

新経口セファロsporin剤 Cefroxadine (CGP-9000) の細菌学的評価

1. 試験管内抗菌作用

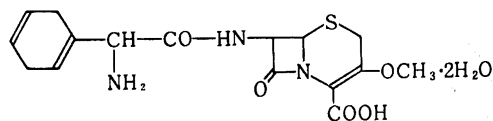
中谷林太郎・後藤延一・堀内三吉
岡村 登・千田俊雄・柴岡はるみ
東京医科歯科大学医学部微生物学教室

上田貞善・石塚 巖・佐々木美子・池戸正成
栄研環境科学研究所

新しい経口セファロsporin剤 Cefroxadine (CGP-9000, CXD) の試験管内抗菌作用を、同種薬剤 Cephalexin (CEX) および Cefatrizine (CFT) と比較検討した結果、同様な抗菌力を有することが認められた。CXD はグラム陽性および陰性の各菌種に優れた抗菌作用を示し、*K. pneumoniae* および *P. mirabilis* に対しても有効であった。一方、*E. cloacae* や他の *Proteus spp.* に対する抗菌力はやや弱く、*E. aerogenes*, *S. marcescens*, および *P. aeruginosa* に対しては抗菌力が認められなかった。培地の種類, pH, および馬血清の添加は本剤の抗菌作用にほとんど影響を与えなかった。特記すべきことは、CXD の殺菌作用, 溶菌作用, および増殖遅滞作用は著明に強力で、これらの性質に関しては CEX よりもむしろ CFT より近いことが示された。総合的にみて、CXD の抗菌力は CEX とほぼ同等ないしやや強力で、CFT よりやや弱いといえる。

Cefroxadine (CGP-9000, CXD) は1972年スイス CI-BA-GEIGY 社で開発された新しい経口合成セファロsporin系抗生物質である¹⁾。化学名を 7β-[D-2-Amino-2-(1,4-cyclohexadienyl)-acetamido]-3-methoxy-ceph-3-em-4-carboxylic acid (Fig. 1) といひ、分子式 $C_{16}H_{19}N_3O_5S \cdot 2H_2O$ 、分子量401.43である。本物質は淡黄色の結晶性の粉末で特異なおいを有し、水またはメタノールにやや溶けにくく、エタノールまたは塩化メチレンにほとんど溶けない。本剤は他のセファロsporin系薬剤と同様に、グラム陽性菌、陰性菌に対し広い抗菌

Fig. 1 Chemical structure of CXD



スペクトルを有し、その作用は殺菌的である。殺菌作用、溶菌作用および感染動物に対する予防ならびに治療効果は、同系統の経口剤である Cephalexin や Cefradine よりも優れている^{2)~4)}。また経口投与した場合、速やかに高い血中濃度が得られ、体内でほとんど代謝されるこ

となく主として尿中に排泄される⁵⁾⁶⁾。本剤の毒性はきわめて低く、きわめて高い安全性を有するという¹⁾²⁾。この薬剤の試験管内抗菌作用の特徴を Cephalexin および Cefatrizine と比較検討した結果をここに報告する。

材料と方法

抗生物質：CXD は日本チバガイギー株式会社から提供を受けた。参考薬剤として、経口セファロsporin剤である Cephalexin (CEX, 武田薬品工業) および Cefatrizine⁷⁾⁸⁾ (CFT, 万有製薬) の提供を受けて使用した。

菌株：標準菌株（大多数は東邦大学医学部微生物学教室 五島健智子教授から分与された）、実験室保存株、および臨床分離株を用いた。

培地：トリプトソイブイオン (TSB, 栄研), ハートインフュージョンブイオン (HIB, 栄研), Penassay broth (PAB Difco), ハートインフュージョン寒天培地 (HIA, 栄研), および普通寒天培地 (NA, 栄研) を用いた。一部のグラム陽性菌の培養には Brain heart infusion (Difco) および10%馬血液加 HIA を用いた。なお最小発育阻止濃度 (MIC) におよぼす培地の影響を検討する実験には上記以外の寒天培地もあわせて使用した (結果の

Table 1 Minimum inhibitory concentration of cefroxadine and reference compounds for various standard test strains and laboratory strains (Gram-positive organisms) ^a

Strain	MIC ($\mu\text{g/ml}$)					
	CXD		CFT		CEX	
	10 ^a	10 ^b	10 ^a	10 ^b	10 ^a	10 ^b
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-PJC	3.12	1.56	1.56	0.39	3.12	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	3.12	1.56	1.56	0.78	6.25	3.12
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	3.12	1.56	0.78	0.78	1.56	1.56
* <i>Streptococcus pyogenes</i> S-8	0.39	0.39	0.19	<0.10	0.78	0.78
* <i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	0.39	0.39	0.19	<0.10	0.78	0.78
* <i>Streptococcus pneumoniae</i> MD 173	1.56	1.56	0.78	0.19	6.25	3.12
* <i>Streptococcus pneumoniae</i> MD 174	1.56	1.56	0.39	0.19	3.12	1.56
* <i>Streptococcus pneumoniae</i> MD 175	1.56	0.78	0.39	0.19	3.12	1.56
* <i>Streptococcus pneumoniae</i> MD 176	1.56	1.56	0.39	0.19	3.12	1.56
<i>Streptococcus faecalis</i> MD 139	50	50	25	25	>100	100
<i>Streptococcus faecalis</i> MD 146	100	50	50	25	>100	100
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC-6633	0.39	0.19	0.39	0.10	0.78	0.78
<i>Bacillus subtilis</i> PCI-219	6.25	3.12	1.56	0.78	6.25	3.12
* <i>Listeria monocytogenes</i> MDM 45	50	50	12.5	12.5	50	50
* <i>Listeria monocytogenes</i> MD 169	50	50	12.5	12.5	50	50
* <i>Corynebacterium diphtheriae</i> Nagasaki	0.78	0.78	0.39	0.19	0.78	0.39
* <i>Corynebacterium diphtheriae</i> Wakabayashi	0.39	0.19	0.19	0.19	0.39	0.39

^a Heart infusion agar and ^bhorse blood (10%) heart infusion agar, 37°C, 18h.
Inoculum size: 10^a/ml and 10^b/ml (Tryptosoy broth and ^bbrain heart infusion).

項参照)。また血清添加の影響を調べる実験には馬血清 (Bio logicals Inc.) を HIB に加えて使用した。

感受性測定法：日本化学療法学会の MIC 測定標準法⁹⁾に従った。

殺菌作用：*Escherichia coli* NIH JC-2 の37°C，一夜培養菌液 (PAB) を新鮮 PAB で1,000 倍に希釈した。この PAB には、各薬剤を 1/4×MIC, 1×MIC, および 4×MIC それぞれ加えたもの、および薬剤無添加 (対照) PAB を使用した。各菌液を37°Cで振盪培養し、2 時間ごとにその一部を NA 平板に培養後、生菌数計算を行った。

溶菌作用：*E. coli* NIH JC-2 および *Klebsiella pneumoniae* I-10 の37°C，一夜培養菌液 (PAB) を新鮮 PAB で1,000倍に希釈したのち、中試験管に 5 ml ずつ分注した。これらを37°Cで振盪培養し、60, 90, および120分後に各薬剤を50または 100 $\mu\text{g/ml}$ 加えた。光電比色計 (Coleman Junior-II) で60分ごとに光学密度 (OD₆₅₀) を測定した。

増殖遅滞作用：*E. coli* K-12, T-71 の37°C，一夜培養

菌液を1,000倍に PAB で希釈し、その 3 ml ずつを37°Cに調節した6チャンネル連続濁度測定装置 (Jouan biophotometer) で振盪培養し、培養開始1時間後に薬剤を添加し、24時間後まで OD を記録した。

結 果

抗菌スペクトル。グラム陽性菌およびグラム陰性菌に対する3薬剤の MIC を、それぞれ Table 1 および Table 2 に示す。CXD は他の参考薬剤とはほぼ同様な抗菌スペクトルを示すことが明らかにされた。多くの菌種に対して、CFT の MIC が最も低く、CEX が高い傾向を示し、CXD は両者の中間値を示した。グラム陽性菌では、*Streptococcus faecalis* および *Listeria monocytogenes* に対する MIC はいずれの薬剤においても高値を示した (Table 1)。グラム陰性桿菌では、*Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, および *Proteus* spp. の多くはいずれの薬剤に対しても感受性を示さなかった (Table 2)。

Cephalosporinase 産生菌である *Enterobacter freundii*

Table 2 Minimum inhibitory concentration of cefroxadine and reference compounds for various standard test strains and laboratory strains (Gram-negative organisms) ^a

Strain	MIC ($\mu\text{g/ml}$)					
	CXD		CFT		CEX	
	10^8	10^6	10^8	10^6	10^8	10^6
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	6.25	6.25	12.5	6.25	100	12.5
<i>Escherichia coli</i> K-12 T-71	12.5	6.25	6.25	3.12	25	12.5
<i>Shigella flexneri</i> 2a CDC #4807-62	3.12	3.12	1.56	0.78	6.25	6.25
<i>Shigella sonnei</i> 4	6.25	6.25	3.12	3.12	12.5	6.25
<i>Salmonella typhi</i> Tanaka	6.25	3.12	0.78	0.78	6.25	6.25
<i>Salmonella paratyphi</i> A MD 170	12.5	12.5	3.12	1.56	12.5	6.25
<i>Salmonella paratyphi</i> B MD 171	12.5	6.25	3.12	1.56	6.25	6.25
<i>Salmonella enteritidis</i> M 11	6.25	3.12	0.78	0.78	6.25	3.12
<i>Klebsiella pneumoniae</i> I-10	3.12	3.12	1.56	1.56	12.5	6.25
<i>Klebsiella ozaenae</i> MD 34	12.5	3.12	12.5	3.12	25	6.25
<i>Klebsiella ozaenae</i> MD 35	25	6.25	12.5	6.25	25	6.25
<i>Enterobacter aerogenes</i> MD 39	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Serratia marcescens</i> K 1	>100	>100	>100	50	>100	>100
<i>Serratia marcescens</i> Nsm-1	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Proteus vulgaris</i> K-7	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	12.5	6.25	1.56	1.56	12.5	12.5
<i>Proteus morgani</i> TMS 1510	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Proteus rettreti</i> TMS 624	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Proteus inconstans</i> MD 84	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Proteus inconstans</i> MD 86	>100	>100	<100	>100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO-3445	>100	>100	>100	>100	>100	>100
* <i>Citrobacter freundii</i> TMS 346	>100	>100	>100	>100	>100	>100
** <i>Salmonella</i> spp. B 613 Cer ^r	12.5	25	6.25	6.25	>100	50
** <i>Salmonella</i> spp. 631 D Cer ^r	50	12.5	6.25	3.12	>100	25
** <i>Salmonella</i> spp. 626 D	50	25	25	12.5	100	100
** <i>Salmonella</i> spp. 630 N	6.25	3.12	6.25	3.12	100	12.5
<i>Proteus mirabilis</i> Pm17(pNR 113 ^b)	50	25	6.25	3.12	25	12.5

^a Heart infusion agar, 37°C, 18h.

Inoculum size: $10^8/\text{ml}$ and $10^6/\text{ml}$ (Tryptosoy broth).

^b Ampicillin resistant R plasmid.

* Cephalosporinase-producing strain.

**Cephaloridine resistant strain.

TMS 346に対しては3剤とも抗菌力を示さなかった。Cephaloridine 耐性の *Salmonella* の4株は、同剤に感受性の *Salmonella* に比べていずれの薬剤にもやや高いMICを示したが、CEXのMICが最も高く、CXD、CFTの順に低値を示した。Penicillinase産生を支配するRプラスミド pNR113を保有する *Proteus mirabilis* Pm17 (pNR113) に対するMICは、いずれの薬剤においてもやや高く、CXD、CEX、およびCFTの順であった。

臨床分離株に対する抗菌作用：臨床材料から分離された腸内細菌科の各菌種356株、*P. aeruginosa* 40株、および *Staphylococcus aureus* 69株、計465株に対する3薬剤のMICの分布をTable 3およびFig. 2に示す。3剤のいずれにも感受性を示した菌種は、*E. coli*、*Salmonella* spp.、*Salmonella typhi*、*Shigella* spp.、*K. pneumoniae*、*P. mirabilis*、および *S. aureus* であった。これらの菌種に対する3剤のMIC分布を比較すると、ほとんどがCFT、CXD、およびCEXの順に高い値をと

Table 3 Distribution of minimum inhibitory concentrations of CXD and reference compounds against clinical isolates (1)

Organism	Drug	Inoculum size (cells/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)											Total No. strain	Median MIC value
			0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100		
<i>Escherichia coli</i>	CXD	10^8 10^6				1	6	24	4	2	3	1		40	8.3
	CFT	10^8 10^6			2	5	17	16	4	2		1	5	40	6.0
	CEX	10^8 10^6					2	6	27	6	1			40	13
<i>E. coli</i> ^b (CET resistant)	CXD	10^8 10^6							4	8	4	3	22	27	163
	CFT	10^8 10^6							4		1	8	25	27	195
	CEX	10^8 10^6							4	3	5	5	22	27	180
<i>Salmonella</i> spp.	CXD	10^8 10^6				1	11	35	13	1	1	2	2	54	10
	CFT	10^8 10^6			2	13	28	2	4	4	1	1	2	54	4.5
	CEX	10^8 10^6						16	26	9	1		2	54	13
<i>Salmonella typhi</i>	CXD	10^8 10^6					8							8	3.1
	CFT	10^8 10^6		7	7	1	8							8	0.87
	CEX	10^8 10^6					4	4						8	4.5
<i>Shigella</i> spp.	CXD	10^8 10^6				1	2	35	11		2			51	6.2
	CFT	10^8 10^6	1	1	3	17	25	2	1	1	3			51	4.9
	CEX	10^8 10^6				1	9	40	1					51	11
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CXD	10^8 10^6				1	9	19	3		1	3	4	40	10
	CFT	10^8 10^6			1	13	13	1	3	2	1	1	4	40	5.3
	CEX	10^8 10^6				1	8	23	8		1	3	3	40	13
<i>Enterobacter cloacae</i>	CXD	10^8 10^6						2	1		3	2	7	10	135
	CFT	10^8 10^6				1	1	2	1		5	4	3	10	63
	CEX	10^8 10^6							1	1		1	8	10	145
<i>Enterobacter aerogenes</i>	CXD	10^8 10^6											1	1	200
	CFT	10^8 10^6											1	1	200
	CEX	10^8 10^6											1	1	200
<i>Serratia marcescens</i>	CXD	10^8 10^6							1			3	32	32	200
	CFT	10^8 10^6										2	32	32	176
	CEX	10^8 10^6								1			32	32	200
												31	32	192	

Table 3 Distribution of minimum inhibitory concentrations of CXD and reference compounds against clinical isolates (2)

Organism	Drug	Inoculum size (cells/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)											Total No. strain	Mean ^a MIC value	
			0.19	0.39	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	>100			
<i>Proteus vulgaris</i>	CXD	10 ⁸ 10 ⁶								1	2	4	2	25 17	26 26	194 120
	CFT	10 ⁸ 10 ⁶									1	2	4	19 12	26 26	153 59
	CEX	10 ⁸ 10 ⁶										1	7	18 13	26 26	161 83
<i>Proteus mirabilis</i>	CXD	10 ⁸ 10 ⁶					4	6	6	4				7 6	23 23	28 16
	CFT	10 ⁸ 10 ⁶			2	7	8	1	1					6 6	23 23	8.9 7.0
	CEX	10 ⁸ 10 ⁶						5	5	4	2	1		6 6	23 23	32 21
<i>Proteus morgani</i>	CXD	10 ⁸ 10 ⁶					2		1	1	1	2	11 4	16 16	127 47	
	CFT	10 ⁸ 10 ⁶				1	7	1	1	2	1		5 3	16 16	94 11	
	CEX	10 ⁸ 10 ⁶						1	1	4	3	1	14 6	16 16	164 61	
<i>Proteus rettgeri</i>	CXD	10 ⁸ 10 ⁶					2						7 6	15 15	112 85	
	CFT	10 ⁸ 10 ⁶				2		2			2		3 8	15 15	106 54	
	CEX	10 ⁸ 10 ⁶						1	1				13 13	15 15	135 128	
<i>Proteus inconstans</i> A	CXD	10 ⁸ 10 ⁶				2				2			2 1	4 4	72 15	
	CFT	10 ⁸ 10 ⁶				2				2			2 2	4 4	72 13	
	CEX	10 ⁸ 10 ⁶					2					2	2 2	4 4	145 26	
<i>Proteus inconstans</i> B	CXD	10 ⁸ 10 ⁶					1	1	1	2	3	4	5	9 9	151 24	
	CFT	10 ⁸ 10 ⁶				2	1	2	1	1	2	1	5	9 9	95 11	
	CEX	10 ⁸ 10 ⁶					1		1		4	4	4	9 9	129 44	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CXD	10 ⁸ 10 ⁶											40 40	40 40	200 200	
	CFT	10 ⁸ 10 ⁶											40 40	40 40	200 200	
	CEX	10 ⁸ 10 ⁶											40 40	40 40	200 200	
<i>Staphylococcus aureus</i>	CXD	10 ⁸ 10 ⁶		1	5	1	17	28	13	10				69 69	7.4 2.2	
	CFT	10 ⁸ 10 ⁶		1	2	27	18	5	9	5	3			69 69	3.9 1.2	
	CEX	10 ⁸ 10 ⁶			2	19	33	15	1	1				69 69	6.5 2.5	

^a Calculated by taking the MIC value of >100 $\mu\text{g/ml}$ as 200 $\mu\text{g/ml}$.

^b Cephalothin (CET) resistant *E. coli*: the MIC values of CET for these strains were ≥ 100 $\mu\text{g/ml}$ when tested with the inoculum size of 10⁸ cells/ml.

Fig. 2-1 Distribution of minimum inhibitory concentrations of CXD and reference compounds against clinical isolates

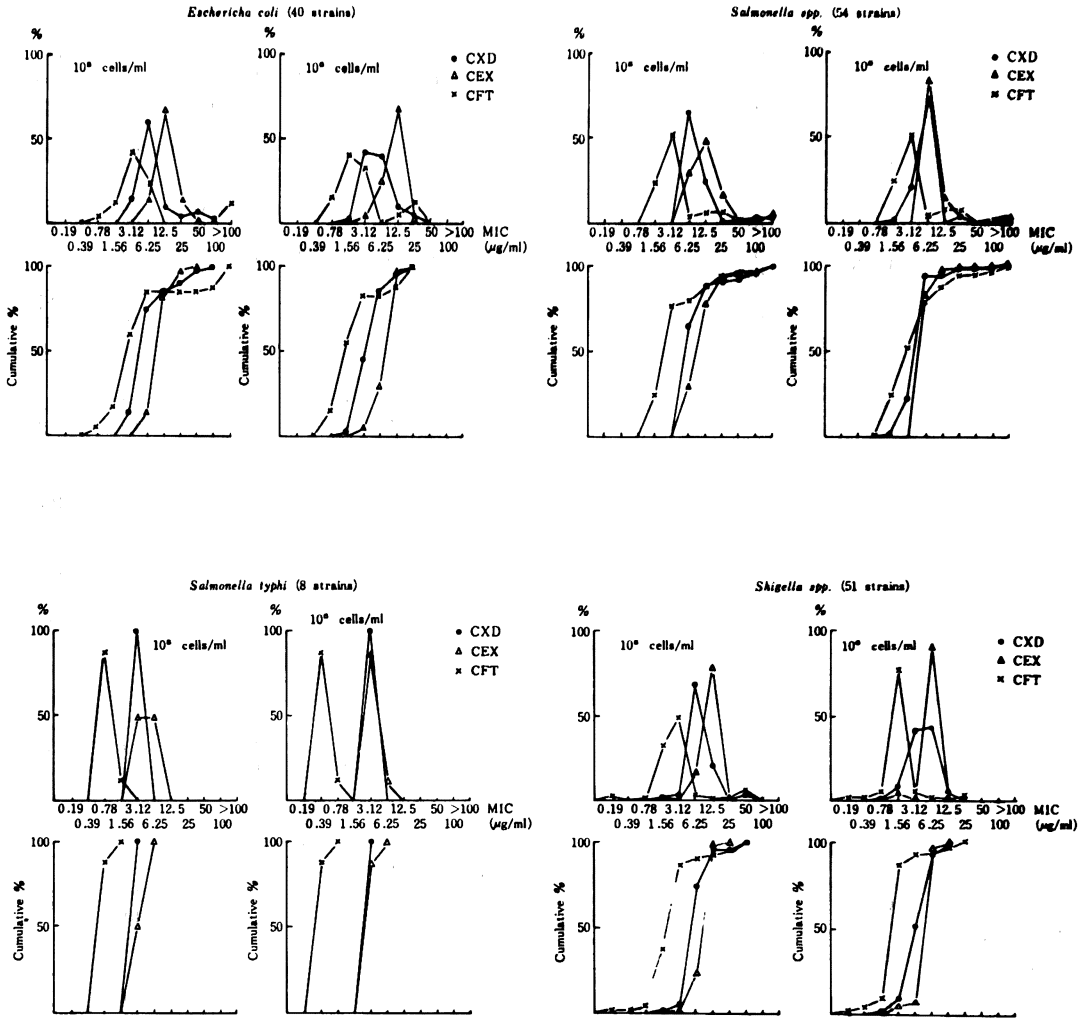


Fig. 2-2 Distribution of minimum inhibitory concentrations of CXD and reference compounds against clinical isolates

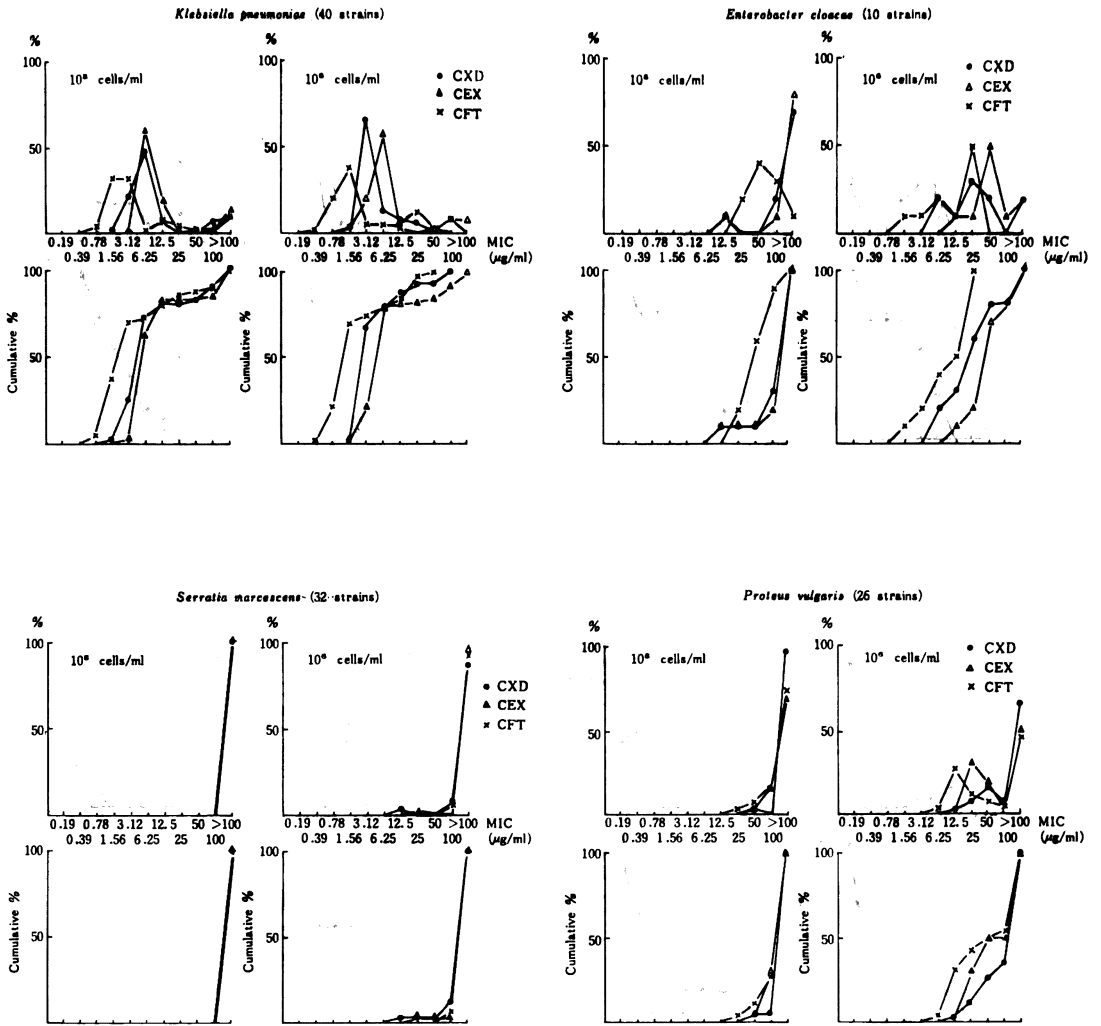


Fig. 2-3 Distribution of minimum inhibitory concentrations of CXD and reference compounds against clinical isolates

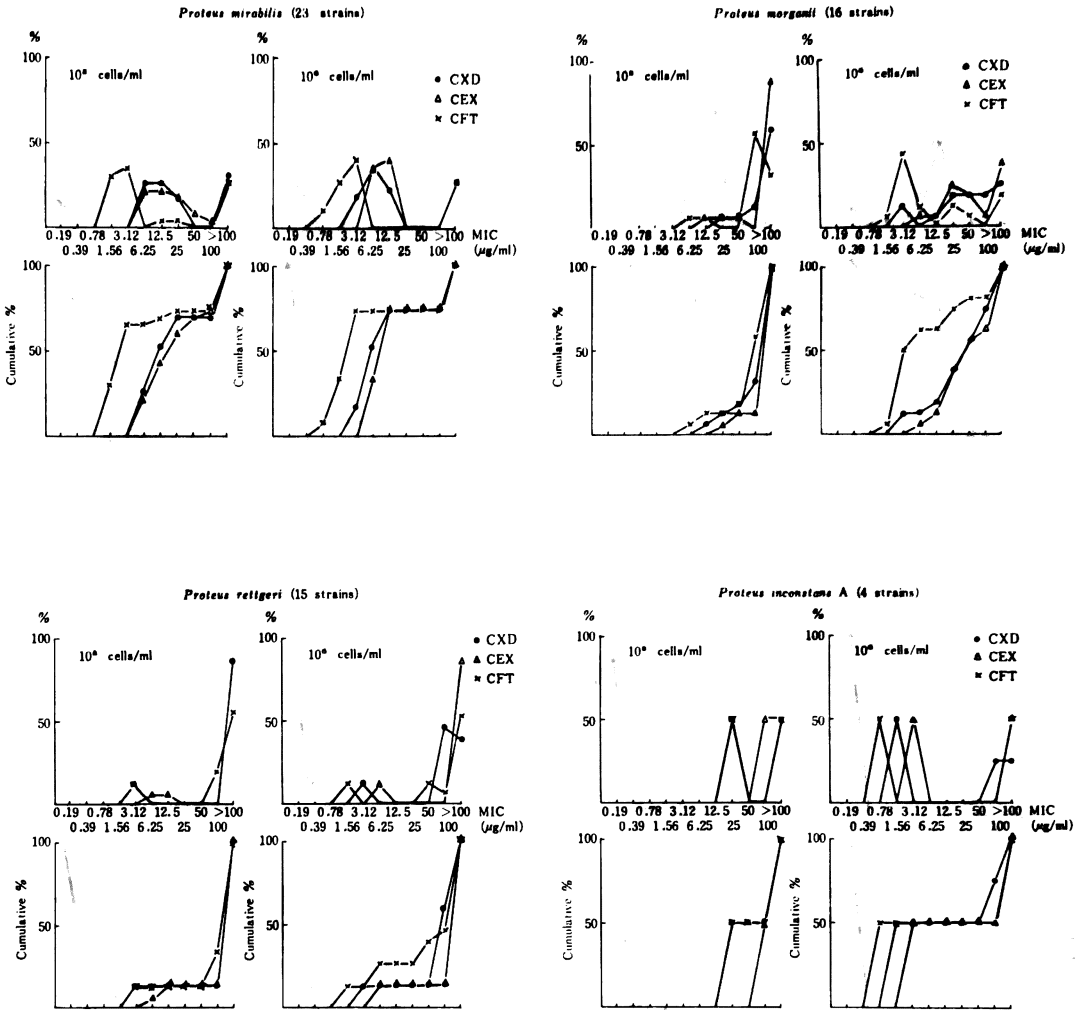


Fig. 2-4 Distribution of minimum inhibitory concentrations of CXD and reference compounds against clinical isolates

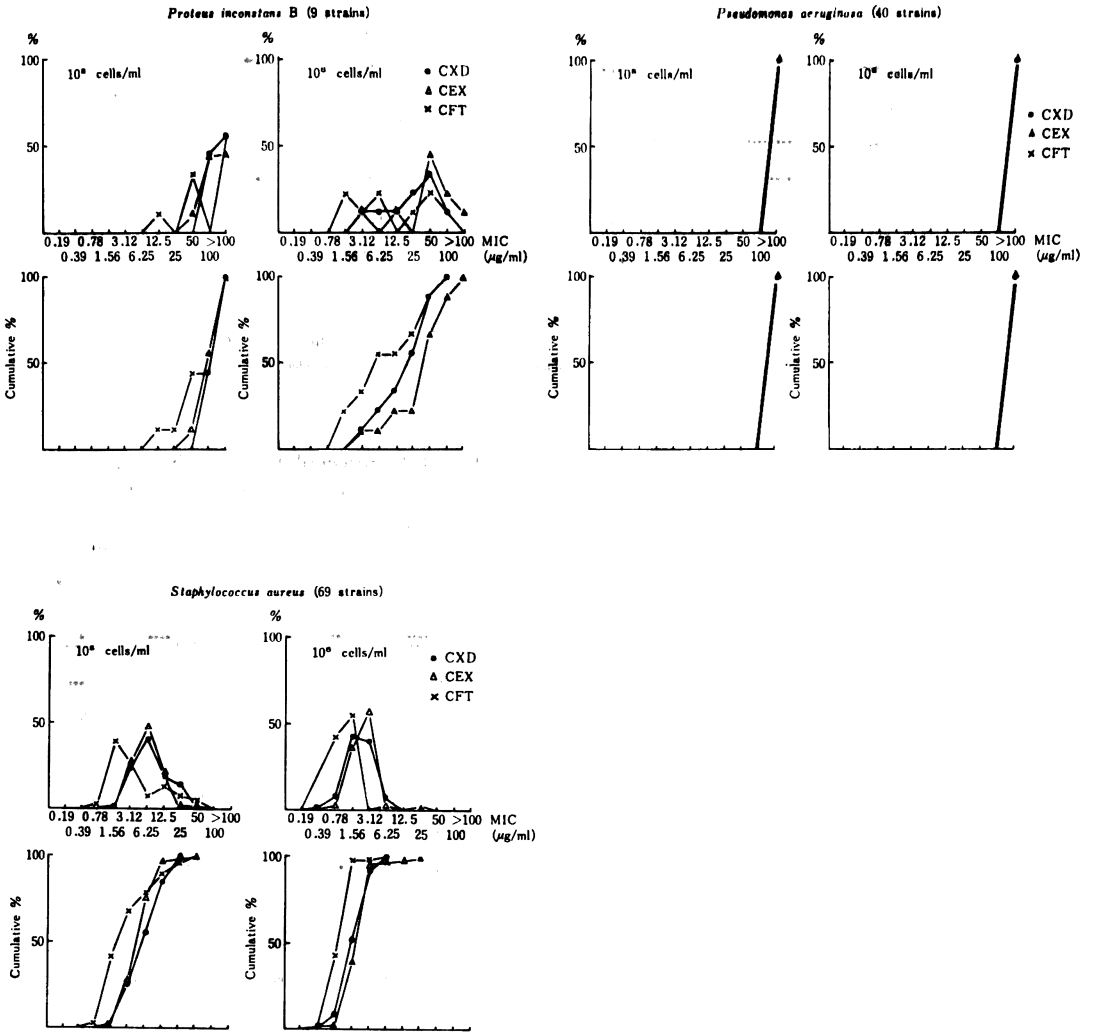


Fig. 3-1 Susceptibility of cephalaxin resistant strains to CXD and cefatrizine
Escherichia coli (27 strains: CET resistant) *Salmonella* spp. (2 strains) *Serratia marcescens* (32 strains)

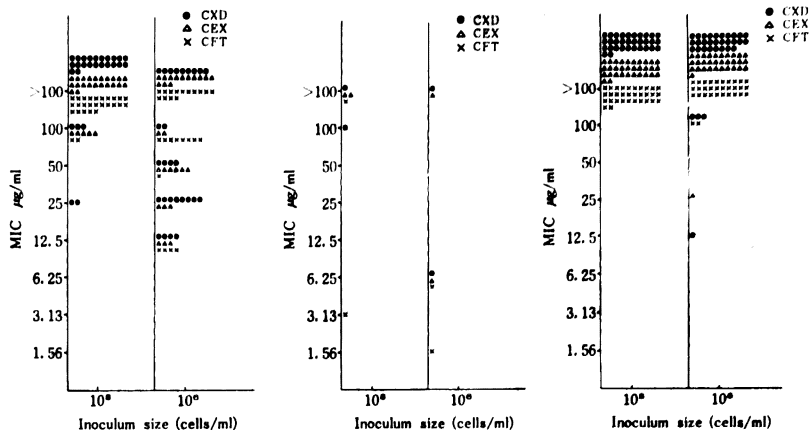


Fig. 3-2 Susceptibility of cephalaxin resistant strains to CXD and cefatrizine

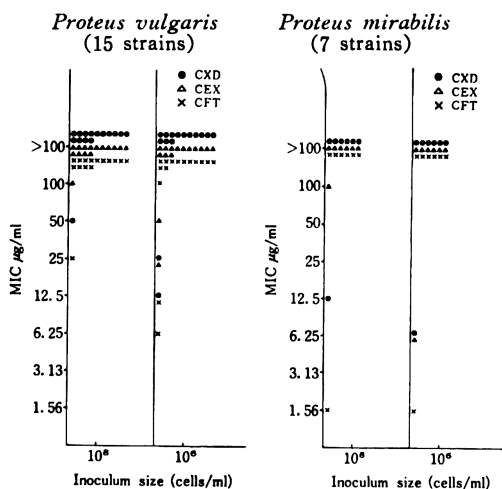
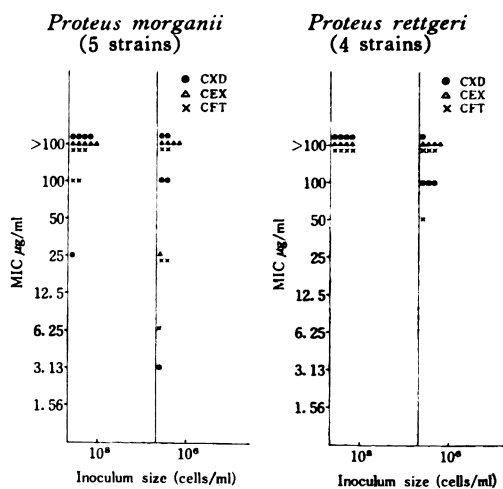


Fig. 3-3 Susceptibility of cephalaxin resistant strains to CXD and cefatrizine



ることが明らかであった。*S. aureus* に対する CXD と CEX の MIC 分布はほぼ同一であった。

Enterobacter cloacae, *Proteus morganii*, および *Proteus inconstans* A の多くは各薬剤に耐性 (MIC \geq 100 $\mu\text{g/ml}$) を示したが、一部の菌株は感受性であった。MIC は CFT, CXD, および CEX の順に高い方に分布した。

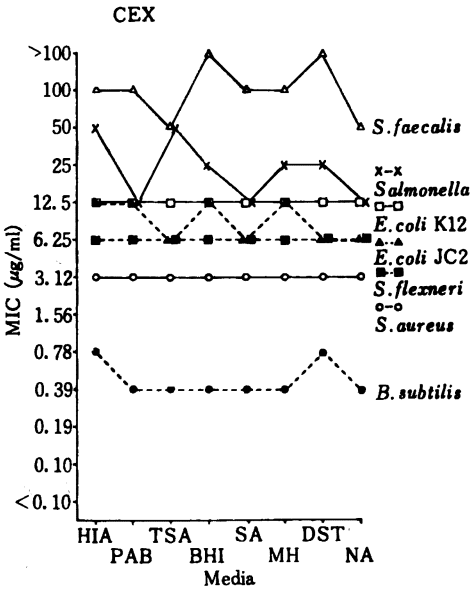
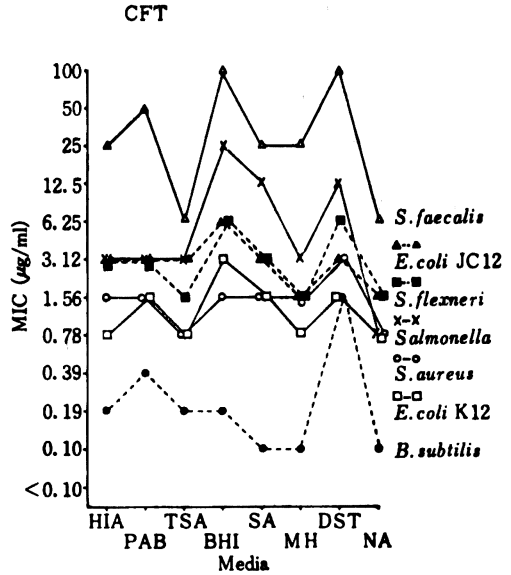
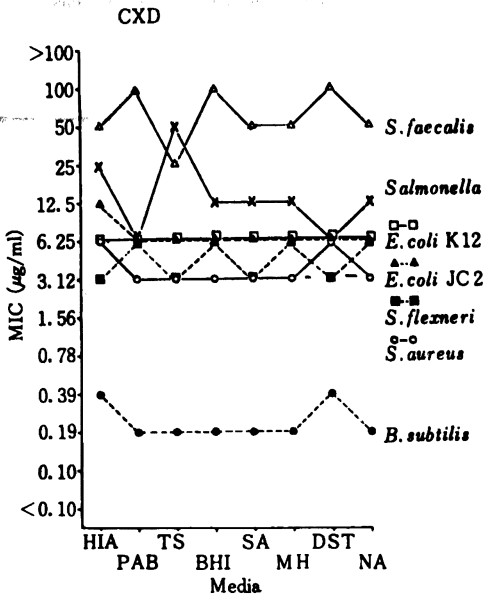
Proteus vulgaris, *Proteus rettgeri*, および *P. inconstans* B の大部分はこれら 3 剤に耐性であったが、少数の菌は低 MIC 値に分布した。接種菌量 $10^8/\text{ml}$ を用いたときの MIC 分布を 3 剤間で比較すると、*P. vulgaris*

に対しては CFT, CEX, および CXD の順に高値域に分布したが、*P. rettgeri* および *P. inconstans* B に対しては CFT, CXD, および CEX の順であった。

残りの 3 菌種、*E. aerogenes*, *S. marcescens*, および *P. aeruginosa* はテストした 3 薬剤に耐性を示した。

CEX 耐性株の CXD 感受性。接種菌量 $10^8/\text{ml}$ で Cephalothin 耐性の臨床分離 *E. coli* 27 株 (CEX の MIC もすべて \geq 100 $\mu\text{g/ml}$)、同じく CEX 耐性 *Salmonella* spp. 2 株、*S. marcescens* 32 株、*P. vulgaris* 15 株、*P. mirabilis* 7 株、*P. morganii* 5 株、および *P. rettgeri* 4 株、計 92 株を使用して、CXD および CFT

Fig. 4 Effects of agar media on minimum inhibitory concentration of CXD, cefatrizine, and cephalixin



HIA : Heart infusion agar (Eiken)
 PAB : Penassay broth + agar (Difco)
 TSA : Trypto-soy agar (Eiken)
 BHI : Brain heart infusion agar (Difco)
 SA : Sensitivity test agar (Eiken)
 MH : Mueller hinton agar (Eiken)
 DST : Diagnostic sensitivity test agar (Oxoid)
 NA : Nutrient agar (Eiken)

の MIC を調べた (Table 3, Fig. 3)。CEX 耐性の大多数は CXD および CFT に交差耐性を示したが、後 2 者の MIC が低い例も少数みられた。

接種菌量の影響: Table 1, 2, および 3 に示したように 499 株について、接種菌量を 10^8 /ml および 10^6 /ml を用いて試験した。 10^8 /ml の場合は 10^6 /ml に比べて MIC

が約 2 倍高値を示す傾向がみられたが、*S. typhi* や *Shigella* spp. ではほとんど変化がなく、逆に約 4 倍の変動がみられたのは *E. cloacae*, *P. morganii*, *P. inconspicua*, および *S. aureus* であった。

培地 pH の影響: TSB に 37°C 、一夜前培養した *E. coli* NIH JC-2 および *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を

Table 4 Effect of pH of culture medium on minimum inhibitory concentration of Cefroxadine, Cephalixin, and Cefatrizine for *E. coli* and *B. subtilis*^a

Organism	pH	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		CXD	CFT	CEX
<i>E. coli</i> NIH JC-2	6.0	25	6.25	25
	6.5	12.5	6.25	12.5
	7.0	12.5	6.25	25
	7.5	6.25	6.25	12.5
	8.0	6.25	12.5	25
	8.5	6.25	12.5	25
<i>B. subtilis</i> ATCC-6633	6.0	<0.19	<0.19	<0.19
	6.5	<0.19	<0.19	0.39
	7.0	<0.19	<0.19	0.78
	7.5	0.39	0.39	1.56
	8.0	0.39	0.78	1.56
	8.5	0.78	1.56	3.12

^a Heart infusion broth (Eiken).
Inoculum size: $10^6/\text{ml}$.
Incubation: 24h at 37°C .

Table 5 Effect of horse serum in culture medium on minimum inhibitory concentration of Cefroxadine, Cefatrizine, and Cephalixin for *E. coli* and *B. subtilis*^a

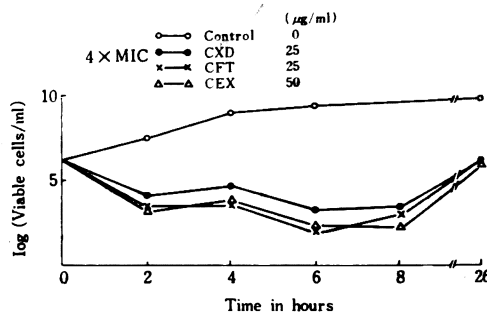
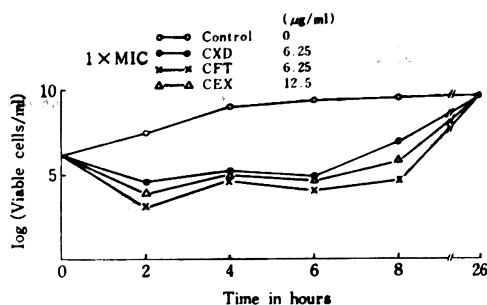
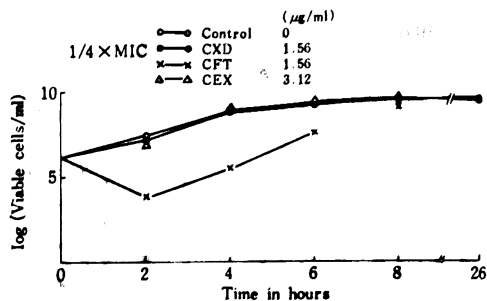
Organism	Concentration of serum ^b (%)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		CXD	CFT	CEX
<i>E. coli</i> NIH JC-2	0	6.25	6.25	12.5
	5	6.25	3.12	12.5
	10	6.25	1.56	12.5
	20	6.25	1.56	12.5
<i>B. subtilis</i> ATCC-6633	0	0.39	0.19	0.78
	5	0.39	0.39	1.56
	10	0.78	0.78	1.56
	15	0.39	0.78	1.56

^a Heart infusion broth (Eiken).
Inoculum size: $10^6/\text{ml}$.
Incubation: 24h at 37°C .

^b Horse serum (Biologicals Inc.).

用い、NaOH または HCl を用いて pH 6.0~8.5 に修正した HIB に各薬剤を 2 倍階段希釈で 100~0.19 $\mu\text{g/ml}$ を加えた希釈系列に、各菌液を $10^6/\text{ml}$ に接種した。

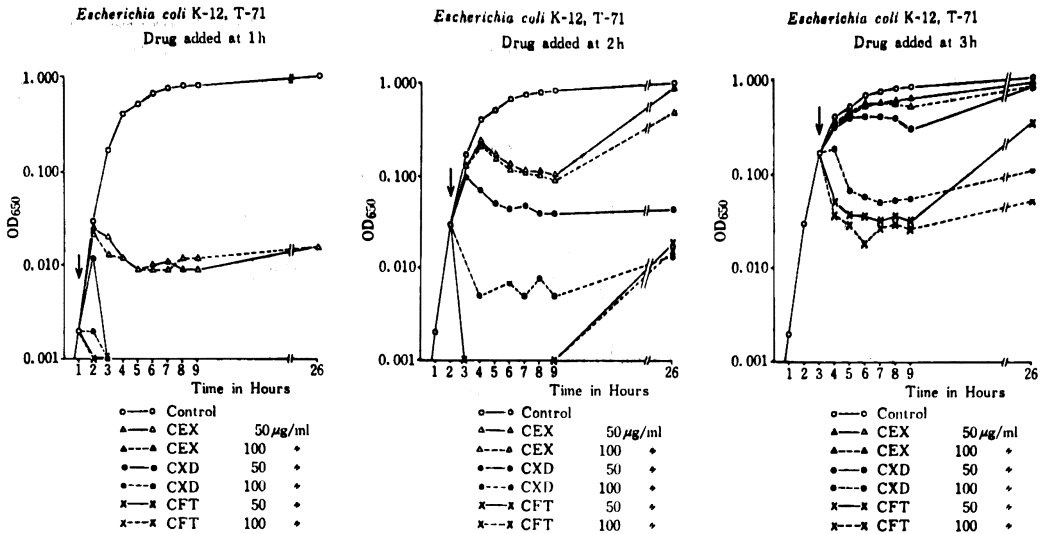
Fig. 5 Bactericidal effects of CXD, cephalixin on *Escherichia coli* NIH JC-2 as observed by counting of viable cells



これらを 37°C 、一夜培養後、菌の発育を肉眼で判定し MIC を決定した。Table 4 に示すように、*E. coli* に対する抗菌力は、CXD では酸性域でやや減弱する傾向が認められたのに対し、CFT は逆にアルカリ性域で低下する傾向にあった。CEX の抗菌力はほぼ一定していた。一方、*B. subtilis* に対しては、培地が酸性に傾くと、いずれの薬剤の MIC も著明に小さくなり、アルカリ性域では逆に高くなる傾向がみられた。

馬血清添加の影響：馬血清を 5, 10, および 20% に添加した HIB を用いて、培地 pH の影響を検討した実験と同様な方法で各薬剤の MIC を測定した。Table 5 に示すように、CXD と CEX の MIC は血清添加の有無および添加量に影響を受けなかった。一方、CFT

Fig. 6 Bacteriolytic effects of CXD, cefatrizine, and cephalixin added to cultures of *Escherichia coli* K-12 T-71 in various exponential phases of growth



Arrow indicates the time of addition of the drugs

の MIC は血清量が増加するにつれて *E. coli* に対しては小さくなり、*B. subtilis* に対しては逆に大きくなる傾向が明らかにされた。

培地の種類の影響：グラム陽性菌 3 株，グラム陰性菌 4 株を HIB に前培養し，これらを生理食塩液で希釈した菌液 (10^6 /ml) を用いて，Fig. 4 に示す 7 種の平板培地を使用して各薬剤の MIC を求めた。CXD の抗菌力は，*S. faecalis* および *Salmonella* spp. を除いて，培地の種類による変動はほとんど認められなかった (Fig. 4)。CEX の抗菌力の培地による変化は，CXD のそれとほぼ同様であったのに対し，CFT の抗菌力は培地の種類によっていずれの菌株に対してもかなり大きい変動を示した。3 薬剤の各培地での MIC を比較すると，使用した 7 菌株のいずれに対しても，CFT, CXD および CEX の順に高い値が得られた。

殺菌作用：Fig. 5 に示すように，いずれの薬剤も $1 \times$ MIC 以上の添加量で *E. coli* NIH JC-2 に対して殺菌作用を示した。CFT は $1/4 \times$ MIC 添加量でも殺菌作用を示した。CXD と CEX の殺菌作用はほぼ同程度であった。

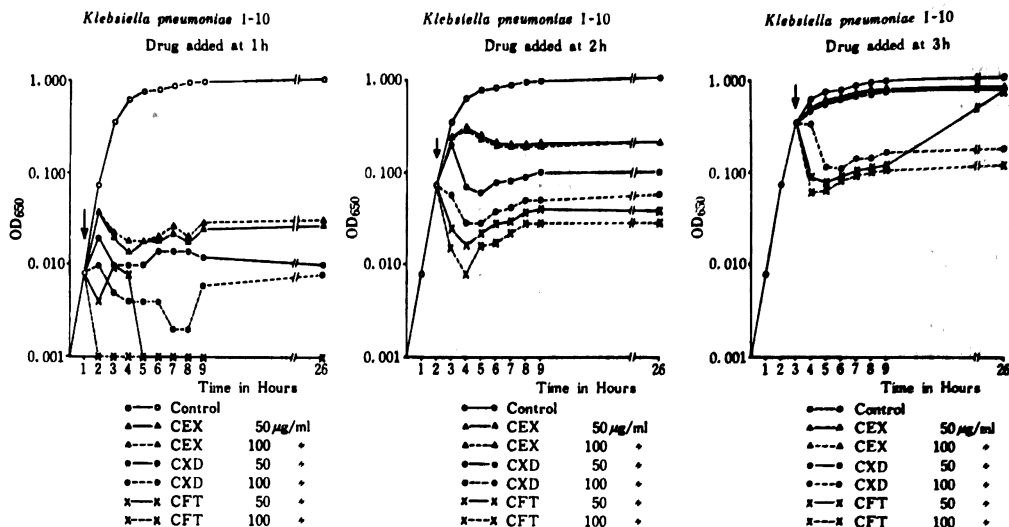
溶菌作用：*E. coli* K-12, T-71 を PAB で振盪培養し，60分後（指数増殖初期）に CXD を加えると，その 2 時間後に強い溶菌作用が現われ，以後 25 時間持続した

(Fig. 6)。120分後（指数増殖中期）に加えた場合には，濁度の低下はやや弱まったが，100 μ g/ml の添加では依然溶菌作用は著明であった。180分後（指数増殖後期）に添加した場合，50 μ g/ml ではほとんど溶菌作用が認められず，100 μ g/ml でのみ効果がみられた。CEX の溶菌作用は，どの時期に添加しても著明でなく，CXD より活性が弱かった。これに対し，CFT の溶菌作用は最も強く，ことに 180分後に 50 μ g/ml 添加しても強い溶菌作用を示した。しかし，26時間培養後の濁度を比較すると，CXD とあまり違いがなくなった。

K. pneumoniae I-10 についての結果 (Fig. 7) も *E. coli* の場合とほぼ同様であることを示している。CXD は，100 μ g/ml を用いれば，指数期の後期に添加しても溶菌作用を示し，CEX に優る活性をもつことが認められた。

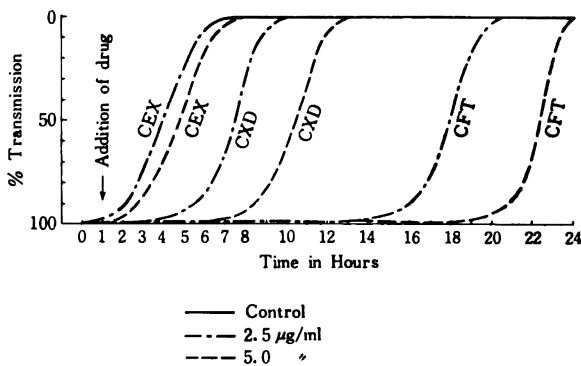
増殖遅滞作用：Fig. 8 に示すように，薬剤添加によって遅滞期は長くなったが，その程度は CEX が最も弱く，5.0 μ g/ml の添加でも発育はごくわずかに遅延したのみであった。これに対し，CXD の添加では，2.5 μ g/ml で 2 時間，5.0 μ g/ml では 5～6 時間遅滞期が延長された。一方，CFT の作用はさらに強力であったが，いったん増殖を開始した後は，増殖曲線の傾斜には相違を認めなかった。

Fig. 7 Bacteriolytic effects of CXD, cefatrizine, and cephalixin added to cultures of *Klebsiella pneumoniae* I-10 in various exponential phases of growth



Arrows indicate the times of addition of the drugs

Fig. 8 Effects of CXD, cefatrizine, and cephalixin added to cultures of *Escherichia coli* K-12 T-71 in the lag phase of growth



考 察

スイス CIBA-GEIGY 社において開発された新しい経口セファロスポリン系抗生物質 CXD に関する試験管内抗菌力の評価を、同じく経口剤である CEX および CFT を対照薬剤として比較検討した。その結果、CXD は CEX および CFT 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ルを有すること

が明らかとなった。抗菌力は CEX に比較して、いずれの菌群に対してもほぼ同等かもしくは 2 倍程度強力であったが、CFT に比べると $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{1}{4}$ 程度弱いことが認められた。

臨床分離の各種腸内細菌、*P. aeruginosa*, および *S. aureus* に対する CXD の感受性分布を検討した結果、*E. coli*, *Salmonella* spp., *S. typhi*, *Shigella* spp., *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, および *S. aureus* は感受性

であることが示された。一方、*E. aerogenes*, *S. marcescens*, および *P. aeruginosa* に対しては抗菌力が認められなかった。テストした菌種のなかで、上記以外のものなかには、一部感受性を示す菌株も存在した。

CEX 耐性 *E. coli*, β -lactamase 産生株, Cephaloridine 耐性株, および Penicillinase 産生 R プラスミド保有株に対しては, CXD の抗菌力は他の参考薬剤同様に低下がみられた。

CXD の抗菌力におよぼす接種菌量, 培地 pH, 馬血清添加, および培地の種類の影響について, CEX および CFT と比較検討した結果, 3 剤間に多少の差が認められたものの, ほぼ同様な傾向および安定性を示したといえる。

殺菌作用, 溶菌作用, および増殖遅滞作用を比較した結果, 上記の抗菌力以上に CXD は CEX に比べてこれらの作用が著明に強力な場合が多く, むしろ CFT より近い性質を有することが明らかになった。この性質は本剤の特徴として特記されるべき点であると思われる。

なお本剤に対する試験管内耐性獲得および経口投与によるマウスの感染防禦効果については次報¹⁰⁾に述べる。

謝 辞

菌株をご分与いただいた 東邦大学医学部 桑原章吾教授, 五島瑛智子教授, ならびに biophotometer 使用の便宜をはかってくださった東京大学医科学研究所吉川昌之助教授に感謝します。また, 薬剤および種々の便宜を提供くださった日本チバガイギー株式会社, および薬剤を提供くださった武田薬品工業, 万有製薬に対し感謝します。

文 献

- CASTANER, J. & A. C. PLAYLE : CGP-9000. *Drugs of the Future* 2 : 574~578, 1977
- ZAK, O. ; W. A. VISCHER, C. SCHENK, W. TOSCH, W. ZIMMERMANN, J. REGÖS, E. R. SUTER, F. KRADOLFER & J. GELZER : CGP-9000 : A new orally active, broad-spectrum cephalosporin. *J. Antibiotics* 29 : 653~655, 1976
- VISCHER, W. A. ; O. ZAK, E. A. KONOPKA, H. FEHLMANN, J. REGÖS & W. TOSCH : Experimental evaluation of CGP-9000, a new orally active cephalosporin. *Current chemotherapy. Proc. of the 10th Internat. Congr. of Chemother., Zurich/Switzerland, 18~23 Sept. 1977.* Ed. W. Siegenthaler, R. Luethy, Vol. II. Washington, D.C., Amer. Soc. f. Microbil. 825~827, 1978
- ZAK, O. ; W. TOSCH, W. A. VISCHER & F. KRADOLFER : Comparative experimental studies on 3-methoxy and 3-methylcephems. *Drugs Exptl. Clin. Res.* 3 : 11~20, 1977
- WIRZ, H. ; W. A. VISCHER, J. FULLHAAS & P. R. IMHOF : Pharmacokinetics of CGP-9000, a new orally active cephalosporin, in healthy volunteers. *Current chemotherapy. Proc. of the 10th Internat. Congr. of Chemother., Zurich/Switzerland, 18~23 Sept. 1977.* Ed. W. Siegenthaler, R. Luethy, Vol. II. Washington, D.C., Amer. Soc. f. Microbiol. 827~829, 1978
- HOLT, H. A. ; J. M. BROUGHALL, J. FULLHAAS, A. J. BINT & D. S. REEVES : Multidose human pharmacology of CGP-9000 in volunteers. *Current chemotherapy. Proc. of the 10th Internat. Congr. of Chemother., Zurich/Switzerland, 18~23 Sept. 1977.* Ed. W. Siegenthaler, R. Luethy, Vol. II. Washington, D.C., Amer. Soc. f. Microbiol. 29~830, 1978
- UEDA, Y. (ed.) : Cefatrizine. *Chemotherapy (Japan)* 24 : 1661~1667, 1976
- BLACKWELL, C. C. ; E. H. FREIMER & G. C. TUKE : *In vitro* evaluation of the new oral cephalosporin cefatrizine : comparison with other cephalosporins. *Antimicrob. Agents Chemother.* 10 : 288~292, 1976
- 石山俊次, 上田 泰, 桑原章吾, 小酒井 望, 古屋暎一, 紺野昌俊, 藤井良知 : 最小発育阻止濃度 (Minimum Inhibitory Concentration) 測定法の標準化について。 *Chemotherapy* 16 : 98~99, 1968
- 中谷林太郎, 後藤延一, 堀内三吉, 岡村 登, 千田俊雄, 柴岡はるみ, 上田貞善, 石塚 巖, 佐々木美子, 池戸正成 : 経口セファロsporin 剤 CXD 9000 の細菌学的評価。2. 試験管内耐性獲得試験およびマウスにおける化学療法効果。 *Chemotherapy* 28(S-3) : 27~42, 1980

BACTERIOLOGICAL EVALUATION OF CEFROXADINE (CGP-9000),
A NEW ORAL CEPHALOSPORIN: *IN VITRO*
ANTIBACTERIAL ACTIVITIES

RINTARO NAKAYA, NOBUICHI GOTO, SANKICHI HORIUCHI, NOBORU

OKAMURA, TOSHIO CHIDA and HARUMI SHIBAKA

Department of Microbiology, Tokyo Medical and Dental
University School of Medicine

SADAYOSHI UEDA, IWAO ISHIZUKA, YOSHIKO SASAKI

and MASANARI IKEDO

Institute of Environmental Sciences, Eiken Chemical, Ltd.

Cefroxadine (CGP-9000, CXD), a semisynthetic, orally administered cephalosporin, was found to have an *in vitro* spectrum of activity comparable to cephalixin (CEX) and cefatrizine (CFT). It showed excellent antibacterial activity against gram-positive and gram-negative bacteria, including *K. pneumoniae* and *P. mirabilis*, less activity against *E. cloacae* and other *Proteus* species. *E. aerogenes*, *S. marcescens*, and *P. aeruginosa* were found to be resistant to the drug. The antibacterial activities of cefroxadine were almost equal to or twice more potent than those of CEX, but less potent than those of CFT. The type of media, pH and addition of horse serum had no significant effects on the activity. Bactericidal and bacteriolytic effects of cefroxadine on *E. coli* and *K. pneumoniae* were more pronounced than those of CEX. These distinct properties of cefroxadine indicated that its *in vitro* antibacterial activities were similar to those of CFT.