Cefadroxil に関する細菌学的評価

西野武志・中野一行・谷野輝雄
京都薬科大学微生物学教室

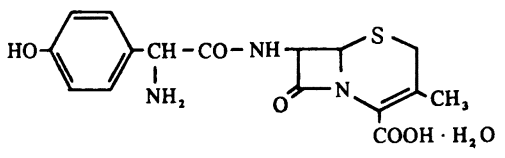
新しく開発された経口用セファロスポリン系抗生物質 Cefadroxil (CDX) について Cephalexin (CEX), Cefradine (CED) を比較薬として細菌学的評価を行ない，以下の成績を得た。

CDX は CEX, CED と同様グラム陽性菌群，陰性菌群に幅広い抗菌スペクトラムを有していたが，その抗菌力は CEX, CED とほぼ同様であった。各種臨床分離株に対する感受性分布でも CEX, CED とほぼ同様の抗菌力を示したが，*Streptococcus pyogenes* に対しては CEX, CED より優れていた。抗菌力に及ぼす培地 pH，馬血清添加，接種菌量の影響について CDX は CEX, CED と同傾向を示した。*Escherichia coli* の増殖曲線に及ぼす影響では，菌量が高い場合に CDX は CEX, CED に比べ若干優れた殺菌作用を有していた。

マウス実験的感染症に対する治療効果は，グラム陽性菌感染症では CDX は CEX, CED と比べわずかに優れた効果を示したが，グラム陰性菌感染症では 3 薬物とも殆ど同等の治療効果を示した。

は じ め に

Cefadroxil (CDX) は，米国ブリストル社研究所において開発された新しい合成セファロスポリン系抗生物質で，化学名を (6R, 7R)-7-[(R)-2-amino-2-(*p*-hydroxyphenyl) acetamido]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo [4.2.0] oct-2-ene-2-carboxylic acid・monohydrate といい，分子式 $C_{16}H_{17}N_3O_5S \cdot H_2O$，分子量381.40 である。



本物質は白色～淡黄白色の結晶性粉末で，水にやや溶けにくく，エタノール，エーテル，クロロホルム，ベンゼンにほとんど溶けない。

マウス♂および♀に対する急性毒性 LD_{50} は経口投与で ＞7000 mg/kg，皮下注射で ＞5000 mg/kg，腹腔内注射で ＞7000 mg/kg，静脈内注射で ＞1500 mg/kg と言われている[1),2)]。

今回私どもは Cefadroxil に関する細菌学的評価を Cephalexin (CEX)[3),4)]，Cefradine (CED)[5)] を比較薬として同一条件のもとで検討し，次のような成績を得たのでここに報告する。

実験材料および方法

1) 使用薬

CDX, CEX, CED のいずれも力価の明らかなものを使用した。

2) 抗菌スペクトラム

教室保存のグラム陽性菌20株およびグラム陰性菌28株に対する試験管内抗菌力 (MIC：μg/ml) を日本化学療法学会感受性測定法[6)]により求めた。なお *Streptococcus* 群，*Corynebacterium diphtheriae* については10%馬血液加 Heart Infusion 寒天培地 (HIA, 日水) を用いて 37°C, 20時間培養後の MIC を，また，*Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* については G. C. 培地 (栄研)，嫌気性菌の *Clostridium tetani*, *Clostridium perfringens* にはチオグリコール酸塩培地 (日水) を用いて 37°C, 48時間培養後の MIC を求めた。

3) 臨床分離株の感受性分布と感受性相関

臨床材料から分離された *Staphylococcus aureus* 60株，*Streptococcus pyogenes* 22 株，*Escherichia coli* 62 株，*Klebsiella* sp. 42 株，*Proteus mirabilis* 32 株，*Proteus vulgaris* 38株，*Proteus morganii* 27株，*Proteus rettgeri* 17株に対する抗菌力を日本化学療法学会感受性測定法により求めた。

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，接種菌量による影響を *S. aureus* 209-P JC, *E. coli* NIH JC-2, *K. pneumoniae* NCTC 9632 株を試験菌として Heart Infusion ブイヨン (HIB, 日水) を用いた液体希釈法により，37°C, 20時間培養後の MIC で求めた。

5) 細菌の増殖曲線に及ぼす影響

E. coli NIH JC-2, *K. pneumoniae* KC-1 株を試験菌として biophotometer (BIO-LOG Ⅱ, JASCO) による

濁度の変化と，生菌数測定により増殖曲線に及ぼす影響を検討した。

すなわち，Tryptosoya ブイヨン（TSB，日水）に前培養した *E. coli* NIH JC-2，*K. pneumoniae* KC-1 をHIB で 10^{-3} 希釈し，biophotometer を使用して培養を行ない，対数期途上（T%=60）に各薬物を作用させた後の殺菌作用の様子を濁度（T%）により観察し，同時に経時的に生菌数を測定した。

次に，TSB で前培養した *E. coli* NIH JC-2，*E. coli* No. 29，*K. pneumoniae* KC-1 を HIB で 10^{-4} 希釈し，37°C で振盪培養後，菌数が約 10^{6} cells/ml になった時，各薬物の MIC 濃度を中心に 1/2，5，10 倍濃度を作用させ，経時的に生菌数を測定した。

6）位相差顕微鏡による形態観察

スライドグラス上で CDX または CEX を含ませたフィルム寒天を作製し，HIBで2時間振盪培養を行なった対数期途上の *E. coli* NIH JC-2 の菌液をカバーグラスに塗抹し，これを寒天上にかぶせ，余分の寒天を切りとった後，パラフィンで封入した。これを 37°C 恒温装置付倒立型位相差顕微鏡（日本光学）により観察した。

7）マウス実験的感染症に対する治療効果

S. aureus Smith 株，*S. pyogenes* S-23 株，*S. pneumoniae* type III 株，*E. coli* No. 29 株，*E. coli* KC-14 株，*K. pneumoniae* KC-1 株を用いたマウス実験的感染症に対する治療効果について SLC-ddY 系雄 16～18 g，4 週令1群10匹を使用して検討した。

S. aureus Smith 株の場合は，HIA の斜面で 37°C，18時間培養菌を普通ブイヨン（NB，日水）に約 2×10^{9} cells/ml となるように懸濁し NB で80倍希釈後，6%ガストリックムチン（Orthana-Kemisk-Fabrik-A/S）と等量混合し，その 0.5 ml をマウス腹腔内に接種した。

S. pyogenes S-23，*S. pneumoniae* type III の場合は，10%馬血清加肉汁ブイヨンで37°C，18時間培養菌を，生理食塩水で前者は50倍，後者は 5×10^{3} 倍に希釈し，その 0.25 ml をマウス腹腔内に接種した。

E. coli の場合は，*E. coli* No. 29 では，NB で14時間振盪培養した菌を NB で 10^{3} 倍希釈した菌液を，また *E. coli* KC-14 では，HIA 斜面培地に18時間培養した菌を10% calf serum（非働化済）加 HIB で懸濁し，−80 °C に凍結保存した菌液を用時融解させ，NB で 2×10^{4} 倍希釈した菌液を6%ガストリックムチンと等量混合し，その 0.5 ml をマウス腹腔内に接種した。なお，*E. coli* No. 29 の場合は10倍菌量を増やした時の治療効果も検討した。

K. pneumoniae KC-1 の場合は，NB で 37°C，18時間培養菌を NB で 10^{4} 倍希釈後，6%ガストリックムチンと等量混合し，その 0.5 ml をマウス腹腔内に接種した。

治療は菌接種後2時間目に1回経口投与により行なった。なお，薬物は0.5% CMC で調製して用いた。ED_{50} 値は，7日目までの生存率から Litchfield-Wilcoxon 法[7] により求めた。

実験結果

1）抗菌スペクトラム

教室保存のグラム陽性菌群およびグラム陰性菌群に対する試験管内抗菌力について検討した結果を Table 1，2，3，4 に示す。

CDX は既知 CEX，CED 同様，グラム陽性球菌・桿菌，グラム陰性球菌・桿菌（一部を除き）に対し，広い抗菌スペクトラムを有していた。その抗菌力は，10^{6} cells/ml 接種した場合グラム陽性菌の *Staphylococcus* 群には，CDX 1.56～6.25 μg/ml，CED 3.13～12.5 μg/ml，CEX 3.13～12.5 μg/ml に感受性を示した。*Streptococcus* 群の *S. pyogenes* に対しては CDX 0.19～0.39 μg/ml，CED 0.78 μg/ml，CEX 0.78～1.56 μg/ml の感受性を示したが，*S. faecalis*, *S. viridans* には >100 μg/ml と感受性を示さなかった。*S. pneumoniae* では CDX 1.56～25 μg/ml，CED 3.13～25 μg/ml，CEX 3.13～50 μg/ml に，*C. diphtheriae* では CDX 0.39 μg/ml，CED 0.78 μg/ml，CEX 0.78 μg/ml の感受性を示した。*Micrococcus luteus* には CDX 0.05 μg/ml，CED 0.05 μg/ml，CEX 0.1 μg/ml に感受性を示した。*Bacillus subtilis* には CDX 1.56 μg/ml，CED 0.39 μg/ml，CEX 0.78 μg/ml に，*B. anthracis* には CDX 0.78 μg/ml，CED 1.56 μg/ml，CEX 1.56 μg/ml に感受性を示した。嫌気性菌である *C. tetani* には，3薬物とも 3.13 μg/ml に，*C. perfringens* には CDX 6.25 μg/ml，CED 12.5 μg/ml，CEX 6.25 μg/ml に感受性を示した。

グラム陰性菌の *N. gonorrhoeae* では，CDX 0.39 μg/ml，CED 0.39 μg/ml，CEX 0.19 μg/ml に，*N. meningitidis* では CDX 1.56 μg/ml，CED，CEX は共に 0.78 μg/ml に感受性を示した。*E. coli* に対しては CDX 12.5～25 μg/ml，CED 25 μg/ml，CEX 12.5～25 μg/ml に感受性を示した。*Salmonella typhi* は CDX 6.25 μg/ml，CED 6.25 μg/ml，CEX 3.13 μg/ml に，*S. paratyphi* には CDX 12.5 μg/ml，CED 6.25～12.5 μg/ml，CEX 6.25 μg/ml に感受性を示した。*S. enteritidis* には CDX 25 μg/ml，CED 25 μg/ml，CEX 12.5 μg/ml に感受性を示した。*Shigella* 群には CDX 12.5～25 μg/ml，CED 12.5～25 μg/ml，CEX 6.25～25 μg/ml に感受性を示した。*K. pneumoniae* には CDX 12.5 μg/ml，CED 12.5 μg/ml，CEX 6.25 μg/ml に感受性を示した。

Table 1 Antibacterial spectrum
Gram-positive bacteria (10^6 cells/ml)

Test strains	CDX	CED	CEX
Staphylococcus aureus 209-P JC	1.56	3.13	3.13
〃 SMITH	3.13	3.13	3.13
〃 TERAJIMA	6.25	12.5	12.5
〃 NEUMANN	6.25	12.5	6.25
〃 E-46	3.13	6.25	3.13
〃 No. 80	6.25	12.5	6.25
Staphylococcus epidermidis	1.56	3.13	3.13
Streptococcus pyogenes S-23	0.19	0.78	0.78
〃 Cook	0.39	0.78	1.56
Streptococcus faecalis	>100	>100	>100
Streptococcus viridans	>100	>100	>100
Streptococcus pneumoniae type I	25	25	50
〃 type II	1.56	3.13	3.13
〃 type III	3.13	3.13	6.25
Micrococcus luteus ATCC 9341	0.05	0.05	0.10
Corynebacterium diphtheriae	0.39	0.78	0.78
Bacillus subtilis ATCC 6633	1.56	0.39	0.78
Bacillus anthracis	0.78	1.56	1.56
Clostridium tetani	3.13	3.13	3.13
Clostridium perfringens	6.25	12.5	6.25

MIC (μg/ml)

Table 2 Antibacterial spectrum
Gram-negative bacteria (10^8 cells/ml)

Test strains	CDX	CED	CEX
Neisseria gonorrhoeae	0.39	0.39	0.19
Neisseria meningitidis	1.56	0.78	0.78
Escherichia coli NIH JC-2	12.5	25	12.5
〃 NIH	25	25	25
Citrobacter freundii NIH 10018-68	>100	>100	>100
Salmonella typhi T-287	6.25	6.25	3.13
〃 O-901	6.25	6.25	3.13
Salmonella paratyphi A	12.5	6.25	6.25
〃 B	12.5	12.5	6.25
Salmonella enteritidis	25	25	12.5
Shigella dysenteriae EW-7	12.5	12.5	12.5
Shigella flexneri 2a EW-10	12.5	12.5	6.25
Shigella boydii EW-28	25	25	25
Shigella sonnei EW-33	12.5	12.5	6.25
Klebsiella pneumoniae KC-1	12.5	12.5	6.25
〃 NCTC 9632	12.5	12.5	6.25
Enterobacter cloacae NCTC 9394	>100	>100	>100
Enterobacter aerogenes	>100	>100	>100
〃 NCTC 10006	>100	>100	>100
Hafnia alvei NCTC 9540	12.5	12.5	25
Serratia marcescens IFO 3736	>100	>100	>100
Proteus vulgaris OX-19	50	100	50
Proteus mirabilis 1287	25	25	25
Proteus morganii Kono	>100	>100	>100
Proteus rettgeri NIH 96	>100	>100	>100
Proteus inconstans NIH 118	>100	>100	>100
Pseudomonas aeruginosa No. 12	>100	>100	>100
〃 Nc-5	>100	>100	>100

MIC (μg/ml)

Table 3 Antibacterial spectrum
Gram-positive bacteria (10^6 cells/ml)

Test strains	CDX	CED	CEX
Staphylococcus aureus 209-P JC	0.78	1.56	1.56
〃 SMITH	1.56	1.56	1.56
〃 TERAJIMA	6.25	6.25	6.25
〃 NEUMANN	3.13	6.25	6.25
〃 E-46	1.56	1.56	1.56
〃 No. 80	3.13	6.25	3.13
Staphylococcus epidermidis	1.56	3.13	3.13
Streptococcus pyogenes S-23	0.19	0.39	0.78
〃 Cook	0.19	0.78	1.56
Streptococcus faecalis	50	100	100
Streptococcus viridans	50	100	100
Streptococcus pneumoniae type I	12.5	25	50
〃 type II	1.56	1.56	3.13
〃 type III	3.13	3.13	6.25
Micrococcus luteus ATCC 9341	0.025	0.025	0.05
Corynebacterium diphtheriae	0.39	0.39	0.78
Bacillus subtilis ATCC 6633	0.78	0.39	0.78
Bacillus anthracis	0.78	0.78	1.56

MIC (μg/ml)

Table 4 Antibacterial spectrum
Gram-negative bacteria (10^6 cells/ml)

Test strains	CDX	CED	CEX
Escherichia coli NIH JC-2	12.5	12.5	12.5
〃 NIH	12.5	12.5	12.5
Citrobacter freundii NIH 10018-68	>100	>100	>100
Salmonella typhi T-287	6.25	3.13	3.13
〃 O-901	6.25	6.25	3.13
Salmonella paratyphi A	12.5	6.25	6.25
〃 B	6.25	6.25	3.13
Salmonella enteritidis	12.5	6.25	6.25
Shigella dysenteriae EW-7	6.25	6.25	6.25
Shigella flexneri 2a EW-10	6.25	6.25	6.25
Shigella boydii EW-28	6.25	6.25	6.25
Shigella sonnei EW-33	3.13	3.13	3.13
Klebsiella pneumoniae KC-1	6.25	6.25	6.25
〃 NCTC 9632	6.25	12.5	6.25
Enterobacter cloacae NCTC 9394	>100	>100	100
Enterobacter aerogenes	50	25	25
〃 NCTC 10006	>100	>100	>100
Hafnia alvei NCTC 9540	12.5	12.5	25
Serratia marcescens IFO 3736	>100	>100	>100
Proteus vulgaris OX-19	12.5	12.5	12.5
Proteus mirabilis 1287	12.5	12.5	12.5
Proteus morganii Kono	>100	>100	>100
Proteus rettgeri NIH 96	12.5	25	12.5
Proteus inconstans NIH 118	12.5	25	25
Pseudomonas aeruginosa No. 12	>100	>100	>100
〃 Nc-5	>100	>100	>100

MIC (μg/ml)

Fig. 1 Sensitivity distribution of clinical isolates *Staphylococcus aureus* (60 strains)
(10^8 cells/ml)

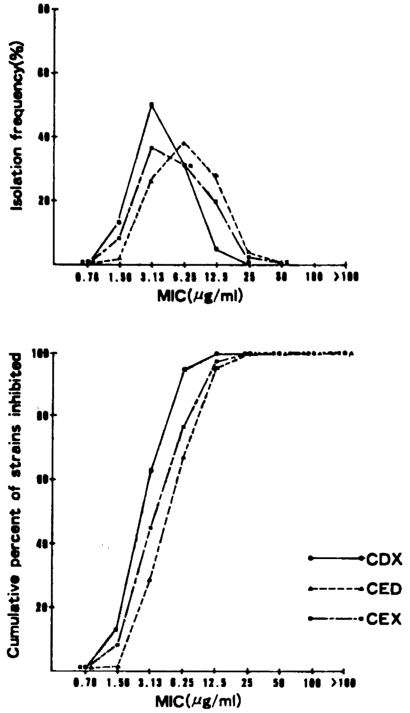


Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates *Staphylococcus aureus* (60 strains)
(10^6 cells/ml)

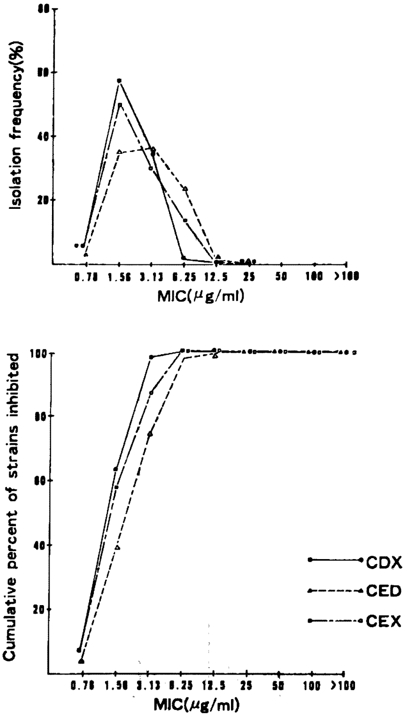


Fig. 3 Cross sensitivity of CDX and CEX *Staphylococcus aureus* (60 strains)

MIC (μg/ml) (10^8 cells/ml)

CDX \ CEX MIC (μg/ml)	1.56	3.13	6.25	12.5	25
25					
12.5				1	2
6.25		1	7	11	
3.13		18	12		
1.56	5	3			

Fig. 4 Cross sensitivity of CDX and CED *Staphylococcus aureus* (60 strains)

MIC (μg/ml) (10^8 cells/ml)

CDX \ CED MIC (μg/ml)	1.56	3.13	6.25	12.5	25
25					
12.5				1	2
6.25			4	14	1
3.13		10	18	2	
1.56	1	6	1		

Fig. 5 Cross sensitivity of CDX and CEX *Staphylococcus aureus* (60 strains)

MIC (μg/ml) (10^6 cells/ml)

CDX \ CEX MIC (μg/ml)	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5
12.5					
6.25				1	
3.13			14	7	
1.56	1	29	4		
0.78	3	1			

Fig. 6 Cross sensitivity of CDX and CED *Staphylococcus aureus* (60 strains)

MIC (μg/ml) (10^6 cells/ml)

CDX \ CED MIC (μg/ml)	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5
12.5					
6.25				1	
3.13			7	13	1
1.56		19	15		
0.78	2	2			

Table 5 Sensitivity distribution of clinical isolates *Staphylococcus aureus* (60 strains)

Inoculum size (cells/ml)	Drugs	MIC (μg/ml)								
		0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
10^8	CDX		8	30	19	3				
	CED		1	16	23	17	3			
	CEX		5	22	19	12	2			
10^6	CDX	4	34	21	1					
	CED	2	21	22	14	1				
	CEX	4	30	18	8					

Hafnia alvei にはCDX 12.5 μg/ml, CED 12.5 μg/ml, CEX 25μg/ml に感受性を示した。*P. mirabilis* には3薬物共に25 μg/ml と感受性を示したが, indole 陽性の *Proteus* には CDX 50～>100 μg/ml, CED 100～>100 μg/ml, CEX 50～>100 μg/ml と感受性は示さなかった。また *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* sp., *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* には3薬物とも>100μg/ml と抗菌力は認められなかった。

10^6 cells/ml 接種した場合では, 3薬物ともグラム陽性菌, 陰性菌の抗菌力が約2倍程度増強される菌株が多く見られた。

以上の結果, グラム陽性菌, 陰性菌群にわたりCDX は CED, CEX と同様な抗菌スペクトラムを有し, 抗菌力についても, ほぼ同程度の感受性を有していた。

2) 臨床分離株の感受性分布と感受性相関

臨床的に分離された *S. aureus* 60株, *S. pyogenes* 22株, *E. coli* 62株, *Klebsiella* sp. 42株, *P. mirabilis* 32株, *P. vulgaris* 38株, *P. morganii* 27株, *P. rettgeri* 17株に対する感受性分布, 感受性相関を検討した結果は Table 5～12, Fig. 1～36 に示すようであった。

S. aureus では Table 5, Fig. 1 に示すように 10^8 cells/ml 接種時で, CDX は 1.56～12.5 μg/ml, CED, CEX は共に 1.56～25 μg/ml に分布し, そのピークは CDX 3.13 μg/ml, CED 6.25 μg/ml, CEX 3.13 μg/ml を示し, CDX は CEX とほぼ同等, CED よりわずかに強い抗菌力を有していた。CDX と CEX の感受性相関は Fig. 3 に示すように, ほとんどの菌株で相関性を示した。CDX と CED との間では Fig. 4 に示すように, ほとんどの菌株で相関性を示したが CDX の方が若干抗菌力は優れていた。

10^6 cells/ml 接種では Table 5, Fig. 2 に示すように CDX, CEX は共に 0.78～6.25 μg/ml, CED は 0.78～12.5 μg/ml に分布し, そのピーク値は CDX と CEX は共に 1.56 μg/ml, CED は 1.56～3.13 μg/ml であった。相関関係については Fig. 5, 6 に示すように, ほとんどの菌株で相関性を示した。

S. pyogenes では Table 6, Fig. 7 に示すように 10^8 cells/ml 接種時で, CDX は 0.1～0.39 μg/ml, CED は 0.2～0.39 μg/ml, CEX 0.2～0.78 μg/ml に分布し, そのピークは CDX 0.2 μg/ml, CED 0.39 μg/ml, CEX

Table 6 Sensitivity distribution of clinical isolates *Streptococcus pyogenes* (22 strains)

Inoculum size (cells/ml)	Drugs	MIC (μg/ml)								
		0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25
10^8	CDX	5	16	1						
	CED		4	18						
	CEX		2	8	12					
10^6	CDX	11	11							
	CED	1	8	13						
	CEX	1	3	11	7					

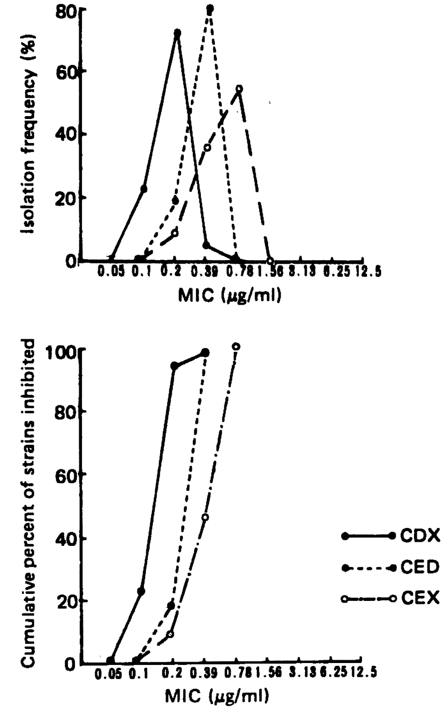


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates *Streptococcus pyogenes* (22 strains) (10^8 cells/ml)

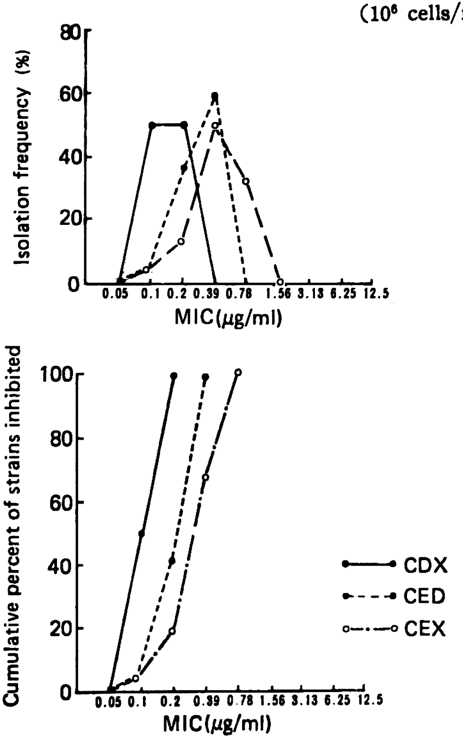


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates *Streptococcus pyogenes* (22 strains) (10^6 cells/ml)

Fig. 9 Cross sensitivity of CDX and CEX *Streptococcus pyogenes* (22 strains)

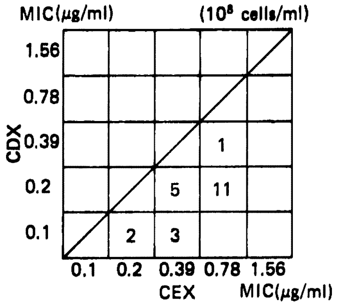


Fig. 10 Cross sensitivity of CDX and CED *Streptococcus pyogenes* (22 strains)

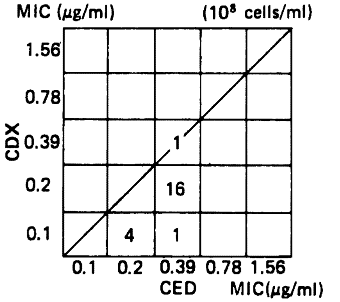


Fig. 11 Cross sensitivity of CDX and CEX *Streptococcus pyogenes* (22 strains)

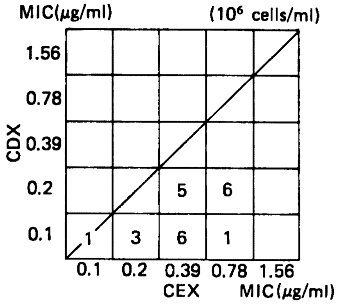


Fig. 12 Cross sensitivity of CDX and CED *Streptococcus pyogenes* (22 strains)

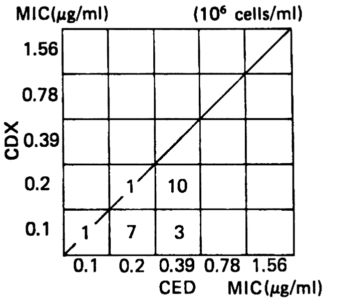


Fig. 13 Sensitivity distribution of clinical isolates *Escherichia coli* (62 strains)
(10[6] cells/ml)

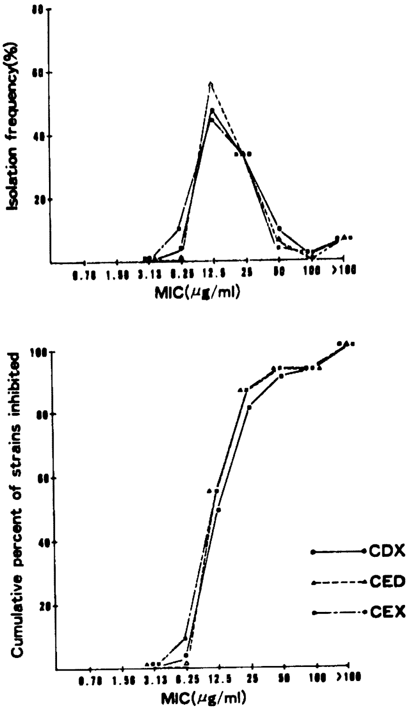


Fig. 14 Sensitivity distribution of clinical isolates *Escherichia coli* (62 strains)
(10[6] cells/ml)

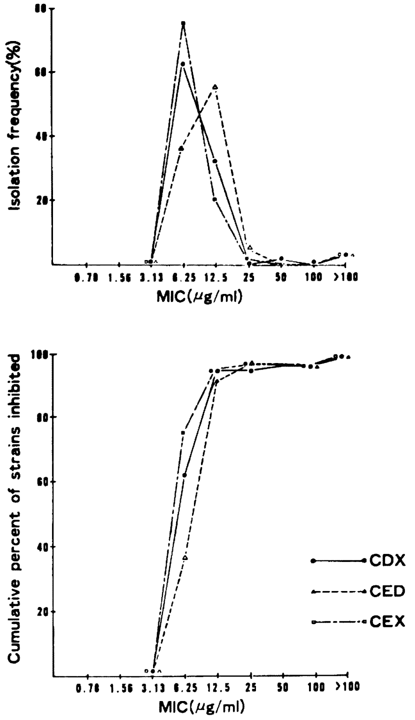


Fig. 15 Cross sensitivity of CDX and CEX *Escherichia coli* (62 strains)

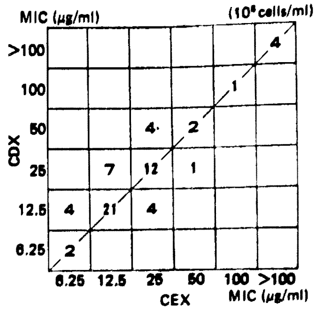


Fig. 16 Cross sensitivity of CDX and CED *Escherichia coli* (62 strains)

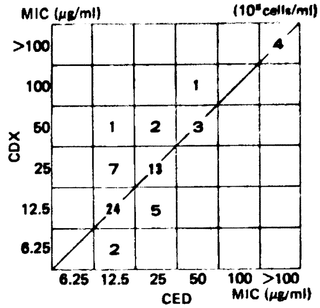


Fig. 17 Cross sensitivity of CDX and CEX *Escherichia coli* (62 strains)

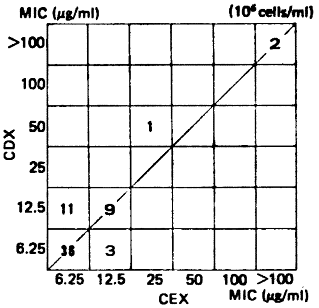


Fig. 18 Cross sensitivity of CDX and CED *Escherichia coli* (62 strains)

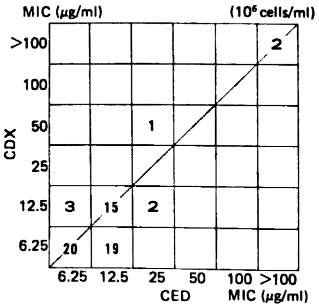


Table 7 Sensitivity distribution of clinical isolates *Escherichia coli* (62 strains)

Inoculum size (cells/ml)	Drugs	MIC (μg/ml)								
		0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
10^8	CDX				2	29	20	6	1	4
	CED					34	20	4		4
	CEX				6	28	20	3	1	4
10^6	CDX				39	20		1		2
	CED				23	34	3			2
	CEX				47	12	1			2

0.78 μg/ml を示し，CDX は CED, CEX より強い抗菌力を有していた。CDX と CEX の感受性相関は Fig. 9 に示すように，相関性は示さず CDX の抗菌力の方が優れていた。CDX と CED との間でも Fig. 10 に示すようにほとんど相関性は示さなかった。

10^6 cells/ml 接種では Table 6, Fig. 8 に示すように CDX は 0.1～0.2 μg/ml, CED は 0.1～0.39 μg/ml, CEX は 0.1～0.78 μg/ml に分布し，そのピーク値は CDX は 0.1～0.2 μg/ml, CED と CEX は共に 0.39 μg/ml であった。相関関係については Fig. 11, 12 に示すように相関性は示さず，CDX の抗菌力は CDX, CEX より優れていた。

E. coli の場合には，Table 7, Fig. 13 に示すように CDX と CEX は共に 6.25～>100 μg/ml, CED は 12.5～>100 μg/ml に分布し，そのピークは 3 薬物とも 12.5 μg/ml を示し抗菌力はほぼ同等であった。

接種菌量を 10^6 cells/ml とすると Table 7, Fig. 14 に示すように CDX, CEX のピークは 6.25 μg/ml に移動が認められ CED のピークは動かないが，3 薬物とも菌量の減少により抗菌力が増強された。Fig. 15～18 に示すように，ほとんどの菌株で相関性がみられた。また，3 薬物に交差耐性を示す株も認められた。

Klebsiella sp. の場合，Table 8, Fig. 19 に示すように 3 薬物とも 6.25～>100 μg/ml に分布し，ピークは 12.5 μg/ml にありほぼ同等の抗菌力を有していた。10^6 cells/ml の場合，Table 8, Fig. 20 に示すように CDX, CED は 6.25～100 μg/ml に，CEX は 3.13～50 μg/ml に分布し，そのピークは CDX と CEX は共に 6.25 μg/ml に，CED は 12.5 μg/ml にあり CDX は CEX と同等で CED よりわずかに良好な感受性を示した。CDX と CEX との相関性は Fig. 21, 23 に，CDX と CED との相関性は Fig. 22, 24 に示すように，ほとんどの菌株で相関性がみられた。

P. mirabilis の場合には，Table 9, Fig. 25 に示すように CDX と CEX は共に 12.5～>100 μg/ml に，CED は 25～>100 μg/ml に分布し，ピークは CDX と CED は 50 μg/ml に，CEX は 25 μg/ml にあり CDX は CED と同等，CEX よりわずかに劣る抗菌力を有していた。10^6 cells/ml の場合，CDX は Table 9, Fig. 26 に示すように 12.5～>100 μg/ml に分布し，そのピークは

Table 8 Sensitivity distribution of clinical isolates *Klebsiella* sp. (42 strains)

Inoculum size (cells/ml)	Drugs	MIC (μg/ml)								
		0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
10^8	CDX				5	27	7	1		2
	CED				1	27	10	2	1	1
	CEX				11	17	12		1	1
10^6	CDX				26	14	1		1	
	CED				11	30			1	
	CEX			2	28	11		1		

Fig. 19 Sensitivity distribution of clinical isolates *Klebsiella* sp. (42 strains)

(10⁸ cells/ml)

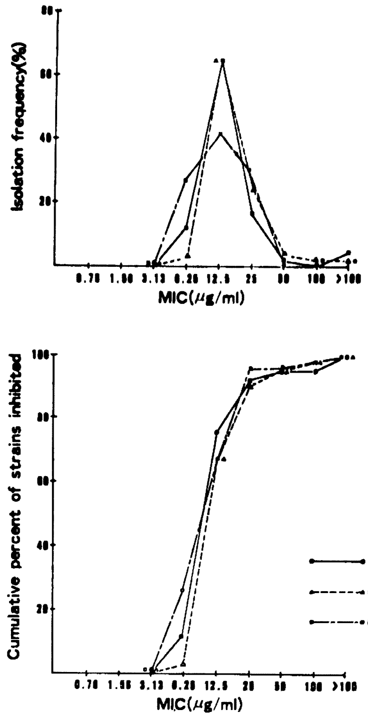


Fig. 20 Sensitivity distribution of clinical isolates *Klebsiella* sp. (42 strains)

(10⁶ cells/ml)

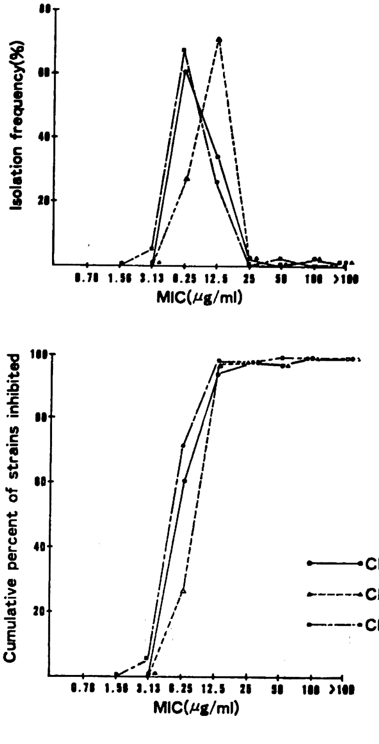


Fig. 21 Cross sensitivity of CDX and CEX *Klebsiella* sp. (42 strains)

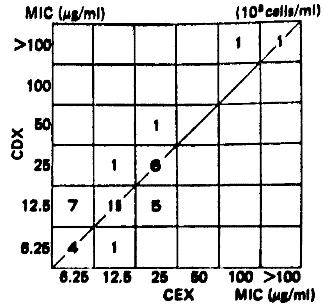


Fig. 22 Cross sensitivity of CDX and CED *Klebsiella* sp. (42 strains)

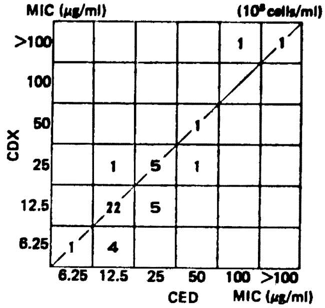


Fig. 23 Cross sensitivity of CDX and CEX *Klebsiella* sp. (42 strains)

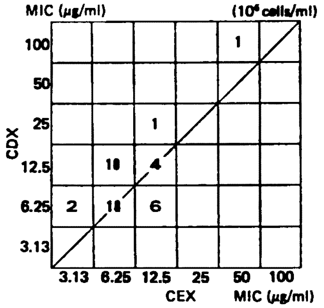


Fig. 24 Cross sensitivity of CDX and CED *Klebsiella* sp. (42 strains)

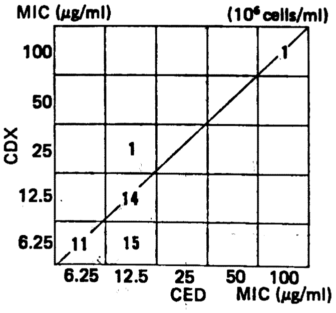


Fig. 25 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus mirabilis* (32 strains)
(10^8 cells/ml)

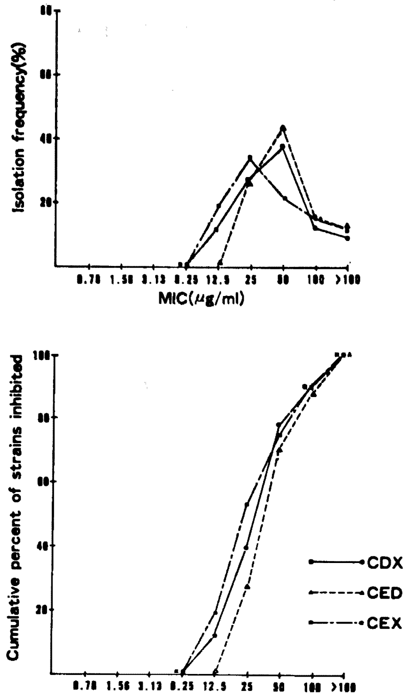


Fig. 26 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus mirabilis* (32 strains)
(10^6 cells/ml)

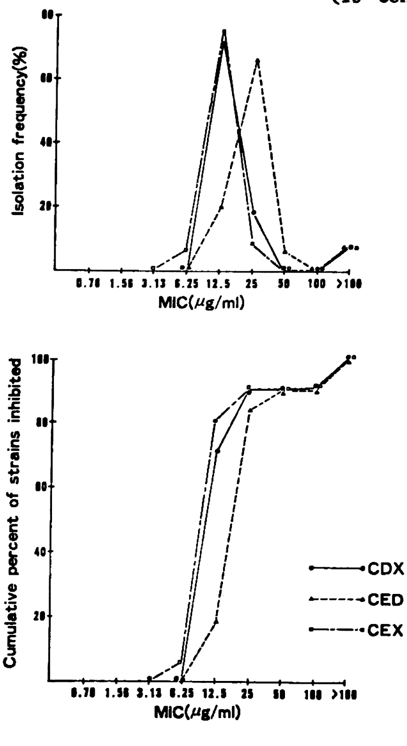


Fig. 27 Cross sensitivity of CDX and CEX *Proteus mirabilis* (32 strains)

(10^8 cells/ml)

CDX MIC (μg/ml) \ CEX MIC (μg/ml)	12.5	25	50	100	>100
>100					3
100				4	
50		6	5	1	
25	3	4	2		
12.5	3	1			

Fig. 28 Cross sensitivity of CDX and CED *Proteus mirabilis* (32 strains)

(10^8 cells/ml)

CDX MIC (μg/ml) \ CED MIC (μg/ml)	12.5	25	50	100	>100
>100					3
100				3	1
50		1	9	2	
25		5	4		
12.5		3	1		

Fig. 29 Cross sensitivity of CDX and CEX *Proteus mirabilis* (32 strains)

(10^6 cells/ml)

CDX MIC (μg/ml) \ CEX MIC (μg/ml)	6.25	12.5	25	50	100	>100
>100						3
100						
50						
25		4	2			
12.5	2	20	1			
6.25						

Fig. 30 Cross sensitivity of CDX and CED *Proteus mirabilis* (32 strains)

(10^6 cells/ml)

CDX MIC (μg/ml) \ CED MIC (μg/ml)	12.5	25	50	100	>100
>100					3
100					
50					
25		5	1		
12.5	6	16	1		

Table 9 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus mirabilis* (32 strains)

Inoculum size (cells/ml)	Drugs	MIC (μg/ml)								
		0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
10^8	CDX					4	9	12	4	3
	CED						9	14	5	4
	CEX					6	11	7	5	3
10^6	CDX					23	6			3
	CED					6	21	2		3
	CEX				2	24	3			3

Table 10 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus vulgaris* (38 strains)

Inoculum size (cells/ml)	Drugs	MIC (μg/ml)								
		0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
10^8	CDX					4	5	8		21
	CED					1	13	1	2	21
	CEX					10	6		1	21
10^6	CDX				1	16		3	2	16
	CED					7	10	2	2	17
	CEX				1	16	1	3	1	16

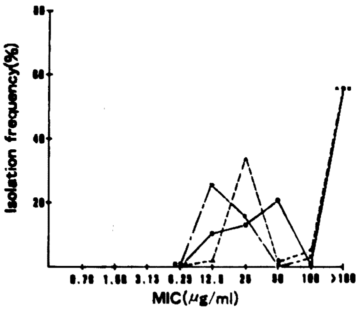
12.5 μg/ml にあり，CEX と同様で CED よりわずかに強い抗菌力を有していた。また Fig. 27～30 に示すようにほとんどの菌株で相関性がみられた。また3薬物に交差耐性を示す株が3株認められた。

P. vulgaris の場合は，Table 10，Fig. 31 に示すように3薬物は12.5～>100 μg/ml に分布し，ピークはCDX 50 μg/ml と >100 μg/ml, CED 25 μg/ml と >100 μg/ml, CEX 12.5 μg/ml と >100 μg/ml と2峰性を示し，CEX, CED, CDX の順に抗菌力が良好であった。10^6 cells/ml の場合，Table 10，Fig. 32 に示すように CDX は 6.25～>100 μg/ml に分布し，そのピークは 12.5 μg/ml と >100 μg/ml の2峰性を示し CEX と同等で，CED よりわずかに強い抗菌力を有していた。CDX は他の2薬物に比べ菌量の減少により抗菌力が増強された。相関性については Fig. 33～36 に示すように，ほとんどの菌株で相関性が見られた。また3薬物に耐性の菌株が16株認められた。

Table 11 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus morganii* (27 strains)

Inoculum size (cells/ml)	Drugs	MIC (μg/ml)								
		0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
10^8	CDX									27
	CED									27
	CEX									27
10^6	CDX							1	2	24
	CED							1	2	24
	CEX							1	2	24

Fig. 31 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus vulgaris* (38 strains) (10^8 cells/ml)



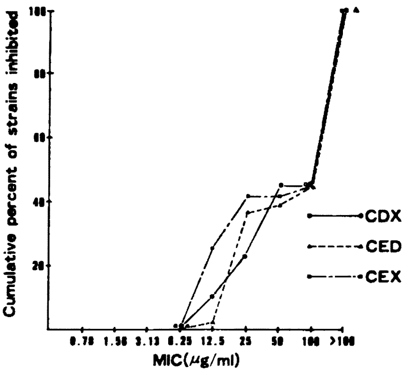
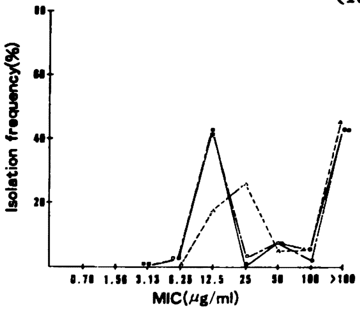


Fig. 32 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus vulgaris* (38 strains) (10^6 cells/ml)



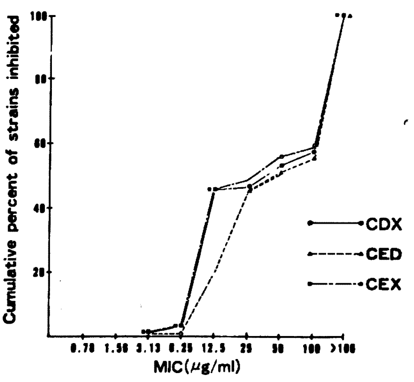


Fig. 33 Cross sensitivity of CDX and CEX *Proteus vulgaris* (38 strains)

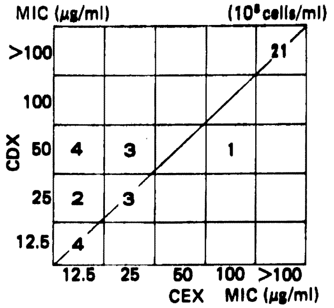


Fig. 34 Cross sensitivity of CDX and CED *Proteus vulgaris* (38 strains)

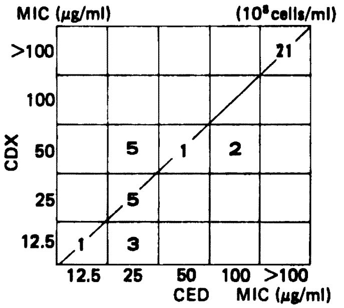


Fig. 35 Cross sensitivity of CDX and CEX *Proteus vulgaris* (38 strains)

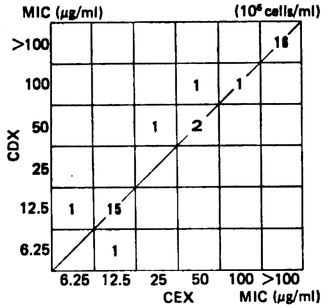


Fig. 36 Cross sensitivity of CDX and CED *Proteus vulgaris* (38 strains)

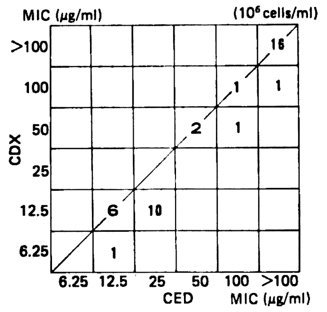


Table 12 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus rettgeri* (17 strains)

Inoculum size (cells/ml)	Drugs	MIC (μg/ml)								
		0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
10^8	CDX					1				16
	CED						1			16
	CEX					1				16
10^6	CDX				1					16
	CED					1				16
	CEX				1					16

P. morganii の場合，Table 11 に示すように 10^8cells/ml で3薬物に対して全株 >100 μg/ml と感受性を示さず，10^6 cells/ml でも 50，100 μg/ml という MIC を示す株がわずかにあるだけで3薬物とも感受性を示さなかった。

P. rettgeri の場合，Table 12 に示すように3薬物とも大部分の株で感受性を示さなかった。

3) 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

S. aureus 209-P JC, ***E. coli*** NIH JC-2, ***K. pneumoniae*** NCTC 9632 株を用い，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を行なった。

培地pHによる影響はTable 13に示すように，***S.aureus*** 209-P JC株に対しては3薬物とも酸性側で抗菌力が増強されていた。***E. coli*** NIH JC-2 株では3薬物ともほとんど pH の影響を受けなかった。***K. pneumoniae*** NCTC 9632 株では3薬物とも酸性側での抗菌力の減弱が認められた。

馬血清添加による影響は Table 14 に示すように3薬物とも血清添加量が増えても，抗菌力にほとんど影響は認められなかった。

接種菌量による影響は Table 15 に示すように，***S. aureus*** 209-P JC 株では3薬物とも菌量の影響をほとんど受けなかった。***E. coli*** NIH JC-2 株，***K. pneumoniae*** NCTC 9632 株では，3薬物とも 10^6 cells/ml と 10^7 cells/ml の間で菌量の影響を受け抗菌力に変動を認めた。

4) 細菌の増殖曲線に及ぼす影響

E. coli NIH JC-2 株を biophotometer を用いて培養し，対数期途上（T%=60）に3薬物の 400 μg/ml を添加し増殖曲線に及ぼす影響を濁度と生菌数の変化で検討

Table 13 Effect of medium pH on antibacterial activity of CDX, CED, and CEX

Organisms	Medium pH	MIC (μg/ml)		
		CDX	CED	CEX
S. aureus 209-P JC	5.5	0.09	0.19	0.09
	6	0.19	0.39	0.19
	7	0.78	1.56	1.56
	8	1.56	3.13	3.13
	8.5	1.56	3.13	3.13
E. coli NIH JC-2	5.5	50	50	25
	6	25	50	12.5
	7	25	25	12.5
	8	12.5	25	12.5
	8.5	12.5	50	12.5
K. pneumoniae NCTC 9632	5.5	100	200	100
	6	50	100	50
	7	12.5	25	12.5
	8	6.25	6.25	6.25
	8.5	6.25	12.5	6.25

Heart infusion broth

Table 14 Effect of horse serum on antibacterial activity of CDX, CED, and CEX

Organisms	Horse serum (%)	MIC (μg/ml)		
		CDX	CED	CEX
S. aureus 209-P JC	0	1.56	1.56	1.56
	10	1.56	1.56	1.56
	25	1.56	1.56	3.13
	50	1.56	3.13	3.13
E. coli NIH JC-2	0	12.5	12.5	12.5
	10	12.5	12.5	6.25
	25	12.5	12.5	6.25
	50	6.25	12.5	6.25
K. pneumoniae NCTC 9632	0	12.5	12.5	6.25
	10	12.5	12.5	6.25
	25	12.5	12.5	6.25
	50	6.25	12.5	6.25

Heart infusion broth

Table 15 Influence of inoculum size on antibacterial activity of CDX, CED, and CEX

Organisms	Inoculum size (cells/ml)	MIC (μg/ml)		
		CDX	CED	CEX
S. aureus 209-P JC	1.4 x 10^7	1.56	3.13	3.13
	1.4 x 10^6	1.56	3.13	3.13
	1.4 x 10^5	1.56	3.13	1.56
	1.4 x 10^4	1.56	1.56	1.56
	1.4 x 10^3	0.78	1.56	1.56
E. coli NIH JC-2	1.1 x 10^7	200	800	400
	1.1 x 10^6	25	25	12.5
	1.1 x 10^5	12.5	12.5	12.5
	1.1 x 10^4	12.5	12.5	12.5
	1.1 x 10^3	6.25	12.5	6.25
K. pneumoniae NCTC9632	1.2 x 10^7	200	800	400
	1.2 x 10^6	12.5	12.5	6.25
	1.2 x 10^5	6.25	12.5	6.25
	1.2 x 10^4	6.25	6.25	6.25
	1.2 x 10^3	6.25	6.25	6.25

Heart infusion broth

Fig. 37 Bactericidal activity of cephalosporins on *E. coli* NIH JC-2

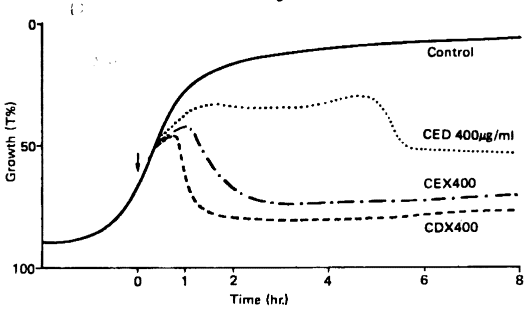
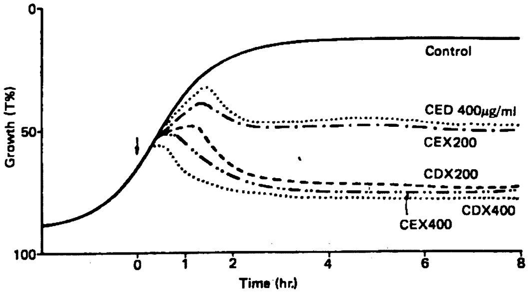


Fig. 39 Bactericidal activity of cephalosporins on *K. pneumoniae* KC-1



した。Fig. 37, 38 に示すように，CDX は CEX と比較して1時間目までに強い殺菌作用が認められたが，2時間目以降では CDX と CEX との間に差は認められなかった。CED は他の2薬物と異なり 2時間目まで静菌的作用を示し，徐々に殺菌されていった。

K. pneumoniae KC-1 株を biophotometer を用いて培養し対数期途上（T%＝60）に3薬物の種々の濃度を添加し，濁度と生菌数の変化で検討した。その結果は Fig. 39, 40 に示すように CDX の 400, 200 μg/ml, CEX

Fig. 38 Effect of cephalosporins on viability of *E. coli* NIH JC-2

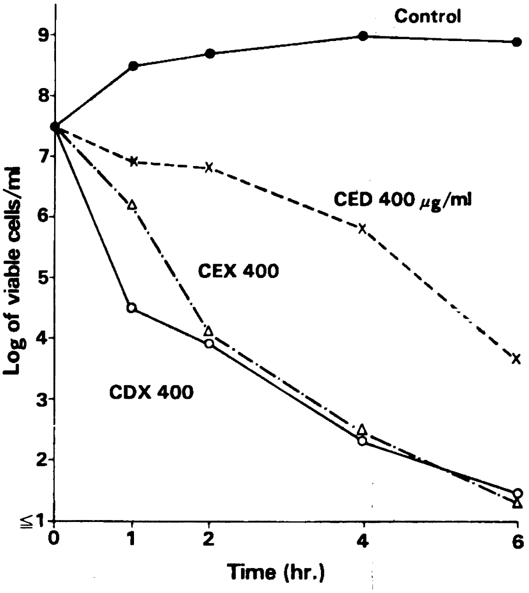


Fig. 40 Effect of cephalosporins on viability of *K. pneumoniae* KC-1

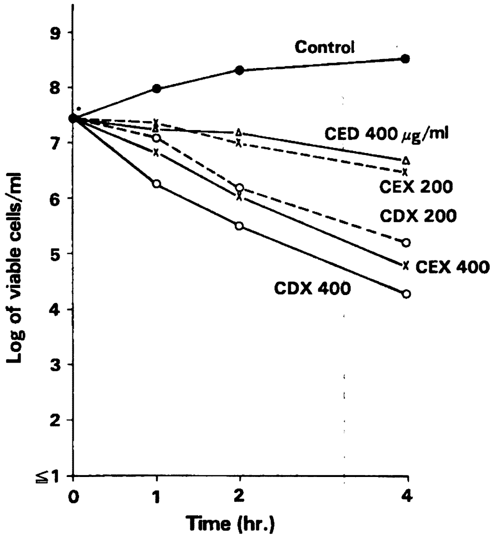


Fig. 41 Effect of CDX on viability of *E. coli* NIH JC-2

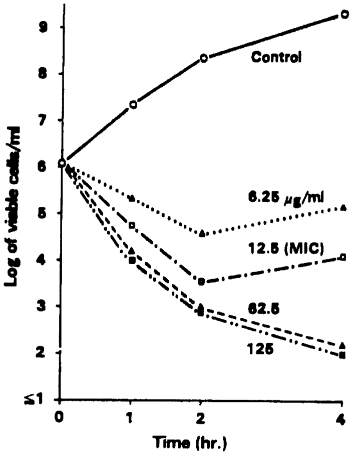


Fig. 42 Effect of CEX on viability of *E. coli* NIH JC-2

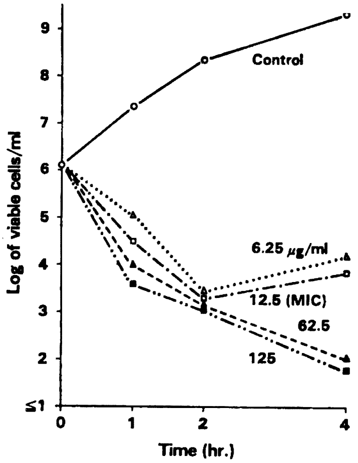


Fig. 43 Effect of CED on viability of *E. coli* NIH JC-2

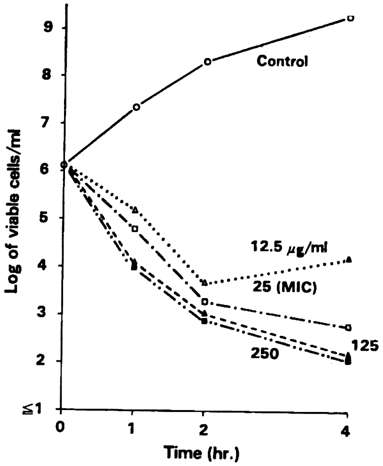


Fig. 44 Effect of CDX on viability of *E. coli* No. 29

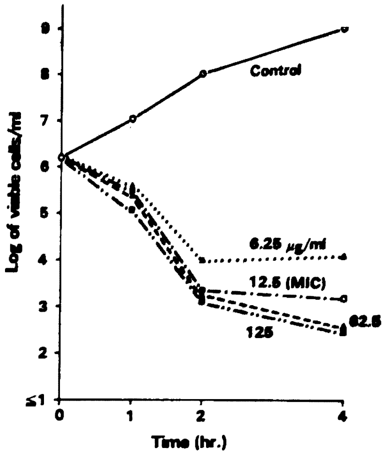


Fig. 45 Effect of CEX on viability of *E. coli* No. 29

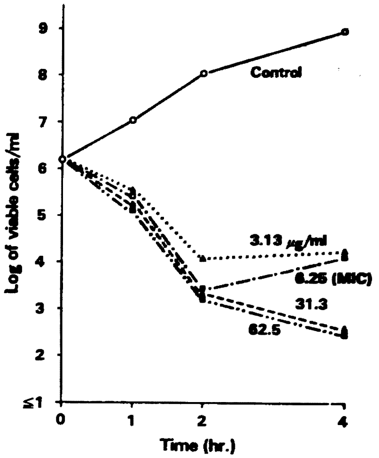


Fig. 46 Effect of CED on viability of *E. coli* No. 29

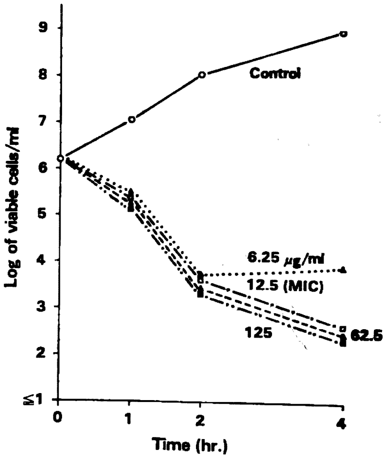


Fig. 47 Effect of CDX on viability of *K. pneumoniae* KC-1

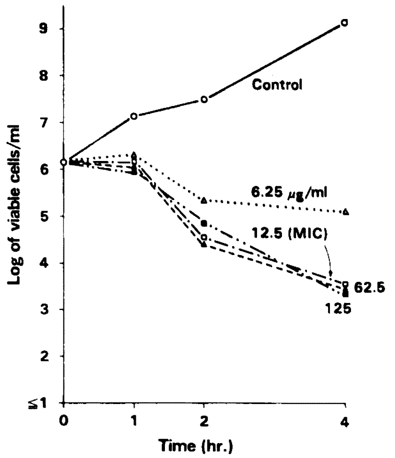
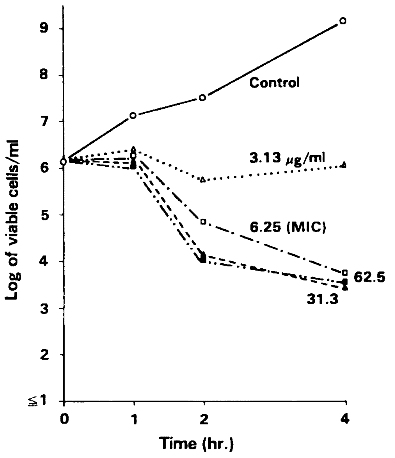


Fig. 48 Effect of CEX on viability of *K. pneumoniae* KC-1



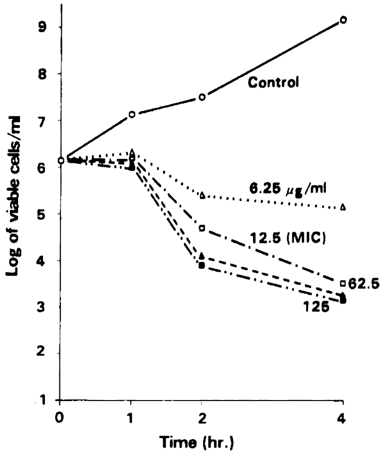
の 400 μg/ml でゆるやかではあるが殺菌作用がみられた。また CED 400 μg/ml, CEX 200 μg/ml では静菌作用がみられた。

E. coli NIH JC-2, *E. coli* No. 29, *K. pneumoniae* KC-1 株を用い約 10^6 cells/ml の菌量時に薬物を添加し，振盪培養により増殖曲線に及ぼす影響を検討した。各薬物は MIC 濃度を中心に 1/2, 5, 10 倍濃度を作用させた。

E. coli NIH JC-2 株の場合は，Fig. 41～43 に示すように 3 薬物とも 2 時間目まで各濃度で殺菌的に作用し同様な殺菌パターンを示した。

E. coli No. 29 株の場合は，Fig. 44～46 に示すように 2 時間目まで 3 薬物とも dose response のない殺菌作用を示した。

Fig. 49 Effect of CED on viability of *K. pneumoniae* KC-1



K. pneumoniae KC-1 株の場合は，Fig. 47～49 に示すように，3 薬物とも 1/2 MIC では静菌的作用を示し，MIC 濃度以上では殺菌的作用を示した。

5) 位相差顕微鏡による形態観察

E. coli NIH JC-2 株の対数期途上の菌に CDX, CEX の 50 μg/ml (4MIC) を作用させた時の形態変化を位相差顕微鏡を用いて観察した。その結果は Fig. 50 に示すように，CDX, CEX 共に菌体の伸長化が見られた。溶菌開始は，CDX では 2 時間，CEX では 2 時間30分と CDX の方が早く起こり，CDX は全ての菌を 3 時間30分で溶菌させたが，CEX では大部分の菌が伸長化したまま存在していた。

6) マウス実験的感染症に対する治療効果

S. aureus SMITH 株，*S. pyogenes* S-23 株，*S. pneumoniae* type III 株，*E. coli* No. 29 株，*E. coli* KC-14 株，*K. pneumoniae* KC-1 株で感染させ，2 時間後 1 回経口治療した結果は，Table 16 に示すようであった。

S. aureus SMITH 株の場合，CDX の ED_{50} は 0.0030 mg/mouse，CEX は 0.0027 mg/mouse であり，両薬物ともほぼ同等の治療効果を示した。

S. pyogenes S-23 株の場合，CDX は 0.09 mg/mouse という ED_{50} 値を示し CED の約 4 倍，CEX の約 6 倍優れた治療効果を有していた。

S. pneumoniae type III 株の場合，CDX は 0.98 mg/mouse を示し CED とほぼ同等で，CEX の約 4 倍優れた治療効果を有していた。

E. coli No. 29 株の場合，CDX は 0.66 mg/mouse で，CEX よりやや劣っていた。

Fig. 50 Phase contrast micrographs of *E. coli* NIH JC-2 exposed to 50 μg/ml of CDX and CEX

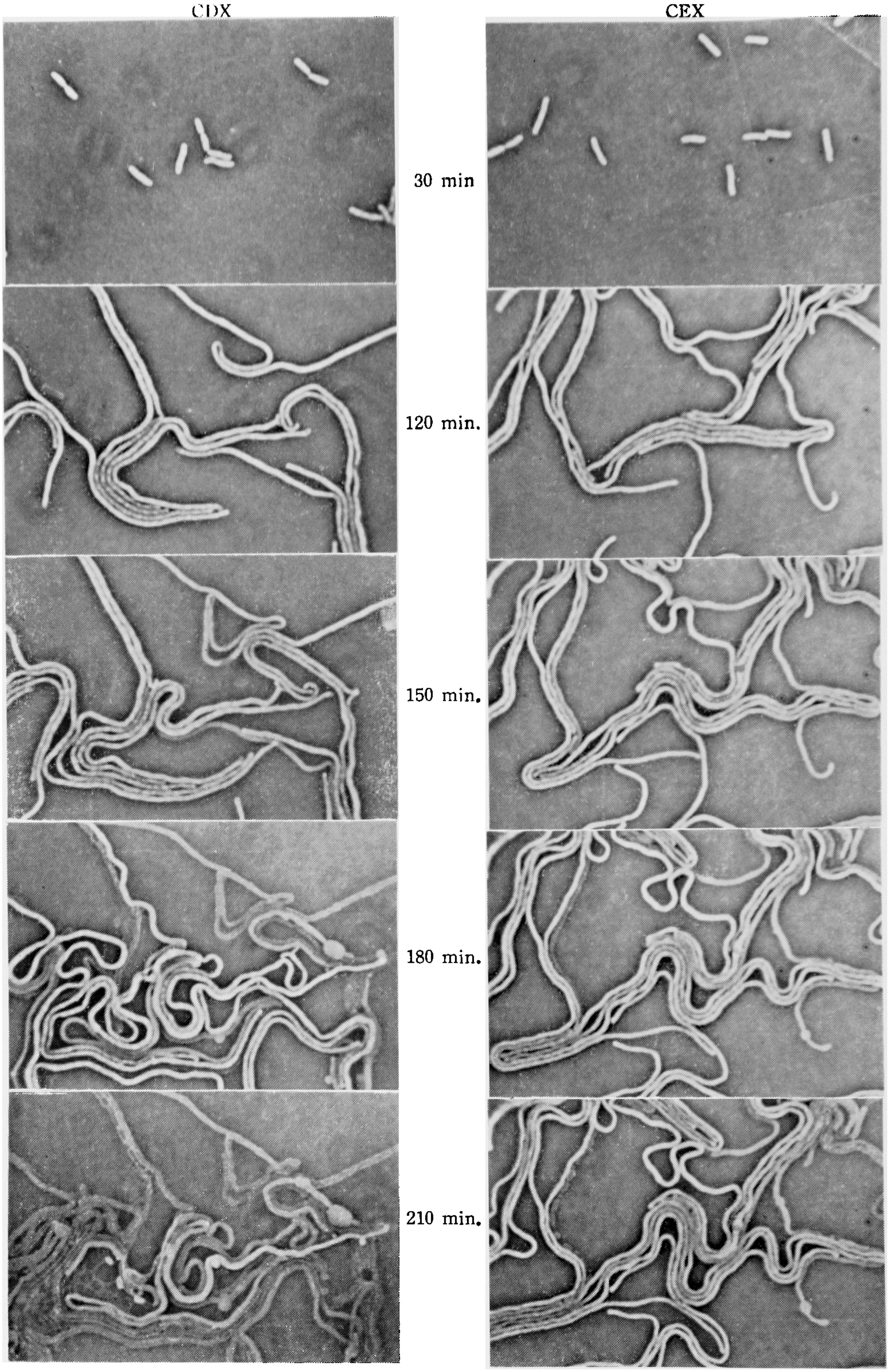


Table 16 Protecting effect of CDX, CED, and CEX in experimental mice infections

Organisms	Antibiotics	MIC (μg/ml)		Challenge LD_{50}	ED_{50} (mg/mouse)	Mucin
		10^8	10^6			
S. aureus SMITH	CDX	3.13	1.56	40	0.0030	+
	CED	3.13	1.56		N.D.	
	CEX	3.13	1.56		0.0027	
S. pyogenes S-23	CDX	0.19	0.19	160	0.09	−
	CED	0.78	0.39		0.32	
	CEX	0.78	0.78		0.56	
S. pneumoniae type III	CDX	3.13	3.13	660	0.98	−
	CED	3.13	3.13		1.42	
	CEX	6.25	6.25		4.00	
E. coli No. 29	CDX	12.5	6.25	300	0.66	+
	CED	12.5	6.25		N.D.	
	CEX	6.25	6.25		0.30	
E. coli KC-14	CDX	25	6.25	200	0.22	+
	CED	12.5	6.25		0.22	
	CEX	12.5	6.25		0.21	
K. pneumoniae KC-1	CDX	12.5	6.25	3000	1.91	+
	CED	12.5	6.25		2.11	
	CEX	6.25	6.25		1.03	

Table 17 Influence of inoculum size on ED_{50} of CDX and CEX in experimental *E. coli* No. 29 infection in mice

Inoculum size (cells/mouse)	Challenge LD_{50}	ED_{50} (mg/mouse)		Ratio (b/a)
		CDX$^{a)}$	CEX$^{b)}$	
1.5×10^6	3×10^2	0.680	0.320	0.47
1.5×10^7	3×10^3	3.15	5.00	1.59

E. coli KC–14 株の場合，CDX は 0.22 mg/mouse で CED, CEX とほぼ同等の治療効果を有していた。

K. pneumoniae KC–1 株の場合，CDX は 1.91 mg/mouse で，CED と同等で CEX よりやや劣っていた。

E. coli No. 29 株を用いて 2 菌量による ED_{50} 値を検討した結果，Table 17 に示すように CDX, CEX 共に菌量により ED_{50} 値は変動するが，CDX の方が CEX に比べ，その割合は少ないようであった。

総括ならびに考案

米国ブリストル社研究所において開発された新しいセファロスポリン系抗生物質 Cefadroxil (CDX) に関する細菌学的評価を Cephalexin (CEX)，Cefradine (CED) を比較薬として検討を行なった。その結果，CDX は CEX, CED と同様グラム陽性菌群ならびにグラム陰性菌群に対して広い抗菌スペクトラムを有し，その抗菌力もほぼ同等であった。

次に CDX の臨床分離株に対する感受性分布を検討したところ，*S. aureus* では 3.13 μg/ml, *S. pyogenes* では 0.2 μg/ml, *E. coli* では 12.5 μg/ml, *Klebsiella* sp. では 12.5 μg/ml, *P. mirabilis* では 50 μg/ml, *P. vulgaris* では 50 μg/ml と >100 μg/ml 付近に感受性を示し，接種菌量を 10^6 cells/ml とすると 2～4 倍抗菌力が増強され菌量の影響を受けるようであった。これらの菌種に対して CDX は CEX, CED とほぼ同等の抗菌力を有していた。なかでも *S. pyogenes* に対して CDX は CED より 2 倍，CEX より 4 倍優れた抗菌力を有していた。CEX および CED との感受性相関をみると *S. pyogenes* を除いて両薬物間に完全な相関関係が成立した。

In vitro 抗菌力に及ぼす諸因子の影響では，培地 pH の影響では菌種により異なり，*S. aureus* では酸性側で

抗菌力が増強され，逆に *K. pneumoniae* では酸性側で抗菌力が減弱された。*E. coli* ではほとんど pH の影響を受けなかった。また馬血清添加での抗菌力の変動はほとんど認められなかった。接種菌量による影響については，*S. aureus* では菌量の影響を受けにくかったが，*E. coli*, *K. pneumoniae* では菌量が多くなるに従って抗菌力は減弱した。

次に Amoxicillin と Ampicillin のような関係[8)~11)]が殺菌作用発現過程においてみられるかどうか *E. coli* を用いて検討した。薬物を作用させる時の菌量が高く，薬物濃度が高い場合には CDX は CEX に比較して短時間において強い殺菌的作用がみられたが，低菌量では CDX, CEX 間に差は認められなかった。*K. pneumoniae* においても度合は少ないが同様な傾向が見られた。

位相差顕微鏡による *E. coli* の形態観察では，CDX は CEX より溶菌が早く起こり，CDX の作用を受けた菌が完全に溶菌する段階で，CEX では伸長化した細胞がかなり存在した。

最後に，マウス実験的感染症に対する治療効果については，グラム陽性菌感染症に対して，CDX は CEX, CED よりわずかに優れた治療効果を示した。また，グラム陰性菌感染症では 3 薬物はほぼ同等の治療効果を示した。

E. coli 感染症で，CDX は高菌量時の治療効果が CEX より優れ，菌量の影響をやや受けにくい傾向を示した。

以上，*in vitro* における殺菌作用および形態変化，そして *in vivo* の治療実験の結果より，*E. coli* などに対して高菌量作用時において CDX は CEX に比べ優れた作用を有することが判った。

一般的に β-lactam 系抗生物質の抗菌作用は，1) β-lactamase に対する安定性，2) 細胞壁外膜の透過性，3) ペニシリン結合蛋白質 Penicillin binding proteins (PBPs) に対する親和性，4) 自己融解酵素 (autolytic enzyme) との関連性，これらの 4 つの因子が関連して抗菌力を示すものと考えられる。私共が行なった実験では，CDX の β-lactamase に対する安定性および細胞壁外膜の透過性は CEX とほぼ同様であった。PBP 1A, 1Bs に対する親和性は CEX よりもむしろ悪く，CDX の優れた殺菌作用にはそれ以外の因子が関与しているものと思われるが詳細については次報で報告したい。

参考文献

1) 第27回日本化学療法学会総会新薬シンポジウム BL-S 578 (セファドロキシル)。1979
2) BUCK, R. E. & K. E. PRICE: Cefadroxil, a new broad-spectrum cephalosporin. Antimicr. Agents & Chemoth. 11: 324~330, 1976
3) 中沢昭三，小野尚子，西野武志，川辺晴英，大久保幸子，辻千寿子：経口合成 Cephalosporin "Cephalexin" に関する細菌学的研究。Jap. J. Antibiotics 22: 269~275, 1969
4) KIND, A. C.; D. G. KESTLE, H. C. STANDIFOLD & W. M. M. KIRBY: Laboratory and clinical experience with cephalexin. Antimicr. Agents & Chemoth. 361~365, 1968
5) 大槻雅子，西野武志，青山孔子，河野由美子，中村直隆，中澤昭三：新しい Cephalosporin 系抗生物質 Cephradine に関する細菌学的研究。Chemotherapy 23: 1~11, 1975
6) 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
7) LITCHFIELD, J. T. & F. WILCOXON: A simplified method of evaluting dose-effect experiments. J. Pharmacol. Exp. Ther. 96: 99~113, 1949
8) 中沢昭三，北中英良，大槻雅子，福井正憲：合成ペニシリン Amoxycillin に関する細菌学的研究。Chemotherapy 21: 1375~1382, 1973
9) FUKUI, M. & S. NAKAZAWA: Study on mechanism of antibacterial action of amoxicillin. I. Rapid bactericidal action and its microscopic observation. Chemotherapy 22: 1111~1114, 1974
10) NAKAZAWA, S.: *In vitro* and *in vivo* laboratory evaluation of amoxicillin. Amoxicillin International Symposium. Excerpta Medica 11~24, 1974
11) 中野一行，小堀厚子，中島美千代，山中烈次，大槻雅子，中沢昭三：合成セファロスポリン系抗生物質 Cefatrizine に関する細菌学的評価。Chemotherapy 24: 1691~1700, 1976

BACTERIOLOGICAL EVALUATION OF CEFADROXIL

TAKESHI NISHINO, KAZUYUKI NAKANO and TERUO TANINO
Department of Microbiology, Kyoto College of Pharmacy

Bacteriological evaluation was made on cefadroxil (CDX), a new cephalosporin antibiotic for oral use, with cephalexin (CEX) and cefradine (CED), and the following results were obtained.

Antibacterial spectrum of CDX was wide against Gram-positive and -negative bacteria similarly to CEX and CED, and its antibacterial activity was almost the same as CEX and CED in the sensitivity distribution to various clinical isolates, though it was superior to CEX and CED against *Streptococcus pyogenes*. CDX showed the same tendency as CEX and CED on the effects of medium pH, horse serum addition, and inoculum size upon antibacterial activity. As for the effects on growth curve of *Escherichia coli*, CDX has somewhat superior bactericidal action to CEX and CED in larger inoculum size.

As for the therapeutic effects on experimental infections in mice, CDX showed slightly superior effect to CEX and CED in the infections due to Gram-positive bacteria whereas three drugs exhibited almost the same therapeutic effect in the infections due to Gram-negative bacteria.