

Cefadroxil の嫌気性菌に対する抗菌作用について

甲畑俊郎・村田加寿美・江崎孝行・今村博務
渡辺邦友・二宮敬宇・上野一恵・鈴木祥一郎
岐阜大学医学部微生物学教室

新しく開発された経口用 Cephalosporin 系抗生物質 Cefadroxil について嫌気性菌に対する *in vitro* 及び *in vivo* での抗菌作用を検討した。

Cefadroxil は嫌気性の球菌，無芽胞グラム陽性桿菌及び *Clostridia* に強い抗菌力を示した。無芽胞グラム陰性桿菌は本剤に対して耐性を示す菌株が多かった。

Cefadroxil は Cephalexin (以下 CEX と略) よりも若干優れた抗菌力を示した。

本剤の MIC に及ぼす接種菌量の影響を検討したが，接種菌量により MIC の変動がみられた。

本剤に対する *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium necrophorum*, *Peptostreptococcus anaerobius* の自然耐性変異株は高濃度薬剤含有培地において高率に検出された。

本剤に対する *B. fragilis* の β -lactamase 活性を検討したが，本剤は β -lactamase に対し安定した成績であった。

Fusobacterium necrophorum 感染マウスに対する治療効果を検討した。その結果，*F. necrophorum* 感染マウスに対し治療効果が認められた。

I 序 文

Cefadroxil は米国 Bristol 社で開発された経口用 Cephalosporin 系抗生物質である¹⁾。

著者らは Cefadroxil の嫌気性菌に対する *in vitro* および *in vivo* での抗菌作用を検討したので報告する。

II 材料と方法

1) 供試菌株

教室保存菌株28株と臨床材料分離株159株を用いた。教室保存株には ATCC, Pasteur 研究所, Virginia Polytechnic Institute より分与された菌株を含んでいる。臨床分離株は最近2年間に当教室，順天堂大学医学部で分離され，当教室で同定されたものである。いずれの菌株も GAM 半流動高層培地(日水)で約1ヵ月毎に継代された。

2) 供試培地

増菌用には GAM ブロース(日水)を用いた。又，薬剤感受性測定用として GAM 寒天培地(日水)を用いた。

3) 供試薬剤

Cefadroxil 及び Cefatrizine は日本 Bristol・ラボトリー K. K. より，Cefaclor 及び Cephalexin (CEX) は塩野義製薬 K. K. より分与された。

4) 薬剤感受性値の測定

Cefadroxil, Cefatrizine, Cefaclor 及び CEX の上記の嫌気性菌に対する MIC の測定は渡辺の方法²⁾により行った。

5) 接種菌量の MIC に及ぼす影響

被験菌株の GAM ブロースでの24時間嫌気性培養菌液を嫌気性菌用希釈液³⁾にて 10^8 cfu/ml, 10^7 cfu/ml 及び 10^6 cfu/ml に調整した菌液を用いた。

6) 自然耐性変異株の分布

B. fragilis (V.328-1), *F. necrophorum* (S-45) 及び *Ps. anaerobius* (B-38) の濃厚菌液 0.1 ml ずつを各濃度の Cefadroxil 含有 GAM 寒天培地に滴下，コンラージ棒により一様に拡散塗抹し，4日間嫌気性培養した。培養後，発育した集落について検討した。一方，接種菌液は定量培養法にて生菌数を測定した。

7) β -lactamase 活性の測定

村田らの方法⁴⁾により *B. fragilis* 5株を用いて測定した。

8) *Fusobacterium necrophorum* 感染マウスに対する治療効果

使用菌株として教室保存の *F. necrophorum* (S-45) を用いた⁵⁾。*F. necrophorum* の GAM 寒天培地での24時間嫌気性培養菌を教室処方希釈液に浮遊させ，その菌液 (10^8 cfu/ml) の 0.2 ml をマウスの右側腹皮下に接種した。3日後，触診により膿瘍形成を確認したのち治療を開始した。マウスは体重約 20 g の dd-N 系の雄を用い，1群8匹とした。Cefadroxil 及び CEX の投与量を1日 0.3, 1.5, 3.0mg/mouse とし，経口にて投与した。なお，Cefadroxil の本菌株に対する MIC は 6.25 μ g/ml, CEX では 1.56 μ g/ml であった。投与期間は

Table 1 Antimicrobial spectrum of cefadroxil and other cephalosporins against anaerobic bacteria

Drug Organism	Cefadroxil	Cefatrizine	Cefaclor	CEX
<i>B. distasonis</i> V-222-2	6.25*	3.13	6.25	6.25
<i>B. fragilis</i> V-302-1	100 <	100 <	100 <	100 <
<i>B. fragilis</i> V-328-1	25	25	25	12.5
<i>B. furcosus</i> ATCC-25662	0.19 ≥	0.19 ≥	0.19 ≥	0.19 ≥
<i>B. melaninogenicus</i> GU-1	0.19 ≥	0.19 ≥	0.19 ≥	0.19 ≥
<i>B. ovatus</i> V-299-2	100 <	25	50	25
<i>B. thetaiotaomicron</i> V-333	100 <	100	50	50
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>				
<i>F. gonidiaformans</i> T-176	12.5	6.25	12.5	50
<i>F. mortiferum</i> E-Ge	25	6.25	12.5	50
<i>F. necrophorum</i> S-45	6.25	6.25	3.13	1.56
<i>F. nucleatum</i> 2079	0.38	0.19 ≥	0.19 ≥	0.19 ≥
<i>F. varium</i> ATCC-8501	100	25	100 <	100 <

Table 2 Antimicrobial spectrum of cefadroxil and other cephalosporins against anaerobic bacteria

Drug Organism	Cefadroxil	Cefatrizine	Cefaclor	CEX
<i>G. anaerobia</i> 6930	0.19* ≥	0.19 ≥	0.19 ≥	0.19 ≥
<i>P. asaccharolyticus</i> OH-28	0.19 ≥	0.19 ≥	0.19 ≥	0.19 ≥
<i>P. prevotii</i> 0-28	0.19 ≥	0.19 ≥	0.19 ≥	0.19 ≥
<i>P. aerogenes</i> ATCC-14963	0.19 ≥	0.19 ≥	0.19 ≥	0.19 ≥
<i>P. variabilis</i> ATCC-14955	3.13	1.56	6.25	6.25
<i>Ps. anaerobius</i> 0-84	1.56	0.78	1.56	3.13
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>				
<i>E. lentum</i> H-1	12.5	6.25	6.25	3.13
<i>E. limosum</i> ATCC-8486	0.38	0.19 ≥	50	0.78
<i>P. acnes</i> NU	0.78	0.19 ≥	0.38	0.38
<i>P. avidum</i> ATCC-25577	1.56	1.56	1.56	0.78
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>				
<i>C. biacutum</i> 4442	100	100	100 <	100 <
<i>C. perfringens</i> SAKAI	0.19 ≥	0.19 ≥	0.19 ≥	0.19 ≥
<i>C. paraputrificum</i> CCL-2	1.56	0.38	1.56	1.56
<i>C. botulinum</i> type A	1.56	0.78	1.56	1.56
<i>C. sporogenes</i>	1.56	0.78	1.56	1.56
<i>C. tetani</i>	0.19 ≥	0.19 ≥	0.19 ≥	0.19 ≥

* : MIC (μg/ml), Inoculum size: 10⁶ cfu/ml

7日間とし、投与3日目及び7日に屠殺、剖検し、菌接種部位、肝、脾、腎、心及び肺の各臓器を培養した。

III 成績

1) 抗菌スペクトラム

教室保存菌株に対する Cefadroxil の抗菌作用を Cefatrizine, Cefaclor 及び CEX と比較した成績を Table 1, 2 に示した。

Bacteroides 属に対する本剤の MIC は 0.19 µg/ml 以下から 100 µg/ml 以上, Cefatrizine が 0.19 µg/ml 以下から 100 µg/ml 以上, Cefaclor が 0.19 µg/ml 以下から 100 µg/ml 以上, CEX が 0.19 µg/ml 以下から 100 µg/ml 以上であった。*Fusobacterium* 属に対しても本剤の MIC は 0.38 µg/ml から 100 µg/ml, Cefatrizine は 0.19 µg/ml 以下から 25 µg/ml, Cefaclor は 0.19 µg/ml 以下から 100 µg/ml 以上, CEX は 0.19 µg/ml 以下から 100 µg/ml 以上とグラム陰性桿菌に対する本剤の MIC は他の Cephalosporin 系薬剤と同様に幅広い抗菌スペクトラムを示した。

嫌気性の球菌に対する本剤の MIC は 0.19 µg/ml 以下から 100 µg/ml と他の 3 剤と同様の抗菌スペクトラムを示した。無芽胞グラム陽性桿菌に対する本剤の MIC は 0.38 µg/ml から 12.5 µg/ml であり、他の薬剤もほぼ同様の MIC を示した。

Clostridium に対する本剤の MIC は 0.19 µg/ml 以下から 1.56 µg/ml であり、他の薬剤も同様の MIC を示した。しかし、*C. biacutum* に対しては他の 3 剤と同様に 100 µg/ml と高い MIC を示した。

2) 感受性分布

臨床材料から分離された嫌気性菌に対する Cefadroxil の MIC の累積百分率を CEX と比較し、Fig. 1, 2 に示した。

Bacteroides fragilis 112株に対しては両剤ともほぼ同等の抗菌力を示しているが、若干 Cefadroxil の方が良

Fig. 1 Cumulative percent of *B. fragilis* group inhibited by cefadroxil and CEX

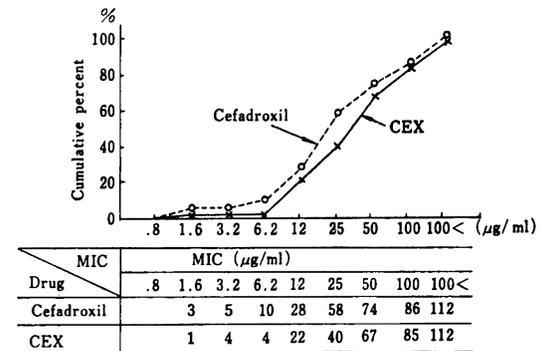


Table 3 Population of spontaneous natural resistant mutants to cefadroxil

Organism	Inoculum size (cfu/ml)	Concentration of cefadroxil (µg/ml)	Resistant mutants (No. colony)
<i>B. fragilis</i> (V-328-1)	10 ¹⁰	800	0
		400	12
		200	+
		100	+
		50	+
		25	+
		0	+
<i>F. necrophorum</i> (S-45)	10 ¹⁰	800	0
		400	55
		200	+
		100	+
		50	+
		25	+
<i>P. anaerobius</i> (B-38)	10 ¹⁰	800	0
		400	2
		200	+
		100	+
		50	+
		25	+
0	+		

い成績であった。嫌気性の球菌 47 株に対しても Cefadroxil の方が CEX よりも若干良い成績であった。

Fig. 2 Cumulative percent of anaerobic cocci inhibited by cefadroxil and CEX

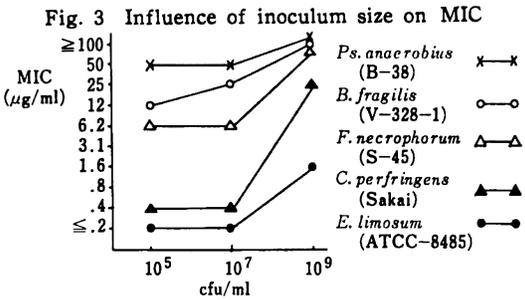
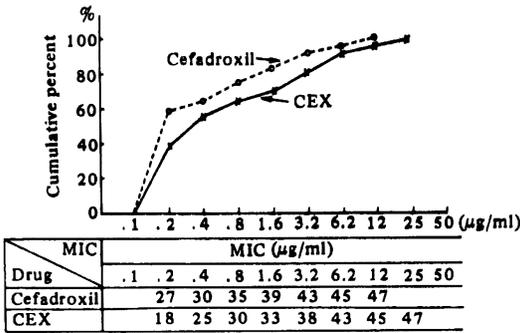


Table 5 Chemotherapeutic effects of cefadroxil on experimental subcutaneous abscess of mice with *F. necrophorum*^a (3 days treatment)

Drug		Cefadroxil			CEX			C ^b
Dose (mg/mouse/day)		0.3	1.5	3.0	0.3	1.5	3.0	0
General condition		good			good			poor
Body weight		↗			↗			→
Local site injected	tumor	4/4*	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
	ulcer
	crust
	granul.
Recovery of organism from	A**	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
	S	.	1/4	1/4	.	1/4	1/4	4/4
	K	.	1/4	1/4	.	.	2/4	2/4
	Li	1/4	1/4	2/4	2/4	1/4	3/4	4/4
	Lu	1/4	.	2/4	1/4	.	2/4	4/4
	H	1/4	2/4

a: 0.2 ml of bacterial suspension was injected subcutaneously. The antibiotics were administered per os.
 b: control
 *: Number in denominator indicates number of positive findings. Number in numerator indicates total mouse.
 **: A; Subcutaneous abscess, S: Spleen, K: Kidney, Li; Liver, Lu; Lung, H; Heart

3) 接種菌量の MIC に及ぼす影響

接種菌量による MIC の変動は Fig. 3 の如くであり、接種菌量によって MIC は大きく変動した。特に、*B. fragilis* 及び *C. perfringens* にその傾向が強く認められた。すなわち、 10^9 cfu/ml の接種菌量では 10^7 及び 10^5 cfu/ml の接種菌量に比し、4~6 希釈段階の MIC の変動が認められた。

4) 自然耐性変異株の分布

Table 3 に示す如く、*B. fragilis* では Cefadroxil 400 μg/ml 含有培地に生菌数 10^{10} 個に対し 25 個の割合に細菌集落が検出され、この約 50%、12 個が 400 μg/ml に耐性であった。同様に *F. necrophorum* では 400 μg/ml 耐性株は 10^{10} 個に対して 55 個、*Ps. anaerobius* では 2 個認められた。

5) β-lactamase 活性の測定

Table 4 β-lactamase activity in *B. fragilis*

Organism	Drug	Cefadroxil	CEX	PCG
V-240-2		45*	805	100
V-261-2		337	30	100
V-284-3		0	5	100
V-158-1-2-2		65	245	100
V-328-1		38	0	100

*: μmol/ml/hr

Table 6 Chemotherapeutic effects of cefadroxil on experimental subcutaneous abscess of mice with *F. necrophorum**

(7 days treatment)

Drug		Cefadroxil			CEX			Cb
Dose (mg/mouse/day)		0.3	1.5	3.0	0.3	1.5	3.0	9
No. of mouse		4	4	4	4	4	4	4
General condition		good			good			poor
Body weight		↗			↗			→
Local site injected	tumor	3/4	1/4	.	2/4	1/4	1/4	3/4
	ulcer	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
	crust	1/4	1/4	2/4	2/4	2/4	3/4	1/4
	granul.	.	2/4	2/4
Recovery of organism from	A**	2/4	1/4	.	1/4	3/4	2/4	3/4
	S
	K
	Lu
	H

a: 0.2 ml of bacterial suspension was injected subcutaneously. The antibiotics were administered per os.

b: control

*: Number in denominator indicates number of positive findings. Number in numerator indicates total mouse.

**: A; Subcutaneous abscess, S; Spleen, K; Kidney, Li; Liver, Lu; Lung, H; Heart

B. fragilis 5株の Cefadroxil 及び CEX に対する β -lactamase 活性を検討した成績を Table 4 に示した。Penicillin G を 100 μ mol/ml/hr. とした際の数値を示した。本剤は β -lactamase に対してほぼ安定した成績を示した。

6) *Fusobacterium necrophorum* 感染マウスに対する治療効果

Cefadroxil 3日間経口投与後の成績を Table 5 に示した。非投与群及び CEX 投与群で心血より各々4匹中2匹, 4匹中1匹に *F. necrophorum* が回収されたが, Cefadroxil 投与群では心血よりの *F. necrophorum* の回収は認められず陰性であった。

治療7日目の成績を Table 6 に示した。本剤投与群では非投与群及び CEX 投与群に比し, 肉芽組織の形成が認められ, 又, *F. necrophorum* の回収率が低く, 3.0 mg/mouse/day 投与群では本菌の回収は認められず陰性であった。

IV 考 察

Cefadroxil は経口可能な新しい半合成 Cephalosporin 系薬剤で, 広い抗菌スペクトラムを有する。

嫌気性菌に対しても本剤は広い抗菌スペクトラムを有し, Cefaclor, Cefatrizine とほぼ同等の, CEX より若干優れた抗菌力を示した。しかし, *Bacteroides* 属に対し, 本剤は他の Cephalosporin 系薬剤と同様に低い抗

菌力を示した。

その耐性傾向の顕著な *Bacteroides fragilis* の本剤に対する β -lactamase 活性について検討したが, CEX と同様に β -lactamase に対し, ほぼ安定した成績を示した。

なお, 本剤に対する自然耐性変異株が高率に検出されたが, 本剤が経口剤であることより宿主の正常細菌叢, 特に腸内細菌叢にどのような影響を与えるか考慮する必要があると考える。

文 献

- 1) BUCK, R. E. & K. E. PRICE: Cefadroxil, a new broad-spectrum cephalosporin. Antimicrob. Agents & Chemoth. 11: 324~330, 1977
- 2) 渡辺邦友: 嫌気性菌の薬剤感受性試験の標準化について, 第1報, MIC に影響する因子. Chemotherapy 22: 1459~1501, 1974
- 3) UENO, K.: In Anaerobic Bacteria, Role in Disease, Edited by BALOWS A., DEHAAN R. M. & GUZE L. B., Springfield, Charles C. Thomas: 84, 1974
- 4) 村田加寿美, 他: *Bacteroides* の β -lactamase 活性. 第8回嫌気性菌感染症研究会講演記録, Eisai, 37~41, 1978
- 5) 上野一恵: Sulfobenzylpenicillin の嫌気性菌に対する抗菌作用について. Chemotherapy 16: 875~880, 1971

THE *IN VITRO* AND *IN VIVO* ACTIVITY OF CEFADROXIL
AGAINST ANAEROBIC BACTERIA

SHUNRO KOHBATA, KAZUMI MURATA, TAKAYUKI EZAKI,
HIROMU IMAMURA, KUNITOMO WATANABE, KEIU NINOMIYA,
KAZUE UENO and SHOICHIRO SUZUKI
Department of Bacteriology, Gifu University School of Medicine

The *in vitro* and *in vivo* activity of cefadroxil was investigated.

The activity of cefadroxil was compared with that of cefatrizine, cefaclor and cephalixin. Cefadroxil was very active against anaerobic bacteria except *Bacteroides* species and *Fusobacterium* species.

Chemotherapeutic effects of cefadroxil are demonstrated on experimental subcutaneous abscess of mice with *Fusobacterium necrophorum*.