

Cefotaxime の基礎的検討

笠井 一 弘・新井 進・宮本 政樹・坂口 孝

ヘキストジャパン株式会社 総合開発研究所

Cefotaxime の *in vitro* 抗菌活性におよぼす諸因子についての基礎的検討を行うと同時に、培地、ヒト血清、尿、胆汁およびウサギ肝臓ホモジネート中での安定性、血清蛋白との結合率について検討した。

1. 標準菌 18 株に対する Cefotaxime の MIC は低く、強い抗菌活性がみとめられた。とくにその作用はグラム陰性菌で顕著であり、またグラム陽性菌では、*S. aureus* を除き Cefazolin (CEZ) とほぼ同等の抗菌活性を示していた。

2. Cefotaxime の MIC は接種菌量により影響を受けたが、培地の種類、pH、馬血清添加によってはほとんど影響されなかった。

3. 試験管内における耐性獲得は CEZ に比べ Cefotaxime では比較的徐々であったが、15 代継代後の MIC は *E. coli* の場合 16 倍、*S. aureus* の場合には 8 倍であった。

4. 液体培地中で 4°C に保存したとき、Cefotaxime の抗菌活性は 7 日間安定であった。

5. ヒト血清、尿、胆汁およびウサギ肝臓ホモジネート中における Cefotaxime の抗菌活性は、凍結保存したとき 7 日間安定であった。

6. Cefotaxime の血清蛋白結合率は、イヌ<ヒト<ラット<ウサギの順であり、ヒトの場合 60% と CEZ の 92.5% に比べて低かった。

新しい半合成セファロスポリン剤である Cefotaxime (HR 756, CTX) は、各種 β -lactamase に対する安定性が高く、広範な抗菌スペクトラムを有し、とくにグラム陰性菌にすぐれた抗菌力を示し、その作用は殺菌的であるといわれている。

今回著者らは、本剤の *in vitro* での抗菌活性、およびその抗菌活性に影響をおよぼす諸因子の検討を標準株を用いて行うとともに、*in vitro* での耐性獲得、Cefotaxime の培地、ヒト血清、尿、胆汁中、ウサギ肝臓ホモジネート中での安定性、および血清蛋白結合率について検討を加えたので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 薬物

実験には、Hoechst AG および Roussel-Uclaf より供与を受けた Cefotaxime および Cefotaxime の desacetyl 体 (RU 628) を使用し、対照薬物としては Cefazolin (CEZ, 藤沢薬品) と Ampicillin (ABPC, 明治製薬) を用いた。

2. 標準菌に対する抗菌活性

Table 1 に示した試験菌 18 株は、0.5% NaCl を含む 1% ペプトン水溶液 (Difco) にて一夜培養し、Heart infusion agar (栄研) により、日本化学療法学会の標準法¹⁾に準じて MIC を測定した。なお菌の接種には、マイクロプランター (佐久間製作所) を用いた。

3. 抗菌活性に影響をおよぼす諸因子の検討

諸因子の Cefotaxime 抗菌活性への影響を、MIC の変動により検討した。

a. 培地の種類による抗菌活性への影響：接種菌量 10^6 cells/ml の条件で Heart infusion agar, Nutrient agar, Trypto-soy agar, Mueller hinton agar それぞれ (栄研), Antibiotic medium 11 (Difco) の各培地を用い検討した。

b. 培地 pH の影響：Heart infusion agar を基礎培地とし、その pH を 5, 7 および 9 とし、 10^6 cells/ml の接種菌量を用いたときの抗菌活性への影響を検討した。

c. 馬血清添加の影響：Heart infusion agar に馬血清を 10, 25 および 50% になるよう添加し、接種菌量を 10^6 cells/ml としたときの Cefotaxime 抗菌活性の変化を調べた。

d. 接種菌量による影響：Heart infusion agar を用い、接種菌量を 10^4 , 10^6 および 10^8 cells/ml に変え MIC を測定した。

4. 試験管内耐性獲得

2 倍希釈系列の薬剤を含む Trypto-soy broth (TSB 栄研) 5 ml に TSB で 37°C 24 時間培養された被検菌の 1 白金耳を接種し、37°C 24 時間培養後、薬剤を含まない対照と同程度の発育を示した最高薬剤濃度を含む培

Table 1 Antibacterial spectra of cefotaxime and other antibiotics

Test strain	MIC ($\mu\text{g/ml}$)									
	Inoculum size 10^6 cells/ml					Inoculum size 10^8 cell/ml				
	Cefotaxime	RU 628	CEZ	ABPC	Cefotaxime	RU 628	CEZ	ABPC	CEZ	ABPC
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.39	3.13	0.39	0.05	3.13	12.5	0.39	0.39	0.39	0.39
<i>Bacillus subtilis</i> IAM 1069	0.39	1.56	0.2	0.025	1.56	6.25	1.56	1.56	0.1	0.1
<i>Bacillus mycoides</i>	0.05	0.05	0.1	0.1	0.05	0.1	1.56	1.56	6.25	6.25
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 9634	50	200	50	6.25	100	>400	100	100	>400	>400
<i>Staphylococcus aureus</i> IAM 1011	1.56	12.5	0.2	0.05	3.13	25	0.39	0.39	0.2	0.2
<i>Staphylococcus epidermidis</i> IAM 12013	0.78	3.13	0.39	0.2	0.78	3.13	0.78	0.78	3.13	3.13
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	<0.006	<0.006	0.006	<0.006	0.013	0.05	0.05	0.05	<0.006	<0.006
<i>Enterobacter aerogenes</i> IAM 1183	0.006	0.05	3.13	12.5	0.05	0.1	12.5	12.5	200	200
<i>Escherichia coli</i> V 6311 65	0.013	0.1	1.56	0.39	0.05	0.1	3.13	3.13	0.39	0.39
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	0.006	0.1	3.13	0.2	0.05	0.1	3.13	3.13	0.39	0.39
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC10031	0.013	0.05	3.13	50	0.05	0.1	12.5	12.5	>400	>400
<i>Proteus vulgaris</i> IAM 12003	0.2	0.39	>400	400	200	400	>400	>400	>400	>400
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14273	0.05	0.2	6.25	1.56	0.39	0.39	6.25	6.25	6.25	6.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IAM 1007	12.5	>400	>100	>400	25	>400	>400	>400	>400	>400
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	25	400	>400	400	25	>400	>400	>400	>400	>400
<i>Serratia marcescens</i> IAM 12142	0.39	3.13	>400	200	3.13	>400	>400	>400	200	200
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	0.2	3.13	50	50	1.56	50	>400	>400	100	100
<i>Hafnia alvei</i> ATCC 11604	0.2	1.56	6.25	1.56	0.39	3.13	>400	>400	6.25	6.25

Table 2 Influence of medium on MICs of cefotaxime and CEZ

Test strain	Antibiotic Medium		Cefotaxime										CEZ			(MIC : µg/ml)			
			HIA					TSA					MHA				TSA		
			HIA	NA	TSA	MHA	ABM-11	HIA	NA	TSA	MHA	ABM-11	HIA	NA	TSA		MHA	ABM-11	
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.78	0.39	0.78	0.39	0.78	0.78	0.2	0.2	0.2	0.78	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.39	
<i>Bacillus subtilis</i> IAM 1069	0.78	0.2	0.2	0.2	0.39	0.2	0.2	0.2	0.2	0.39	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
<i>Bacillus mycoides</i>	0.025	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.1	
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 9634	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	100	
<i>Staphylococcus aureus</i> IAM 1101	3.13	1.56	3.13	3.13	3.13	3.13	3.13	3.13	3.13	6.25	3.13	3.13	3.13	3.13	3.13	3.13	3.13	0.39	
<i>Staphylococcus epidermidis</i> IAM 12013	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	1.56	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.39	
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.013	0.1	0.05	0.1	0.05	0.05	0.1	0.05	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	1.56	
<i>Enterobacter aerogenes</i> IAM 1183	0.006	0.013	0.013	0.003	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	3.13	
<i>Escherichia coli</i> V 6311/65	0.013	0.013	0.013	0.006	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	1.56	
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	0.006	0.013	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.013	0.006	0.006	0.006	0.013	0.006	0.006	0.006	1.56	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	0.013	0.013	0.013	0.006	0.013	0.013	0.006	0.013	0.006	0.025	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	1.56	
<i>Proteus vulgaris</i> IAM 12003	0.39	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.78	>400	400	400	400	400	400	400	100	
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14273	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	3.13	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IAM 1007	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	>400	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	12.5	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	>400	
<i>Serratia marcescens</i> IAM 12142	0.78	0.39	0.78	0.39	0.78	0.78	0.39	0.78	0.39	1.56	0.78	0.39	0.78	0.39	0.78	0.39	0.78	>400	
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	25	
<i>Hafnia alvei</i> ATCC 11604	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	25	

HIA : Heart infusion agar (Eiken)

NA : Nutrient agar (Eiken)

TSA : Tryptone-soy agar (Eiken)

MHA : Mueller hinton agar (Eiken)

ABM-II : Antibiotic medium 11 (Difco)

Inoculum size : 10⁶ cells/ml

Table 3 Influence of medium pH on MICs of cefotaxime and CEZ

Test strain	pH	Antibiotic			Cefotaxime			CEZ		
		5	7	9	5	7	9	5	7	9
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		0.2	0.39	1.56	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2
<i>Bacillus subtilis</i> IAM 1069		0.2	0.2	0.39	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2
<i>Bacillus mycooides</i>		0.025	0.025	0.025	0.025	0.05	0.05	0.025	0.05	0.05
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 9634		12.5	50	25	25	50	50	25	50	50
<i>Staphylococcus aureus</i> IAM 1011		0.78	1.56	3.13	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2	0.39
<i>Staphylococcus epidermidis</i> IAM 12013		0.78	0.78	NG	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	NG
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341		0.05	0.013	NG	0.39	0.1	0.1	0.39	0.1	NG
<i>Enterobacter aerogenes</i> IAM 1183		0.006	0.006	0.006	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	3.13
<i>Escherichia coli</i> V 6311/65		0.013	0.006	0.006	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	3.13
<i>Escherichia coli</i> NIHJ		0.013	0.006	0.006	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	6.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031		0.025	0.013	0.013	0.78	0.78	0.78	0.78	1.56	3.13
<i>Proteus vulgaris</i> IAM 12003		0.39	0.2	0.1	100	400	>400	100	400	>400
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14273		0.025	0.05	0.05	3.13	3.13	3.13	3.13	3.13	12.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IAM 1007		25	25	12.5	>400	>400	>400	>400	>400	>400
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027		12.5	25	12.5	>400	>400	>400	>400	>400	>400
<i>Serratia marcescens</i> IAM 12142		0.78	0.39	0.78	>400	>400	>400	>400	>400	>400
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090		0.1	0.1	0.2	50	50	100	50	50	100
<i>Hafnia alvei</i> ATCC 11604		0.78	0.39	0.2	50	25	12.5	50	25	12.5

Medium : Heart infusion agar (Eiken)

Inoculum size : 10^6 cells/ml

NG : No growth

Table 4 Influence of horse serum on MICs of cefotaxime and CEZ (MIC: µg/ml)

Test strain	Antibiotic		Cefotaxime					CEZ						
	Horse serum (%)		0	10	25	50	0	10	25	50	0	10	25	50
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633			0.78	12.5	12.5	6.25	0.2	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39
<i>Bacillus subtilis</i> IAM 1069			0.78	12.5	12.5	6.25	0.2	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39
<i>Bacillus mycoides</i>			0.025	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.39	0.05	0.39	0.39	0.1
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 9634			50	50	25	12.5	12.5	25	25	50	25	50	12.5	12.5
<i>Staphylococcus aureus</i> IAM 1011			3.13	3.13	3.13	1.56	0.2	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39
<i>Staphylococcus epidermidis</i> IAM 12013			0.78	0.78	0.78	0.78	0.2	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.2
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341			0.013	0.1	0.1	0.1	0.39	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78
<i>Enterobacter aerogenes</i> IAM 1183			0.006	0.013	0.006	0.006	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56	3.13
<i>Escherichia coli</i> V 6311/65			0.013	0.006	0.025	0.013	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56
<i>Escherichia coli</i> NIHJ			0.006	0.006	0.006	0.006	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56	1.56	3.13
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031			0.013	0.013	0.006	0.003	1.56	3.13	3.13	3.13	3.13	1.56	1.56	0.78
<i>Proteus vulgaris</i> IAM 12003			0.39	0.2	0.1	0.1	>400	>400	>400	>400	>400	>400	>400	>400
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14273			0.05	0.05	0.05	0.1	6.25	6.25	6.25	12.5	6.25	12.5	12.5	12.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IAM 1007			12.5	12.5	12.5	12.5	>400	>400	>400	>400	>400	>400	>400	>400
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027			12.5	12.5	12.5	12.5	>400	>400	>400	>400	>400	>400	>400	>400
<i>Serratia marcescens</i> IAM 12142			0.78	0.78	0.39	0.2	>400	>400	>400	>400	>400	>400	>400	>400
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090			0.2	0.2	0.2	0.39	50	50	50	100	50	100	400	400
<i>Hafnia alvei</i> ATCC 11604			0.2	0.2	0.2	0.2	50	25	25	6.25	25	6.25	6.25	6.25

Medium: Heart infusion agar (Eiken)
Inoculum size: 10⁶ cells/ml

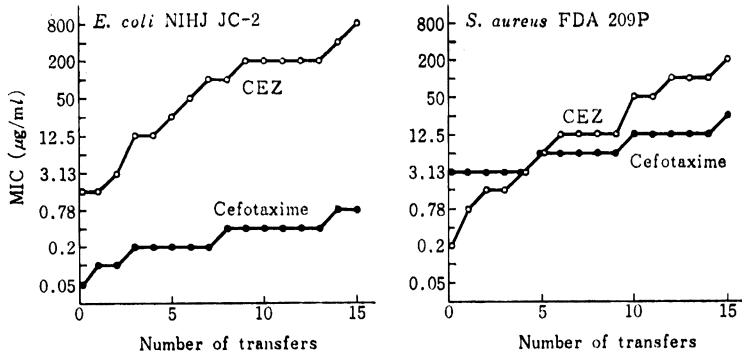
Table 5 Influence of inoculum size on MICs of cefotaxime and CEZ (MIC · µg/ml)

Test strain	Antibiotic		Cefotaxime				CEZ		
	Inoculum size		10 ⁴	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁴	10 ⁶	10 ⁸	
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.2		0.2	0.78	6.25	0.2	0.39	0.39	
<i>Bacillus subtilis</i> IAM 1069	0.2		0.2	0.78	6.25	0.2	0.39	0.39	
<i>Bacillus mycoides</i>	0.025		0.025	0.025	0.05	0.05	0.1	0.39	
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 9634	50		50	50	100	6.25	50	50	
<i>Staphylococcus aureus</i> IAM 1011	1.56		1.56	3.13	3.13	0.2	0.39	0.39	
<i>Staphylococcus epidermidis</i> IAM 12013	0.78		0.78	0.78	1.56	0.39	0.39	0.78	
<i>Micrococcus lutesus</i> ATCC 9341	NG		NG	0.013	0.05	NG	0.39	0.78	
<i>Enterobacter aerogenes</i> IAM 1183	0.006		0.006	0.006	0.05	1.56	1.56	6.25	
<i>Escherichia coli</i> V 6311/65	0.006		0.006	0.006	0.05	1.56	1.56	3.13	
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	0.006		0.006	0.006	0.025	1.56	3.13	3.13	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	0.013		0.013	0.013	0.05	1.56	1.56	6.25	
<i>Proteus vulgaris</i> IAM 12003	0.2		0.2	0.2	100	200	200	>400	
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14273	0.05		0.05	0.05	0.39	3.13	6.25	6.25	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IAM 1007	25		25	25	25	>400	>400	>400	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	25		25	25	12.5	>400	>400	>400	
<i>Serratia marcescens</i> IAM 12142	0.39		0.39	0.39	50	>400	>400	>400	
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	0.2		0.2	0.2	3.13	6.25	25	>400	
<i>Haefnia alvei</i> ATCC 11604	0.2		0.2	0.2	0.39	3.13	12.5	>400	

Medium : Heart infusion agar (Eiken)

NG : No growth

Fig. 1 Patterns of development of resistance of *Staphylococcus aureus* FDA 209 p and *Escherichia coli* NIHJ JC-2 to cefotaxime and CEZ



養の1白金耳を新しい薬剤含有の TSB 系列に移植を繰り返した。

5. 液体培地中での安定性

Cefotaxime 25 µg/ml を Heart infusion, Brain heart infusion および Trypto-soy broth それぞれに添加し, 4, 25 および 37°C で7日間放置したときの残存抗菌活性を *B. subtilis* ATCC 6633 を用いた薄層ディスク法で測定し, 放置前薬物濃度と比較した。

6. ヒト体液およびウサギ肝ホモジネート中での安定性

成人から得たプール血清, 尿および胆汁に Cefotaxime を加え, 25 µg/ml になるように調製し, 凍結(-20°C), 4°C の条件で保存した。ウサギの20および50% 肝臓ホモジネートは1/10 M-phosphate buffer pH 7.0 (PBS) で作製 (50 µg/ml) した。そしてその残存濃度は尿, 胆汁と同様, 3,000 rpm 10分の遠心上清部分を *B. subtilis* ATCC 6633 を用いて bioassay 法により定量し, 保存前の濃度と比較した。

7. 血清蛋白結合率

Cefotaxime の血清蛋白結合率を遠心限外ろ過法²⁾で測定し, CEZ と比較検討した。

PBS を用いて両薬剤の 1,000 µg/ml 溶液を調製し, その 0.5 ml と被検血清 (ヒト, イヌ, ウサギ, ラット) あるいは Moni-trol I (ミドリ十字) 4.5 ml とを混和 37°C 1時間加温後, 透析用セルローズチューブ (Visking size 8/32) に入れ, 2,500 rpm 1時間遠心し, 限外ろ液中の薬物濃度を *B. subtilis* ATCC 6633 を用い bioassay 法により測定, 同様の操作を加えた PBS 溶液の限外ろ液中の薬物濃度との比で表わした。

II. 実験成績

1. 標準菌 18 株に対する抗菌力

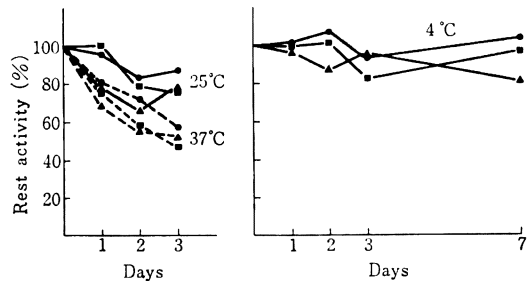
Table 1 に示すように, *S. aureus* では Cefotaxime の MIC が CEZ のそれに対し高かったが, 他のグラム

陽性菌である *B. subtilis*, *S. epidermidis*, *M. luteus* に対する MIC はほとんど CEZ と同じであった。一方グラム陰性菌に対する Cefotaxime の抗菌力はきわめて高く, 用いたすべてのグラム陰性菌に対し, 10⁶ cells/ml 接種菌量での MIC は 0.006 から 25 µg/ml の範囲内にあった。

2. 抗菌活性におよぼす諸因子の検討

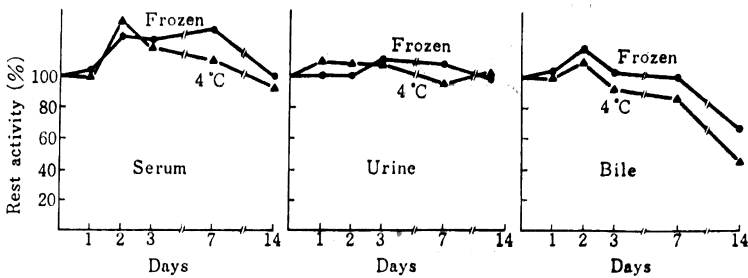
Table 2, 3 に示すごとく, 標準菌 18 株を用い培地の種類とその pH による影響を検討したところ, 培地および PH による MIC の変動は小さく, また Table 4 に示すように, 10% 馬血清添加により *B. subtilis* に対する MIC が 16 倍, *M. luteus* が 8 倍となったが, 他の菌種に対する MIC は馬血清添加によりほとんど変らなかった。一方接種菌量を 10⁴ cells/ml から 10⁶, 10⁸ cells/ml と変化させたとき, 10⁴ と 10⁶ cells/ml の間では, その菌量によりほとんど MIC の変動はなく, 10⁶ と 10⁸ cells/ml の間では, *E. coli*, *E. aerogenes*, *P. mirabilis* に対する MIC が 8 から 16 倍, *P. vulgaris*, *S. marcescens* の MIC はそれ以上となった。

Fig. 2 Stability of cefotaxime in medium



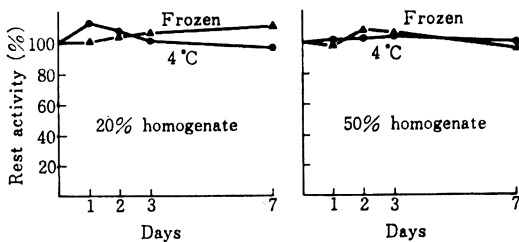
Medium : ●---Heart infusion
▲---Trypticase soy broth
■---Brain heart infusion
Strain : *B. subtilis* ATCC6633
Drug conc. : 25µg/ml

Fig. 3 Stability of cefotaxime in human serum, urine and bile



Strain: *B. subtilis* ATCC6633
Drug conc.: 25 µg/ml

Fig. 4 Stability of cefotaxime in rabbit liver homogenate



Strain: *B. subtilis*, ATCC6633
Drug conc.: 50 µg/ml

3. 試験管内における耐性の獲得

Fig. 1 に示したように、CEZ に比べ Cefotaxime は徐々に耐性を獲得し、15 代継代後の MIC は *E. coli* NIHJ JC-2 では 0.05 µg/ml から 0.78 µg/ml, *S. aureus* FDA 209 P では 3.13 µg/ml から 25 µg/ml になった。

4. 液体培地中での安定性

Heart infusion 培地中での安定性は、Fig. 2 に示したように、4°C では 7 日間安定であった。しかし 25°C では 3 日間で約 20%, 37°C では約 40% の活性低下が認められた。また、Brain heart infusion, Trypto-soy でも同様の結果が得られた。

5. ヒト体液およびウサギ肝ホモジネート中での安定性

Cefotaxime 抗菌活性のヒト血清、尿、胆汁中およびウサギ肝ホモジネート中での安定性は、Fig. 3 および Fig. 4 に示した。ヒト血清、尿は凍結 (-20°C) あるいは 4°C 保存で 14 日間安定であったが、胆汁中での安定性は比較的悪く、4°C 保存では 7 日目にその活性は 87% と低下する傾向がみられ、14 日後では凍結、4°C の両者とも明らかに活性が低下していた。一方ウサギ肝ホモジネートにおいては、4°C 以下の保存では 7 日間安定であった。

6. 血清蛋白結合率

Table 6 Protein binding rates of cefotaxime and CEZ with human and animal sera

Serum	Binding rate (%)	
	Cefotaxime	CEZ
Human (Adult)	60.0	92.5
Dog (Beagle)	51.7	39.0
Rabbit (Japanese white)	90.1	97.7
Rat (JCL-SD)	71.0	95.3
Mini-Trol I	38.0	86.7

Method: Centrifugal ultrafiltration method

Ultrafiltration: Visking tube 8/32, 2, 500 rpm, 60 min

Drug conc.: 100 µg/ml

Incubation: 37°C, 1 hr

Strain: *B. subtilis* ATCC 6633

Table 6 に示すように、血清蛋白結合率は動物種によって異なり、イヌの 51.7% に対しウサギでは 90.1% と最も高く、ヒト血清の場合は 60% であった。一方 CEZ ではヒト、ウサギおよびラット血清における蛋白結合率は 90% 以上であり、イヌ以外の動物種では、すべて Cefotaxime より高い蛋白結合率を示した。

Ⅲ. 考察ならびに結論

Cefotaxime はグラム陰性菌に強い抗菌力を示し、CEZ あるいは ABPC が無効であった *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *S. marcescens* に対しても、0.2 µg/ml から 25 µg/ml の MIC を示した。一方、グラム陽性菌では、*S. aureus* を除き CEZ とほぼ同等の抗菌力を示していた。これらの結果は、*in vivo* においてもかなりの治療効果が期待できることを示唆している。

Cefotaxime の抗菌力は、接種菌量の増加により減弱したが、培地の種類、pH、血清添加による影響は受けにくい。また試験管内での継代実験において *E. coli* NIHJ JC-2, *S. aureus* FDA 209 P とともに Cefotaxime に対し

段階的に耐性を獲得したが、その程度は CEZ に比べゆるやかであり、比較的耐性菌をつくりにくい薬剤であろうと思われる。

Cefotaxime の活性は液体培地中で 4°C 保存した場合 7 日間また、ウサギ肝ホモジネート中では、4°C 以下の保存で 7 日間安定であった。一方、ヒト血清および尿では、凍結あるいは 4°C 保存で 14 日間安定であった。しかし胆汁中での安定性は比較的悪く、凍結保存で 7 日間安定であったが、4°C ではすでに活性が低下する傾向がみられた。

これらの成績より、Cefotaxime の濃度測定はサンプル採取後できるだけ速かに行うべきであるが、やむをえず保存する場合には凍結保存することが望ましいと考え

られる。

血清蛋白結合率は、その測定条件によりかならずしも一致した結果を得にくいだが、今回の実験条件では Cefotaxime の血清蛋白結合率に種差がみとめられ、またヒトの場合は 60% であり、CEZ の 92.5% に比べその蛋白結合率は低いことが認められた。

文 献

- 1) 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
- 2) 西田 実, 村川武雄, 上村利明, 岡田直彦, 坂本博, 深田志計実, 中本昭治, 横田好子, 三木和代：新しい Cephalosporin 誘導体, Ceftezole の基礎評価。Chemotherapy 24 : 600~618, 1976

BASIC STUDIES OF CEFOTAXIME

KAZUHIRO KASAI, SUSUMU ARAI, MASAKI MIYAMOTO and TAKASHI SAKAGUCHI
Development Laboratories, Hoechst Japan Limited

Investigations were made into (1) factors influencing *in vitro* antibacterial activity of cefotaxime (HR 756, CTX) (2) its stability in broth media, human serum, urine and bile, and rabbit liver homogenate, and (3) the rate of its binding to serum protein.

Cefotaxime showed a high degree of antibacterial activity against 18 standard strains tested; it was much more active than cefazolin (CEZ) against gram-negative bacteria and nearly as effective as CEZ against gram-positive bacteria except *S. aureus*.

Minimum inhibitory concentrations of cefotaxime were affected by a change in inoculum size but not by changes in kind and pH of media and added horse serum.

Cefotaxime was stable for 7 days in broth media at 4°C, and in human serum, urine and bile rabbit liver homogenate kept frozen.

The order of the binding rate of cefotaxime to serum protein was the rabbit>rat>man>dog. In humans, the rate was low, 60%, as compared with 92.5% obtained with CEZ.