

Cefmenoxime (SCE-1365) の嫌気性菌に対する *in vitro* 抗菌作用について

小林とよ子・磯野美登利・丸井利軌

山田 寿・渡辺邦友・上野一恵

岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設

Cefmenoxime (CMX, SCE-1365) の *in vitro* の抗菌力を各種の Reference 株と臨床分離の *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, 嫌気性の *Streptococcus*, *Clostridium* を用いて他の抗菌剤と比較検討し、次の結果を得た。

1. β -lactamase 産生の *Bacteroides fragilis* group および *Clostridium difficile* 以外のすべての嫌気性菌に対して強い抗菌力を示した。しかし β -lactamase 産生の *B. fragilis* に対しても接種菌量を 10^6 /ml とすれば抗菌力は10~100倍もしくはそれ以上に強く現われた。

C. difficile に対しては他のペニシリン剤およびセファロスポリン剤と同様に抗菌力はみとめられなかった。

2) Cefmenoxime の *B. fragilis* に対する抗菌力は Sulbencillin, Cefoperazone, Cefazolin, Cefamandole に比較して最も強かった。

3) Cefmenoxime は *B. fragilis*, *Bacteroides distasonis*, *Fusobacterium varium*, および *Eubacterium lentum* に対して MIC と MLC は全く同じ値を示した。

4) Cefmenoxime は *B. fragilis* および *Peptococcus variabilis* に対して殺菌作用を示した。

5) *B. fragilis* と *P. variabilis* は Cefmenoxime に対する耐性獲得が極めて低いことが明らかとなった。しかし β -lactamase 産生の *B. fragilis* は β -lactamase 非産生菌よりは耐性獲得が早い。

はじめに

Cefmenoxime (CMX, SCE-1365) は新しい注射用 Cephalosporin 剤で、化学構造上7位側鎖には Amino-thiazolyl-methoxyiminoacetyl 基を有し、3位側鎖には Tetrazole 環を有する。

本剤は広域抗生物質で、とくに好気性グラム陰性桿菌に対する抗菌力が強く、Cefotiam (CTM) に比して抗菌力が拡大された。また好気性菌の β -lactamase に対しても安定で、既存の Cephalosporin 耐性菌に対しても強い抗菌活性を示すといわれる。

著者らは本剤の嫌気性菌に対する *in vitro* 抗菌作用を他剤と比較検討したので報告する。

実験方法

1. 使用菌株

研究室保存菌株および臨床材料から分離し、ガスクロマトグラフィーによる代謝産物の分析と各種生化学的性状から同定された菌株を用いた¹⁾。これらの菌株はスキムミルクを保護剤として -80°C の超温庫中で保存され

た¹⁾。

2. 使用薬剤

それぞれ力価の明らかな Cefazolin (CEZ), Cefamandole (CMD), Cefotaxime (CTX), Cefoperazone (CPZ), Cefoxitin (CFX), Sulbencillin (SBPC) および CMX を用いた。

3. 薬剤感受性測定法

日本化学療法学会感受性測定法(嫌気性菌)に準じた²⁾。しかし一部の菌株については 10^6 cfu/ml の接種菌量についてのみ MIC を測定した。

4. 殺菌作用

β -lactamase 産生の *Bacteroides fragilis* GAI 0363 株と β -lactamase 非産生の *B. fragilis* GAI 0544 株を用いて CMX の殺菌作用を検討した。

被検菌株の GAM ブイオン24時間嫌気培養菌を CMX の $\frac{1}{4}$ MIC, 1 MIC, 2 MIC, 4 MIC, 8 MIC 相当の濃度含有の GAM ブイオンに接種し、 37°C にて Anaerobic glove box 内 (N_2 80%, H_2 10%, CO_2 10%) で嫌気培養した。2, 4, 6, 8, 12時間培養後の生菌数の変動を Anaerobic glove box 内で定量培養法によって測定し、

生菌数の変動を検討した。

5. MLC (Minimal Lethal Concentration) の測定

薬剤の所要濃度含有の GAM ブイオンに被検菌株の 24時間 GAM ブイオン培養菌液の 1白金耳量を Anaerobic glove box 内で接種し、24時間嫌気培養後に肉眼的観察により MIC を判定した。ついでただちに 1白金耳量を GAM 寒天培地に塗抹、48時間嫌気培養し、菌の発育しなかった最小薬剤濃度から MLC を判定した。

6. 耐性の上昇と耐性菌の Population の変動

各種濃度の薬剤含有 GAM 半流動高層培地に被検菌株の 1白金耳量を接種、24時間培養後に最高濃度の薬剤含有培地に発育したものを、さらに 1白金耳量を新しい薬剤含有 GAM 半流動高層培地に継代し、この方法で 13代継代培養を重ねて耐性の上昇パターンを検討した。

使用菌株は β -lactamase 産生 *B. fragilis*, β -lactamase 非産生 *B. fragilis*, *Peptococcus variabilis* を用いた。

これらの被検菌株は薬剤含有培地に継代培養前の菌株と 13代継代培養後の菌株について、CMX に対する耐性菌の Population の変動を比較した。

7. β -Lactamase 安定性の測定

著者らの方法³⁾により *B. fragilis* の β -lactamase に

対する CMX の安定性を CFX, CEZ と比較検討した。

実験成績

1) 抗菌スペクトラム

研究室保存の *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Clostridium* に対する CMX の *in vitro* の抗菌力を CEZ, CPZ および SBPC と比較検討した成績を Table 1~6 に示した。

CMX はグラム陰性およびグラム陽性のすべての嫌気性菌に対して幅広い抗菌スペクトラムを有している。しかし *B. fragilis*, *Bacteroides ovatus*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides distasonis* には、これまでのいずれのペニシリン系およびセファロスポリン系抗生剤と同様に他の嫌気性菌よりも若干抗菌力が劣っており、接種菌量が 10^8 /ml では $100 \sim 12.5 \mu\text{g/ml}$ の MIC 値を示したが、多くは $50 \sim 25 \mu\text{g/ml}$ の MIC 値であった。しかし接種菌量が 10^6 /ml では MIC 値は $50 \sim 3.13 \mu\text{g/ml}$ となり、多くは $6.25 \sim 3.13 \mu\text{g/ml}$ で CEZ, CPZ および SBPC より優れていた。*Fusobacterium varium*, *Fusobacterium necrophorum*, *Fusobacterium freundii*, *Peptococcus prevotii*, *Peptococ-*

Table 1 Antibacterial activity of CMX and other antibiotics against anaerobic gram-negative rods

(10^8 /ml)

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	CMX	CEZ	CPZ	SBPC
<i>B. fragilis</i> GAI 0307	12.5	12.5	12.5	12.5
<i>B. fragilis</i> GAI 0270	25	12.5	50	12.5
<i>B. fragilis</i> GAI 0254	25	50	50	12.5
<i>B. fragilis</i> GAI 0266	50	50	50	12.5
<i>B. thetaiotaomicron</i> GAI 28	100	50	50	25
<i>B. thetaiotaomicron</i> GAI 85	25	6.25	50	1.56
<i>B. distasonis</i> GAI 0290	25	50	50	50
<i>B. distasonis</i> GAI 0316	25	25	25	12.5
<i>B. distasonis</i> GAI 0272	50	50	50	12.5
<i>B. distasonis</i> GAI 0268	25	50	50	12.5
<i>B. vulgatus</i> GAI 0542	25	25	50	12.5
<i>B. vulgatus</i> GAI 0486	50	50	>100	12.5
<i>B. ovatus</i> GAI 0267	50	50	50	25
<i>B. ovatus</i> GAI 0321	100	50	100	25
<i>B. asaccharolyticus</i> GAI 0642	1.56	1.56	0.78	0.78
<i>B. praeacutus</i>	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19
<i>F. varium</i> B-1083	1.56	1.56	1.56	1.56
<i>F. varium</i> FA-26	6.25	6.25	1.56	1.56
<i>F. necrophorum</i> S-45	≤ 0.19	1.56	0.78	0.78
<i>F. freundii</i> 9817	0.39	12.5	1.56	1.56

Table 2 Antibacterial activity of CMX and other antibiotics against anaerobic gram-negative rods

(10⁸/ml)

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	CMX	CEZ	CPZ	SBPC
<i>B. fragilis</i> GAI 0307	6.25	6.25	12.5	6.25
<i>B. fragilis</i> GAI 0270	25	6.25	12.5	6.25
<i>B. fragilis</i> GAI 0254	6.25	25	25	6.25
<i>B. fragilis</i> GAI 0266	6.25	25	50	12.5
<i>B. thetaiotaomicron</i> GAI 28	50	50	50	12.5
<i>B. thetaiotaomicron</i> GAI 85	3.13	3.13	12.5	1.56
<i>B. distasonis</i> GAI 0290	3.13	12.5	12.5	25
<i>B. distasonis</i> GAI 0316	3.13	12.5	12.5	12.5
<i>B. distasonis</i> GAI 0272	25	50	25	6.25
<i>B. distasonis</i> GAI 0268	6.25	25	25	6.25
<i>B. vulgatus</i> GAI 0542	3.13	12.5	12.5	6.25
<i>B. vulgatus</i> GAI 0486	50	50	12.5	6.25
<i>B. ovatus</i> GAI 0267	6.25	50	25	25
<i>B. ovatus</i> GAI 0321	50	25	50	25
<i>B. asaccharolyticus</i> GAI 0642	1.56	0.78	0.78	0.78
<i>B. praeacutus</i>	≤ 0.10	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19
<i>F. varium</i> B-1083	0.78	0.39	0.39	0.78
<i>F. varium</i> FA-26	3.13	1.56	0.78	0.78
<i>F. necrophorum</i> S-45	≤ 0.19	0.78	0.78	0.39
<i>F. freundii</i> 9817	≤ 0.19	3.13	0.39	0.39

Table 3 Antibacterial activity of CMX and other antibiotics against anaerobic gram-positive cocci

(10⁸/ml)

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	CMX	CEZ	CPZ	SBPC
<i>P. prevotii</i> O-6	≤ 0.19	≤ 0.19	0.39	0.39
<i>P. prevotii</i> GAI 1001	≤ 0.19	≤ 0.19	0.78	0.78
<i>P. prevotii</i> GAI 1002	≤ 0.19	0.78	0.78	0.78
<i>P. magnus</i> GAI 0242	3.13	3.13	1.56	3.13
<i>P. magnus</i> GAI 1195	3.13	3.13	1.56	3.13
<i>P. magnus</i> GAI 0237	1.56	1.56	1.56	1.56
<i>P. magnus</i> GA I0241	3.13	1.56	3.13	1.56
<i>P. magnus</i> GAI 0247	6.25	6.25	3.13	3.13
<i>P. asaccharolyticus</i> GAI 0290	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19
<i>P. anaerobius</i>	0.78	0.78	0.78	0.78
<i>P. productus</i>	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19

Table 4 Antibacterial activity of CMX and other antibiotics against anaerobic gram-positive cocci (10⁶/ml)

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	CMX	CEZ	CPZ	SBPC
<i>P. prevotii</i> O-6	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19
<i>P. prevotii</i> GAI 1001	≤ 0.19	≤ 0.19	0.39	≤ 0.19
<i>P. prevotii</i> GAI 1002	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19
<i>P. magnus</i> GAI 0242	0.78	0.39	0.78	1.56
<i>P. magnus</i> GAI 1195	1.56	1.56	0.78	1.56
<i>P. magnus</i> GAI 0237	0.78	0.39	0.78	0.78
<i>P. magnus</i> GAI 0241	1.56	0.78	1.56	0.78
<i>P. magnus</i> GAI 0247	3.13	3.13	0.78	3.13
<i>P. asaccharolyticus</i> GAI 0290	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19
<i>P. anaerobius</i>	0.78	0.39	0.39	0.78
<i>P. productus</i>	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19

Table 5 Antibacterial activity of CMX and other antibiotics against *Clostridium* (10⁸/ml)

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	CMX	CEZ	CPZ	SBPC
<i>C. perfringens</i> H 9-8791	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19
<i>C. perfringens</i> H 3-8231	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19
<i>C. bifermentans</i> GAI 6371	50	>100	<100	>100
<i>C. bifermentans</i> GAI 6341	≤ 0.19	3.13	0.78	0.78
<i>C. sporogenes</i> GAI 6537	6.25	12.5	3.13	12.5
<i>C. difficile</i> GAI 0282	100	50	50	100
<i>C. difficile</i> GAI 0285	100	25	50	100
<i>C. difficile</i> GAI 0287	100	50	25	100
<i>C. difficile</i> GAI 0280	100	50	25	100
<i>C. difficile</i> GAI 0289	50	50	50	100
<i>C. difficile</i> GAI 0376	100	50	50	25
<i>C. difficile</i> GAI 0545	100	50	50	25

Table 6 Antibacterial activity of CMX and other antibiotics against clostridium (10⁶/ml)

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	CMX	CEZ	CPZ	SBPC
<i>C. perfringens</i> H 9-8791	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19
<i>C. perfringens</i> H 3-8231	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19	≤ 0.19
<i>C. bifermentans</i> GAI 6371	25	>100	>100	100
<i>C. bifermentans</i> GAI 6341	≤ 0.19	1.56	0.39	0.78
<i>C. sporogenes</i> GAI 6537	3.13	6.25	3.13	6.25
<i>C. difficile</i> GAI 0282	25	25	25	25
<i>C. difficile</i> GAI 0285	50	12.5	25	50
<i>C. difficile</i> GAI 0287	50	12.5	12.5	100
<i>C. difficile</i> GAI 0280	50	12.5	12.5	50
<i>C. difficile</i> GAI 0289	12.5	12.5	6.25	50
<i>C. difficile</i> GAI 0376	50	12.5	12.5	12.5
<i>C. difficile</i> GAI 0545	50	25	25	25

Table 7 Antibacterial activity of CMX against *Bacteroides* and *Fusobacterium* isolated from clinical materials (10⁸/ml)

Organism	No. of strains tested	MIC ($\mu\text{g/ml}$)									
		≤ 0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	≥ 100
<i>B. fragilis</i>	58					5	3	9	19	13	9
<i>B. thetaiotaomicron</i>	15							1	3	4	7
<i>B. distasonis</i>	15				3		2	1	5	2	1
<i>B. vulgatus</i>	5	1		1	1						
<i>B. ovatus</i>	4									1	3
<i>B. oralis</i>	4			2						2	
<i>B. melaninogenicus</i>	4		2		1	1					
<i>B. asaccharolyticus</i>	3		1		1	1					
<i>B. uniformis</i>	4							1	1	2	
<i>B. eggerthii</i>	2						1		1		
<i>F. mortiferum</i>	3	1									2
<i>F. necrophorum</i>	1	1									
<i>F. varium</i>	5				1		1	3			
<i>Fusobacterium</i> spp.	3	1	1						1		

Table 8 Antibacterial activity of CMX against *Bacteroides* and *Fusobacterium* isolated from clinical materials (10⁶/ml)

Organism	No. of strains tested	MIC ($\mu\text{g/ml}$)									
		≤ 0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	≥ 100
<i>B. fragilis</i>	58				7	4	13	18	8	3	5
<i>B. thetaiotaomicron</i>	15					1	4	3	2	2	3
<i>B. distasonis</i>	15			1	2	1	3	4	2	1	1
<i>B. vulgatus</i>	5	1	1	1				1	1		
<i>B. ovatus</i>	4								1	1	2
<i>B. oralis</i>	4	1	1						2		
<i>B. melaninogenicus</i>	4	1	1	1		1					
<i>B. asaccharolyticus</i>	3	1		1	1						
<i>B. uniformis</i>	4						1	2		1	
<i>B. eggerthii</i>	2				1			1			
<i>F. mortiferum</i>	3	1								1	1
<i>F. necrophorum</i>	1	1									
<i>F. varium</i>	5		1		2	1		1			
<i>Fusobacterium</i> spp.	3	2						1			

cus magnus, *Peptococcus asaccharolyticus*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Peptostreptococcus productus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium bif fermentans*, *Clostridium sporogenes* に対しては CMX は他のセファロスポリン剤, ペニシリン剤と同様に極めて優れた抗菌力を示した。殆どの菌株が6.25~ ≤ 0.19 $\mu\text{g/ml}$ の MIC 値を示した。しかし, *Clostridium difficile* に対しては抗

菌力は弱く100~50 $\mu\text{g/ml}$ の MIC 値を示した。

2) 臨床分離株に対する感受性分布

臨床材料から分離された *B. fragilis* 58株, *B. thetaiotaomicron* 15株, *B. distasonis* 15株, *B. vulgatus* 5株, *B. ovatus* 4株, *Bacteroides oralis* 4株, *Bacteroides melaninogenicus* 4株, *Bacteroides asaccharolyticus* 3株, *Bacteroides uniformis* 4株, *Bacteroides eggerthii*

Table 9 Antibacterial activity of CMX against anaerobic gram-positive rods isolated from clinical materials (10⁸/ml)

Organism	No. of strains tested	MIC ($\mu\text{g/ml}$)									
		≤ 0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	≥ 100
<i>E. lentum</i>	2		1		1						
<i>E. aerofaciens</i>	2				2						
<i>E. limosum</i>	3	2	1								
<i>L. buccalis</i>	1			1							
<i>B. adolescentis</i>	4						3			1	
<i>B. breve</i>	3					1	1	1			
<i>P. acnes</i>	5						5				
<i>C. perfringens</i>	18	8	6		1	1	1			1	
<i>C. difficile</i>	39							1	20	17	1
<i>C. bifermentans</i>	19	3	9	1	1	2	2	1			
<i>C. botulinum</i> type A	14			2	5	7					
<i>C. sordellii</i>	8	4	1		1	2					
<i>C. tetani</i>	6	3			2	1					
<i>Clostridium</i> spp.	83	11	14	7	8	24	13	2	4		

Table 10 Antibacterial activity of CMX against anaerobic gram-positive rods isolated from clinical materials (10⁶/ml)

Organism	No. of strains tested	MIC ($\mu\text{g/ml}$)									
		≤ 0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	≥ 100
<i>E. lentum</i>	2	1		1							
<i>E. aerofaciens</i>	2			2							
<i>E. limosum</i>	3	3									
<i>L. buccalis</i>	1	1									
<i>B. adolescentis</i>	4				1	2	1				
<i>B. breve</i>	3			2		1					
<i>P. acnes</i>	5				1	4					
<i>C. perfringens</i>	18	15		2					1		
<i>C. difficile</i>	39						3	20	8	7	1
<i>C. bifermentans</i>	19	10	3	1	1	2	1	1			
<i>C. botulinum</i> type A	14	2	3	4	3	2					
<i>C. sordellii</i>	8	5		2	1						
<i>C. tetani</i>	6	3	1	1	1						
<i>Clostridium</i> spp.	83	28	6	18	15	10	4	2			

2株, *Fusobacterium mortiferum* 3株, *F. necrophorum* 1株, *F. varium* 5株, *Fusobacterium species* 3株, *Eubacterium lentum* 2株, *Eubacterium aerofaciens* 2株, *Eubacterium limosum* 3株, *Leptotrichia buccalis* 1株, *Bifidobacterium adolescentis* 4株, *Bifidobacterium breve* 3株, *Propionibacterium acnes* 5株, *C. perfringens* 18株, *C. difficile* 39株, *C. bifermentans* 19株, *Clostridium botulinum* A型14株, *Clostridium sordellii*

8株, *Clostridium tetani* 6株, *Clostridium species* 83株の CMX に対する感受性分布を検討し Table 7~12, Fig. 1 に示した。

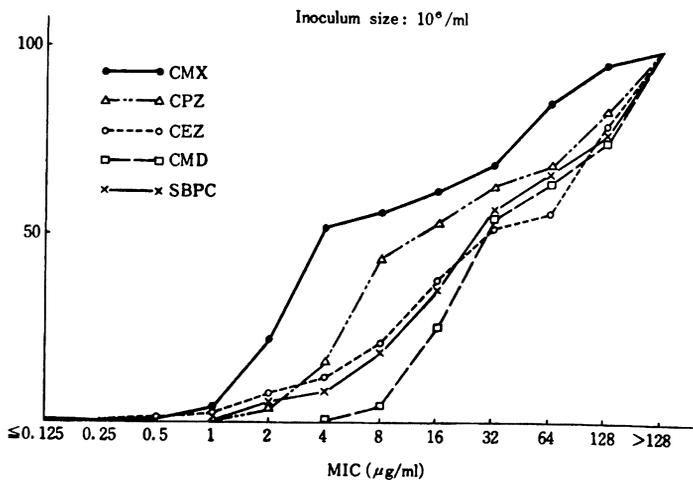
B. fragilis group (*B. fragilis*, *B. distasonis*, *B. vulgatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. ovatus*) に対する MIC 値は10⁸/ml の接種菌量では $\geq 100 \sim \leq 0.19 \mu\text{g/ml}$ に分布しているが, 78.3%の菌株は50 $\mu\text{g/ml}$ 以下の MIC 値を示した。しかし10⁶/ml の接種菌量では88.6%の菌

Table 11 Antibacterial activity of CMX against anaerobic cocci isolated from clinical materials (10⁸/ml)

Organism	No. of strains tested	MIC ($\mu\text{g/ml}$)								
		≤ 0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50
<i>P. prevotii</i>	9	5	3	1						
<i>P. variabilis</i>	12		3	3	3	3				
<i>P. asaccharolyticus</i>	14	12	1		1					
<i>P. magnus</i>	24	3	2		1	5	9	2	2	
<i>Peptococcus</i> spp.	13	5	1		2	2	2	1		
<i>P. anaerobius</i>	12	4	2	2	2	2				
<i>P. micros</i>	8	3	3				1	1		
<i>S. morbillorum</i>	3				2	1				
<i>S. intermedius</i>	1	1								
<i>G. anaerobia</i>	3	1	1					1		
<i>V. parvula</i>	2	1	1							

Table 12 Antibacterial activity of CMX against anaerobic cocci isolated from clinical materials (10⁶/ml)

Organism	No. of strains tested	MIC ($\mu\text{g/ml}$)								
		≤ 0.19	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50
<i>P. prevotii</i>	9	8	1							
<i>P. variabilis</i>	12	4	4	1	2	1				
<i>P. asaccharolyticus</i>	14	13	1							
<i>P. magnus</i>	24	5	1	3	7	5	2	1		
<i>Peptococcus</i> spp.	13	6	1	2	2	1	1			
<i>P. anaerobius</i>	12	7	3	1	1					
<i>P. micros</i>	8	6				1	1			
<i>S. morbillorum</i>	3			3						
<i>S. intermedius</i>	1	1								
<i>G. anaerobia</i>	3	2					1			
<i>V. parvula</i>	2	2								

Fig. 1 Sensitivity distribution of *B. fragilis* isolated from clinical materials against CMX and other cephalosporins (n=108)

株が50 µg/ml 以下の MIC 値を示した。

さらに *B. fragilis* 108株について CMX に対する感受性の累積百分率を CPZ, CEZ, CMD, SBPC と比較した成績を Fig. 1 に示した。CMX は最も優れた抗菌力を示した。グラム陽性桿菌である *Eubacterium*, *Leptotrichia*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium* および *Clostridium* に対しては *C. difficile* 以外の菌種には優れた抗菌力を示した。99.5%の菌株が50 µg/ml 以下の MIC 値を示した。しかし *C. difficile* は $\geq 100 \sim 12.5$ µg/ml の MIC 値を示した。

嫌気性球菌に対しても CMX は優れた抗菌力を示し、全株が25 µg/ml 以下の MIC 値を示した。

3) MIC と MLC の比較

CMX の嫌気性菌に対する MIC と MLC の比較を *B. fragilis* 12株, *B. distasonis* 2株, *F. varium* 1株, *E. lentum* 1株を用いて検討し、成績を Table 13に示した。

Table 13 Bactericidal activity of CMX against *Bacteroides*, *Fusobacterium* and *Eubacterium*

Organism	MIC (µg/ml)	MLC* (µg/ml)
<i>B. fragilis</i> GAI 32-2	6.25	6.25
<i>B. fragilis</i> GAI 0057	12.5	12.5
<i>B. fragilis</i> GAI 0270	25	25
<i>B. fragilis</i> GAI 0271	200	200
<i>B. fragilis</i> GAI 0273	50	50
<i>B. fragilis</i> GAI 0274	25	25
<i>B. fragilis</i> GAI 0301	100	100
<i>B. fragilis</i> GAI 0327	25	25
<i>B. fragilis</i> GAI 7539	200	200
<i>B. fragilis</i> GAI 7542	50	50
<i>B. fragilis</i> GAI 7545	25	25
<i>B. fragilis</i> GAI 7548	200	200
<i>B. distasonis</i> HR 122	1.56	1.56
<i>B. distasonis</i> GAI 7007	12.5	12.5
<i>F. varium</i> B-1083	1.56	1.56
<i>E. lentum</i> H-1	25	200

* MLC : Minimum lethal concentration

Fig. 2 Bactericidal activity of CMX against β -lactamase producing strain of *B. fragilis* GAI 0363

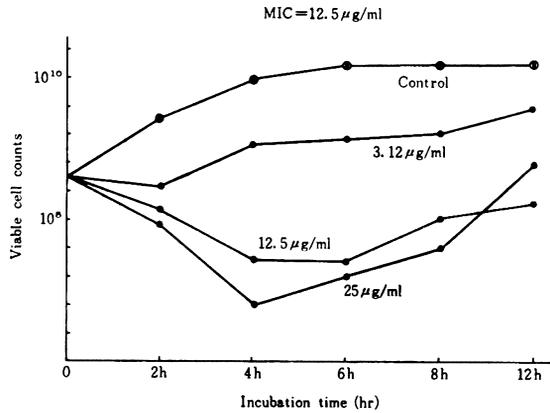


Fig. 3 Bactericidal activity of CMX against β -lactamase non producing strain of *B. fragilis* GAI 0544

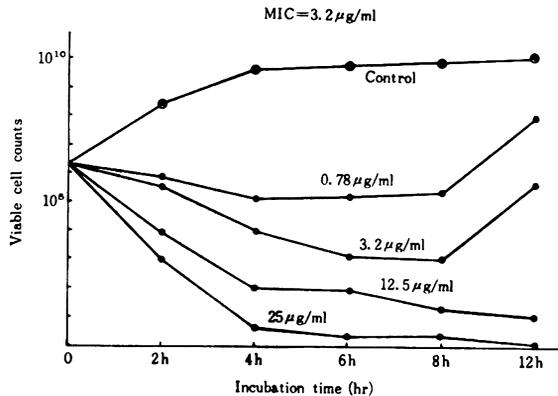


Fig. 4 Development of resistance of *B. fragilis* GAI 0363, *B. fragilis* GAI 0544 and *P. variabilis* GAI 0670 *in vitro*

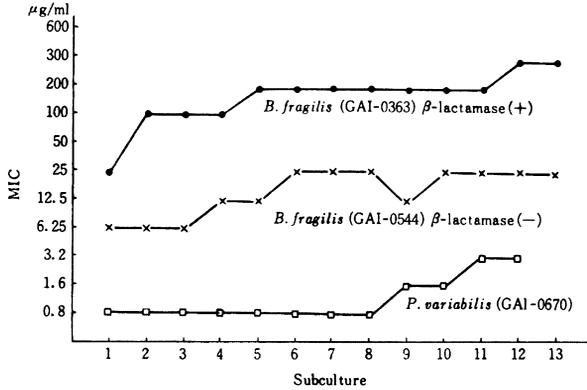


Fig. 5 Survival curves for β-lactamase producing strain of *B. fragilis* GAI 0363 plated on GAM agar with various concentrations of CMX

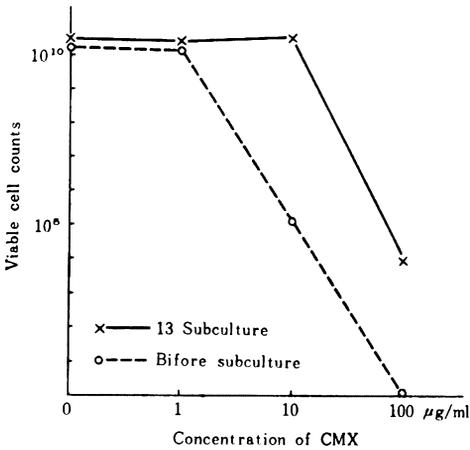
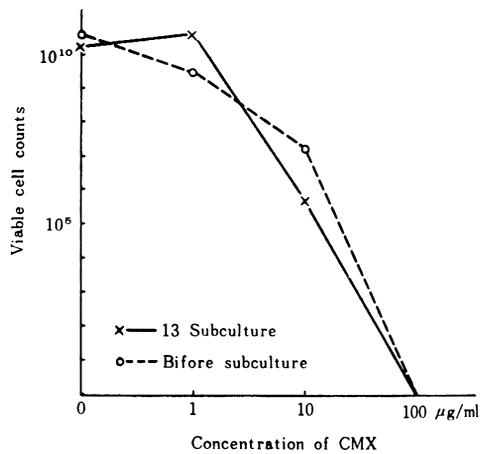


Fig. 6 Survival curves for β-lactamase non producing strain of *B. fragilis* GAI 0544 plated on GAM media with various concentrations of CMX



MIC 値の高い菌株および低い菌株についても、MIC と MLC 値は全く同じで、本薬剤がこれらの菌株に対して強い殺菌作用のあることが示唆された。

4) 増殖曲線におよぼす CMX の影響

β-lactamase 産生の *B. fragilis* GAI 0363 株と β-lactamase 非産生の *B. fragilis* GAI 0544 株の増殖曲線におよぼす CMX の影響を検討した成績を Fig. 2, 3 に示した。

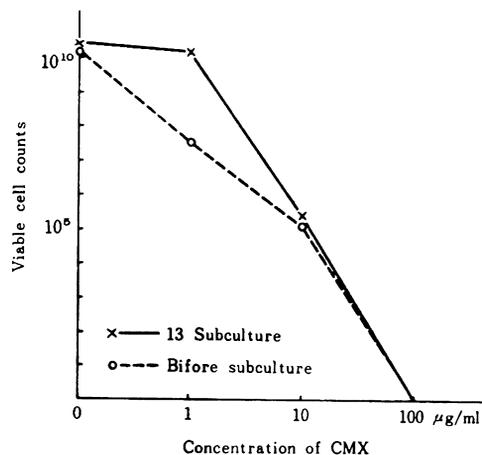
接種菌量が10⁶/ml の場合、β-lactamase 産生の *B. fragilis* では、1 MIC および 2 MIC 相当濃度を作用させると、4 時間目までは菌数は一度減少するが、その後は再び増加する、しかし 1 MIC 以下の相当濃度を作用させても、菌数の減少はみとめられなかった。

一方、β-lactamase 非産生の *B. fragilis* では 2 MIC および 4 MIC 相当濃度を作用させると 2 時間目から濃度に応じて段階的に殺菌作用を示し、時間の経過に従い菌数が減少した。1 MIC 相当濃度を作用させると 8 時間目までは、次第に菌数が減少したが、12 時間目では再び菌数の増加がみとめられた。1/2 MIC 相当濃度の作用では、8 時間目までは静菌的作用をみとめ、12 時間目では再び菌数は増加した。

5) 薬剤含有培地での継代培養による耐性の上昇と耐性菌 Population の変動

β-lactamase 産生の *B. fragilis*, β-lactamase 非産生の *B. fragilis* および *P. variabilis* を用いて薬剤含有培地に継代培養して耐性の上昇を検討した成績を Fig. 4

Fig. 7 Survival curves for *P. variabilis* plated on GAM media with various concentration of CMX



に示した。 β -lactamase 産生の *B. fragilis* は13代継代により25 $\mu\text{g/ml}$ から300 $\mu\text{g/ml}$ に上昇したが、 β -lactamase 非産生の *B. fragilis* では6.25 $\mu\text{g/ml}$ から25 $\mu\text{g/ml}$ に上昇したのみであった。一方 *P. variabilis* では0.8 $\mu\text{g/ml}$ から3.2 $\mu\text{g/ml}$ に上昇した。

上記のように薬剤含有培地を13代継代して耐性の上昇した菌株と薬剤含有培地に継代する前の菌株を用いて、CMX 耐性 Population の変動を検討した成績を Fig. 5~7 に示した。

β -lactamase 産生の *B. fragilis* は薬剤含有培地を継代することにより耐性菌の Population に変動がみられたが、 β -lactamase 非産生の *B. fragilis* および *P. variabilis* では著しい変動はみられなかった。すなわち β -lactamase 産生の *B. fragilis* の CMX の耐性 Population は、 10^{10} 個の細菌細胞中に 1 $\mu\text{g/ml}$ の耐性細胞は 10^{10} 個で100%耐性細胞であったが、10 $\mu\text{g/ml}$ の耐性細胞は 10^5 個、100 $\mu\text{g/ml}$ の耐性細胞はみとめられなかった。同一菌株の薬剤含有培地を13代継代すると、100%に10 $\mu\text{g/ml}$ の耐性細胞によって占められ、100 $\mu\text{g/ml}$ の耐性細胞も 10^4 個と増加した。

ところが、 β -lactamase 非産生の *B. fragilis* および *P. variabilis* では13代継代しても 1 $\mu\text{g/ml}$ 耐性細胞が若干増加したのみで、10 $\mu\text{g/ml}$ および100 $\mu\text{g/ml}$ 耐性細胞の Population に変動はみとめられなかった。

6) CMX の *B. fragilis* の β -lactamase に対する安定性

β -lactamase 産生の *B. fragilis* 3株から得られた粗製の β -lactamase を用いて CMX の安定性を CEZ と

Table 14 Stability of CMX against β -lactamase of *B. fragilis*

Organism	Substrate		
	CEZ	CFX	CMX
<i>B. fragilis</i> GAI 0544	0.60*	0	0.03
<i>B. fragilis</i> GAI 0542	0.73	0	0.15
<i>B. fragilis</i> GAI 0366	1.76	0	0.96

* μ moles/min./ml

CFX と比較した成績を Table 14 に示した。CMX は CFX より若干劣るが CEZ よりも *B. fragilis* の β -lactamase に安定であることが認められた。

考 察

新しい抗生物質 CMX は *B. fragilis* group (*B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *B. distasonis*, *B. vulgatus*, *B. ovatus*, *B. uniformis*) と *C. difficile* 以外のグラム陽性およびグラム陰性の嫌気性菌に強い抗菌力を有していた。一般に *B. fragilis* group はペニシリン系およびセファロスポリン系抗生物質に対しては抵抗性をもっており、CMX に対しても同様に若干抵抗性を示したが、接種菌量の減少により MIC 値は著しく低下した。*C. difficile* に対してはすべて 25 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC 値を示し無効と考えられる。

臨床分離菌株に対しても同様に強い抗菌力を示したが、*C. difficile* に対しては Reference 株と同様に無効であった。*B. fragilis* group に対しては、他の嫌気性菌よりも若干抗菌力は劣るが、接種菌量が $10^6/\text{ml}$ では10~100倍もしくはそれ以上の強い抗菌力を示した。CMX は他のセファロスポリン系抗生剤と同様に β -lactamase 産生の *B. fragilis* group の菌株と β -lactamase 非産生の *B. fragilis* に対する抗菌力に差をみとめるが、CEZ, CPZ および SBPC と同等もしくはそれ以上の抗菌力を示すことが明らかとなった。*Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, 嫌気性の *Streptococcus* には極めて強い抗菌力を示した。

CMX の抗菌作用は β -lactamase 非産生の嫌気性菌に対しては、1 MIC 相当濃度以上では殺菌的であることが明らかとなった。ところが β -lactamase 産生の *B. fragilis* に対しては 1 MIC 相当濃度では4~6時間までは殺菌的に作用するが、それ以後では菌は再び増殖する。このことは感染症の治療に際しては CMX の投与量および投与間隔を考慮すれば、 β -lactamase 産生の *B. fragilis* が関与していても治療効果を充分期待することができる。この事実は MIC と MLC を観察した成

績でも示唆することができる。すなわち供試した全菌株が MIC と MLC が一致しており、MIC が 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であれば MLC も 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であることは β -lactamase 産生の菌株で MIC が悪くても、200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の薬剤濃度を保てば充分殺菌されることを示唆している。

B. fragilis の多くの菌株は β -lactamase を生産することは衆知のところであるが⁴⁾、CMX はこの *B. fragilis* の β -lactamase に対して CEZ よりも明らかに安定であるが、CFX よりも若干不安定であった。

CMX 含有培地の継代によっても CMX 耐性変異株の著しい増加はみとめられなかったが、 β -lactamase 産生の *B. fragilis* では若干の増加がみとめられた。しかし、この程度の増加は他のセファロスポリン剤およびペニシリン剤の場合と同様である^{4,5)}。

以上のことから CMX は今後 *B. fragilis* を含めた嫌気性菌感染症の薬剤として充分期待できる。

文 献

- 1) 鈴木祥一郎, 上野一恵 編: 臨床嫌気性菌マニュアル。日水製薬 1978
- 2) 嫌気性菌 MIC 測定法検討委員会: 嫌気性菌の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法。Chemotherapy 27 (3): 559~560, 1976
- 3) 小林とよ子, 磯野美登利, 山田 寿, 渡辺邦友, 上野一恵: 6059-S の嫌気性菌に対する抗菌作用。Chemotherapy 28 (S-7): 42~51, 1980
- 4) 上野一恵, 上田 泰, 眞下啓明 編: 今日の化学療法。ライフサイエンス 1979

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CEFMENOXIME (SCE-1365) AGAINST ANAEROBES

TOYOKO KOBAYASHI, MIDORI ISONO, TOSHINORI MARUI,
HISASHI YAMADA, KUNITOMO WATANABE and KAZUE UENO
Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University School of Medicine

Bacteriological evaluation to anaerobic bacteria was made on cefmenoxime (CMX, SCE-1365), a new broad spectrum antibiotic, and following results were obtained.

1) Cefmenoxime showed potent antibacterial activities against genus *Peptococcus*, genus *Peptostreptococcus*, genus *Eubacterium*, genus *Propionibacterium*, genus *Bacteroides*, genus *Fusobacterium* and genus *Clostridium*. It was especially more potent than cefazolin, cefoperazone and sulbenicillin against anaerobic bacteria including β -lactamase producing *Bacteroides fragilis* group. *Clostridium difficile* was almost insusceptible to cefmenoxime.

2) Cefmenoxime was stable to β -lactamase of *B. fragilis* in the spleen of mice.

3) Cefmenoxime showed bactericidal action against *B. fragilis* and *Peptococcus variabilis*.