅広い分布であった。CXM は感受性値の低い部分では CEZ とほぼ同様の MIC を示したが感受性値の高い菌に対しては CXM の方がすぐれた効果を示した。すなわち、

Fig. 16 Sensitivity distribution of clinical isolates *Serratia marcescens* 54 strains (10^8 cells/ml)

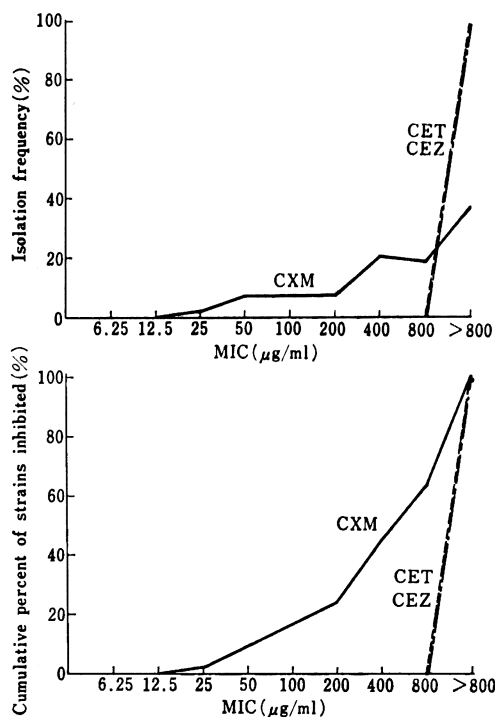


Fig. 17 Sensitivity distribution of clinical isolates *Serratia marcescens* 54 strains (10^8 cells/ml)

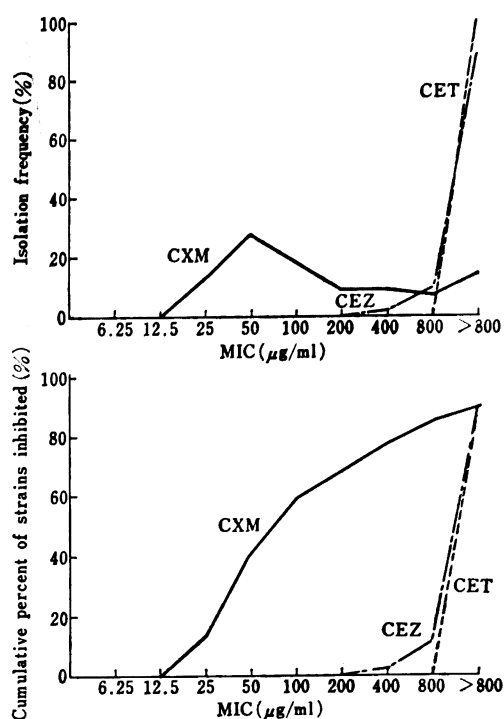
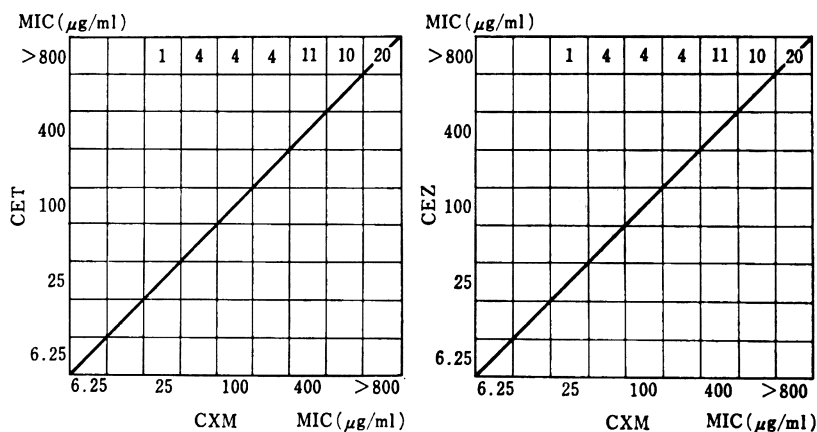


Fig. 18 Cross sensitivity (10^8 cells/ml) *Serratia marcescens* 54 strains

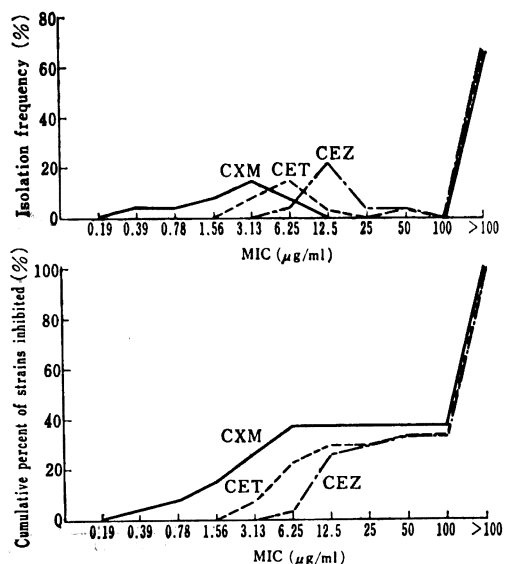
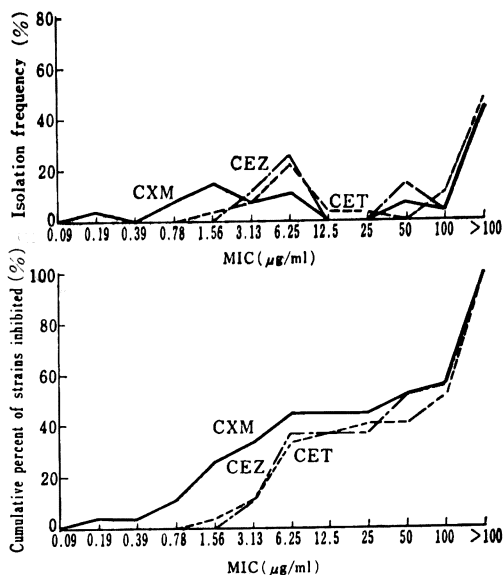
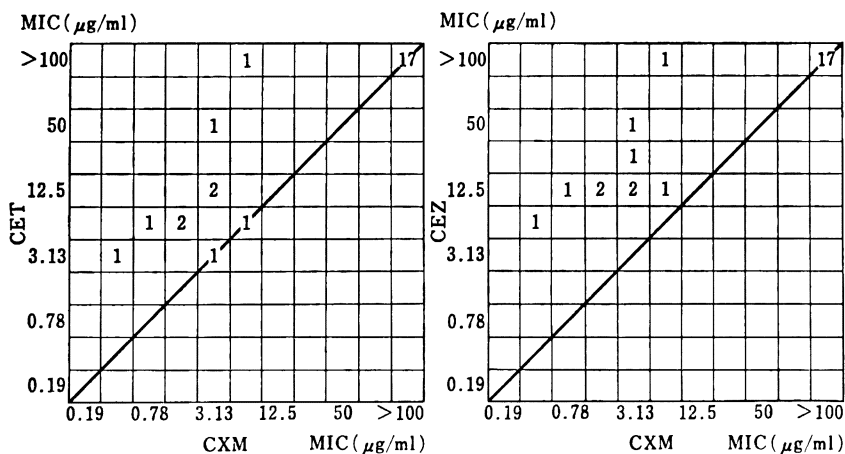


CXM の $6.25 \mu\text{g/ml}$ では約 80% の菌株が増殖を抑制されるのに反し、CEZ では同じ濃度で約 45% しか増殖を阻止されなかった。 10^8 接種時の成績は Fig. 11 で 10^8 cells/ml 接種時に比べて全体に感性化が見られた。感受性相関は Fig. 12 に示すとおりで、CET, CEZ に $> 100 \mu\text{g/ml}$ を示す菌株に CXM は $6.25 \sim 50 \mu\text{g/ml}$ で

抗菌力を示し、*Escherichia coli* の場合と同様 CET あるいは CEZ 間で交差耐性を示す株は認められなかった。

e) *Enterobacter* sp. の場合

Fig. 13 は 10^8 cells/ml, Fig. 14 は 10^6 cells/ml 接種時の成績で、いずれの場合も CET, CEZ の 80~90%

Fig.19 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus vulgaris* 27 strains (10^6 cells/ml)Fig.20 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus vulgaris* 27 strains (10^6 cells/ml)Fig. 21 Cross sensitivity (10^6 cells/ml) *Proteus vulgaris* 27 strains

近くが $>100 \mu\text{g/ml}$ の耐性を示すのに比べて、CXM では 10^6 cells/ml で約 60% が $25 \mu\text{g/ml}$ 以下、 10^6 cells/ml で約 80% が $6.25 \mu\text{g/ml}$ 以下に感受性を示し、CXM は非常に優れた効果を示した。Fig. 15 の感受性相関では CET, CEZ 耐性菌に CXM が $6.25 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ を示し、3薬に $>100 \mu\text{g/ml}$ を示す菌を 4 株認めた。

f) *Serratia marcescens* の場合

Fig. 16, 17, 18 に示すように 10^6 cells/ml, 10^6 cells/ml いずれの接種時においても CET, CEZ は $>800 \mu\text{g/ml}$ と抗菌力を有しなかった。一方 CXM は $25 \sim >800$

$\mu\text{g/ml}$ に分布し、他の 2 薬に比べて良好な感受性を示した。しかし Fig. 18 に示すように 3 薬に $>800 \mu\text{g/ml}$ を示す耐性菌は 10^6 cells/ml の場合 20 株認められた。

g) *Proteus vulgaris* の場合

Fig. 19, 20 に示す成績が得られた。 10^6 cells/ml, 10^6 cells/ml 接種時には CXM, CET, CEZ の感受性の間に大きな差は認められず、3 薬とも約 65% の株が $>100 \mu\text{g/ml}$ を示した。感受性相関は Fig. 21 に示すとおりで 3 薬に $>100 \mu\text{g/ml}$ を示す株は 17 株存在した。

h) *Proteus mirabilis* の場合

Fig. 22 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus mirabilis* 24 strains (10^8 cells/ml)

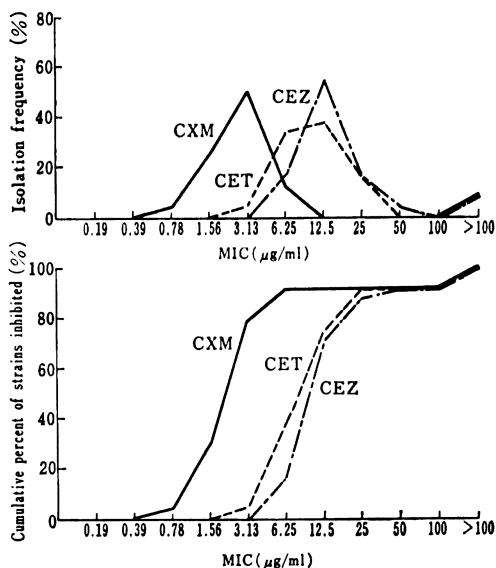


Fig. 23 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus mirabilis* 24 strains (10^6 cells/ml)

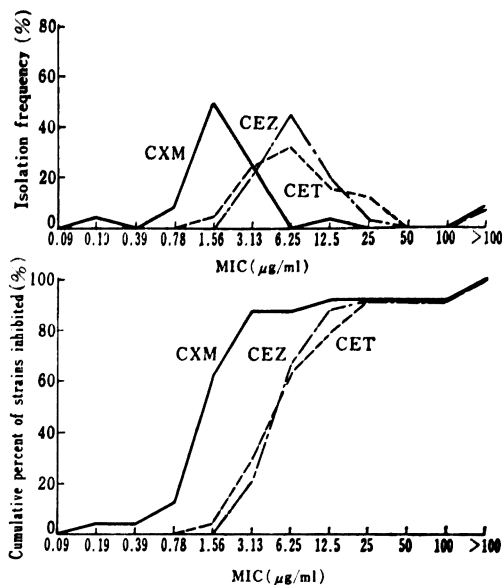


Fig. 24 Cross sensitivity (10^8 cells/ml) *Protes mirabilis* 24 strains

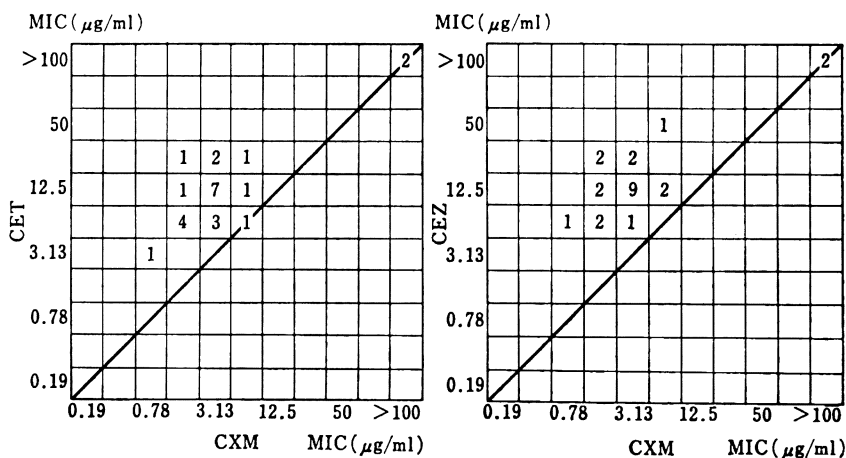


Fig. 22, 23 に示すとおり indole 陰性の *Proteus mirabilis* の場合には g) の indole 陽性の *Proteus vulgaris* の場合とは異なり, 10^8 cells/ml 接種時にはほとんどの株が CXM で 0.78~6.25 $\mu\text{g/ml}$, CET で 3.13~25 $\mu\text{g/ml}$, CEZ で 6.25~50 $\mu\text{g/ml}$ に分布を示し, >100 $\mu\text{g/ml}$ の菌は約 8% であった。この場合の抗菌力は CXM>CEZ=CET の順に良好であった。 10^8 cells/ml 接種でも同様の傾向が認められた。Fig. 24 に示す感受性相関では 3 薬に >100 $\mu\text{g/ml}$ の株は 2 株認められた。その他の株では CXM と CET, CEZ 間に相関関係

は認められなかった。

i) *Proteus morganii* の場合

Fig. 25, 26 に示す成績が得られ, Fig. 25 に示す 10^8 cells/ml 接種の場合 CEZ ではほとんどの株が >100 $\mu\text{g/ml}$ であったが, CXM では約 55% の株が 50 $\mu\text{g/ml}$ 以下に感受性を示した。 10^6 cells/ml の場合には CXM の感性化が著しかった。Fig. 27 の感受性相関で CXM と CET あるいは CEZ に >100 $\mu\text{g/ml}$ を示す株が 5~7 株認められた。

j) *Proteus rettgeri* の場合

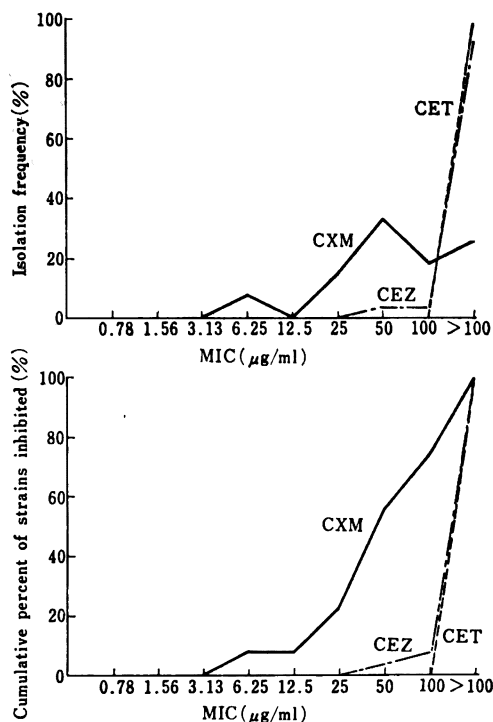
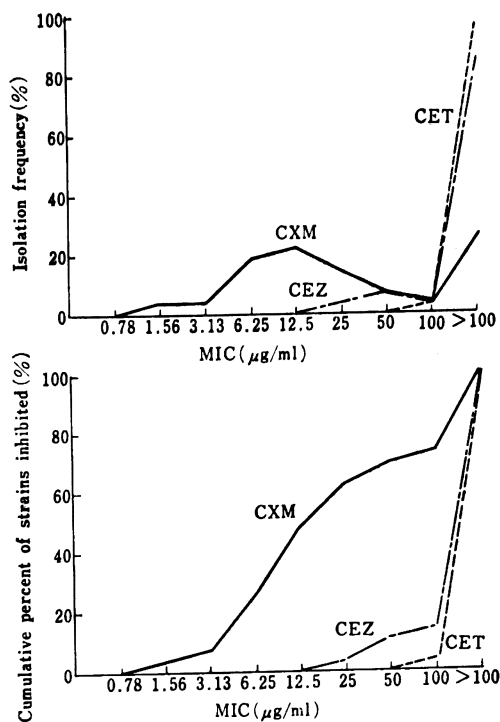
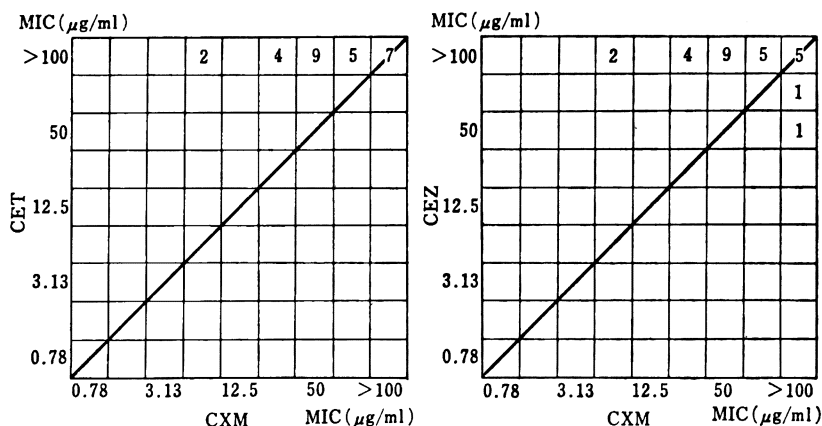
Fig. 25 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus morganii* 27 strains (10^6 cells/ml)Fig. 26 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus morganii* 27 strains (10^6 cells/ml)Fig. 27 Cross sensitivity (10^6 cells/ml) *Proteus morganii* 27 strains

Fig. 28, 29 に示すとおりで 10^6 cells/ml 接種で CET, CEZ のほとんどの株が $>100 \mu\text{g/ml}$ を示すのに比べて CXM では $0.78 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ に幅広い感受性の分布を示し, $\text{CXM} > \text{CEZ} = \text{CET}$ の順に抗菌力を示した。 10^6 cells/ml では 3 薬とも感敏性が目立ったが抗菌力は, $\text{CXM} > \text{CEZ} > \text{CET}$ の順であった。感受性相関は Fig. 30

に示すとおりで, 3 薬に $>100 \mu\text{g/ml}$ を示す株が 1 株認められた。

O'CALLAGHAN^{1), 2), 3)} らによると本薬は penicillinase 産生 *Staphylococcus*, *Pneumococcus*, *Streptococcus*, および β -lactamase 非産生グラム陰性菌に対して強い抗菌力を示すと報告されており, 特に *Enterobacter*,

Fig. 28 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus rettgeri* 13 strains (10^8 cells/ml)

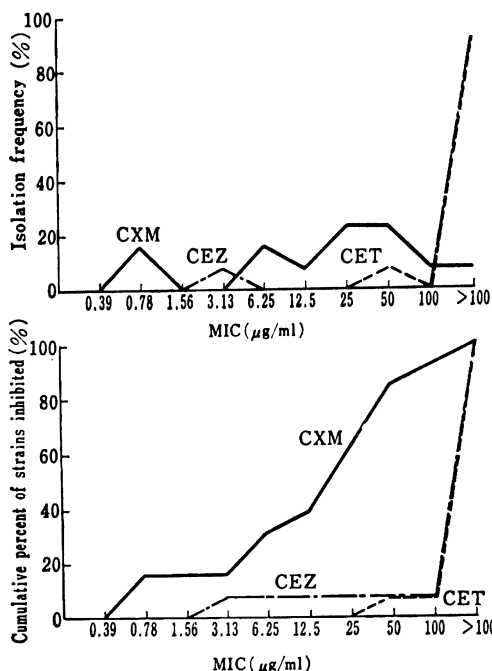


Fig. 29 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus rettgeri* 13 strains (10^6 cells/ml)

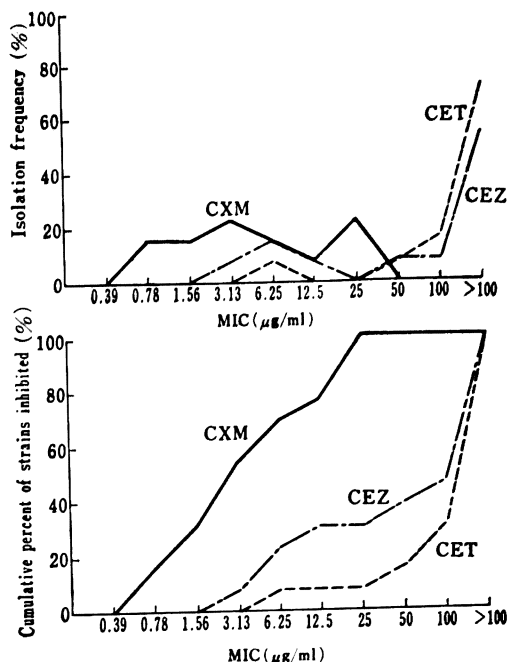
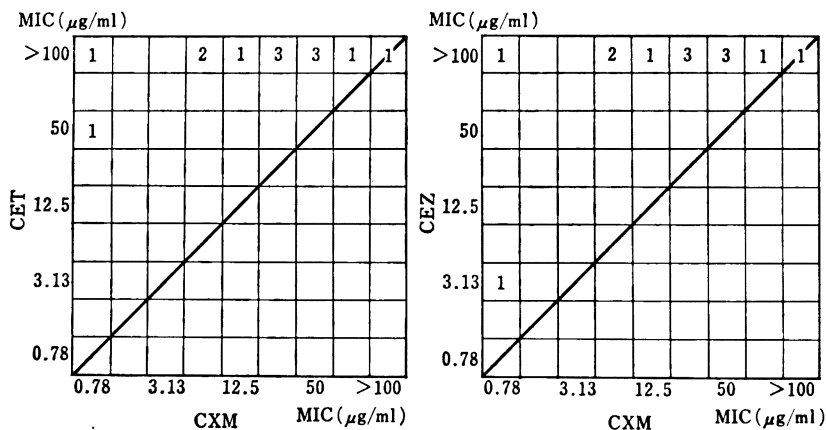


Fig. 30 Cross sensitivity (10^8 cells/ml) *Proteus rettgeri* 13 strains



Klebsiella, indole 陽性 *Proteus* さらに *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* に対して, 他の cephalosporin 剤よりも抗菌力強いとされている。また, GEORGE ら¹⁾は CET 耐性, Gentamicin 感性 *Klebsiella*, *Escherichia coli* において CXM が Cefoxitin と同程度の感受性を示し効果があるとしている。今回のわれわれの実験では *Staphylococcus* には CET, CEZ に

比べて CXM の抗菌力がやや劣るが *Neisseria*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, indole 陰性の *Proteus mirabilis*, indole 陽性の *Proteus morganii*, *Proteus rettgeri* に対し, CET, CEZ よりすぐれた効果を示すことを認めた。しかし, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* では CEZ とほぼ同程度の感受性であった。また EYKYN²⁾はグラム陰性桿菌において接種菌量により

Table 3(a) Influence of pH on the antibacterial activity

Organism	pH	CXM	CET	CEZ
<i>S. aureus</i> 209-P JC	9	1.56	0.19	0.39
	8	1.56	0.19	0.19
	7	1.56	0.09	0.09
	6	0.39	0.045	0.09
	5	≤0.09	≤0.022	0.022
<i>E. coli</i> NIH JC-2	9	3.13	50	12.5
	8	3.13	25	6.25
	7	6.25	25	3.13
	6	12.5	12.5	3.13
	5	12.5	6.25	1.56
<i>K. pneumoniae</i>	9	3.13	6.25	12.5
	8	3.13	6.25	12.5
	7	3.13	6.25	6.25
	6	6.25	12.5	6.25
	5	50	12.5	6.25
<i>P. mirabilis</i> 1287	9	0.39	12.5	25
	8	0.78	6.25	12.5
	7	0.78	6.25	6.25
	6	0.78	6.25	6.25
	5	1.56	6.25	6.25

MIC (μg/ml)

Table 3(b) Influence of horse serum on the antibacterial activity

Organism	Horse serum (%)	CXM	CET	CEZ
<i>S. aureus</i> 209-P JC	0	0.78	0.19	0.19
	10	0.78	0.19	0.19
	25	0.78	0.39	0.39
	50	1.56	0.78	0.39
<i>E. coli</i> NIH JC-2	0	6.25	12.5	1.56
	10	6.25	25	3.13
	25	12.5	25	6.25
	50	25	50	12.5
<i>K. pneumoniae</i>	0	3.13	6.25	3.13
	10	3.13	6.25	3.13
	25	3.13	6.25	3.13
	50	6.25	12.5	6.25
<i>P. mirabilis</i> 1287	0	0.78	6.25	6.25
	10	0.78	6.25	12.5
	25	1.56	6.25	12.5
	50	3.13	12.5	25

MIC (μg/ml)

Table 3(c) Influence of inoculum size on the antibacterial activity

Organism	Inoculum size (cells/ml)	CXM	CET	CEZ
<i>S. aureus</i> 209-P JC	5.0×10^6	3.13	0.39	0.39
	5.0×10^5	1.56	0.19	0.39
	5.0×10^4	0.78	0.19	0.19
	5.0×10^3	0.78	0.09	0.19
<i>E. coli</i> NIH JC-2	1.1×10^7	25	50	6.25
	1.1×10^6	12.5	50	3.13
	1.1×10^5	6.25	25	3.13
	1.1×10^4	6.25	12.5	3.13
<i>K. pneumoniae</i>	2.2×10^7	25	25	25
	2.2×10^6	12.5	12.5	12.5
	2.2×10^5	3.13	6.25	3.13
	2.2×10^4	3.13	3.13	3.13
<i>P. mirabilis</i> 1287	1.2×10^7	12.5	>100	100
	1.2×10^6	0.78	12.5	12.5
	1.2×10^5	0.78	6.25	6.25
	1.2×10^4	0.39	3.13	6.25

MIC (μg/ml)

CXM の抗菌力が変動すると報告しているが今回、われわれも 10^6 cells/ml と 10^5 cells/ml 接種で、接種菌量が減少した場合抗菌力が数倍良好となる結果を得ることができた。

3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

Staphylococcus aureus 209-P JC, *Escherichia coli* NIH JC-2, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* 1287 株を用いて抗菌力に及ぼす培地 pH, 馬血清添加, および接種菌量の影響について検討した結果を Table 3 に示した。a) の培地 pH の影響では *Staphylococcus aureus* 209-P JC の場合, CXM, CET, CEZ とともに酸性側で抗菌力の増強が認められた。*Escherichia coli* NIH JC-2, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* 1287 の場合には CXM ではアルカリ側で抗菌力が良好となったが, CET, CEZ では酸性側で良好となるか, ほとんど変化がみられなかった。b) の馬血清添加の影響では血清の添加量が増すと CXM, CET, CEZ いずれの菌株においても抗菌力の減弱が認められた。c) の接種菌量の影響では, CXM, CET, CEZ とともに接種菌量が増すと抗菌力に変動を受け, *Staphylococcus aureus* 209-P JC, *Escherichia coli* NIH JC-2, *Klebsiella pneumoniae* の場合には $2 \sim 8$ 倍程度の抗菌力の減弱が認められた。*Proteus mirabilis* 1287 の場合には抗菌力の変動が大きく, $10^4 \sim 10^7$ cells/ml の間で $16 \sim >32$ 倍の変動であった。

Fig. 31(a) Bactericidal effect of CXM against *E. coli* No. 29

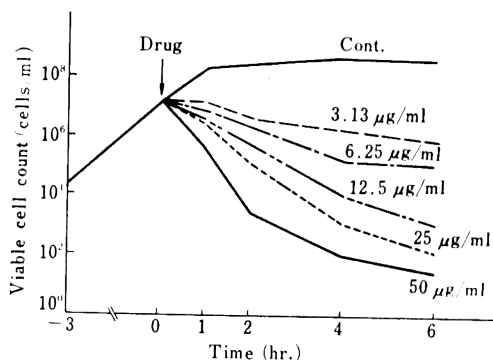


Fig. 31(b) Bactericidal effect of CET against *E. coli* No. 29

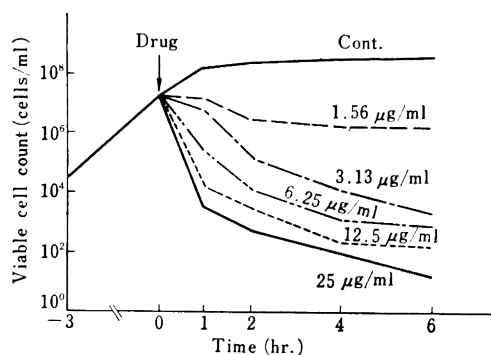
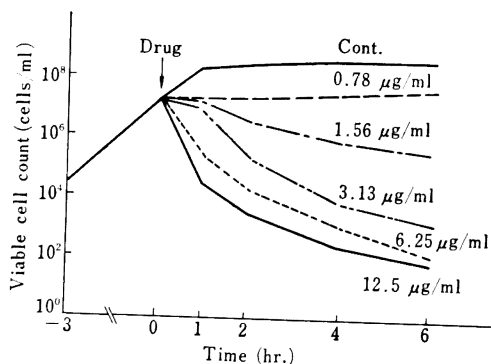


Fig. 31(c) Bactericidal effect of CEZ against *E. coli* No. 29



4. 殺菌作用

a) *Escherichia coli* No. 29 の場合

Biophotometer を用い CXM の殺菌作用を検討した成績が Fig. 31 である。*Escherichia coli* No. 29 に対

する MIC は CXM で $12.5 \mu\text{g/ml}$, CET で $6.25 \mu\text{g/ml}$, CEZ で $3.13 \mu\text{g/ml}$ であり, 対数期途中の $2.0 \times 10^7 \text{ cells/ml}$ でそれぞれの薬物を MIC 濃度を中心に 1/2, 1/4, 2, 4 倍作用させ, その殺菌効果を検討したものである。いずれの薬物を作用させた場合にも作用後 6 時間まで作用濃度に応じた殺菌作用が認められた。

b) *Escherichia coli* ST-0198 の場合

Escherichia coli ST-0198 の対数期途中の $1.5 \times 10^6 \text{ cells/ml}$ で各々の薬物を図中に示す MIC 濃度とその 1/2, 5, 10 倍濃度作用させ, 4 時間まで生菌数を測定した結果が Fig. 32 である。CXM, CET, CEZ 作用で濃度に応じた殺菌作用の発現を認めることができた。

c) *Klebsiella pneumoniae* の場合

b) の場合と同様の方法で対数期途中の $6.0 \times 10^5 \text{ cells/ml}$ で薬物を作用させた成績が Fig. 33 である。CXM の場合には Fig. 33(a) に示すように MIC 濃度作用では静菌的な作用しか認められず, 10MIC 濃度作用では 1 時間目以降に殺菌作用が現われ, 1 時間目ではいずれの濃度においても殺菌作用を認めることはできなかった。(b) の CET ではいずれの濃度についても殺菌作用が認められたが 1/2~5 MIC 濃度作用では (a) の CXM 同様 1 時間目までの殺菌作用は認められなかった。(c) の CEZ 作用では濃度に応じた殺菌効果が認められ, 1 時間目の殺菌率に 3 薬間で差が認められた。

5. マウスにおける血清中および臓器内濃度

マウスに CXM, CET, CEZ を 1 mg/mouse 皮下投与した場合の血清中および腎臓, 肝臓, 肺臓, 脾臓内の濃度を検討した成績が, Fig. 34 である。CXM では (a) に示すとおり, 薬物投与後 15 分には腎で最高値 $173.5 \mu\text{g/g}$ を示し, 次いで肝の $117.1 \mu\text{g/g}$, 血清の $58 \mu\text{g/ml}$, 肺の $24.5 \mu\text{g/g}$, 脾の順で, 120 分後にはいずれの臓器においても CXM を測定することはできなかった。CET の場合には 3 薬中最も低い成績しか得られなかったが CET の移行の順は腎, 血清, 肝, 肺, 脾であった。CEZ では, 15 分にピークが認められ, 腎の $158.6 \mu\text{g/g}$, 血清の $111.3 \mu\text{g/ml}$, 肝の $59.9 \mu\text{g/g}$, 肺の $17.8 \mu\text{g/g}$, 脾の $10.6 \mu\text{g/g}$ であった。

以上, CXM で得られた成績はすでに RYAN ら⁹⁾が報告している mouse における血清中および臓器内濃度と一致し, 腎, 肝, 血清, 肺, 脾の順に移行が良好であった。

6. マウス実験的感染症に対する治療効果

CET, CEZ 感受性菌に対する CXM の治療効果には *Streptococcus pneumoniae* type III, *Escherichia coli* No. 29, *Escherichia coli* ST-0198, *Klebsiella pneumoniae* を, CET, CEZ 耐性菌に対する CXM の治療効

Fig. 32 (a)Effect of CXM on viability of *E. coli* ST-0198, (b)Effect of CET on viability of *E. coli* ST-0198, (c)Effect of CEZ on viability of *E. coli* ST-0198

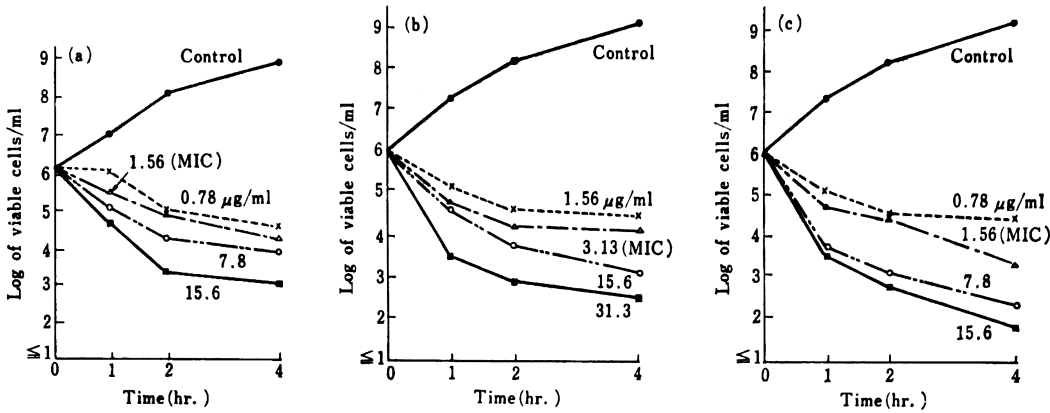


Fig. 33 (a)Effect of CXM on viability of *K. pneumoniae*, (b)Effect of CET on viability of *K. pneumoniae*, (c)Effect of CEZ on viability of *K. pneumoniae*

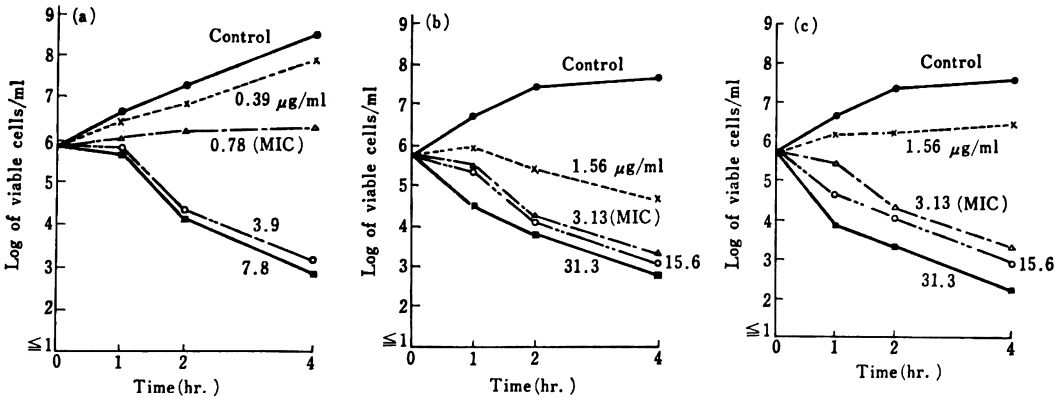


Fig. 34 Serum and tissues levels after s.c. administration in mice

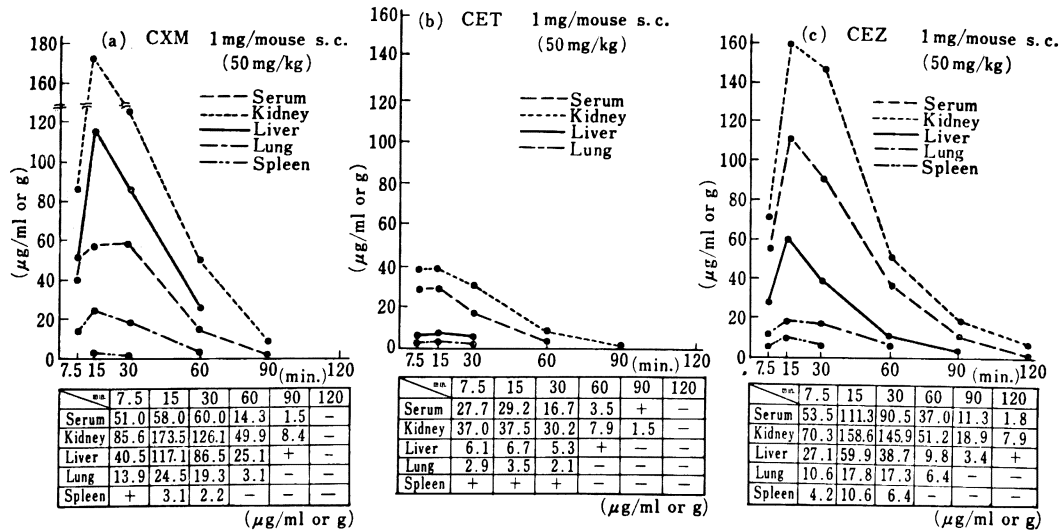


Table 4 Protecting effect of CXM, CET and CEZ against experimental mice infections

Challenge strain	MIC (μg/ml)			Inoculum size		ED ₅₀ (mg/mouse)		
	CXM	CET	CEZ	LD ₅₀	(cells/mouse)	CXM	CET	CEZ
<i>S. pneumoniae</i> III	0.011	0.19	0.19	500	—	1.9	7.8	3.0
<i>E. coli</i> No. 21	3.13	400	200	12	2.1×10 ⁷	0.25	7.3	2.0
<i>E. coli</i> No. 29	12.5	6.25	3.13	100	1.0×10 ⁶	0.12	0.65	0.21
<i>E. coli</i> ST-0198	1.56	3.13	1.56	60	8.0×10 ³	0.028	0.36	0.13
<i>K. pneumoniae</i>	0.78	3.13	3.13	5,000	5.5×10 ³	2.9	12	3.5
<i>K. pneumoniae</i> 138	50	>800	>800	70	2.5×10 ⁷	0.38	11	3.1
<i>S. marcescens</i> T-55	100	>800	>800	400	4.5×10 ⁶	9.2	>32	>32
<i>P.morganii</i> 101	25	>800	>800	100	5.0×10 ⁶	0.38	26	3.3

果には *Escherichia coli* No. 21, *Klebsiella pneumoniae* 138, *Serratia marcescens* T-55, *Proteus morganii* 101 の計 8 菌株を用いて検討した成績が Table 4 である。表中の MIC は 10⁸cells/ml 接種時の成績で、接種菌量は攻撃菌液の LD₅₀ とマウス当りの攻撃菌数を表わし、治療効果は ED₅₀ で示した。CET, CEZ 感受性菌を用いた場合には CXM は CET と比較すると 4.1~12.9 倍、CEZ と比較すると 1.2~4.6 倍良好な値を示した。一方、CET, CEZ 耐性菌では、CXM は CET で 29~68.4 倍、CEZ で約 8 倍すぐれた効果を示した。CXM は *in vitro* 同様 *in vivo* においてもすぐれた成績を示すことを認め、*in vivo* での効果は、RYAN らの報告⁹⁾と同様、CET, CEZ 耐性菌について特に著明であった。

文 献

1) O'CALLAGHAN, C. H. ; R. B. SYKES, D. M. RYAN, R. D. FOORD & P. W. MUGGLETON: Cefuroxime, a new cephalosporin antibiotic. J. Antibiotics. 29 : 29~37, 1976

2) O'CALLAGHAN, C. H. ; R. B. SYKES, A. GRIFFITHS & J. E. THORNTON : Cefuroxime, a new cephalosporin antibiotic : activity *in vitro*. Antimicrob. Agents Chemother. 9 : 511~519, 1976

3) EYKYN, S. ; C. JENKINS, A. KING & I. PHILLIPS Antibacterial activity of cefuroxime, a new cephalosporin antibiotic, compared with that cephaloridine, cephalothin, and cefamandole. Antimicrob. Agents Chemother. 9 : 690~695, 1976

4) GEORGE, W. L. ; R. P. LEWIS & R. D. MEYER : Susceptibility of cephalothin-resistant gram-negative bacilli to piperacillin, cefuroxime, and other selected antibiotics. Antimicrob. Agent Chemother. 13 : 484~489, 1978

5) RICHMOND, M. D. & S. WOTTON : Comparative study of seven cephalosporins: Susceptibility to beta-lactamases and ability to penetrate the surface layers of *Escherichia coli*. Antimicrob. Agent Chemother. 10 : 219~222, 1976

6) RYAN, D. M. ; C. H. O'CALLAGHAN & P. W. MUGGLETON: Cefuroxime, a new cephalosporin antibiotic : activity *in vivo*. Antimicrob. Agent Chemother. 9 : 520~525, 1976

7) FOORD, R. D. : Cefuroxime : Human pharmacokinetics. Antimicrob. Agent Chemother. 9 : 741~747, 1976

8) 中沢昭三, 板垣守正, 横田芳武, 江本栄子, 天野翠, 猪俣陽子, 服部清二郎, 伊倉義隆, 小野尚子 貴宝院善博, 小谷川清子, 谷口弘子, 山本 宏 : 合成 Cephalosporin C- cephalothin, cephaloridine に関する基礎的研究。J. Antibiotics ser. B 18 : 431~438, 1965

9) 中沢昭三, 小野尚子, 大槻雅子, 井沢武年 : 合成セファロsporin cefazolin の細菌学的評価。Chemotherapy 18 : 512~521, 1970

10) NISHIDA, M ; T. MATSUBARA, T. MURAKAWA, Y. MINE, Y. YOKOTA, S. GOTO & S. KUWAHARA: Cefazolin, a new semisynthetic cephalosporin antibiotic. II. *in vitro* and *in vivo* antimicrobial activity. J. Antibiotics 23 : 137~148, 1970

11) 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

BACTERIOLOGICAL EVALUATION OF A NEW CEPHALOSPORIN, CEFUROXIME

MASAKO OTSUKI, YUKIO UTSUI, KEIJI HIOKI, KENICHI HIRAHATA and TAKESHI NISHINO

Department of Microbiology, Kyoto College of Pharmacy

The bacteriological evaluation of cefuroxime, a new cephalosporin antibiotic, was studied in comparison with cephalothin and cefazolin. The following results were obtained.

1. Cefuroxime showed a broad antibacterial spectrum against Gram-positive and Gram-negative bacteria as well as cephalothin and cefazolin, and its antibacterial activity was especially superior against Gram-negative bacteria.

2. As to the sensitivity distribution in clinical isolates, cefuroxime was stronger in activity than cephalothin and cefazolin against Gram-negative bacteria, especially indole-positive *Proteus* species, while slightly inferior to cephalothin and cefazolin against staphylococci.

3. As to the influence of various factors upon antibacterial activity against Gram-negative bacteria, the activities of cephalothin and cefazolin increased at low pH, while the activity of cefuroxime was enhanced at high pH.

4. Influence of the drugs on the growth curve of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* was studied in the aspect of bactericidal action. The three drugs all proved dose-related bactericidal effect, and a difference was noted in short time bactericidal rate with *Klebsiella pneumoniae*.

5. As to the serum and organ levels of cefuroxime in mouse, each organ showed the peak of the drug level in 15 minutes, concentration being high in kidney, liver, serum, lung and spleen in order.

6. Protective effect of the drug was studied in experimental mice infections with *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, and cefuroxime proved more effective than the other two drugs. Against cephalothin and cefazolin resistant strains, the protective effect of cefuroxime was further superior to that of cephalothin and cefazolin.