

Cephamycin 系新抗生物質 T-1982 の *in vitro* および *in vivo* における細菌学的評価

五島瑳智子・宮崎修一・小川正俊・金子康子

辻 明良・武藤弓子・桑原章吾

東邦大学医学部微生物学教室

Cephamycin 系抗生物質 T-1982 の *in vitro* 抗菌作用を検討した結果、グラム陽性菌、グラム陰性菌の各菌種に対し広い抗菌スペクトラムを有し、特に *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus* 属 (*Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus rettgeri*, *Proteus inconstans*), *Enterobacter cloacae* に対し優れた抗菌力を確認した。*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus morganii*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas cepacia*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Achromobacter xylooxidans*, *Bacteroides fragilis* に対する抗菌力はやや劣るが、従来の Cephamycin 系薬剤に比べれば良好であった。*Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas maltophilia* に対しては、他の Cephamycin 系薬剤同様無効であった。

β -lactamase に対しては、RICHMOND の分類型すべてを含む各種菌株から得た酵素に対して他の Cephamycin 系 (Cefoxitin, Cefmetazole, Cefotetan) 同様安定であった。

E. coli C-11 株, *K. pneumoniae* 3K-25 株, *S. marcescens* No. 2 株, *C. freundii* GN 346 株に対する *in vivo* マウス実験感染における T-1982 の治療効果は、Cefoxitin, Cefmetazole, Cefazolin, Cefoperazone より優れ、Cefotetan と同様、Latamoxef よりやや劣っていた。

T-1982 は Cephamycin 系に属する新抗生物質で、化学名は Sodium 7 β -[(2R, 3S)-2-(4-ethyl-2, 3-dioxo-1-piperazinecarboxamido)-3-hydroxybutanamido]-7 α -methoxy-3-[(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylate であり、構造式は Fig. 1 に示した。

本剤はグラム陽性菌、グラム陰性菌に対し広範囲な抗菌スペクトラムを有し、特にグラム陰性桿菌 (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *Proteus* 属など) に対し優れた抗菌力があり、各種細菌の産出する β -lactamase に対しても強い抵抗性を示すとされている¹⁾。

また本剤は、*in vitro* 抗菌力に比べ *in vivo* マウス実験的感染症での治療効果が優れており、筋注などにより高い血中濃度が得られ、主として尿中に排泄されるとい

れている¹⁾。

本報告では T-1982 の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用を同じ Cephamycin 系の Cefoxitin, Cefmetazole, Cefotetan および Cephalosporin 系の Cefazolin, Cefoperazone および Oxacephem 系の Latamoxef と比較検討し、細菌学的評価を行なった。

I. 実験材料および方法

1) 使用菌株

教室保存株および臨床材料から分離したグラム陽性菌、グラム陰性菌の多数株を使用した。

2) 試験薬剤

T-1982 (T-1982, 919 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 富山化学)

Cefoxitin (CFX, 938 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 第一製薬)

Cefmetazole (CMZ, 935 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 三共)

Cefotetan (CTT, 904 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 山之内製薬)

Cefazolin (CEZ, 944 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 藤沢薬品)

Cefoperazone (CPZ, 933 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 台糖ファイザー)

Latamoxef (LMOX, 912 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 塩野義製薬)

3) 抗菌力測定法

日本化学療法学会標準法²⁾, 日本化学療法学会嫌気性菌 MIC 測定法委員会法³⁾に従って行なった。

4) 殺菌作用の測定

Fig. 1 Chemical structure of T-1982

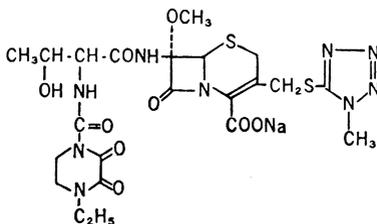


Table 1 Spectrum against aerobic bacteria (10^8 cells/ml)

Organisms	MIC ($\mu\text{g/ml}$)						
	T-1982	CFX	CMZ	CTT	CEZ	CPZ	LMOX
<i>S. aureus</i> 209P	12.5	3.12	0.78	6.25	0.1	1.56	6.25
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	6.25	0.78	0.78	0.39	0.1	1.56	3.12
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	6.25	3.12	0.78	3.12	0.39	1.56	25
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	12.5	12.5	>100	12.5	12.5	1.56	25
<i>K. pneumoniae</i> IFO 3512	0.78	1.56	3.12	0.39	6.25	6.25	0.39
<i>K. oxytoca</i> 1004	12.5	50	50	25	>100	>100	>100
<i>S. flexneri</i> 103 R	12.5	6.25	1.56	12.5	12.5	0.78	12.5
<i>S. typhi</i> S 60	12.5	12.5	6.25	0.78	12.5	100	0.78
<i>P. mirabilis</i> 1287	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	>100	100	>100	>100	>100	25	>100
<i>P. morgani</i> IFO 3848	25	100	>100	3.12	100	50	3.12
<i>P. rettgeri</i> IFO 13501	>100	6.25	12.5	3.12	>100	50	12.5
<i>P. inconstans</i> IFO 12930	>100	100	>100	50	>100	>100	50
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	>100	100	>100	>100	>100	50	100
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. fluorescens</i> IFO 3081	50	>100	>100	>100	>100	3.12	12.5
<i>P. putida</i> TMS 180	>100	>100	>100	>100	>100	>100	100
<i>P. maltophilia</i> TMS 227	>100	>100	>100	100	>100	>100	25
<i>P. cepacia</i> TMS 201	50	>100	50	100	>100	>100	100
<i>A. calcoaceticus</i> NCTC 7844	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>A. faecalis</i> NCTC 655	>100	12.5	1.56	6.25	>100	>100	3.12
<i>A. xylosoxidans</i> TMS 73	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>F. meningosepticum</i> TMS 462	6.25	>100	25	50	>100	>100	>100

E. coli C-11株を用い、MUELLER HINTON broth に接種し、菌数が約 10^8 cfu/ml になったとき、T-1982 の各濃度を添加し、添加後 1, 2, 4, 6, 9 および 24 時間目にそれぞれ生菌数を測定した。同時に CMZ, CTT, CEZ, CPZ についても検討した。

5) 不活化酵素に対する安定性

(1) 酵素液の調製

E. coli 35, *E. coli* ML-1410 RGN-238, *E. coli* ML-1410 RGN-823, *E. coli* 121, *K. pneumoniae* GN-69, *C. freundii* GN-346, *E. cloacae* No. 91, *P. mirabilis* GN-79, *P. vulgaris* GN-76, *P. vulgaris* No. 9, *P. rettgeri* GN-624, *P. inconstans* GN-627, *S. marcescens* No. 78, *P. aeruginosa* No. 47 および *P. aeruginosa* No. 11, *B. fragilis* GM 7004, *B. fragilis* GM 7002, *B. fragilis* GM 7000, *B. fragilis* No. 69, *B. fragilis* No. 48, *B. fragilis* No. 32 および *B. fragilis* No. 19 株を用い、普通ブイヨンあるいは GAM ブイヨンで 37°C , 1 夜培養した菌体を超音波で破壊し、遠心上清を粗酵素液とした。

(2) 酵素活性の測定 (Bioassay)

薬剤は Penicillin G (PCG), Ampicillin (ABPC), Carbenicillin (CBPC), Sulbenicillin (SBPC), Mezlocillin (MZPC), Apalcillin (APPC), Piperacillin

(PIPC), Ticarcillin (TIPC), Cloxacillin (MCIPC), Cephaloridine (CER), Cephalexin (CEX), Cefatrizine (CFT), Cefroxadine (CXD), Cefaclor (CCL), CEZ, Cefamandole (CMD), CFX, CMZ, CTT, Cefuroxime (CXM), Cefotiam (CTM), Cefsulodin (CFS), Cefotaxime (CTX), CPZ, Ceftizoxime (CZX), Cefmenoxime (CMX), LMOX および T-1982 を用いた。

各薬剤液を $50 \mu\text{g/ml}$ になるように前述の粗酵素液に加え、 37°C , 4 時間作用させた後、 100°C 1 分間の加温処理によって酵素を不活化させ、薬剤の残存力価をディスク法により測定した⁴⁾。検定菌は、CTX, CPZ では *M. luteus* ATCC 9341, CTM, CMX では *P. mirabilis* ATCC 21100, CFS では *P. aeruginosa* NCTC 10490, LMOX では *E. coli* 7431 を用い、その他の薬剤はすべて *B. subtilis* ATCC 6633 を用いた。

6) マウス実験感染における感染防御効果^{5,6)}

E. coli C-11株, *K. pneumoniae* 3K-25株, *S. marcescens* No. 2 株, *C. freundii* GN-346 株を感染菌とした。感染に際しては普通寒天斜面培地で 24 時間培養した菌を集菌し、目的とする菌量に生理食塩液で希釈し、最終濃度 5% になるようにムチンを添加後、腹腔内に接種した。感染 1 時間後に T-1982, CFX, CTT, CEZ, CPZ, LMOX

Table 2 Spectrum against aerobic bacteria (10^8 cells/ml)

Organisms	MIC ($\mu\text{g/ml}$)						
	T-1982	CFX	CMZ	CTT	CEZ	CPZ	LMOX
<i>S. aureus</i> 209 P	6.25	1.56	0.78	6.25	1.56	0.78	6.25
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	0.78	0.78	0.1	≤ 0.006	0.1	0.39	0.025
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	3.12	1.56	0.78	3.12	0.1	1.56	6.25
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.19	1.56	0.78	0.1	1.56	0.05	0.1
<i>K. pneumoniae</i> IFO 3512	0.05	1.56	1.56	0.025	1.56	0.1	0.1
<i>K. oxytoca</i> 1004	0.05	3.12	0.39	0.39	6.25	0.78	0.39
<i>S. flexneri</i> 103 R	0.05	3.12	0.39	0.19	0.78	0.1	0.39
<i>S. typhi</i> S 60	0.05	1.56	0.39	0.025	1.56	0.78	0.19
<i>P. mirabilis</i> 1287	0.05	1.56	1.56	0.1	1.56	1.56	0.1
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	0.05	6.25	1.56	0.39	50	0.1	0.05
<i>P.morganii</i> IFO 3848	0.05	6.25	1.56	0.025	50	0.1	0.1
<i>P. rettgeri</i> IFO 13501	0.05	>100	3.12	0.025	>100	0.39	12.5
<i>P. inconstans</i> IFO 12930	0.05	12.5	1.56	0.1	50	0.39	0.05
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	0.39	12.5	12.5	1.56	>100	3.12	0.1
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	100	>100	>100	>100	>100	25	25
<i>P. fluorescens</i> IFO 3081	12.5	6.25	>100	>100	>100	0.39	0.1
<i>P. putida</i> TMS 180	>100	>100	>100	100	>100	100	100
<i>P. maltophilia</i> TMS 227	12.5	>100	>100	6.25	>100	12.5	6.25
<i>P. cepacia</i> TMS 201	1.56	100	>100	50	>100	>100	25
<i>A. calcoaceticus</i> 7844	>100	>100	>100	>100	>100	>100	6.25
<i>A. faecalis</i> NCTC 655	1.56	1.56	1.56	0.39	12.5	6.25	0.1
<i>A. xylosoxidans</i> TMS 73	100	>100	>100	>100	100	3.12	6.25
<i>F. meningosepticum</i> TMS 462	1.56	12.5	12.5	25	>100	12.5	6.25

Table 3 Spectrum against anaerobic bacteria (10^8 cells/ml)

	T-1982	CFX	CMZ	CTT	CEZ	CPZ	LMOX
<i>B. fragilis</i> GM 7004	6.25	12.5	6.25	6.25	>100	>100	6.25
<i>B. fragilis</i> TMS 26	6.25	12.5	6.25	6.25	>100	>100	6.25
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL 3304	1.56	0.78	≤ 0.20	0.78	0.78	1.56	1.56
<i>B. thetaiotaomicron</i> TMS 126	>100	50	>100	>100	>100	>100	>100
<i>B. distasonis</i> TMS 58	50	12.5	100	12.5	>100	>100	6.25
<i>B. distasonis</i> TMS 128	>100	100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>B. vulgatus</i> ATCC 29327	3.13	0.39	0.39	0.78	0.39	0.39	1.56
<i>B. vulgatus</i> TMS 129	100	12.5	100	25	100	50	50
<i>F. necrophorum</i> TMS 82	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>F. varium</i> TMS 112	6.25	0.39	0.39	0.78	0.78	0.78	3.13
<i>F. nucleatum</i> TMS 110	12.5	6.25	3.13	50	12.5	3.13	25
<i>P. prevotii</i> GM 1001	0.78	0.39	≤ 0.20	0.39	1.56	0.78	0.78
<i>P. variabilis</i> GM 1002	0.78	0.39	0.39	0.39	3.13	3.13	0.78
<i>P. asaccharolyticus</i> GM 1003	0.78	0.78	0.39	6.25	12.5	0.78	3.13
<i>P. asaccharolyticus</i> TMS 83	≤ 0.20	0.39	≤ 0.20				
<i>P. magnus</i> ATCC 14956	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	1.56	0.78
<i>E. limosum</i> GM 1005	0.78	0.78	0.39	6.25	12.5	1.56	6.25
<i>E. aerofaciens</i> TMS 121	6.25	6.25	6.25	25	6.25	1.56	25
<i>C. sporogenes</i> TMS 118	0.78	0.39	0.39	0.39	1.56	3.13	0.78
<i>C. botulinum</i> type A	3.13	0.39	≤ 0.20	≤ 0.20	1.56	3.13	0.78
<i>C. botulinum</i> type B	3.13	0.39	0.78	≤ 0.20	1.56	3.13	0.39
<i>C. botulinum</i> type E	0.78	≤ 0.20	≤ 0.20	≤ 0.20	≤ 0.20	0.39	≤ 0.20
<i>C. botulinum</i> type F	3.13	≤ 0.20	3.13	12.5	1.56	≤ 0.20	12.5
<i>C. perfringens</i> ATCC 13123	3.13	6.25	3.13	50	3.13	1.56	12.5
<i>C. perfringens</i> GM1006	1.56	3.13	1.56	6.25	1.56	3.13	0.78
<i>C. difficile</i> No. 11011	>100	100	12.5	12.5	25	50	50
<i>C. difficile</i> TMS 29	>100	100	12.5	12.5	25	25	100
<i>C. tetani</i> TMS 89	6.25	0.78	0.78	3.13	0.78	25	3.13

Table 4 Spectrum against anaerobic bacteria (10⁶ cells/ml)

	T-1982	CFX	CMZ	CTT	CEZ	CPZ	LMOX
<i>B. fragilis</i> GM 7004	3.13	12.5	3.13	6.25	>100	>100	6.25
<i>B. fragilis</i> TMS 26	6.25	12.5	6.25	6.25	>100	50	6.25
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL 3304	0.78	≦ 0.20	≦ 0.20	0.39	0.78	≦ 0.20	0.78
<i>B. thetaiotaomicron</i> TMS 126	>100	25	50	50	>100	>100	25
<i>B. distasonis</i> TMS 58	12.5	6.25	12.5	3.13	50	50	0.39
<i>B. distasonis</i> TMS 128	12.5	3.13	1.56	0.78	6.25	6.25	≦ 0.20
<i>B. vulgatus</i> ATCC 29327	0.78	≦ 0.20	≦ 0.20	0.39	≦ 0.20	≦ 0.20	0.78
<i>B. vulgatus</i> TMS 129	3.13	3.13	1.56	1.56	6.25	3.13	≦ 0.20
<i>F. necrophorum</i> TMS 82	12.5	1.56	1.56	12.5	1.56	3.13	3.13
<i>F. varium</i> TMS 112	1.56	0.39	≦ 0.20	0.78	1.56	≦ 0.20	12.5
<i>F. nucleatum</i> TMS 110	3.13	6.25	3.13	12.5	1.56	0.78	12.5
<i>P. prevotii</i> GM 1001	0.78	0.39	≦ 0.20	0.39	0.78	≦ 0.20	0.78
<i>P. variabilis</i> GM 1002	0.39	≦ 0.20	≦ 0.20	0.39	0.78	0.78	0.78
<i>P. asaccharolyticus</i> GM 1003	0.39	0.78	0.39	6.25	12.5	0.39	3.13
<i>P. asaccharolyticus</i> TMS 83	≦ 0.20	≦ 0.20	≦ 0.20	≦ 0.20	≦ 0.20	≦ 0.20	≦ 0.20
<i>P. magnus</i> ATCC 14956	0.39	0.39	≦ 0.20	0.39	0.39	0.39	0.78
<i>E. limosum</i> GM 1005	0.39	0.78	0.39	6.25	12.5	0.39	6.25
<i>E. aerofaciens</i> TMS 121	3.13	6.25	3.13	12.5	3.13	0.78	12.5
<i>C. sporogenes</i> TMS 118	0.39	0.39	≦ 0.20	0.39	0.39	0.39	0.78
<i>C. botulinum</i> type A	3.13	0.39	≦ 0.20	≦ 0.20	≦ 0.20	1.56	0.39
<i>C. botulinum</i> type B	1.56	0.39	≦ 0.20	≦ 0.20	≦ 0.20	1.56	0.39
<i>C. botulinum</i> type E	0.78	≦ 0.20	≦ 0.20	≦ 0.20	≦ 0.20	≦ 0.20	≦ 0.20
<i>C. botulinum</i> type F	0.78	≦ 0.20	≦ 0.20	≦ 0.20	≦ 0.20	0.78	≦ 0.20
<i>C. perfringens</i> ATCC 13123	3.13	6.25	3.13	12.5	1.56	0.78	6.25
<i>C. perfringens</i> GM 1006	0.39	0.39	≦ 0.20	≦ 0.20	≦ 0.20	1.56	≦ 0.20
<i>C. difficile</i> No. 11011	100	50	12.5	12.5	25	25	50
<i>C. difficile</i> TMS 29	100	50	12.5	12.5	25	25	50
<i>C. tetani</i> TMS 89	3.13	0.39	0.78	1.56	0.39	12.5	1.56

を皮下投与し、7日間観察し、マウスの生死により、ED₅₀値を算出した。マウスはICR系、雄、体重19±1gを1群6匹使用した。

7) 薬剤のマウス血清中濃度の測定

マウスは実験感染と同条件のものを用い、1群10匹とした。

T-1982, CFX, CMZ, CTT, CEZ, CPZ および LMOX をそれぞれ1mg/mouse, 0.5mg/mouse 皮下投与し、5分、15分、30分、1時間、2時間後にそれぞれマウスを断頭採血(0.4ml)後ただちに血清を採取、各群の血清をそれぞれプールし、不活化酵素に対する安定性試験で用いた株を検定菌としてディスク法にて血清中の薬剤濃度を測定した。

II. 実験成績

1) 抗菌スペクトラム

グラム陽性菌3菌種、グラム陰性菌20菌種について抗菌力を検討した成績をTable 1, 2に示した。10⁶cells/ml接種においてT-1982のMICは、腸内細菌科11菌種に対しCFX, CMZ, CEZ, CPZ, LMOXより小さくCTTと同等であった。

嫌気性菌18菌種に対するT-1982の抗菌力をTable 3, 4に示した。10⁶cells/ml接種時の*B. fragilis*に対するMICはCEZ, CPZより小さく他のCephamycin系薬剤CFX, CMZ, CTTおよびLMOXと同等であった。*B. thetaiotaomicron* TMS 126および*C. difficile* (No. 11011, TMS 29)の2株には抗菌力は認められず、他の嫌気性の菌種に対しては従来のCephamycin系薬剤とはほぼ同等のMICを示した。

2) 臨床分離株のMIC分布

臨床材料から分離された*S. aureus* 25株、*S. epidermidis*

Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. aureus* 25 strains

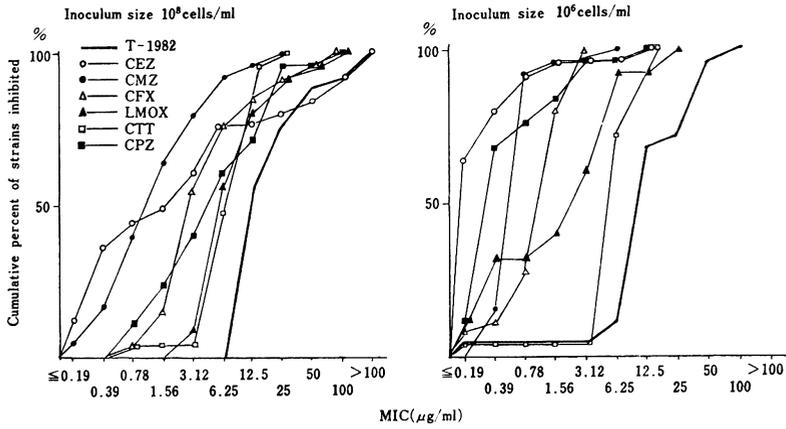


Fig. 3 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. epidermidis* 20 strains

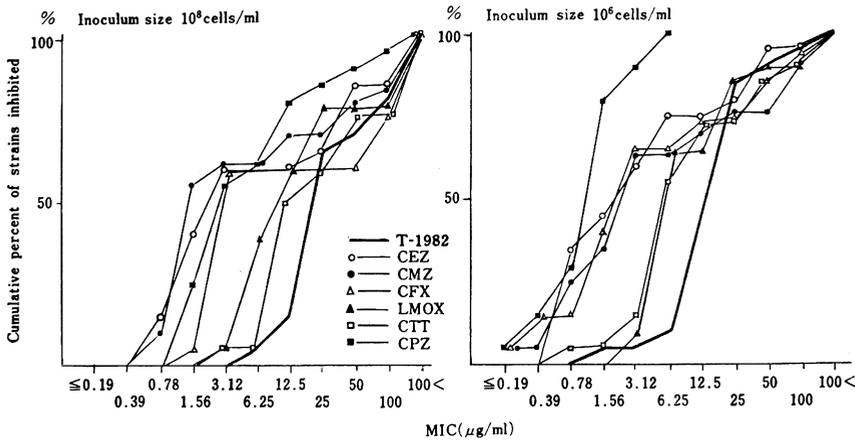


Fig. 4 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. pyogenes* 20 strains

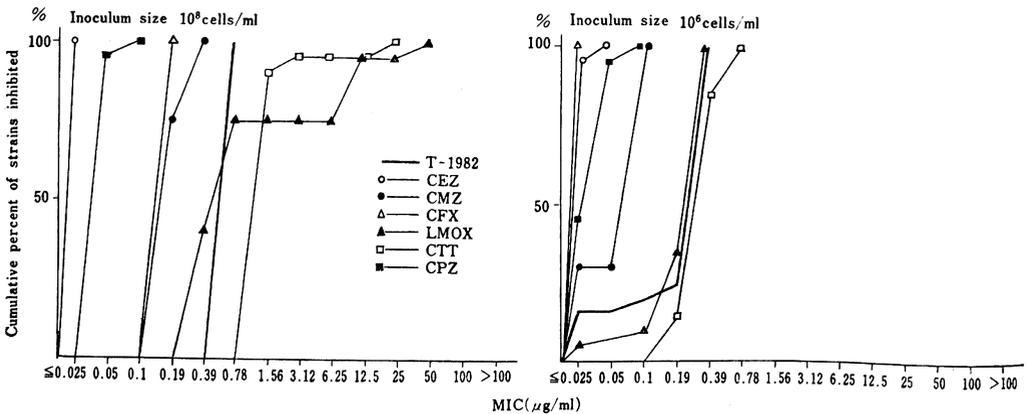


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. pneumoniae* 20 strains

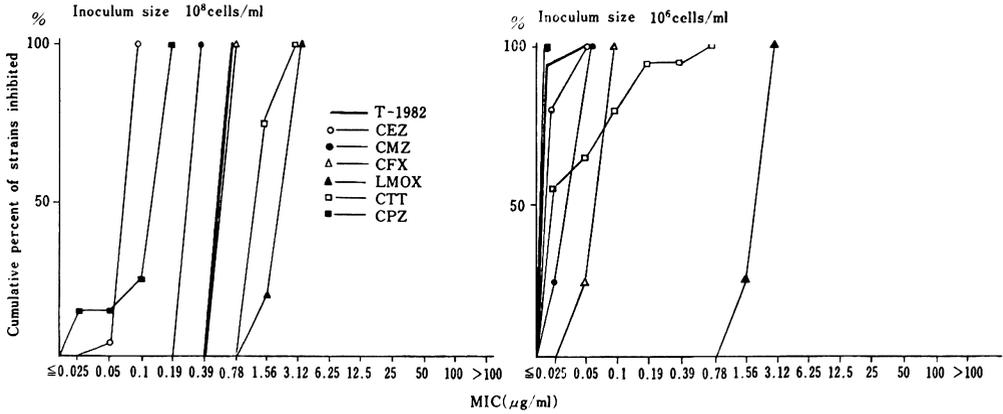


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates *E. coli* 35 strains

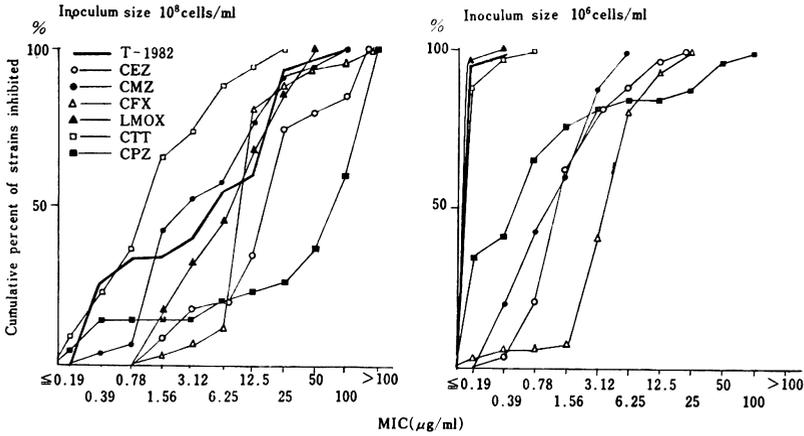


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates *K. pneumoniae* 25 strains

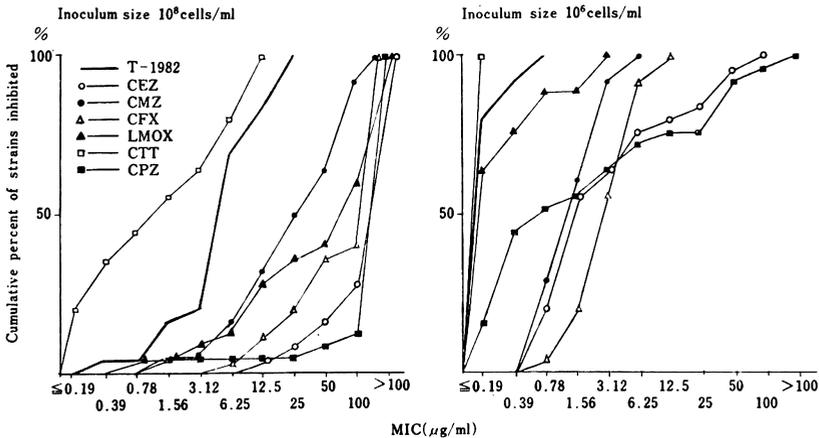


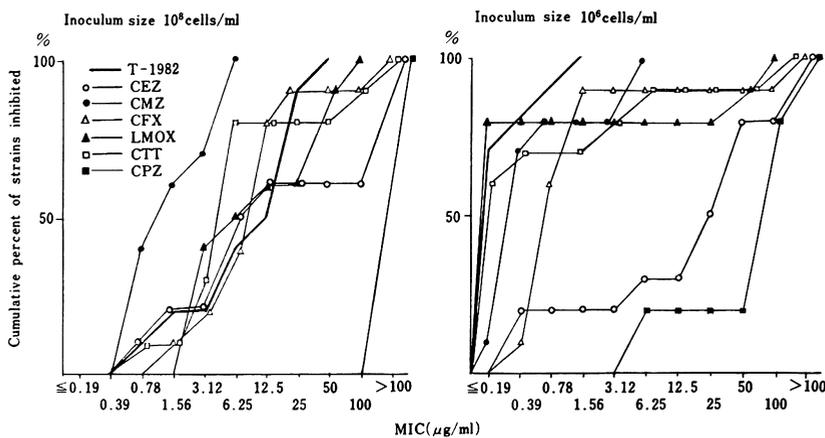
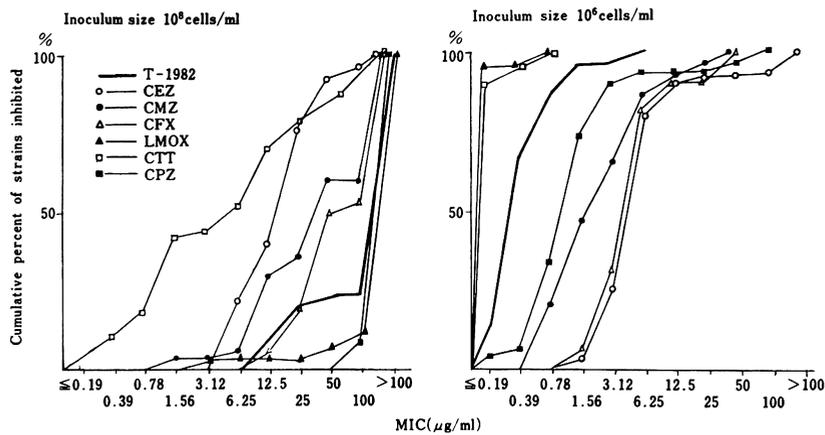
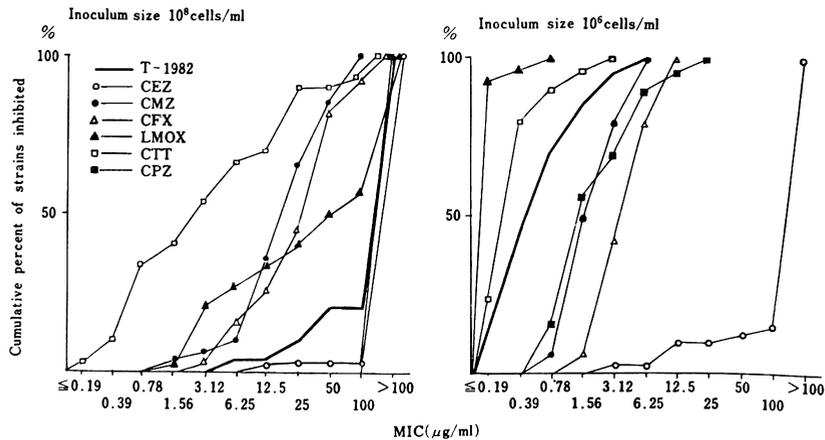
Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates *K. oxytoca* 10 strainsFig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. mirabilis* 30 strainsFig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. vulgaris* 30 strains

Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. rettgeri* 30 strains

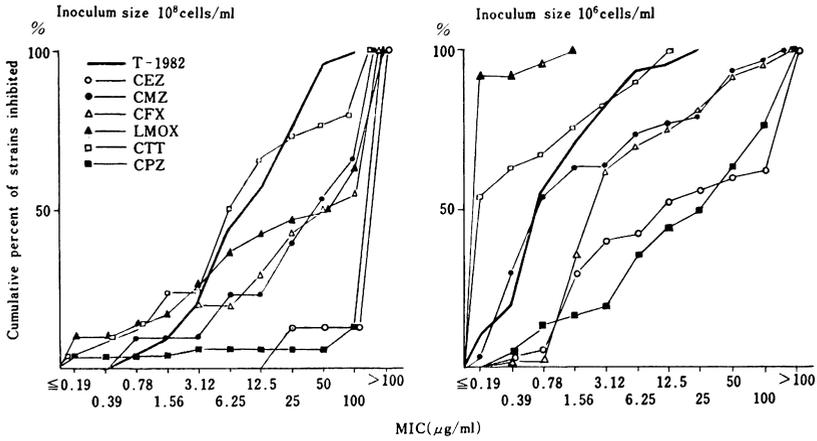


Fig. 12 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. morganii* 30 strains

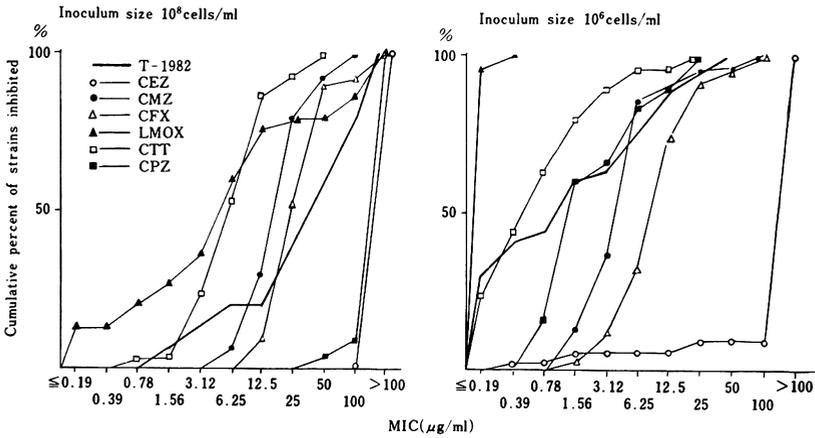


Fig. 13 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. inconstans* 30 strains

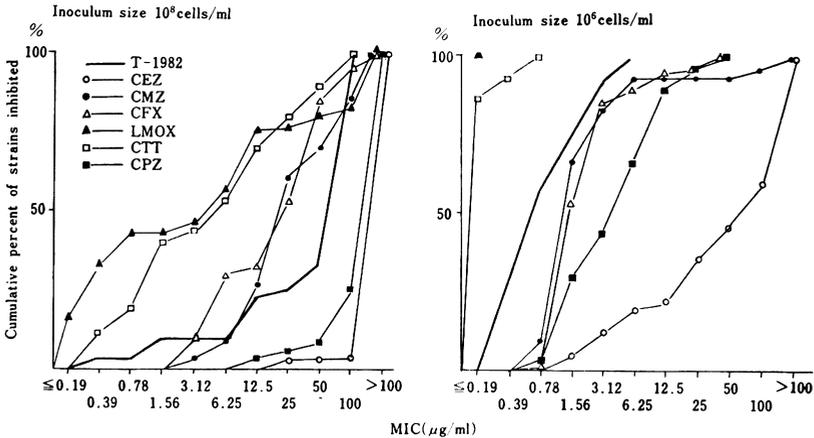


Fig. 14 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. marcescens* 35 strains

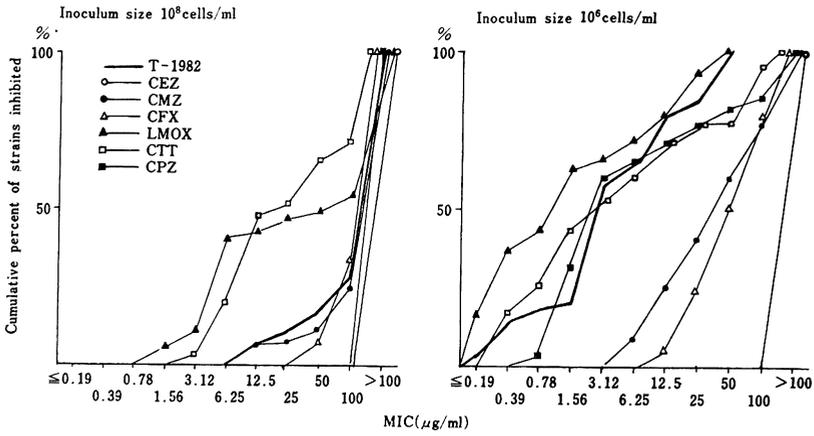


Fig. 15 Sensitivity distribution of clinical isolates *C. freundii* 8 strains

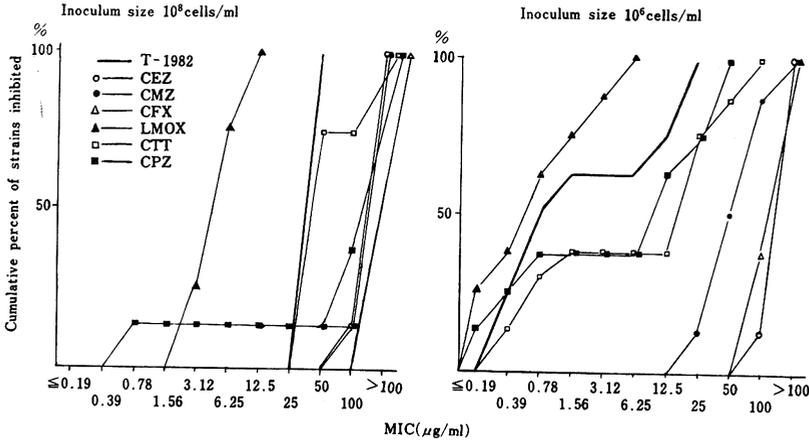


Fig. 16 Sensitivity distribution of clinical isolates *E. cloacae* 20 strains

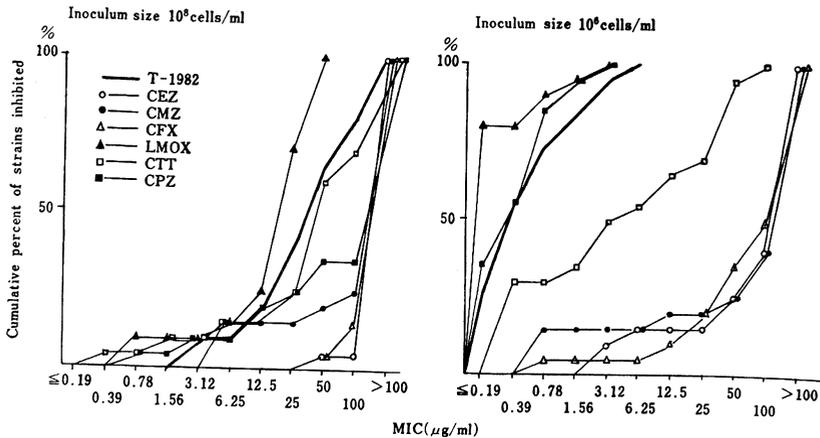


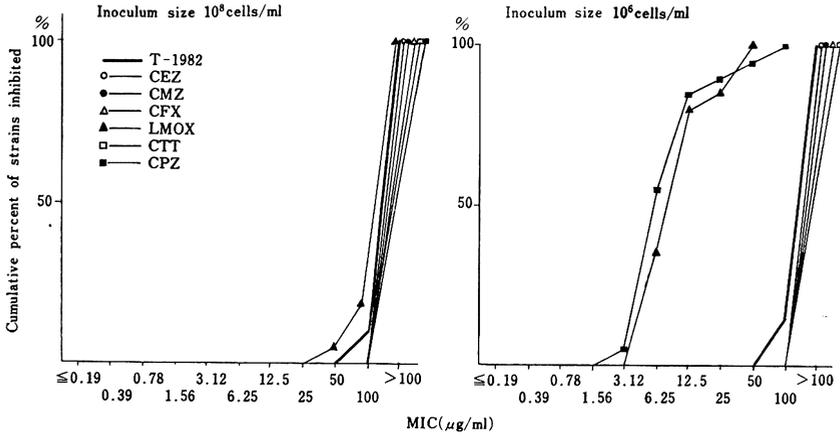
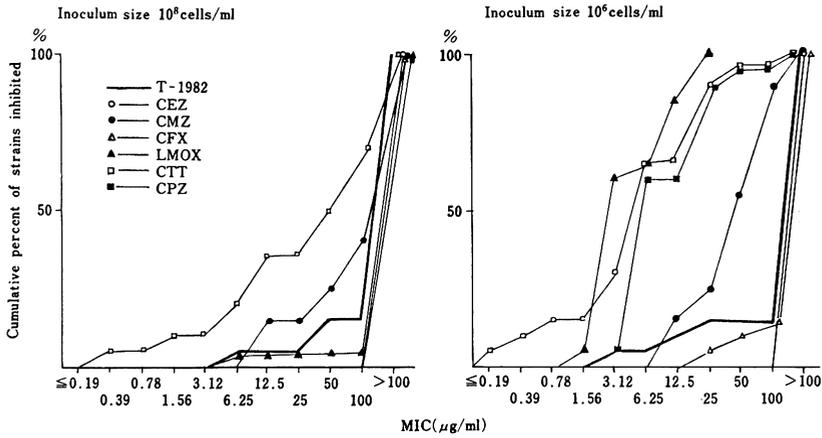
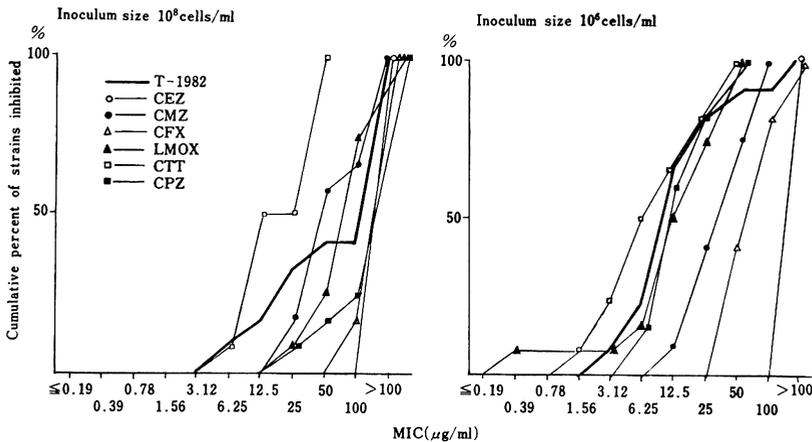
Fig. 17 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. aeruginosa* 20 strainsFig. 18 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. maltophilia* 20 strainsFig. 19 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. cepacia* 12 strains

Fig. 20 Sensitivity distribution of clinical isolates *F. meningosepticum* 7 strains

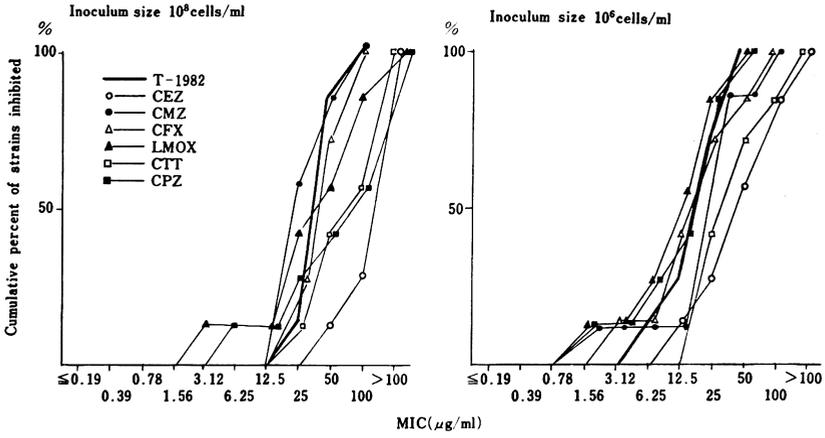


Fig. 21 Sensitivity distribution of clinical isolates *A. calcoaceticus* 25 strains

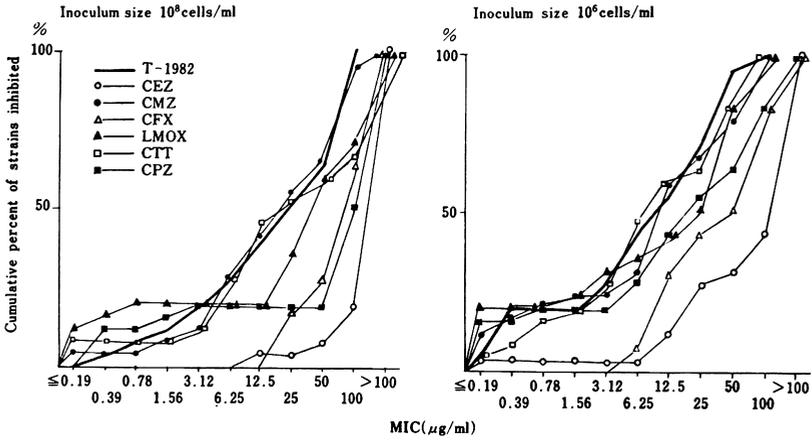


Fig. 22 Sensitivity distribution of clinical isolates *A. xylosoxidans* 25 strains

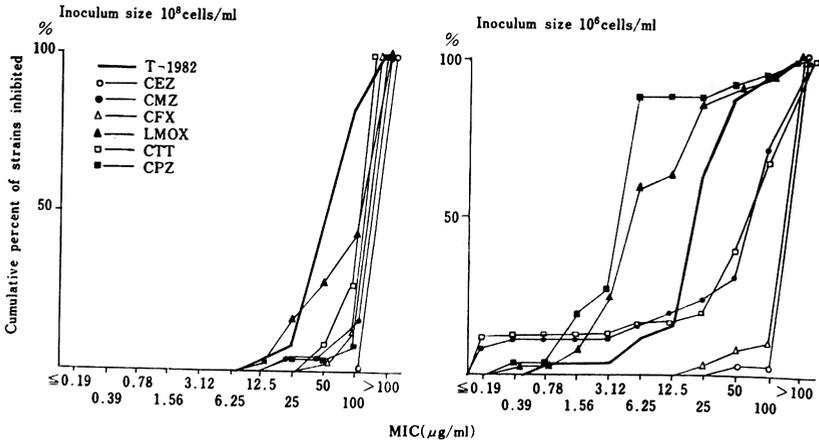


Fig. 23 Sensitivity distribution of clinical isolates *B. fragilis* 27 strains

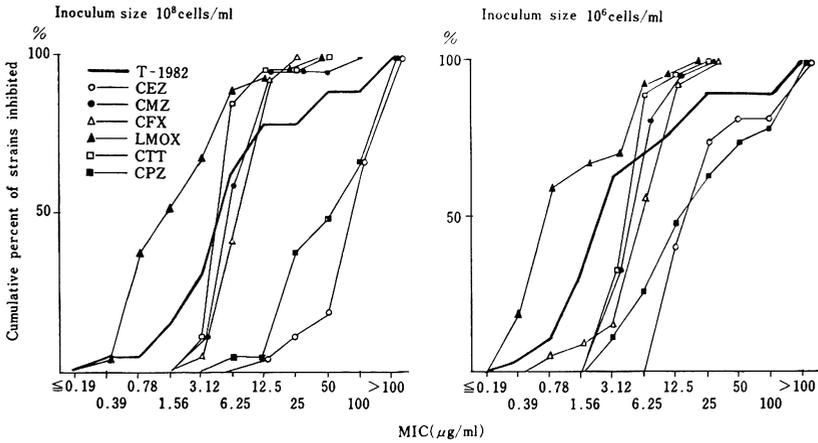
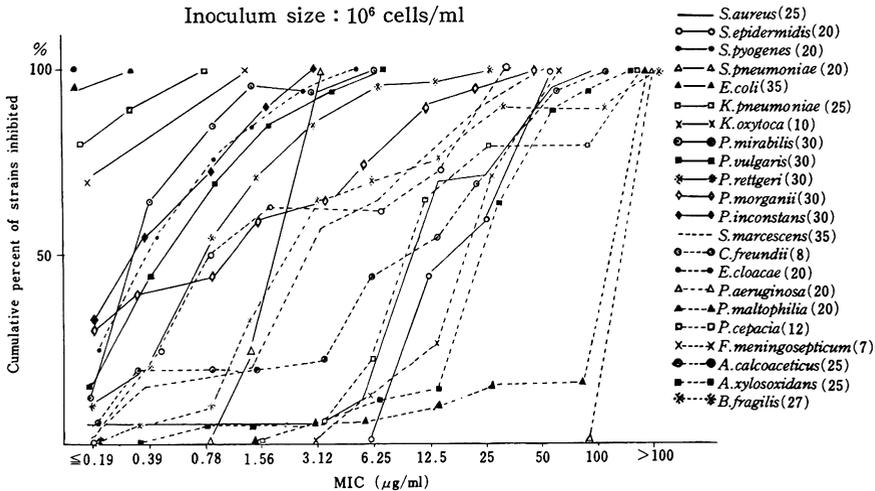


Fig. 24 *In vitro* activity of T-1982 against clinical isolates



20株, *S. pyogenes* 20株, *S. pneumoniae* 20株, *E. coli* 35株, *K. pneumoniae* 25株, *K. oxytoca* 10株, *P. mirabilis* 30株, *P. vulgaris* 30株, *P. rettgeri* 30株, *P. morganii* 30株, *P. inconstans* 30株, *S. marcescens* 35株, *C. freundii* 8株, *E. cloacae* 20株, *P. aeruginosa* 20株, *P. maltophilia* 20株, *P. cepacia* 12株, *F. meningosepticum* 7株, *A. calcoaceticus* 25株, *A. xylosoxidans* 25株, *B. fragilis* 27株における MIC 分布を T-1982, CFX, CMZ, CTT, CEZ, CPZ, LMOX の 7 薬剤について比較検討した成績を Fig. 2~23 に示した。

S. aureus, *S. epidermidis* に対する T-1982 の抗菌力は、接種菌量 10^8 , 10^6 cells/ml とも他の 6 薬剤に比べ劣っていたが、MIC のピーク (10^6 cells/ml 接種) は $12.5 \mu\text{g/ml}$ であった (Fig. 2~3)。

S. pyogenes に対し、T-1982 は $0.39 \mu\text{g/ml}$ で全株の発育を阻止し (菌量 10^6 cells/ml), CTT, LMOX と同等であるが、CFX, CMZ, CPZ, CEZ より劣る成績であった (Fig. 4)。

S. pneumoniae では T-1982 の抗菌力は、CPZ と同等で CFX, CMZ, CTT, CEZ, LMOX より優れ (菌量 10^6 cells/ml), MIC のピークは $0.025 \mu\text{g/ml}$ 以下であった (Fig. 5)。

E. coli に対する T-1982 の抗菌力は、接種菌量 10^6 cells/ml の場合 LMOX, CTT と同じで CFX, CMZ, CEZ, CPZ より優れ、 $0.39 \mu\text{g/ml}$ で全株の発育が阻止された (Fig. 6)。

K. pneumoniae に対し、T-1982 の抗菌力は CTT より劣るが、他の Cephamycin 系を含む 5 薬剤より優れ

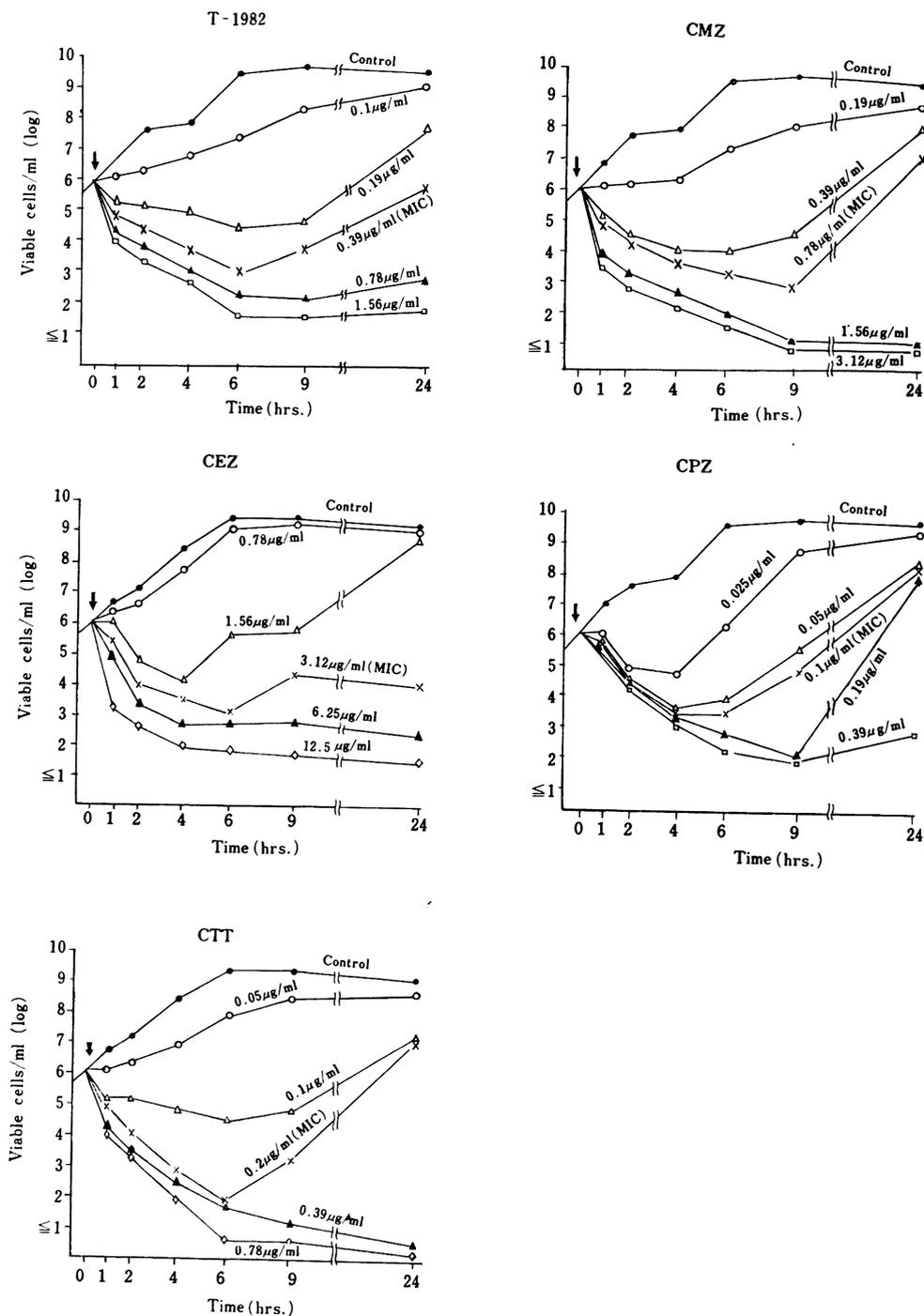
Fig. 25 Bactericidal activity of T-1982, CMZ, CTT, CEZ and CPZ against *E. coli* C-11

Fig. 26 Enzymatic stability of penicillins and cephem antibiotics

Drug	Source of enzyme														
	<i>E. coli</i> 85	<i>E. coli</i> ML-1410 RGN-238	<i>E. coli</i> ML-1410 RGN-823	<i>E. coli</i> 121	<i>A. baumannii</i> GN-69	<i>C. freundii</i> GN-346	<i>P. aeruginosa</i> No. 91	<i>P. mirabilis</i> GN-79	<i>P. vulgaris</i> GN-76	<i>P. vulgaris</i> No. 9	<i>P. rettgeri</i> GN-624	<i>P. aeruginosa</i> GN-627	<i>S. marcescens</i> No. 78	<i>P. aeruginosa</i> No. 47	<i>P. aeruginosa</i> No. 11
PCG															
ABPC															
CBPC															
SBPC															
MZPC															
APPC															
PIPC															
TIPC															
MCHPC															
CER															
CEX															
CFT															
CXD															
CCL															
CEZ															
CMD															
CFX															
CMZ															
CXM															
CTM															
CFS															
CTX															
CPZ															
CZX															
CMX															
LMOX															
T-1982															

Fig. 27 Enzymatic stability of cephem antibiotics

Drug	Source of enzyme						
	<i>B. fragilis</i> No. 19	<i>B. fragilis</i> No. 32	<i>B. fragilis</i> No. 48	<i>B. fragilis</i> No. 69	<i>B. fragilis</i> GM7000	<i>B. fragilis</i> GM7002	<i>B. fragilis</i> GM7004
CER							
CEX							
CFT							
CXD							
CCL							
CEZ							
CMD							
CFX							
CMZ							
CXM							
CTM							
CFS							
CTX							
CPZ							
CZX							
LMOX							
CMX							
T-1982							

Incubation time 4 hr. Potency (μg/ml)
 □ : 50
 ▨ : 35-20
 ▩ : 20-2
 ▧ : 50-35
 ▦ : < 2

(菌量 10⁶cells/ml), MIC のピークは 0.19 μg/ml 以下であった (Fig. 7)。

K. oxytoca では、7 薬剤中 T-1982 の抗菌力が最も優れ (10⁶cells/ml 接種)、全株の発育を阻止する MIC が 1.56 μg/ml と他剤に比べ小さい値であった (Fig. 8)。

Proteus 属 (*P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. rettgeri*, *P.morganii*, *P. inconstans*) では T-1982 の抗菌力は CFX, CMZ, CEZ, CPZ より優れていたが, CTT, LMOX より劣り (10⁶cells/ml 接種), MIC のピークは 0.78 μg/ml 以下であった。ただし, *P. morganii* に対する T-1982 の抗菌力は CPZ と同等であった (Fig. 9~13)。

S. marcescens, *C. freundii* に対し, LMOX より劣るが, Cephamycin 系を含む 5 薬剤より優れ (10⁶cells/ml 接種), *S. marcescens* では広い MIC 分布, *C. freundii* では 2 峰性の分布を示した (Fig. 14~15)。

E. cloacae に対する T-1982 の抗菌力は CPZ, LMOX

より劣るが, CFX, CMZ, CTT, CEZ より優れ, 10⁶cells/ml 接種では 6.25 μg/ml で全株の発育が阻止された (Fig. 16)。

P. aeruginosa, *P. maltophilia* では T-1982 の抗菌力は接種菌量 10⁶cells/ml でも CFX, CMZ, CEZ と同様ほとんど認められなかった (Fig. 17~18)。

P. cepacia に対する T-1982 の抗菌力は CTT よりやや劣るが, CFX, CMZ, CEZ, CPZ, LMOX より優れ, 10⁶cells/ml 接種での 80% 阻止濃度は 25 μg/ml であった (Fig. 19)。

F. meningosepticum では接種菌量 10⁶cells/ml の MIC 分布は CFX, CMZ, CPZ, LMOX とほぼ同等で, CTT, CEZ より感性側に分布した (Fig. 20)。

A. calcoaceticus に対する各薬剤の MIC は 0.19 μg/ml 以下から 100 μg/ml の間に分布し, T-1982 は 10⁸, 10⁶cells/ml 接種で CMZ, CTT とほぼ同等であり

Table 5 Protecting effect of T-1982 and other cephem antibiotics against experimental mice infection
E. coli C-11

Antibiotic	Challenge dose** cells/mouse	5% Mucin	Administration			MIC(μ g/ml)		ED ₅₀ * mg/mouse
			Route	Number	After the infection	10 ⁸	10 ⁶	
T-1982	5×10 ⁶	+	S. C.	1	1 h.	6. 25	≤0. 19	0. 031 (0. 020~0. 048)
CFX	5×10 ⁶	+	S. C.	1	1	12. 5	1. 56	1. 576 (1. 248~1. 997)
CMZ	5×10 ⁶	+	S. C.	1	1	3. 12	0. 78	0. 49 (0. 21~1. 14)
CTT	5×10 ⁶	+	S. C.	1	1	3. 12	0. 78	0. 126 (0. 069~0. 229)
CEZ	5×10 ⁶	+	S. C.	1	1	3. 12	1. 56	0. 394 (0. 334~0. 466)
CPZ	5×10 ⁶	+	S. C.	1	1	0. 78	≤0. 19	0. 078 (0. 062~0. 098)
LMOX	5×10 ⁶	+	S. C.	1	1	6. 25	≤0. 19	0. 039 (0. 032~0. 048)

Mouse : ICR, 4W, ♂, (19±1g) 6 animals/group

*ED₅₀ : VAN DER WAERDEN method

**MLD : 1×10⁵ (+) cells/mouse

Table 6 Protecting effect of T-1982 and other cephem antibiotics against experimental mice infection
K. pneumoniae 3K-25

Antibiotic	Challenge dose** cells/mouse	5% Mucin	Administration			MIC(μ g/ml)		ED ₅₀ * mg/mouse
			Route	Number	After the infection	10 ⁸	10 ⁶	
T-1982	1×10 ⁶	+	S. C.	1	1 h.	25	≤0. 19	2. 5 (1. 74~3. 58)
CFX	1×10 ⁶	+	S. C.	1	1	>100	50	>20
CMZ	1×10 ⁶	+	S. C.	1	1	50	6. 25	15. 87
CTT	1×10 ⁶	+	S. C.	1	1	>100	12. 5	12. 56
CEZ	1×10 ⁶	+	S. C.	1	1	>100	>100	>20
CPZ	1×10 ⁶	+	S. C.	1	1	>100	25	>20
LMOX	1×10 ⁶	+	S. C.	1	1	50	25	>20

Mouse : ICR, 4W, ♂, (19±1g) 6 animals/group

*ED₅₀ : VAN DER WAERDEN method

**MLD : 1×10⁸ (+) cells/mouse

Table 7 Protecting effect of T-1982 and other cephem antibiotics against experimental mice infection
S. marcescens No. 2

Antibiotic	Challenge dose** cells/mouse	5% Mucin	Administration			MIC(μ g/ml)		ED ₅₀ * mg/mouse
			Route	Number	After the infection	10 ⁸	10 ⁶	
T-1982	3.3×10^6	+	S. C.	1	1 h.	>100	1.56	$\frac{0.31}{(0.20 \sim 0.48)}$
CFX	3.3×10^6	+	S. C.	1	1	12.5	1.56	$\frac{0.49}{(0.21 \sim 1.14)}$
CMZ	3.3×10^6	+	S. C.	1	1	6.25	0.78	$\frac{0.23}{(0.1 \sim 0.53)}$
CTT	3.3×10^6	+	S. C.	1	1	6.25	0.78	$\frac{0.156}{(0.097 \sim 0.251)}$
CEZ	3.3×10^6	+	S. C.	1	1	>100	>100	>20
CPZ	3.3×10^6	+	S. C.	1	1	0.78	≤ 0.19	$\frac{0.078}{(0.062 \sim 0.097)}$
LMOX	3.3×10^6	+	S. C.	1	1	6.25	≤ 0.19	$\frac{0.039}{(0.032 \sim 0.048)}$

Mouse : ICR, 4W, ♂, (19±1 g) 6 animals/group

*ED₅₀ : VAN DER WAERDEN method

**MLD : 1×10^5 (+) cells/mouse

Table 8 Protecting effect of T-1982 and other cephem antibiotics against experimental mice infection
C. freundii GN 346

Antibiotic	Challenge dose** cells/mouse	5% Mucin	Administration			MIC(μ g/ml)		ED ₅₀ * mg/mouse
			Route	Number	After the infection	10 ⁸	10 ⁶	
T-1982	3×10^7	+	S. C.	1	1 h.	100	50	$\frac{2.5}{(1.6 \sim 3.84)}$
CFX	3×10^7	+	S. C.	1	1	>100	100	$\frac{6.30}{(5.09 \sim 7.80)}$
CMZ	3×10^7	+	S. C.	1	1	>100	100	$\frac{3.14}{(2.52 \sim 3.93)}$
CTT	3×10^7	+	S. C.	1	1	>100	100	2.5
CEZ	3×10^7	+	S. C.	1	1	>100	>100	>20
CPZ	3×10^7	+	S. C.	1	1	>100	25	>20
LMOX	3×10^7	+	S. C.	1	1	12.5	1.56	$\frac{0.40}{(0.27 \sim 0.57)}$

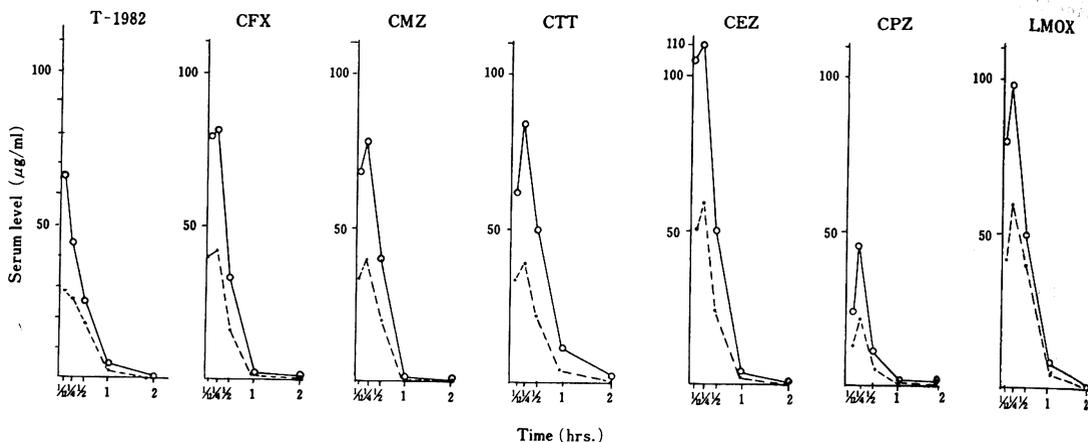
Mouse : ICR, 4W, ♂, (19±1 g) 6 animals/group

*ED₅₀ : VAN DER WAERDEN method

**MLD : 7.8×10^6 (+) cells/mouse

Fig. 28 Serum level of cephem antibiotics in mice

—○— 1mg/mouse S.C. - - - - -●- - - - - 0.5mg/mouse S.C.



他剤より優れていた (Fig. 21)。

A. xylosoxidans では CFX, CMZ, CTT, CEZ より T-1982 の MIC は感性側に分布しているが, CPZ, LMOX より劣り, MIC ピーク (10^6 cells/ml 接種) 値は $25 \mu\text{g/ml}$ であった (Fig. 22)。

B. fragilis に対しては T-1982 の MIC は, $3.12 \mu\text{g/ml}$ をピークとし (10^6 cells/ml 接種), LMOX より劣り, CMZ, CTT, CFX と同等で CPZ, CEZ より優れていた (Fig. 23)。

以上検討した22菌種 504 菌株に対する T-1982 の抗菌力を Fig. 24 に示した。

腸内細菌科 (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. inconstans*, *E. cloacae*), *S. pyogenes* および *S. pneumoniae* に対して T-1982 は強い抗菌力を示した。すなわち上記菌種の100%阻止濃度は, $6.25 \mu\text{g/ml}$ 以下であった。*P. morgani*, *S. marcescens*, *C. freundii* および *B. fragilis* に対し比較的強い抗菌力を示したが, MIC 分布は広く, その80%阻止濃度は約 $12.5 \mu\text{g/ml}$ であった。*S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. cepacia*, *F. meningosepticum*, *A. calcoaceticus* および *A. xylosoxidans* に対してはやや弱く, 80%阻止濃度は $25 \sim 50 \mu\text{g/ml}$ であった。*P. aeruginosa*, *P. maltophilia* に対する T-1982 の抗菌力は認められず, 80%阻止濃度は共に $100 \mu\text{g/ml}$ 以上であった。

3) 殺菌作用

E. coli C-11 株に対する T-1982 の殺菌作用を CMZ, CTT, CEZ, CPZ と比較検討した成績を Fig. 25 に示した。T-1982 の殺菌作用は CPZ より優れ, CMZ, CTT,

CEZ と同程度であった。再増殖に至る時間を比較すると, 1 MIC 濃度添加で T-1982 と CTT は添加6時間目, CMZ は9時間目に再増殖がはじまるが, CEZ では再増殖は認められなかった。

4) 不活化酵素に対する安定性

腸内細菌科13株, *P. aeruginosa* 2株および *B. fragilis* 7株より得られた不活化酵素に対する T-1982 の安定性を Penicillin 系9薬剤, Cephem 系17薬剤と比較した成績を Fig. 26, 27 に示した。

Cephamicin 系の CFX, CMZ は各種の菌の酵素に安定であるが, *E. coli* 35株の産生する酵素で一部分不活化された。しかし T-1982 は, LMOX 同様いずれの菌株の不活化酵素に対しても安定であった。

B. fragilis の不活化酵素に対し Cephamicin 系の CFX, CMZ は7株中3~5株の酵素で部分的不活化を受けるが, T-1982 は LMOX 同様7株中の1株の酵素のみにより不活化された。

5) マウス実験的感染における防御効果

(1) *E. coli* 感染 (Table 5)

E. coli C-11株に対する T-1982 の ED_{50} は 0.03 mg/mouse であり, LMOX と同程度, CFX, CMZ, CTT, CEZ, CPZ より小さい値であった。

(2) *K. pneumoniae* 感染 (Table 6)

K. pneumoniae 3K-25 を感染菌としたときの T-1982 の ED_{50} 値は 2.5 mg/mouse で CFX, CMZ, CTT, CEZ, CPZ, LMOX より5~10倍小さい値を示し, 優れた効果が認められた。

(3) *S. marcescens* 感染 (Table 7)

S. marcescens No. 2 に対する T-1982 の ED₅₀ 値は 0.31 mg/mouse で CFX, CEZ より小さいが, CMZ, CTT, CPZ, LMOX より大きかった。

(4) *C. freundii* 感染 (Table 8)

C. freundii GN 346 株を感染菌としたときの T-1982 の ED₅₀ 値は 2.5 mg/mouse で CTT と同程度で CFX, CMZ, CEZ, CPZ より小さい値を示したが, LMOX より大きい値を示した。

6) マウス血清中濃度

実験感染の防御効果を解析する一資料として, 同条件のマウスにおける T-1982 の血清中濃度を測定した。マウスに 1 mg/mouse および 0.5 mg/mouse 皮下投与した血清中濃度成績を Fig. 28 に示した。T-1982 は 1 mg/mouse, 0.5 mg/mouse 投与 5 分後が最も高くそれぞれ 67 μg/ml と 29 μg/ml であり, CPZ より高いが, CFX, CMZ, CTT よりやや低く CEZ, LMOX の 60% 程度であった。血清中の持続性は, CFX, CMZ より優れ, CTT, CEZ, LMOX と同程度であった。

III. 考察と結論

T-1982 は, CFX, CMZ, CTT 同様 Cepharmycin 系抗生物質に属し, グラム陽性, グラム陰性菌に有効で, 特に従来の Cepharmycin 系抗生物質よりグラム陽性球菌の *S. pneumoniae*, グラム陰性桿菌 *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Proteus* 属 (*P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. morgani*, *P. rettgeri*, *P. inconstans*), *S. marcescens*, *C. freundii*, *E. cloacae* に対し優れた抗菌力のあることが確認できた。

一方, *P. aeruginosa* に対し T-1982 は他の Cepharmycin 系同様無効であり, *P. maltophilia* に対して T-1982 は CFX 同様無効であるが, *P. cepacia* に対しては, T-1982 の抗菌力は CTT, LMOX, CPZ とほぼ同等, CFX, CMZ, CEZ より優れていることが明らかとなった。

また T-1982 は *S. marcescens*, *A. calcoaceticus*, *B. fragilis* に対し広い MIC 分布を示す特徴を示した。

T-1982 の *E. coli* C-11 株を用いた短時間内殺菌作用は, 他の Cepharmycin 剤とはほぼ同等とみられ, MIC での再増殖は CPZ より遅いが, CEZ より早く, この系統の薬剤の特徴として殺菌効果は CEZ よりやや劣る

ことが推察された。

このことは横田らの PBP 親和性の報告⁷⁾ から, CEZ は PBP の Ia, Ib に親和性が強いが, Cepharmycin 剤は III に親和性が強いことが一因と考えられる。

腸内細菌科の菌種, *P. aeruginosa*, *B. fragilis* から得た β-lactamase に対する T-1982 の安定性は LMOX と同様であり, 他の Cepharmycin 剤よりやや優れていることは本剤の特徴の一つといえるであろう。

マウス実験感染に対する T-1982 の治療効果は, *in vitro* 抗菌力とはほぼ相関し, CFX, CMZ, CEZ, CPZ より優れ, CTT と同程度, LMOX よりやや劣る成績を得た。T-1982 の正常でのマウス血清中濃度は既存の Cepharmycin 剤よりやや劣るが, 各菌株に対する有効濃度は十分に維持されるためと考えられる。

以上の新しい Cepharmycin 剤 T-1982 の基礎実験成績から臨床的な有用性を期待できると判断された。

文 献

- 1) 第29回日本化学療法学会西日本支部総会, 新薬シンポジウム I, T-1982 抄録集, 1981
- 2) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改定について. *Chemotherapy* 29: 76~79, 1981
- 3) 日本化学療法学会嫌気性菌 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: 559~560, 1979
- 4) 吉田 勇, 小川正俊, 宮崎修一, 西勝恵子, 五島 瑳智子: グラム陰性桿菌の産生する不活化酵素に対する各種 β-lactam 系薬剤の安定性. *Chemotherapy* 29: 865~879, 1981
- 5) 五島 瑳智子, 吉田 勇, 小川正俊, 辻 明良, 金子康子, 宮崎修一, 桑原章吾: Cephalosporin の母核の S 原子を O 原子で置換した新誘導体 6059-S の *in vitro*, *in vivo* 細菌学的評価. *Chemotherapy* 28 (S-7): 1~20, 1980
- 6) 五島 瑳智子, 小川正俊, 辻 明良, 金子康子, 桑原章吾: Cepharmycin 系の新物質 CS-1170 の細菌学的評価: Cephalosporin 剤および Cefoxitin との抗菌作用の比較. *Chemotherapy* 26 (S-5): 1~20, 1978
- 7) 横田 健, 関口玲子: Ceftizoxime (CZX) の大腸菌およびコレラ菌 Penicillin 結合タンパク質に対する親和性と殺菌力の関係. *Chemotherapy* 28 (S-5): 44~49, 1978

BACTERIOLOGICAL *IN VITRO* AND *IN VIVO* EVALUATION
ON T-1982, A NEW CEPHAMYCIN ANTIBIOTIC

SACHIKO GOTO, SHUICHI MIYAZAKI, MASATOSHI OGAWA
YASUKO KANEKO, AKIYOSHI TSUJI, YUMIKO MUTO
and SHOGO KUWABARA
Department of Microbiology, School of Medicine,
Toho University, Tokyo

The *in vitro* antibacterial activity of T-1982, a new cephamycin antibiotic, was studied.

T-1982 proved to possess a broad antibacterial spectrum against various strains of gram-positive and gram-negative bacteria. The drug was active particularly against *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus* species (*Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus rettgeri*, *Proteus inconstans*) and *Enterobacter cloacae*. The activity was less potent against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus morganii*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas cepacia*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Achromobacter xylosoxidans* and *Bacteroides fragilis* but superior to that of other existing cephamycin antibiotics. T-1982 was not active against *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas maltophilia* like other cephamycins.

The drug was highly stable against all types of β -lactamase as classified by Richmond comparably to other cephamycins (cefoxitin, cefmetazole and cefotetan).

In protecting effect against experimental infections in mice due to *Escherichia coli* C-11, *Klebsiella pneumoniae* 3K-25, *Serratia marcescens* No. 2 and *Citrobacter freundii* GN 346, T-1982 was superior to cefoxitin, cefmetazole, cefazolin and cefoperazone, equal to cefotetan, but slightly inferior to latamoxef.