

Cefmenoxime (SCE-1365) の大腸菌, 緑膿菌およびセラチアに対する抗菌機作

杉中 秀 寿

大阪大学歯学部口腔細菌学教室

高田直樹・浜 正純・小川道雄

大阪大学医学部第二外科学教室

Cefmenoxime (CMX, SCE-1365) は新しく開発された半合成セファロスポリン系抗生剤の一つで, 広範囲のグラム陰性菌に対して, 他の β -ラクタム抗生剤よりも強い抗菌力をもっている。この抗生剤の抗菌機作を *Escherichia coli* K12, *Pseudomonas aeruginosa* KM 338 および *Serratia marcescens* IFO 12648 を用いて, Cefazolin および Benzylpenicillin の作用と比較検討した。

それぞれの菌株に対する Cefmenoxime の MIC は, 0.031, 25 および 0.05 $\mu\text{g/ml}$ であった。薬剤透過障害の荷手である外膜に障害を与える EDTA 存在下での Cefmenoxime の MIC は未添加のそれとほとんど変らなかったが, Cefazolin および Benzylpenicillin の *P. aeruginosa* および *S. marcescens* に対する MIC は EDTA 添加によって著明に低下した。いずれの被検菌株もわずかの β -lactamase を産生し, *P. aeruginosa* および *S. marcescens* では Benzylpenicillin 添加によって β -lactamase 産生が増加した。Cefmenoxime はこれらの β -lactamase にほとんど分解を受けず, Cefazolin は容易に分解された。被検菌株のエーテル処理菌体における架橋ペプチドグリカン合成反応を Cefmenoxime は Cefazolin や Benzylpenicillin よりもはるかに低濃度で阻害した。

以上の結果から, Cefmenoxime がグラム陰性菌に対してすぐれた抗菌力を示すのは, 外膜の透過性がすぐれ, ペリプラズムに局在する β -lactamase に対して安定で, しかも細胞質膜上に存在する標的酵素である transpeptidase に対してすぐれた感受性を示すためであろうと考えられる。

Cefmenoxime (CMX, SCE-1365) は新しく開発された半合成セファロスポリン系抗生剤の一つである。この抗生剤は多くのグラム陰性菌に対して, 従来の β -ラクタム抗生剤よりもすぐれた抗菌力をもち, しかも種々の抗生剤に感受性を示さないセラチアなどにも感受性を示すことが報告¹⁾ されている。

一般にグラム陰性菌に対する β -ラクタム抗生剤の感受性の程度は, その薬剤の細菌表層外膜の透過性, β -ラクタマーゼに対する薬剤の抵抗性およびその薬剤の標的酵素に対する感受性によって決まるものと考えられる。

そこで CMX のすぐれた抗菌力を発揮する機構について, 大腸菌, 緑膿菌およびセラチアを用い, セファゾリンおよびペニシリン G の作用と対比しながら上記3つの要因について検討した。

I. 実験材料と方法

1. 使用抗生剤

CMX (7 β -[2-(2-Aminothiazol-4-yl)-(Z)-2-metho-

xyiminoacetamido]-3-[(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl] ceph-3-em-4-carboxylic acid hemihydrochloride) および対照薬剤として Cefazolin (CEZ) ならびに Benzylpenicillin (PCG) を用いた。

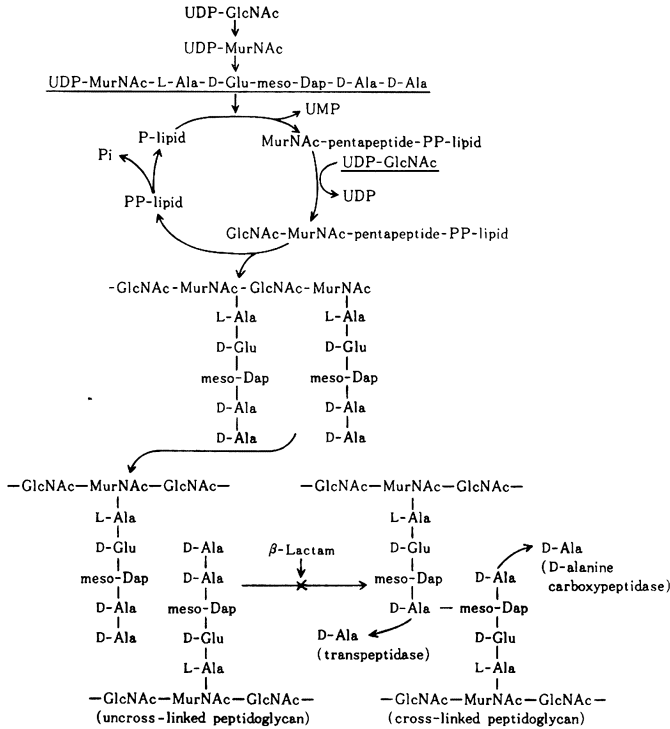
2. 使用菌株

Escherichia coli K 12, *Pseudomonas aeruginosa* KM 338 および *Serratia marcescens* IFO 12648 を被検菌株とした。また対照菌株として *Staphylococcus aureus* FDA 209 P を用いた。

3. 抗菌力の測定

最小発育阻止濃度 (MIC) は2倍数系列希釈の抗生剤をふくむ Trypticase soy broth (BBL 社, USA) に終末濃度が約 10^6 菌数/ml になるように被検菌を接種して, 37°C で静置培養し, 18 時間後に測定した。また Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 存在下での MIC の測定²⁾ は上記の系に $\frac{1}{2}$ MIC 濃度の EDTA を添加して, 同様の方法で測定し, EDTA 未添加の MIC と比較した。

Fig. 1 Biosynthesis of peptidoglycan and β -lactam antibiotic-sensitive reactions



4. β -Lactamase 活性の測定

被検菌株を Trypticase soy broth (BBL) を用い、37°C で振盪培養し、対数増殖後期に集菌、えられた菌体を 50mM 磷酸緩衝液 (pH 6.8) で洗浄後、Super sonic vibrator (UR-150, 富永製作所, 東京) で 5 分間、破碎した。この破碎菌体標品を 3,000×9, 10 分間遠心して未破碎の菌体をのぞいたのち、その遠心上清を β -lactamase の酵素標品³⁾とした。酵素活性の測定⁴⁾は PERRET の方法⁵⁾に準じ、マイクロロード法でおこなった。反応は 8 mM の基質をふくむ 0.1 M 磷酸緩衝液 (pH 6.8) 下で上記酵素標品を用い、30°C でおこなった。それぞれの基質に対する分解活性は 1 分間に 1 μ mole の基質を分解する活性を 1 単位とした。

5. エーテル処理菌の調整

被検菌を Trypticase soy broth (BBL) で振盪培養し、対数増殖期に集菌、その洗浄菌体を VORBERG と HOFMAN-BERLING の方法⁶⁾に従って Ethyleneglycoltetraacetic acid (EGTA) 存在下で 1 分間、0°C でエーテル処理した。このエーテル処理菌体をペプチドグリカン合成の酵素標品⁷⁾とした。

6. 架橋ペプチドグリカン合成の測定

Fig. 1 はグラム陰性菌のペプチドグリカン合成の経路を示したものである。この図の下線で示したペプチドグリカンの前駆体である uridine-5'-diphosphate-N-acetylglucosamine (UDP-GlcNAc) と uridine-5'-diphosphate-N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-glutamylmeso-diaminopimelyl-D-alanyl-D-alanine (UDP-MurNAc-pentapeptide) を基質とし、酵素源として上記エーテル処理菌体を用い、ペプチドグリカン合成を全菌レベルで調べた。前者の基質として New England Nuclear (Boston, Mass., USA) より購入した UDP-[¹⁴C] GlcNAc (290 mCi/mmol) を用いた。後者の UDP-MurNAc-pentapeptide は LUGTENBERG らの方法⁹⁾に従って、Vancomycin 処理の *Bacillus megaterium* KM 菌体より抽出、精製してえた。測定方法は MIRELMAN らの方法⁹⁾に準じ、一部改更した方法⁷⁾でおこなった。すなわち、0.172 μ M UDP-[¹⁴C] GlcNAc, 1 μ M UDP-MurNAc-pentapeptide, 10 mM tris (hydroxymethyl) aminomethane hydrochloride buffer (pH 7.5), 10 mM NH₄Cl, 5 mM MgCl₂ および 0.1 mM 2-mercaptoethanol をふくむ総量 200 μ l の反応液に約 8 mg の蛋白相当のエーテル処理菌体を加え、37°C で反応させた。反応後、

4% Sodium dodecyl sulfate (SDS) を上記反応系に 1 ml 加え、さらに 100°C, 30 分間で反応を止めた。この反応液を冷却後、SDS に不溶性である架橋ペプチドグリカン (Fig. 1, 右下) を membrane filter (0.45 μ m) 上に集め、さらに filter を反応液の 2 倍量の 2% SDS で、次いで 5 倍量の精製水で洗った。えられた不溶性ペプチドグリカンをふくむ filter は直接、液体シンチレーションカウンターでその放射能を測定した。なお Fig. 1 に示すように β -ラクタム抗生剤によって transpeptidase が阻害を受けると、未架橋のペプチドグリカン (Fig. 1, 左下) が生成され、これは可溶性であるため、上記の操作で membrane filter を通過してしまう。

II. 実験結果

1. 抗菌力

Table 1 に被検菌株に対する CMX, CEZ および PCG の MIC を示す。CMX の *E. coli* K 12, *P. aeruginosa* KM 338 および *S. marcescens* IFO 12648 に対する MIC はそれぞれ 0.031, 25 および 0.05 μ g/ml であった。CMX は *E. coli* に対して現在臨床で使用されている各種抗生剤よりもはるかにすぐれた抗菌力を示し、また本来種々の抗生剤に高度耐性^{10,11)} の *P. aeruginosa* に対しても、ある程度の抗菌力を示した。さらに従来の β -ラクタム抗生剤にほとんど感受性を示さないといわれている *S. marcescens* に対しても、CMX は非常にすぐれた抗菌力を示した。一方、*E. coli*, *P. aeruginosa* および *S. marcescens* に対する CEZ の MIC はそれぞれ 1.56, 51,200 および 6,400 μ g/ml であり、*P. aeruginosa* および *S. marcescens* に対してはほとんど抗菌力を示さなかった。またそれぞれの菌株に対する PCG の MIC は 25, 12,800 および 1,600 μ g/ml で、*E. coli* に対しては、比較的感受性を示すが、他の 2 株に対してはほとんど抗菌力を示さなかった。

2. 抗菌力におよぼす EDTA の影響

2 価陽イオンのキレーターである EDTA は薬剤の透過障害の荷い手であるグラム陰性菌外膜に障害を与える¹²⁾。そのため EDTA 存在下で抗生剤の MIC を調べると、外膜で透過障害を受けていた抗生剤の感受性が高まること知られている^{13,14)}。そこでこの現象を利用して $\frac{1}{2}$ MIC 濃度の EDTA 添加と未添加での *E. coli* K 12, *P. aeruginosa* KM 338 および *S. marcescens* IFO 12648, ならびに対照として外膜をもたないグラム陽性菌の *S. aureus* FDA 209P に対する各抗生剤の MIC を比較し、それぞれの透過障害の程度を検討した (Table 1)。なお EDTA 単独でのそれぞれの菌株に対する MIC は 3.8, 3.8, 7.6 および 1.9 μ mol/ml であった。

Table 1 MICs and effects of EDTA on the MICs of CMX, CEZ and PCG for *E. coli* K 12, *P. aeruginosa* KM 338, *S. marcescens* IFO 12648 and *S. aureus* FDA 209P

Strain EDTA	MIC (μ g/ml)		
	CMX	CEZ	PCG
<i>E. coli</i> K 12			
None	0.031	1.56	25
EDTA (1.9 μ mol/ml)	0.016	0.78	6.25
<i>P. aeruginosa</i> KM 338			
None	25	51,200	12,800
EDTA (1.9 μ mol/ml)	3.125	3,200	400
<i>S. marcescens</i> IFO 12648			
None	0.05	6,400	1,600
EDTA (3.8 μ mol/ml)	0.05	100	50
<i>S. aureus</i> FDA 209P			
None	1.56	0.2	0.0125
EDTA (0.9 mol/ml)	1.56	0.2	0.0125

Table 2 Comparison of non-inducible and inducible β -lactamase activities from *E. coli* K 12, *P. aeruginosa* KM 338 and *S. marcescens* IFO 12648

Strain	β -lactamase activity	
	Inducer (-)	Inducer (+)
	(unit/mg protein)	(unit/mg protein)
<i>E. coli</i> K 12	0.0320	0.0368
<i>P. aeruginosa</i> KM 338	0.0328	9.04
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	0.254	1.99

CMX は EDTA 添加によって *E. coli* および *S. marcescens* に対しては、その MIC はほとんど変わらず、一方、*P. aeruginosa* に対しては 8 倍、その感受性が高まった。このことから CMX は *E. coli* および *S. marcescens* の外膜透過性にすぐれているが、*P. aeruginosa* のそれに対しては上記 2 株よりも劣ることを示している。一方、*E. coli* に対して CEZ および PCG は EDTA 添加によってそれぞれの感受性が 2 と 4 倍しか上昇しなかったが、*P. aeruginosa* に対しては 16 と 32 倍、*S. marcescens* に対しては 64 と 32 倍、それぞれの感受性が高まった。このことから CEZ や PCG が *P. aeruginosa* や *S. marcescens* に対してほとんど感受性を示さない要因の一つとして、それぞれの菌のもつ外膜による両抗生剤の透過障害があげられる。なお対照として用いた外膜の

Table 3 Substrate specificities of β -lactamases from *E. coli* K 12, *P. aeruginosa* KM 338 and *S. marcescens* IFO 12648

Strain substrate	β -lactamase activity	
	(unit/mg protein)	(%)
<i>E. coli</i> K 12		
CMX	0.0005	1.5
CEZ	0.032	100
PCG	0.0063	19.6
<i>P. aeruginosa</i> KM 338		
CMX	0.0007	2.1
CEZ	0.0328	100
PCG	0.003	9.1
<i>S. marcescens</i> IFO 12648		
CMX	0.0015	0.6
CEZ	0.254	100
PCG	0.0026	1.0

もたない *S. aureus* では当然のことながらそれぞれの MIC は EDTA 添加によって変らなかった。

4. β -Lactamase 活性

Table 2 は *E. coli* K 12, *P. aeruginosa* KM 338 および *S. marcescens* IFO 12648 の産生する β -lactamase 活性を, CEZ を基質として, PCG で誘導したそれぞれの活性と比較して示したものである。いずれの菌株の破砕菌体にも β -lactamase 活性がわずかながらみとめられた。また対数増殖期に 0.4 mg/ml 濃度の PCG を添加してさらに 1.5 時間培養を続けると *E. coli* ではほと

んど β -lactamase の産生が誘導されなかったが, *P. aeruginosa* および *S. marcescens* では, それぞれ約 300 および 10 倍, その活性が高められた。

5. β -Lactamase に対する安定性

Table 3 は *E. coli* K 12, *P. aeruginosa* KM 338 および *S. marcescens* IFO 12648 の破砕菌体にふくまれる β -lactamase に対する CMX の安定性について, CEZ および PCG のそれぞれと対比して示したものである。いずれの菌株のもつ β -lactamase 活性も PCG よりも CEZ の方をよりすみやかに分解した。このことはいずれの被検菌のもつ β -lactamase も Cephalosporinase 型であることを示している。CMX の *E. coli*, *P. aeruginosa* および *S. marcescens* の産生する β -lactamase による加水分解の程度は, それぞれの菌体の酵素による CEZ の分解の強さを 100 とした場合, 0.2, 2.1 および 0.6 で, いずれの菌株の産生する β -lactamase に対しても CMX は CEZ および PCG にくらべて安定で, ほとんど加水分解を受けなかった。

6. 架橋ペプチドグリカンの合成

被検菌株の EGTA 存在下でエーテル処理した菌体を酵素源とし, 基質としてペプチドグリカンの前駆体である UDP-GlcNAc と UDP-MurNAc-pentapeptide とを用い反応させると, いずれの菌株でも, Fig. 1 に示すペプチドグリカン合成反応がおり, 経時的に SDS 不溶性ペプチドグリカンすなわち架橋ペプチドグリカンが合成された (Fig. 2)。この反応は *E. coli* K 12 および *P. aeruginosa* KM 338 では約 2.5 時間, *S. marcescens* IFO 12648 では 45 分間で, その生成量が最大となり, 以後, エーテル処理菌体に内在する自己溶解酵素 (Autoly-

Fig. 2 Time course of cross-linked peptidoglycan synthesis by ether-treated cells from *E. coli* K 12, *P. aeruginosa* KM 338 and *S. marcescens* IFO 12648

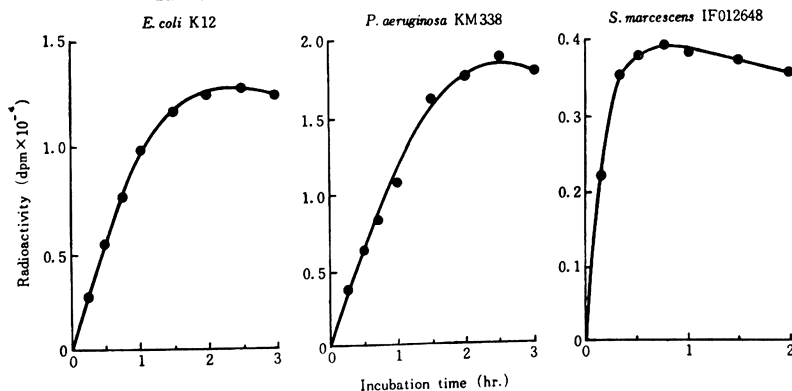
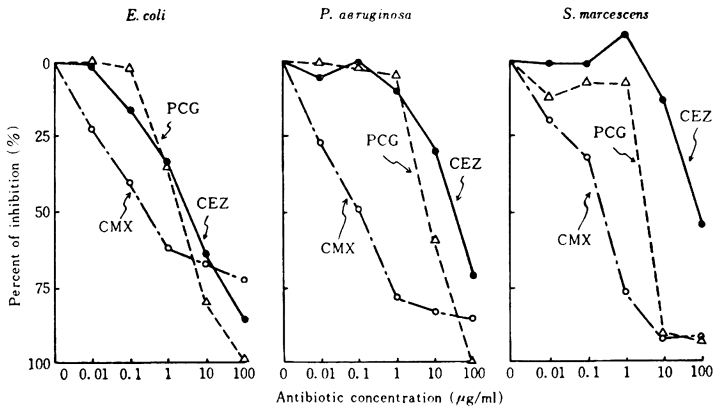


Fig. 3 Effects of CMX, CEZ and PCG on cross-linking reaction of peptidoglycan synthesis in *E. coli* K 12, *P. aeruginosa* KM 338 and *S. marcescens* IFO 12648



sin)¹⁵⁾によって、一旦生成されたペプチドグリカンが分解を受け、その生成量も減少傾向を示した。そこで以下の β -ラクタム抗生剤の架橋ペプチドグリカン合成におよぼす影響を調べる実験では、*E. coli* および *P. aeruginosa* の場合は1時間、*S. marcescens* の場合は30分間の反応で調べた。

7. 架橋ペプチドグリカン合成におよぼす抗生剤の影響

Fig. 3 は上記反応系に種々の濃度の CMX, CEZ および PCG を添加して、各濃度での架橋ペプチドグリカン生成量を未添加のそれとくらべて、それぞれの阻害度を示したものである。いずれの菌株のエーテル処理菌体による架橋ペプチドグリカン合成も各抗生剤濃度の増加とともに阻害されるが、その阻害の程度は抗生剤によって非常に差があった。CMX, CEZ および PCG による架橋ペプチドグリカン合成の50%阻害濃度は *E. coli* で 0.24, 3.8 および 2.3 $\mu\text{g/ml}$, *P. aeruginosa* では 0.12, 32 および 6.8 $\mu\text{g/ml}$, また *S. marcescens* では 0.22, 82, および 2.2 $\mu\text{g/ml}$ であった。CMX はいずれの菌株でも、架橋形成阻害濃度が最も低く、次いで PCG で、CEZ は最も高かった。以上の結果から、最もすぐれた抗菌力を示す CMX はペプチドグリカン合成の架橋形成にあつかる Transpeptidase 活性にすぐれた感受性を示すことが明らかになった。

III. 考 察

β -ラクタム抗生剤がグラム陰性菌に作用して抗菌力を発揮するためには、まず、外界に与えられた抗生剤が細

菌細胞の最外層をおおう外膜を通過しなければならない。次いで、外膜を通過した抗生剤はペリプラズムに局在する β -lactamase による分解からまぬかれ、細胞質膜(内膜)上に存在する標的酵素にまで到達しなければならない。最後に細胞膜上に達した抗生剤はその標的酵素に対して感受性を示さなければならない。

グラム陰性菌の外膜はリポ多糖、磷脂質および数種の蛋白質などからなり、2価陽イオンでそれらの一部が結びつけられている^{12,16)}。ここに2価陽イオンのキレーターである EDTA を作用させると、外膜を構成する成分の一部が遊離し、外膜に障害を与えることが知られている^{12,16,17)}。このような状態になると外膜によって透過障害を受けていた薬剤はその外膜を通過できるようになる。そこで EDTA 存在下と存在しない場合の抗菌力を比べると、その薬剤の透過の程度がわかる^{13,14)}。すなわち両者の感受性の差が大きい程、外膜での透過障害も大きいことを示している^{2,7)}。CMX は CEZ や PCG にくらべて、いずれの菌株に対しても EDTA 添加と未添加での抗菌力の差が少なかった。このことから CMX はいずれの菌株の外膜透過性もすぐれていることを示唆している。

β -lactamase は耐性の大きな担い手であることは古くから知られている。いずれの被検菌株も一般のグラム陰性菌と同様、ペリプラズム内にわずかな β -lactamase 活性をもっていた。このような β -lactamase に対して CMX は CEZ や PCG よりもはるかに安定であった。

細菌細胞の特有な構築物であるペプチドグリカンは細胞表層をおおう網状構造の巨大分子で、細菌固有の形態

の維持に重要な役割をはたしている。Fig. 1 に示すように、このペプチドグリカン合成の最終段階である架橋形成を β -ラクタム抗生剤は阻害する¹⁸⁾。この架橋形成にあづかる Transpeptidase は D-alanine carboxypeptidase とともに細胞質膜上に存在し、 β -ラクタム抗生剤の標的酵素である。*E. coli*, *P. aeruginosa* および *S. marcescens* のいずれのエーテル処理菌体でも、ペプチドグリカンの前駆体である UDP-GlcNAc と UDP-MurNAc-pentapeptide から架橋ペプチドグリカンが合成されることがわかった。CMX はいずれの菌株による架橋ペプチドグリカン合成も CEZ や PCG にくらべてはるかに低濃度で阻害した。

以上の3つの要因に対して、CMX は CEZ や PCG にくらべて、いずれもすぐれているため、その抗菌力が他の2剤よりもまさっているものと考えられる。

文 献

- 1) TSUCHIYA, K.; M. KONDO, M. KIDA, M. NAKAO, T. IWAHI, T. NISHI, Y. NOJI, M. TAKEUCHI & Y. NOZAKI: Cefmenoxime (SCE-1365), a novel broad-spectrum cephalosporin: *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* (in press)
- 2) SUGINAKA, H.; M. SHIMATANI, S. KOTANI, M. OGAWA, M. HAMA & G. KOSAKI: Antibacterial mechanisms of cefsulodin against *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett.* 5: 177~179, 1979
- 3) MIZOGUCHI, J.; H. SUGINAKA & S. KOTANI: Mechanism of synergistic action of a combination of ampicillin and dicloxacillin against a β -lactamase-producing strain of *Citrobacter freundii*. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 16: 439~443, 1979
- 4) MIZOGUCHI, J.; T. MOROHOSHI & H. SUGINAKA: Effect of a combination of benzylpenicillin or ampicillin and dicloxacillin on peptidoglycan synthesis in a cell-free enzyme system from a β -lactamase producing strain of *Citrobacter freundii*. *J. Antibiot.* 33: 731~736, 1980
- 5) PERRET, C. T.: Iodometric assay of penicillinase. *Nature (London)* 174: 1012~1013, 1954
- 6) VORSBERG, H. P. & H. HOFFMANN-BERLING: DNA synthesis in nucleotide permeable *Escherichia coli*. *J. Mol. Biol.* 58: 739~753, 1971
- 7) SUGINAKA, H.; S. KOTANI, N. TAKATA & M. OGAWA: Effect of cefotaxime (HR-756) on biosynthesis of cell wall peptidoglycan in *Pseudomonas aeruginosa* KM 338 and *Escherichia coli* K 12. *FEMS Microbiol. Lett.* 8: 79~82, 1980
- 8) LUGTENBERG, E. J. J.; A. VAN SCHIJNDEL-VAN DAM & T. H. M. VAN BELLEGEM: *In vivo* and *in vitro* action of new antibiotics interfering with the utilization of N-acetyl-glucosamine-N-acetyl-muramyl-pentapeptide. *J. Bacteriol.* 108: 20~29, 1971
- 9) MIRELMAN, D.; Y. YASHOUV-GAN & U. SCHWARZ: Peptidoglycan biosynthesis in a thermosensitive division mutant of *Escherichia coli*. *Biochem.* 15: 1781~1790, 1976
- 10) SUGINAKA, H.; A. ICHIKAWA & S. KOTANI: Penicillin-resistant mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa*: Effects of penicillin G and carbenicillin on transpeptidase and D-alanine carboxypeptidase activities. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 6: 672~675, 1974
- 11) SUGINAKA, H.; A. ICHIKAWA & S. KOTANI: Penicillin-resistant mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa*: Binding of penicillin to *Pseudomonas aeruginosa* KM 338. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 7: 629~635, 1975
- 12) LEIVE, L.: The barrier function of the gram-negative envelope. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 235: 109~129, 1974
- 13) HAMILTON-MILLER, J. M. T.: Effect of EDTA upon bacterial permeability to benzylpenicillin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 20: 688~691, 1965
- 14) WEISER, R.; A. W. ASSCHER & J. WIMPENNY: *In vitro* reversal of antibiotic resistance by ethylenediaminetetraacetic acid. *Nature (London)* 219: 1365~1366, 1968
- 15) HARTMAN, R.; J. V. HOLTJE & U. SCHWARZ: Targets of penicillin action in *Escherichia coli*. *Nature (London)* 235: 426~429, 1972
- 16) ASBELL, M. A. & R. G. EAGON: Role of multivalent cations in the organization, structure, and assembly of the cell wall of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 92: 380~387, 1966
- 17) ROGERS, S. W.; H. E. GILLELAND, JR & R. G. EAGON: Characterization of a protein-lipopolysaccharide complex released from cell walls of *Pseudomonas aeruginosa* by ethylenediaminetetraacetic acid. *Can. J. Microbiol.* 15: 743~748, 1969
- 18) IZAKI, K.; M. MATSUHASHI & J. L. STROMINGER: Biosynthesis of the peptidoglycan of bacterial cell walls. XIII. Peptidoglycan transpeptidase and D-alanine carboxypeptidase: penicillin-sensitive enzymatic reaction in strains of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 243: 3180~3192, 1968

ANTIBACTERIAL MECHANISMS OF CEFMENOXIME
(SCE-1365) AGAINST
ESCHERICHIA COLI, *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*
AND *SERRATIA MARCESCENS*

HIDEKAZU SUGINAKA

Department of Microbiology and Oral Bacteriology,
Osaka University Dental School

NAOKI TAKATA, MASAZUMI HAMA and MICHIO OGAWA
Second Department of Surgery, Osaka University Medical School

Cefmenoxime (CMX, SCE-1365), a new semisynthetic cephalosporin, has more potent antibacterial activity than other β -lactam antibiotics against a wide variety of gram-negative organisms.

The antibacterial mechanisms of cefmenoxime were investigated and compared with those of cefazolin (CEZ) and benzylpenicillin (PCG) in *Escherichia coli* K 12, *Pseudomonas aeruginosa* KM 338 and *Serratia marcescens* IFO 12648.

The minimum inhibitory concentrations (MICs) of cefmenoxime for these organisms were 0.031, 25 and 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectively. The addition of the subinhibitory concentration (1/2 MIC) of ethylenediamine-tetraacetic acid (EDTA), which damages permeability barrier of the outer membrane, caused little changes in the MICs of cefmenoxime for all these organisms, whereas marked reduction in the MICs of cefazolin and benzylpenicillin for *P. aeruginosa* and *S. marcescens* was observed in the presence of EDTA. These organisms produced only a low level of β -lactamase activity and the productions in *P. aeruginosa* and *S. marcescens* were considerably increased by the addition of benzylpenicillin. Cefmenoxime was poorly hydrolyzed by these β -lactamases, although cefazolin was hydrolyzed rapidly. The synthesis of cross-linked peptidoglycan occurred in ether-treated cells prepared from all these organisms. The reactions were inhibited by remarkably lower concentrations of cefmenoxime than that of cefazolin and benzylpenicillin.

The potent activity of cefmenoxime against gram-negative organisms is considered to be due to high permeability of the outer membrane, the stability to hydrolysis by β -lactamase, and the high sensitivity to the target enzymes (transpeptidase).