

## 新 Cephem 系抗生物質 Ceftriaxone (Ro 13-9904) の 細菌学的評価

五島瑛智子・小川正俊・金子康子・宮崎修一  
辻 明良・桑原章吾  
東邦大学医学部微生物学教室

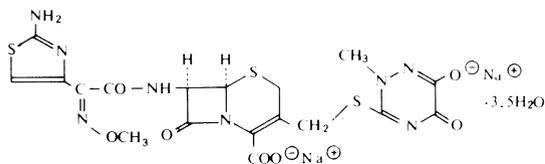
### 要 旨

新 cephem 系抗生物質 ceftriaxone (CTRX, Ro 13-9904) の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用を cefmenoxime (CMX), cefotaxime (CTX), latamoxef (LMOX), ceftazidime (CAZ) について比較検討し、次の結果を得た。

CTRX はグラム陽性菌の *S. aureus*, *S. epidermidis* に対し、CAZ, LMOX より強い抗菌力を示し、グラム陰性菌の各菌種では他剤と同様に強い抗菌力を示した。嫌気性菌 *B. fragilis* に対しても抗菌力がみられた。

Richmond の分類型で I~V 型に属する  $\beta$ -lactamase を産生する 10 菌種 15 菌株から得られた粗酵素に対し、従来の cephem 系薬剤同様安定であったが、*B. fragilis* の産生する不活化酵素にはむしろ不安定であった。*In vivo* におけるマウス実験感染では、CTRX の ED<sub>50</sub> は CMX, CTX, LMOX, CAZ より小さい値を示し、血清中濃度の持続時間も他剤に比べ長かった。

CTRX は Roche 社で開発された新 cephalosporin 系抗生物質で化学名は (Z)-(6R, 7R)-7-(2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-(methoxyimino) acetamide)-3-[(2,5-dihydro-6-hydroxy-2-methyl-5-oxo-1,2,4-triazin-3-yl)thio]methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo-[4,2,0]oct-2-ene-2-carboxylic acid disodium salt であり、構造式は下記に示した<sup>1)</sup>。



本剤の抗菌スペクトラムは他の第 3 世代の cephalosporin 剤と同様に広域で、特にグラム陰性菌に強く、また嫌気性菌にも抗菌力を示す<sup>2-8)</sup>。また  $\beta$ -lactamase に対する安定性では、*P. vulgaris*, *P. cepacia*, *B. fragilis* の産生する不活化酵素に対して安定であるといわれている<sup>9-11)</sup>。*In vivo* における本剤の感染防御効果は *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Serratia* 感染など、従来の cephalosporin 系薬剤に比べ、有効であり、血清中濃度の持続性にすぐれていることが特徴である<sup>12-14)</sup>。

本報告は CTRX の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用を CMX, CTX, LMOX, CAZ と比較した成績である。

### I. 実験材料および実験方法

#### 1. 使用菌株

教室保存株および臨床分離株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

Ceftriaxone (CTRX, 852 $\mu$ g/mg, 日本ロシュ)  
Benzylpenicillin (PCG, 1621.9 unit/mg, 萬有製薬)  
Ampicillin (ABPC, 911 $\mu$ g/mg, 藤沢薬品)  
Carbenicillin (CBPC, 790 $\mu$ g/mg, 藤沢薬品)  
Sulbenicillin (SBPC, 887 $\mu$ g/mg, 武田薬品)  
Mezlocillin (MZPC, 925 $\mu$ g/mg, 吉高製薬)  
Apalcillin (APPC, 854 $\mu$ g/mg, 住友化学)  
Piperacillin (PIPC, 915 $\mu$ g/mg, 富山化学)  
Ticarcillin (TIPC, 791 $\mu$ g/mg, 藤沢薬品)  
Cloxacillin (MCPC, 900 $\mu$ g/mg, 東洋醸造)  
Cephaloridin (CER, 910 $\mu$ g/mg, 塩野義製薬)  
Cephalexin (CEX, 900 $\mu$ g/mg, 萬有製薬)  
Cefatridine (CFT, 843 $\mu$ g/mg, 萬有製薬)  
Cefaclor (CCL, 960.6 $\mu$ g/mg, 塩野義製薬)  
Cefroxadine (CXD, 881 $\mu$ g/mg, 日本チバケイキー)

Table 1 Antibacterial spectra of CTRX, CMX, CTX, LMOX and CAZ against standard strains of bacteria

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )				
	CTRX	CMX	CTX	LMOX	CAZ
<i>S. aureus</i> 209P	3.12	1.56	1.56	6.25	12.5
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	0.78	0.19	0.39	6.25	3.12
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	1.56	12.5	12.5	12.5	>100
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	0.19	0.05	0.1
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	0.1	0.05
<i>K. oxytoca</i> 1004	0.39	0.19	1.56	0.19	0.19
<i>S. flexneri</i> 103R	0.19	$\leq 0.025$	0.19	0.39	0.19
<i>S. typhi</i> S60	0.19	0.19	0.19	0.19	1.56
<i>S. paratyphi</i> B	0.05	0.1	0.19	0.19	0.1
<i>S. enteritidis</i> M-11	0.05	0.1	0.39	0.1	0.19
<i>P. mirabilis</i> ATCC 21100	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	0.1	0.1	$\leq 0.025$
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	0.39	3.12	1.56	0.1	0.05
<i>M. morgani</i> IFO 3848	0.78	1.56	0.1	0.1	$\leq 0.025$
<i>P. rettgeri</i> IFO 13501	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	0.1	0.1	$\leq 0.025$
<i>P. inconstans</i> IFO 12930	6.25	25	25	25	25
<i>C. freundii</i> GN 346	50	12.5	12.5	6.25	100
<i>E. cloacae</i> No. 1	25	3.12	50	25	50
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	>100	>100	100	100	>100
<i>Y. enterocolitica</i> 2	0.39	1.56	1.56	3.12	100
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	50	100	>100	100	100
<i>P. cepacia</i> TMS 211	50	25	25	>100	50
<i>P. maltophilia</i> IID1167	>100	>100	>100	100	100
<i>P. putida</i> ATCC 17464	25	25	50	100	3.12
<i>P. fluorescens</i> IFO 3081	0.39	1.56	1.56	0.1	0.1
<i>A. calcoaceticus</i> NCTC 7844	100	50	25	>100	100
<i>A. faecalis</i> NCTC 655	100	100	1.56	>100	100
<i>A. xylosoxidans</i> TMS 73	100	>100	100	>100	>100
<i>F. meningosepticum</i> TMS461	100	50	100	>100	100

Cefazolin (CEZ, 944 $\mu\text{g}$ /mg, 藤沢薬品)  
 Cefamandole (CMD, 960 $\mu\text{g}$ /mg, 塩野義製薬)  
 Cefuroxime (CMX, 971 $\mu\text{g}$ /mg, 新日本実業)  
 Cefotiam (CTM, 820 $\mu\text{g}$ /mg, 武田薬品)  
 Cefsulodin (CFS, 904 $\mu\text{g}$ /mg, 武田薬品)  
 Cefoxitin (CFX, 938 $\mu\text{g}$ /mg, 第一製薬)  
 Cefmetazole (CMZ, 953 $\mu\text{g}$ /mg, 三共)  
 Cefoperazone (CPZ, 947 $\mu\text{g}$ /mg, 富山化学)  
 Cefotaxime (CTX, 925 $\mu\text{g}$ /mg, ヘキストジャパン)  
 Ceftizoxime (CZX, 857 $\mu\text{g}$ /mg, 藤沢薬品)  
 Latamoxef (LMOX, 922 $\mu\text{g}$ /mg, 塩野義製薬)  
 Cefmenoxime (CMX, 945 $\mu\text{g}$ /mg, 武田薬品)

### 3. 感受性測定法<sup>15,16)</sup>

日本化学療法学会標準法、日本化学療法学会嫌気性菌MIC測定法委員会法に従って行った。

### 4. 殺菌作用測定法

*E. coli* C11株を用い、Müller hinton brothに接種し、菌数が $10^8$  cells/mlになったとき、CTRX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CMX, CTX, LMOX, CAZについても検討した。

### 5. 菌の産生する不活化酵素に対する安定性

#### 1) 酵素液の調整

*E. coli* 4株, *K. pneumoniae* 1株, *C. freundii* 1株, *E. cloacae* 1株, *P. mirabilis* 1株, *P. vulgaris* 2株,

Table 2 Antibacterial spectra of CTRX, CMX, CTX, LMOX and CAZ against standard strains of bacteria

Organism	Inoculum size: 10 <sup>6</sup> cells/ml				
	MIC (μg/ml)				
	CTRX	CMX	CTX	LMOX	CAZ
<i>S. aureus</i> 209P	1.56	0.78	0.78	6.25	6.25
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	0.39	0.19	0.19	6.25	1.56
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.39	6.25	6.25	12.5	50
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	≤0.025	≤0.025	≤0.025	0.05	0.05
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031	≤0.025	≤0.025	≤0.025	0.1	0.05
<i>K. oxytoca</i> 1004	≤0.025	≤0.025	≤0.025	0.05	0.05
<i>S. flexneri</i> 103R	0.05	≤0.025	≤0.025	0.19	0.1
<i>S. typhi</i> S60	0.05	0.05	≤0.025	0.1	0.05
<i>S. paratyphi</i> B	≤0.025	0.05	≤0.025	0.1	0.1
<i>S. enteritidis</i> M-11	0.05	0.1	0.05	0.05	0.19
<i>P. mirabilis</i> ATCC 21100	≤0.025	≤0.025	≤0.025	≤0.025	≤0.025
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	≤0.025	≤0.025	≤0.025	0.05	≤0.025
<i>M. morgani</i> IFO 3848	≤0.025	≤0.025	≤0.025	0.05	≤0.025
<i>P. rettgeri</i> IFO 13501	≤0.025	≤0.025	≤0.025	0.1	≤0.025
<i>P. inconstans</i> IFO 12930	0.1	0.1	0.1	0.05	0.19
<i>C. freundii</i> GN346	25	6.25	6.25	0.78	50
<i>E. cloacae</i> No. 1	0.1	0.05	0.1	0.05	0.1
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
<i>Y. enterocolitica</i> 2	0.1	0.1	0.39	0.19	0.78
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	12.5	6.25	12.5	3.12	0.78
<i>P. cepacia</i> TMS 211	12.5	12.5	6.25	>100	50
<i>P. maltophilia</i> IID1167	>100	100	100	6.25	50
<i>P. putida</i> ATCC 17464	12.5	12.5	25	50	1.56
<i>P. fluorescens</i> IFO 3081	0.19	1.56	0.78	0.1	0.1
<i>A. calcoaceticus</i> NCTC 7844	25	12.5	25	12.5	6.25
<i>A. faecalis</i> NCTC 655	0.39	1.56	1.56	0.05	3.12
<i>A. xylosoxidans</i> TMS 73	25	50	50	3.12	12.5
<i>F. meningosepticum</i> TMS 461	0.78	1.56	1.56	12.5	6.25

*P. rettgeri* 1株、*P. inconstans* 1株、*S. marcescens* 1株、*P. aeruginosa* 2株を用い、これら菌株の産生する酵素は、普通ブイヨンで培養し、菌体を超音波で破壊したものを粗酵素液とした。

*B. fragilis* 7株の場合には GAM ブイヨンで培養した菌体を用いた。

## 2) 酵素による不活化率の測定

薬剤は PCG, ABPC, CER, CEX, CFT, CXD, CCL, CEZ, CMD, CFX, CMZ, CXM, CTM, CFS, CTX, CPZ, CZX, CMX, LMOX, CTRX を用い、それぞれ 50 μg/ml になるよう前述の粗酵素液を作用させ、37°C に放置、経時的に残存力価をディスク法により測定した。なお検定菌として Penicillin 系薬剤、CER, CEX, CFT, CCL,

CXD, CEZ, CMD, CXM, CFX, CMZ, CZX の測定には *B. subtilis* ATCC 6633, CPZ, CTX には *M. luteus* ATCC 9341, CTM, CMX には *P. mirabilis* ATCC 21100, CFS では *P. aeruginosa* NCTC 10490, LMOX では *E. coli* 7437, CTRX では *E. coli* ATCC 27166 を用いた。

## 6. マウス実験感染における感染防御効果

マウスは ICR 系、雄、19 ± 1 g を 1 群 6 匹とし、*E. coli* C11, *K. pneumoniae* 3K25, *S. marcescens* No. 2, *P. aeruginosa* P121 をそれぞれ腹腔内に感染させ、1 時間後に CTRX, CMX, CTX, LMOX, CAZ を皮下投与した。観察は感染後 5 日間行い、マウスの生死から ED<sub>50</sub> を算出した。

Table 3 Antibacterial spectra of CTRX, CMX, CTX, LMOX and CAZ against anaerobic bacteria

Organisms	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )				
	CTRX	CMX	CTX	LMOX	CAZ
<i>B. fragilis</i> GM7004	>100	>100	>100	6.25	>100
<i>B. fragilis</i> TMS26	>100	>100	100	6.25	>100
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL3304	0.78	0.39	0.78	1.56	12.5
<i>B. thetaiotaomicron</i> TMS126	>100	>100	>100	>100	>100
<i>B. distasonis</i> TMS58	50	50	100	6.25	50
<i>B. distasonis</i> TMS128	50	>100	>100	>100	50
<i>B. vulgatus</i> ATCC 29327	$\leq 0.19$	0.78	0.78	1.56	12.5
<i>B. vulgatus</i> TMS 129	50	25	>100	50	50
<i>F. necrophorum</i> TMS82	100	>100	>100	>100	>100
<i>F. varium</i> TMS112	0.39	0.78	0.78	3.12	12.5
<i>F. nucleatum</i> TMS110	6.25	6.25	6.25	25	50
<i>P. prevotii</i> GM1001	0.78	0.78	0.78	0.78	25
<i>P. variabilis</i> GM1002	3.12	3.12	6.25	0.78	50
<i>P. asaccharolyticus</i> GM1003	$\leq 0.19$	0.39	$\leq 0.19$	3.12	1.56
<i>P. asaccharolyticus</i> TMS83	$\leq 0.19$	$\leq 0.19$	$\leq 0.19$	$\leq 0.19$	0.39
<i>P. magnus</i> ATCC 14956	1.56	1.56	6.25	0.78	12.5
<i>E. limosum</i> GM1005	0.78	0.39	0.39	6.25	1.56
<i>E. aerofaciens</i> TMS121	3.12	1.56	3.12	25	25
<i>C. sporogenes</i> TMS118	3.12	3.12	6.25	0.78	25
<i>C. botulinum</i> type A	3.12	1.56	6.25	0.78	50
<i>C. botulinum</i> type B	3.12	1.56	12.5	0.39	50
<i>C. botulinum</i> type E	0.78	0.78	1.56	$\leq 0.19$	25
<i>C. botulinum</i> type F	$\leq 0.19$	$\leq 0.19$	1.56	12.5	1.56
<i>C. perfringens</i> ATCC 13123	6.25	1.56	1.56	12.5	50
<i>C. perfringens</i> GM1006	6.25	3.12	3.12	0.78	6.25
<i>C. difficile</i> No. 11011	25	25	50	50	50
<i>C. difficile</i> TMS29	12.5	25	50	100	50
<i>C. tetani</i> TMS89	1.56	0.78	0.39	3.12	1.56

## 7. マウス血清中濃度測定法

上述と同条件のマウス1群10匹を用い、CTRXおよび対照薬剤をそれぞれ1mg/mouse、0.5mg/mouse皮下投与し、5分、15分、30分、1時間、2時間、3時間後にそれぞれマウスから血液を採取した後、1群10匹をワールした血清を用い、ディクス法で測定した。なお検定菌は前述の不活化酵素に対する安定性で使用した菌と同様である。

## II. 実験成績

### 1. 抗菌スペクトル

グラム陽性菌、グラム陰性菌について、CTRXの抗菌力を検討した結果をTable 1, 2に示した。10<sup>8</sup>接種におい

てCTRXの抗菌力はグラム陽性菌に対し、CMX, CTX, LMOX, CAZとはほぼ同等のMICを示した。

グラム陰性菌では、特に*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus*, *S. flexneri*, *Salmonella*に対しCTRXは強い抗菌力が認められ、CMX, CTXとはほぼ同等で、LMOX, CAZより小さいMICを示した。

ブドウ糖非発酵菌である*P. aeruginosa*, *P. cepacia*, *A. calcoaceticus*では一般に抗菌力が弱く、MICは12.5~25  $\mu\text{g/ml}$ を示しCMX, CTXと同等であった。

嫌気性菌に対する抗菌力の成績をTable 3, 4に示した。CTRXは嫌気性菌に対しても他剤(CMX, CTXなど)とはほぼ同程度の抗菌力を示した。

Table 4 Antibacterial spectra of CTRX, CMX, CTX, LMOX and CAZ against anaerobic bacteria

Inoculum size:  $10^6$  cells/ml

Organisms	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )				
	CTRX	CMX	CTX	LMOX	CAZ
<i>B. fragilis</i> GM7004	25	>100	100	6.25	>100
<i>B. fragilis</i> TMS26	50	50	25	6.25	>100
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL3304	0.39	0.39	0.39	0.78	12.5
<i>B. thetaiotaomicron</i> TMS126	100	100	100	25	>100
<i>B. distasonis</i> TMS58	25	25	25	0.39	25
<i>B. distasonis</i> TMS128	6.25	6.25	3.12	$\leq 0.19$	25
<i>B. vulgatus</i> ATCC 29327	$\leq 0.19$	0.78	$\leq 0.19$	0.78	12.5
<i>B. vulgatus</i> TMS129	3.12	3.12	3.12	$\leq 0.19$	25
<i>F. necrophorum</i> TMS82	3.12	3.12	6.25	3.12	100
<i>F. varium</i> TMS112	$\leq 0.19$	0.78	$\leq 0.19$	12.5	12.5
<i>F. nucleatum</i> TMS110	3.12	1.56	1.56	12.5	12.5
<i>P. prevotii</i> GM1001	0.39	0.78	0.39	0.78	12.5
<i>P. variabilis</i> GM1002	1.56	1.56	1.56	0.78	6.25
<i>P. asaccharolyticus</i> GM1003	$\leq 0.19$	$\leq 0.19$	$\leq 0.19$	3.12	1.56
<i>P. asaccharolyticus</i> TMS83	$\leq 0.19$	$\leq 0.19$	$\leq 0.19$	$\leq 0.19$	0.39
<i>P. magnus</i> ATCC 14956	1.56	0.78	1.56	0.78	6.25
<i>E. limosum</i> GM1005	$\leq 0.19$	$\leq 0.19$	$\leq 0.19$	6.25	1.56
<i>E. aerofaciens</i> TMS121	3.12	0.78	1.56	12.5	12.5
<i>C. sporogenes</i> TMS118	1.56	1.56	1.56	0.78	12.5
<i>C. botulinum</i> type A	3.12	1.56	3.12	0.39	50
<i>C. botulinum</i> type B	1.56	1.56	3.12	0.39	25
<i>C. botulinum</i> type E	0.78	0.39	0.39	$\leq 0.19$	12.5
<i>C. botulinum</i> type F	$\leq 0.19$	$\leq 0.19$	1.56	$\leq 0.19$	1.56
<i>C. perfringens</i> ATCC 13123	3.12	1.56	0.78	6.25	12.5
<i>C. perfringens</i> GM1006	3.12	1.56	1.56	$\leq 0.19$	3.12
<i>C. difficile</i> No. 11011	12.5	25	50	50	50
<i>C. difficile</i> TMS29	12.5	25	50	50	50
<i>C. tetani</i> TMS89	0.78	0.39	0.39	1.56	0.78

## 2. 臨床分離株の感受性分布

臨床材料から分離された *S. aureus* 24株, *S. epidermidis* 20株, *S. faecalis* 14株, *E. coli* 40株, *K. pneumoniae* 40株, *P. mirabilis* 20株, *P. vulgaris* 20株, *M. morgani* 20株, *P. rettgeri* 20株, *P. inconstans* 20株, *E. cloacae* 20株, *C. freundii* 8株, *S. marcescens* 20株, *P. aeruginosa* 20株, *P. cepacia* 12株, *P. maltophilia* 20株, *A. calcoaceticus* 20株, *A. xylooxidans* 10株, *A. faecalis* 8株, *F. meningosepticum* 7株, *B. fragilis* 27株の感受性分布を CTRX, CMX, CTX, LMOX, CAZ の5剤について比較した成績を Fig. 1~23 に示した。

*S. aureus* および *S. epidermidis* に対する CTRX は接種菌量  $10^6$  cells/ml で  $1.56 \sim 3.12 \mu\text{g/ml}$  にピークを有

し, LMOX, CAZ より抗菌力は強く, CMX, CTX より弱かった。

*S. faecalis* に対し, CTRX は他の4剤と同様抗菌力は弱く, MICは  $100 \mu\text{g/ml}$  以上であった。

*E. coli* に対する CTRX の抗菌力は強く,  $10^6$  cells/ml 接種において, 他剤と同様,  $0.39 \mu\text{g/ml}$  で全ての株の発育を阻止した。

*K. pneumoniae* に対する CTRX の抗菌力は  $10^6$  接種では他剤と比べ, 最も弱かったが,  $10^6$  cells/ml 接種では CMX, LMOX と同程度の抗菌力を示し, CAZ より強い傾向が認められた。

*P. mirabilis* に対する CTRX の MIC 分布は  $10^6$  cells/ml 接種で, 全ての株が  $0.05 \mu\text{g/ml}$  で発育を阻止さ

Fig. 1 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. aureus* 24 strains

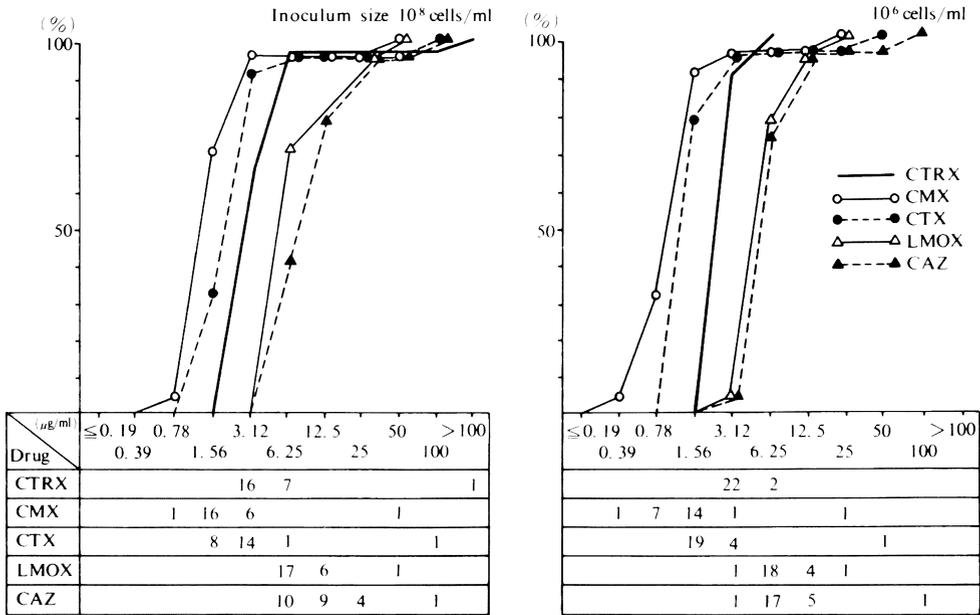


Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. epidermidis* 20 strains

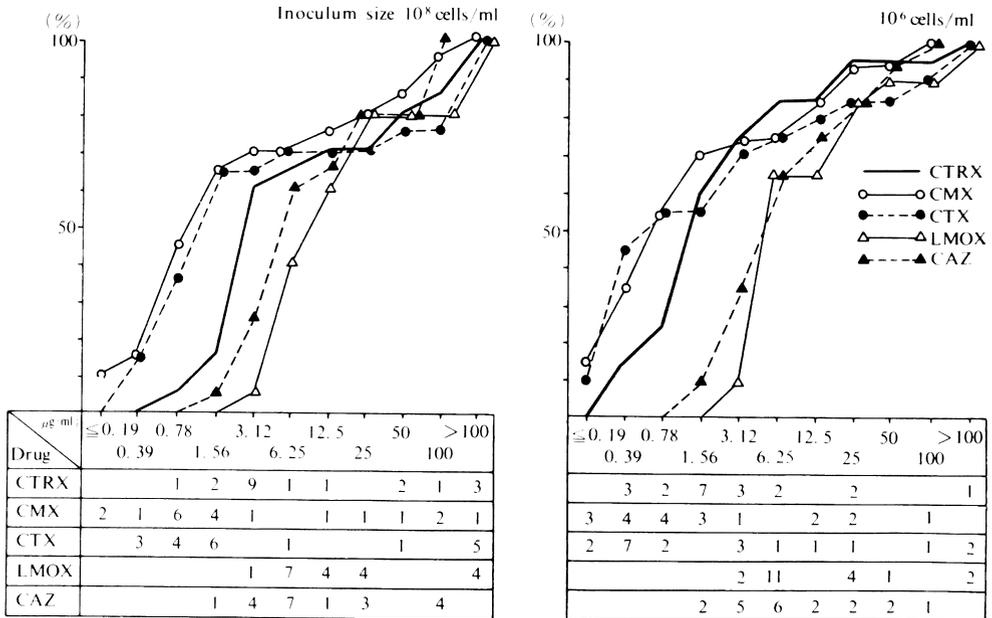






Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. vulgaris* 20 strains

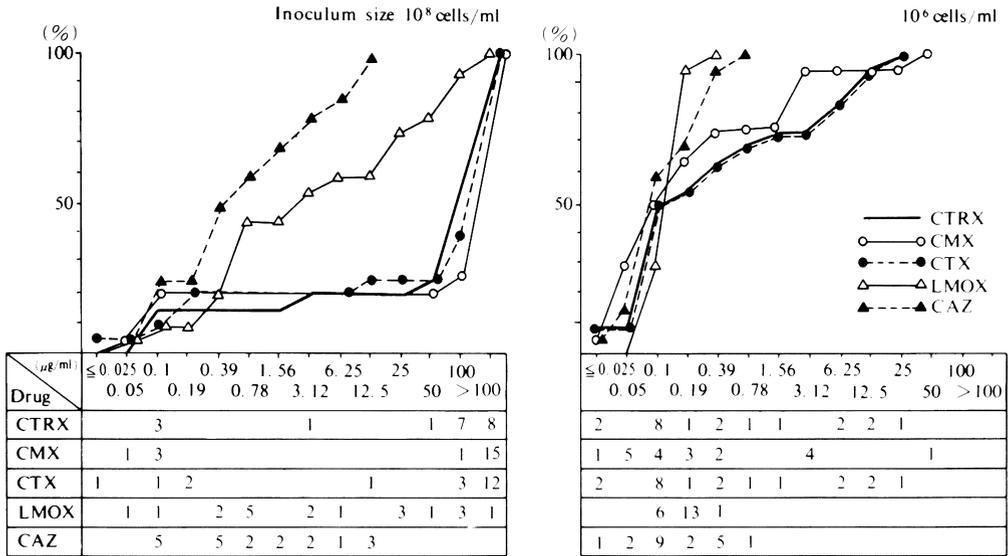


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates *M. Morganii* 20 strains

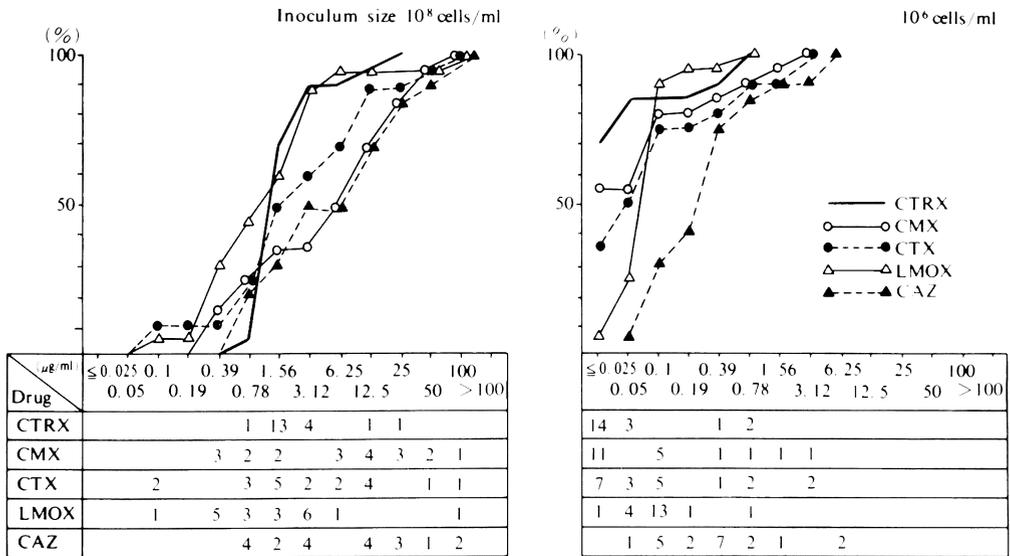






Fig. 13 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. marcescens* 20 strains

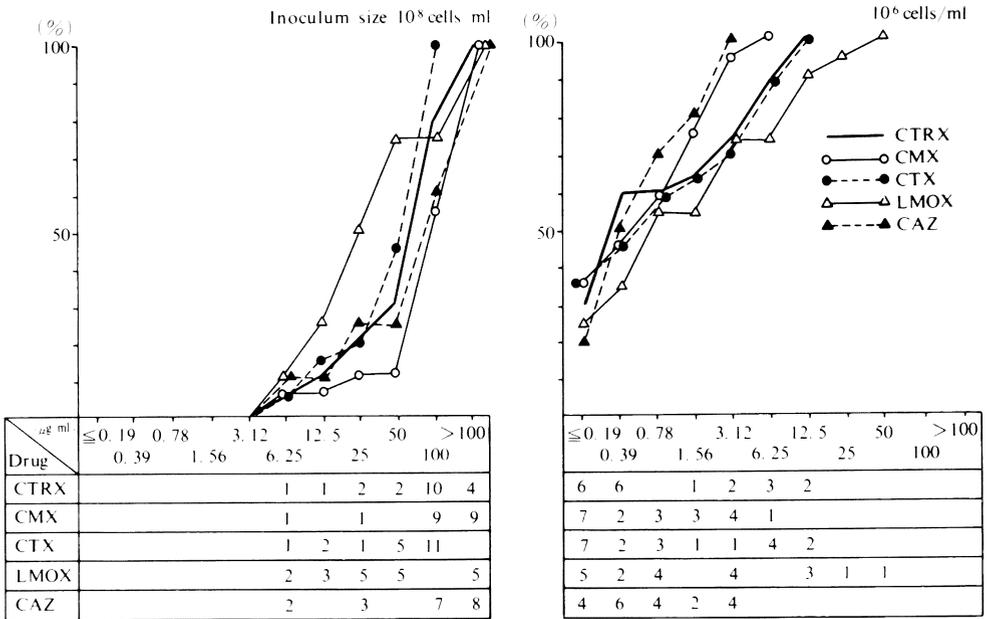


Fig. 14 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. aeruginosa* 20 strains

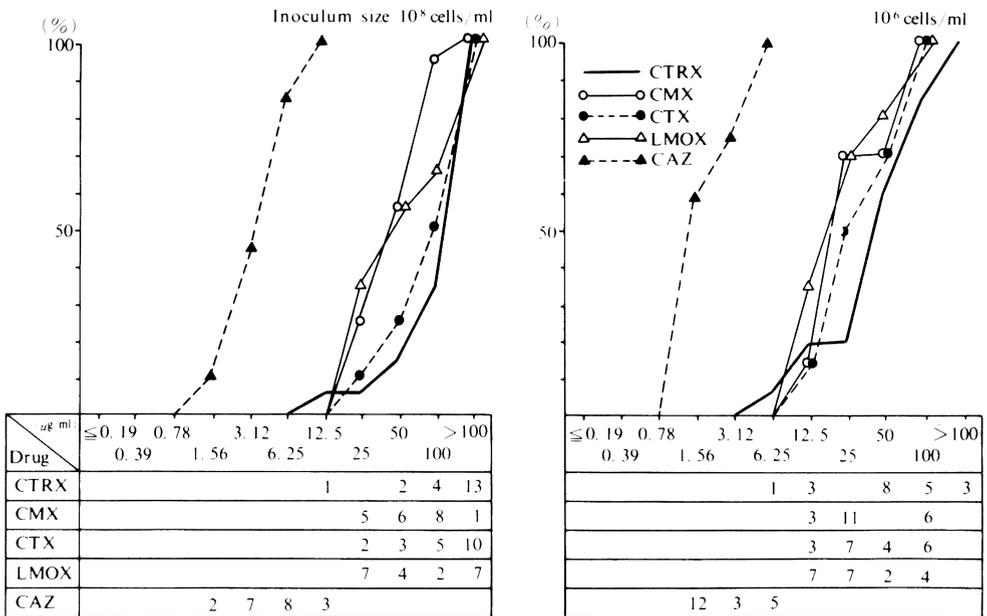


Fig. 15 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. cepacia* 12 strains

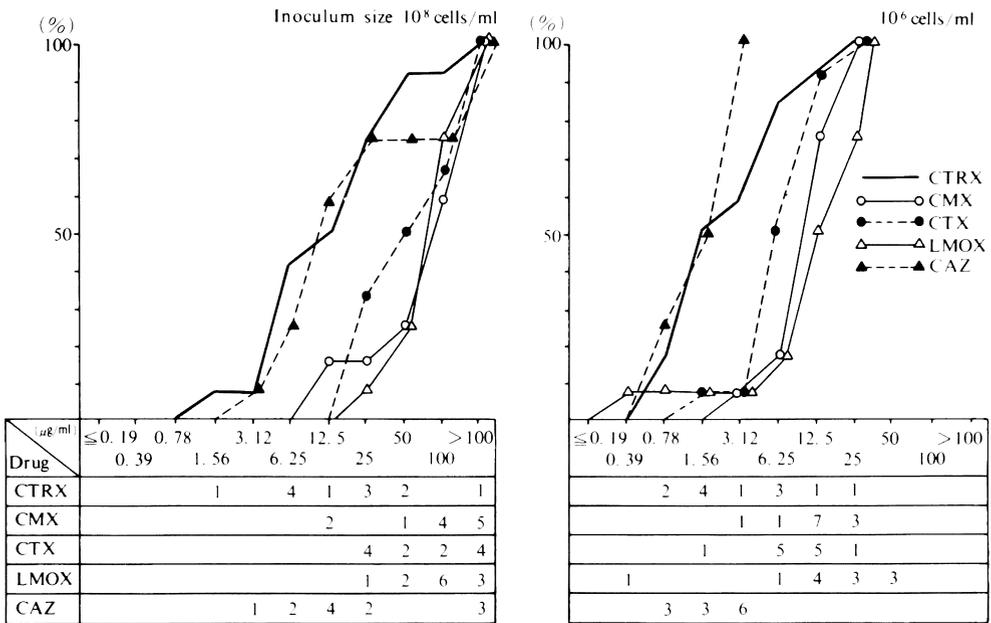


Fig. 16 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. maltophilia* 20 strains

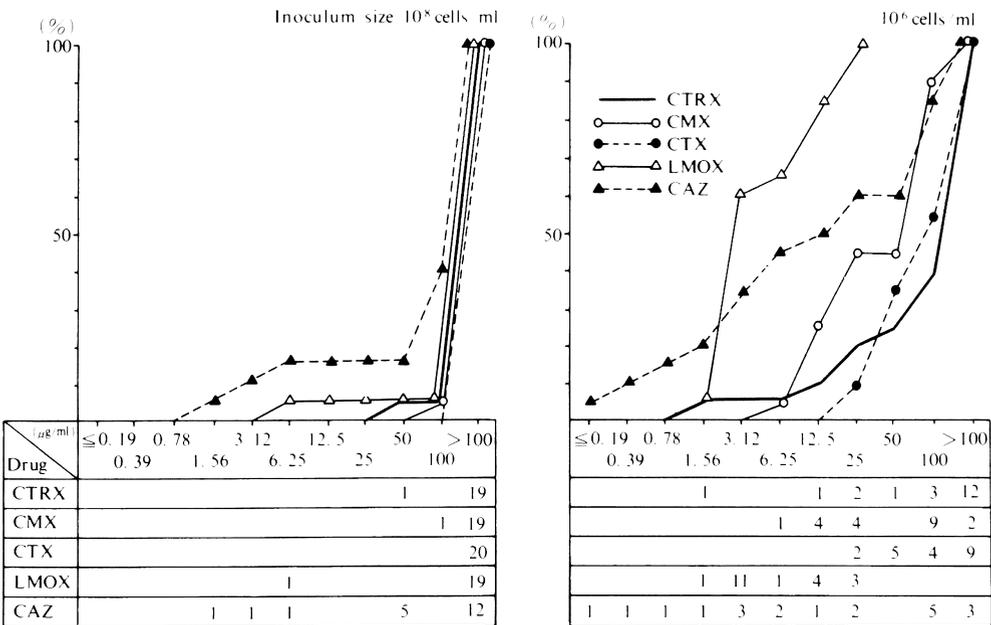


Fig. 17 Sensitivity distribution of clinical isolates *A. calcoaceticus* 20 strains

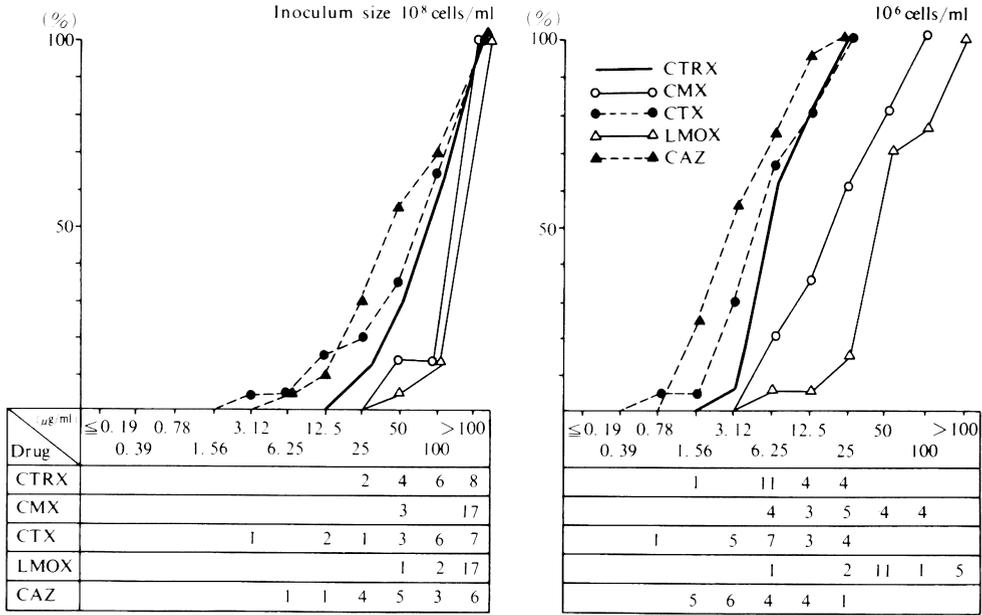


Fig. 18 Sensitivity distribution of clinical isolates *A. xylosoxidans* 10 strains

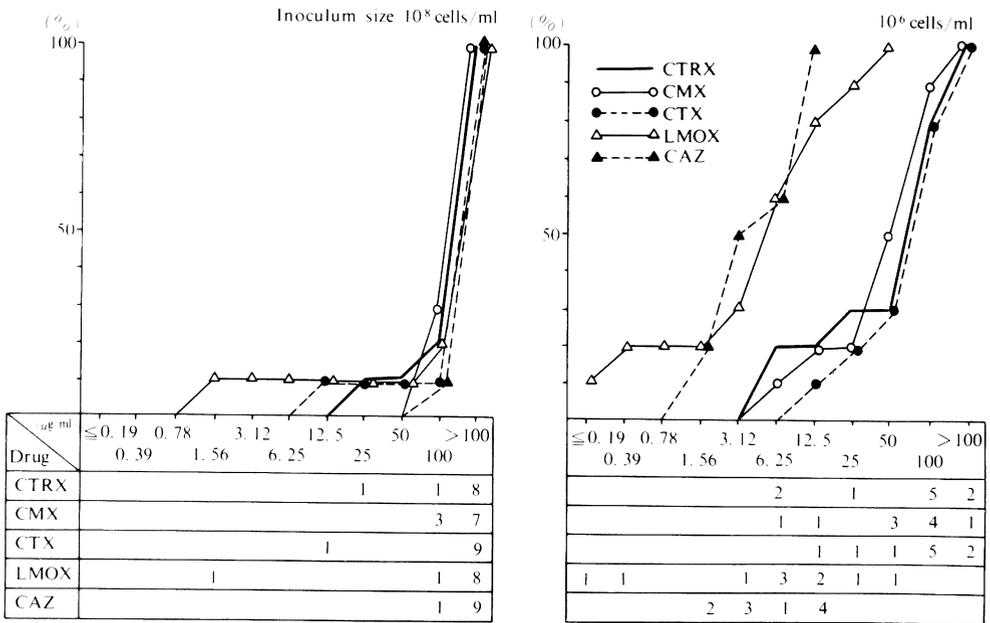
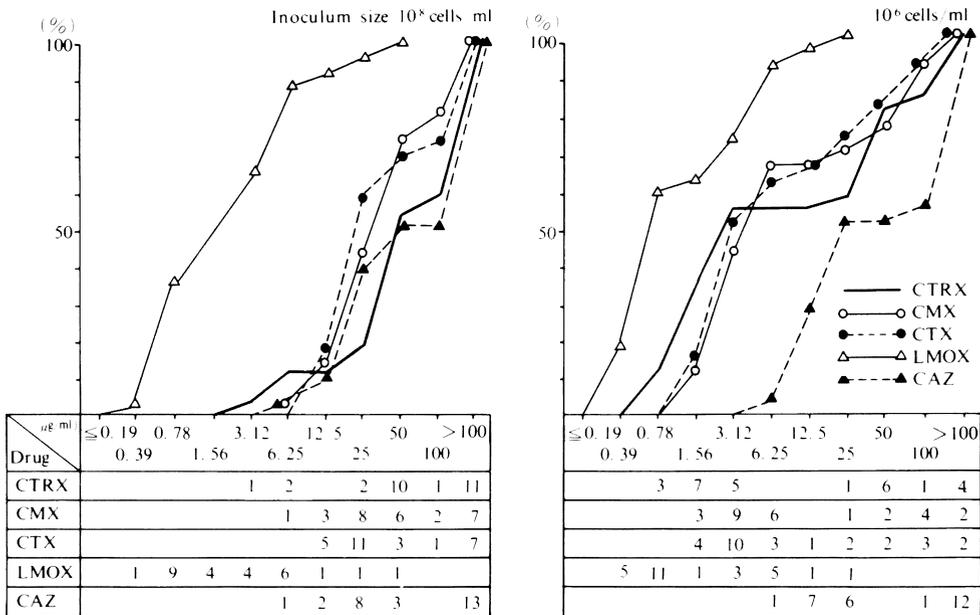




Fig. 21 Sensitivity distribution of clinical isolates *B. fragilis* 27 strains



れ、LMOX と同程度の抗菌力を示し、CMX, CTX, CAZ より強い。

*P. vulgaris* に対しては、CTRX は  $10^6$  cells/ml 接種で幅広い MIC 分布 ( $\leq 0.025 \sim 25 \mu\text{g/ml}$ ) を示し CTX とほぼ同程度の抗菌力であった。

*M. morgani*, *P. rettgeri*, *P. inconstans* において、 $10^6$  接種では CTRX はすべての菌株で  $0.78 \mu\text{g/ml}$  以下の MIC 分布を示し、他剤より強い。

*E. cloacae* に対し、CTRX は接種菌量  $10^6$  cells/ml において  $1.56 \mu\text{g/ml}$  ですべての菌株が阻止され、CMX より弱いが、LMOX, CTX とほぼ同程度であった。

*C. freundii* に対する CTRX の MIC 分布は幅広く  $\leq 0.19 \sim 25 \mu\text{g/ml}$  ( $10^6$  cells/ml 接種) を示し、LMOX, CMX より弱く、CTX, CAZ とほぼ同程度であった。

*S. marcescens* では接種菌量  $10^6$  cells/ml では CTRX の抗菌力は CAZ, CMX より弱いが、CTX と同程度で、LMOX より強いことが認められた。

*P. aeruginosa* に対する CTRX の抗菌力は弱く  $10^6$  cells/ml 接種において MIC のピークは  $50 \mu\text{g/ml}$  で CAZ, LMOX, CMX, CTX より抗菌力は弱かった。

*P. cepacia* では、接種菌量  $10^6$  cells/ml において、CTRX は CAZ よりわずかに抗菌力は弱く、CMX, CTX, LMOX より強いことが認められた。

*P. maltophilia* に対し、CTRX の抗菌力は弱く、80%

の菌株は  $100 \mu\text{g/ml}$  以上に分布していた。

*A. calcoaceticus* では CTRX の MIC のピークは  $6.25 \mu\text{g/ml}$  であり、ほぼ CTX と同程度で CAZ より弱く CMX, LMOX より強かった。

*A. xylosoxidans* に対して CTRX の抗菌力は弱く、接種菌量  $10^6$  cells/ml では、ほとんどの菌株は  $100 \mu\text{g/ml}$  以上に分布し、CMX, CTX と同程度で、LMOX, CAZ より劣っていた。

*A. faecalis* に対し、CTRX は  $10^6$  cells/ml 接種において、 $0.19 \mu\text{g/ml}$  ですべての菌株の発育を阻害し、CAZ, CTX, CMX よりすぐれた抗菌力を示した。

*F. meningosepticum* では CTRX は菌株の 80% が  $25 \mu\text{g/ml}$  以下で阻止され、他剤より強い抗菌力を示した。

*B. fragilis* の場合、接種菌量  $10^6$  cells/ml において CTRX の MIC 分布は  $0.39 \sim 100 \mu\text{g/ml}$  以上と幅広い分布を示し、CMX, CTX とほぼ同程度であった。

Fig. 22, 23 に各菌株の 80% および 50% 阻止濃度を示した。

CTRX は他剤と同様に、腸内細菌に強い抗菌力を示し、一方ブドウ糖非発酵菌のなかでは、*A. faecalis*, *P. cepacia* に特に強い抗菌力が認められた。

3. 殺菌作用

*E. coli* C11 株に対する CTRX, CMX, CTX, LMOX, CAZ の殺菌作用を検討した成績を Fig. 24~26 に示し

Fig. 22 80% Inhibition MICs against clinical isolates

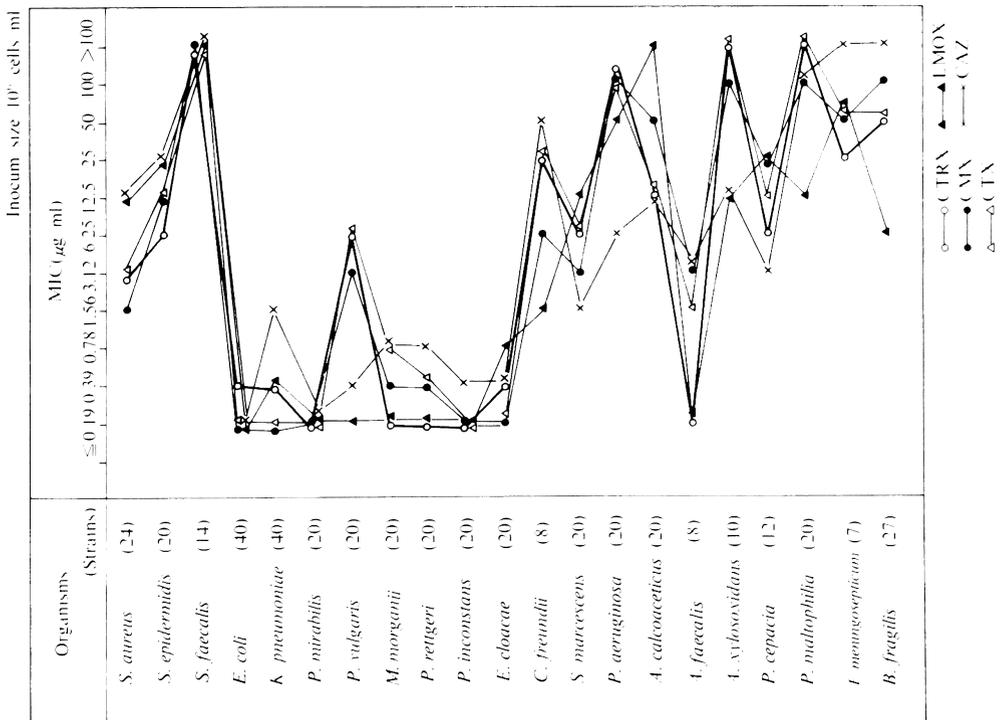


Fig. 23 50% Inhibition MICs against clinical isolates

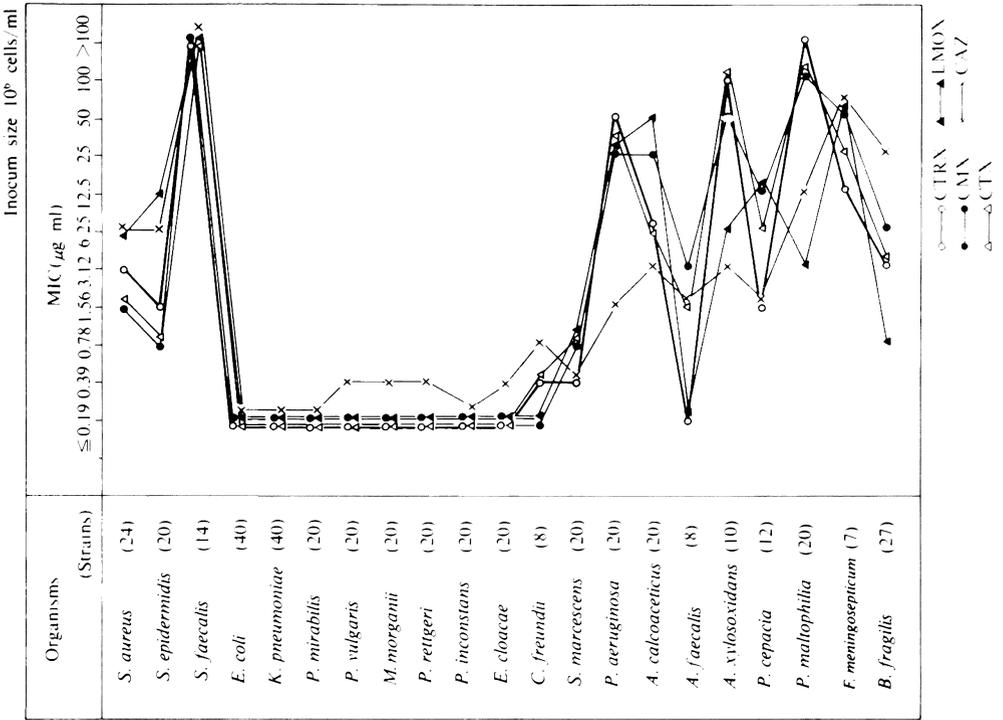


Fig. 24 Bactericidal activity of CTRX and CMX against *E. coli* C11

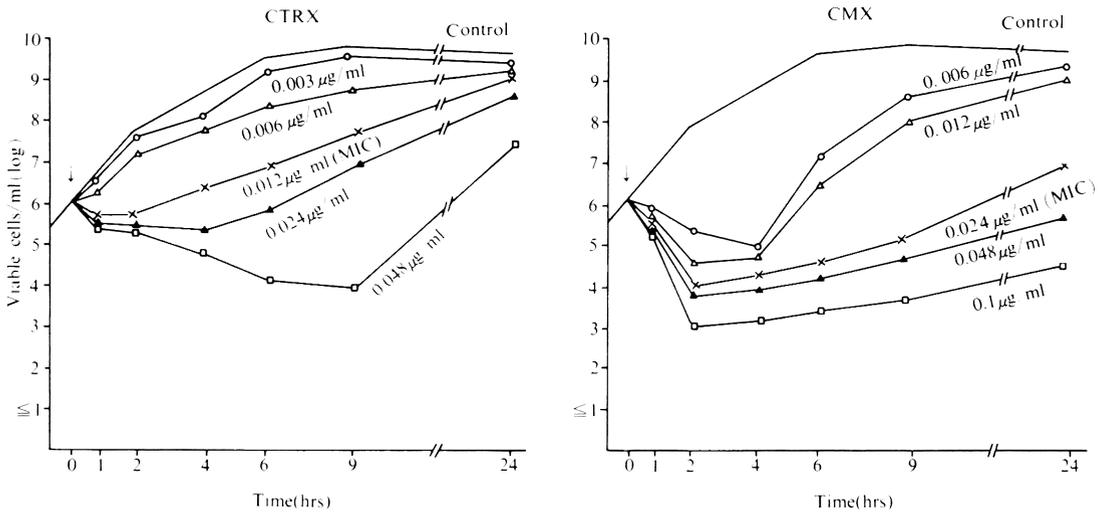
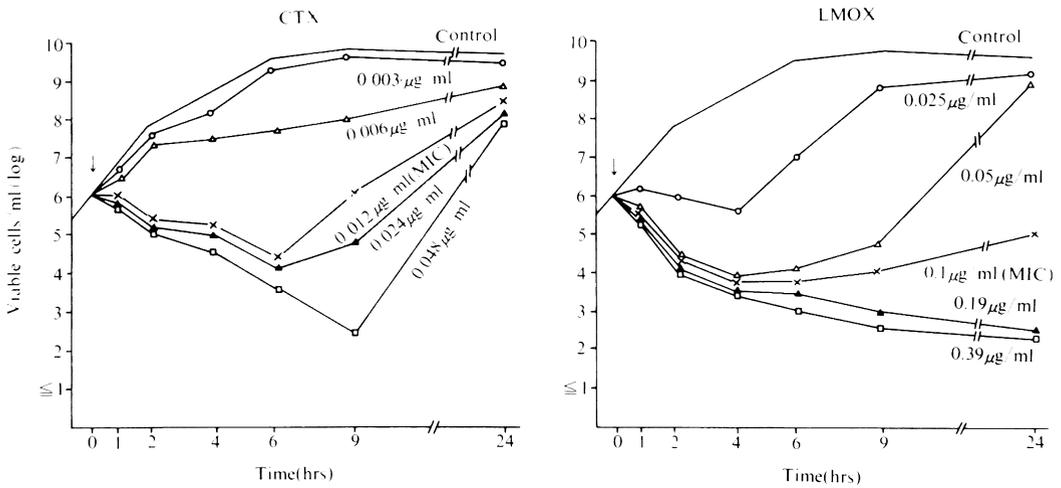


Fig. 25 Bactericidal activity of CTX and LMOX against *E. coli* C11



た

CTRX の殺菌作用は1MIC, 2MIC 添加でも著明な菌数の減少が認められず他剤に比べ殺菌作用は弱かった。

4. 菌の産生する不活化酵素に対する安定性

*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, *P. aeruginosa* No. 11, *B. fragilis* No. 19, *B. fragilis* No. 32, *B. fragilis* No. 48, *B. fragilis* No. 69, *B. fragilis* GM 7000, *B. fragilis* GM 7002, *B. fragilis* GM 7004 株よりそれぞれ得られた不活化酵素に対する CTRX の安定性を他の  $\beta$ -lactam 剤と比較した成績を Fig. 27,28 に示した。

CTRX は *E. coli*, *K. pneumoniae*, *C. freundii*, *E. cloacae*, *Protens* が産生する不活化酵素には安定であったか。 *S. marcescens*, *P. aeruginosa* および *B. fragilis* の

Fig. 26 Bactericidal activity of CAZ against *E. coli* C11

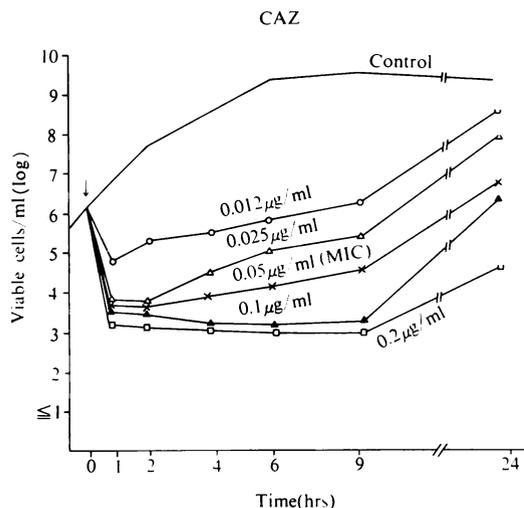


Fig. 27 Enzymatic stability of penicillins and cephalosporins

Drug	Incubation time 4hrs														
	<i>E. coli</i> 35	<i>E. coli</i> ML-1410 RGN-238	<i>E. coli</i> ML-1410 RGN-823	<i>E. coli</i> 121	<i>K. pneumoniae</i> GIN-69	<i>C. freundii</i> GIN-346	<i>E. cloacae</i> No. 91	<i>P. mirabilis</i> GIN-79	<i>P. vulgaris</i> GIN-76	<i>P. vulgaris</i> No. 9	<i>P. rettgeri</i> GIN-624	<i>P. inconstans</i> GIN-627	<i>S. marcescens</i> No. 78	<i>P. aeruginosa</i> No. 47	<i>P. aeruginosa</i> No. 11
PCG	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
ABPC	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CBPC	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CER	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CEX	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CFT	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CXD	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CCL	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CEZ	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CMD	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CFX	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CMZ	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CXM	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CTM	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CFS	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CTX	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CPZ	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CZX	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CMX	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
LMOX	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CTRX	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■

Fig. 28 Enzymatic stability of cephalosporins

Drug	Incubation time 4hrs						
	<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	■	■	■	■	■	■	■
CTT	■	■	■	■	■	■	■
CXM	■	■	■	■	■	■	■
CTM	■	■	■	■	■	■	■
CFS	■	■	■	■	■	■	■
CTX	■	■	■	■	■	■	■
CPZ	■	■	■	■	■	■	■
CZX	■	■	■	■	■	■	■
LMOX	■	■	■	■	■	■	■
CTRX	■	■	■	■	■	■	■

Potency (µg/ml) □ : 50 ■ : 50~35 ▨ : 35~20 ▩ : 20~2 ◼ : <2

産生する酵素には不安定であった。

5. マウス実験感染における防御効果

1) *E. coli* 感染

*E. coli* C11 株での成績を Table 5 に示した。

CTRX の ED<sub>50</sub>は0.00019mg/mouse を示し他剤より約6~13倍強い治療効果を示した。

2) *K. pneumoniae* 感染

*K. pneumoniae* 3K25 株を感染菌としたときの成績を Table 6 に示した。

CTRX の ED<sub>50</sub>は0.097mg/mouse を示し最も小さい値で、他剤より15~80倍すぐれた治療効果が認められた。

3) *S. marcescens* 感染

*S. marcescens* No. 2 株の成績を Table 7 に示した。

CTRX の MIC は CTX と同程度の0.78µg/ml にもかかわらず、ED<sub>50</sub>は0.016mg/mouse と CTX の ED<sub>50</sub>の約70分の1という小さい値を示し、CMX, LMOX, CAZ よりもはるかに治療効果は良好であった。

Table 5 Therapeutic effect of CTRX and related antibacterial drugs on experimental infection in mice  
*E. coli* C11

Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)	5% mucin	Administration			MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		ED <sub>50</sub> (mg/mouse)
			Route	Number	After the infection	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	
CTRX	$1.2 \times 10^4$	+	S.C.	1	1	0.19	0.05	0.00019 (0.00014 ~ 0.00025)
CMX	$1.2 \times 10^4$	+	S.C.	1	1	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	0.0012 (0.0007 ~ 0.0018)
CTX	$1.2 \times 10^4$	+	S.C.	1	1	0.78	$\leq 0.025$	0.00247 (0.00116 ~ 0.00526)
LMOX	$1.2 \times 10^4$	+	S.C.	1	1	0.05	$\leq 0.025$	0.00229 (0.00077 ~ 0.0018)
CAZ	$1.2 \times 10^4$	+	S.C.	1	1	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	0.00141 (0.00095 ~ 0.0020)

Strain: *E. coli* C11

(+: 5% mucin

MLD:  $1 \times 10^3$  (+) cfu/mouse Mice: ICR, 4W, M, 19  $\pm$  1g 6 animals/groupTable 6 Therapeutic effect of CTRX and related antibacterial drugs on experimental infection in mice  
*K. pneumoniae* 3K25

Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)	5% mucin	Administration			MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		ED <sub>50</sub> (mg/mouse)
			Route	Number	After the infection	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	
CTRX	$1.5 \times 10^6$	+	S.C.	1	1	50	0.19	0.097 (0.067 ~ 0.139)
CMX	$1.5 \times 10^6$	+	S.C.	1	1	6.25	0.78	1.55 (1.00 ~ 2.39)
CTX	$1.5 \times 10^6$	+	S.C.	1	1	25	0.19	4.983 (3.584 ~ 6.925)
LMOX	$1.5 \times 10^6$	+	S.C.	1	1	>100	0.19	7.910 (5.362 ~ 11.667)
CA7	$1.5 \times 10^6$	+	S.C.	1	1	12.5	0.39	1.23 (0.79 ~ 1.92)

Strain: *K. pneumoniae* 3K25

(+: 5% mucin

MLD:  $1 \times 10^3$  (+) cfu/mouse Mice: ICR, 4W, M, 19  $\pm$  1g 6 animals/group4) *P. aeruginosa* 感染

*P. aeruginosa* P1-21株の成績を Table 8 に示した。CTRX の ED<sub>50</sub> は CAZ より大きい値であるが、CMX, CTX, LMOX より小さい値を示した。

## 6. マウス血清中濃度

CTRX をマウスに 1mg/mouse, 0.5mg/mouse 皮下投与した時の血清中濃度を CMX, CTX, LMOX, CAZ と比較した成績を Fig. 29, 30 に示した。

CTRX 1mg/mouse, 0.5mg/mouse 投与における血

清中濃度のピークは、投与後5分でそれぞれ20 $\mu\text{g/ml}$ , 13 $\mu\text{g/ml}$ を示し、他剤より低いが、Fig. 30 に示したように、CTRX は他剤に比べ、持続時間が長いことが認められた。

## III. 考 察

CTRX はグラム陽性菌、グラム陰性菌にも有効で、特にグラム陰性菌に対し強く、そのうち *P. mirabilis*, *M. morganii*, *P. rettgeri*, *P. inconstans* にすぐれた抗菌力を

Table 7 Therapeutic effect of CTRX and related antibacterial drugs on experimental infection in mice  
*S. marcescens* No. 2

Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)	5% mucin	Administration			MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		ED <sub>50</sub> (mg/mouse)
			Route	Number	After the infection	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	
CTRX	$5 \times 10^6$	+	S.C.	1	1	100	0.78	0.016 (0.013 ~ 0.020)
CMX	$5 \times 10^6$	+	S.C.	1	1	>100	0.39	0.248 (0.166 ~ 0.370)
CTX	$5 \times 10^6$	+	S.C.	1	1	100	0.78	0.7763 (0.3854 ~ 1.5236)
LMOX	$5 \times 10^6$	+	S.C.	1	1	25	0.39	0.078 (0.051 ~ 0.118)
CAZ	$5 \times 10^6$	+	S.C.	1	1	>100	0.39	0.062 (0.042 ~ 0.090)

Strain: *S. marcescens* No. 2

(+): 5% mucin

MLD:  $1 \times 10^5$  (+) cfu/mouse

Mice: ICR, 4W, M,  $19 \pm 1\text{g}$  6 animals/group

Table 8 Therapeutic effect of CTRX and related antibacterial drugs on experimental infection in mice  
*P. aeruginosa* Pl-21

Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)	5% mucin	Administration			MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		ED <sub>50</sub> (mg/mouse)
			Route	Number	After the infection	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	
CTRX	$5.5 \times 10^5$	+	S.C.	1	1	12.5	6.25	0.50 (0.38 ~ 0.67)
CMX	$5.5 \times 10^5$	+	S.C.	1	1	6.25	6.25	2.46 (1.60 ~ 3.78)
CTX	$5.5 \times 10^5$	+	S.C.	1	1	12.5	6.25	5.27 (3.45 ~ 8.07)
LMOX	$5.5 \times 10^5$	+	S.C.	1	1	>100	6.25	1.30 (0.87 ~ 1.94)
CAZ	$5.5 \times 10^5$	+	S.C.	1	1	0.78	0.78	0.22 (0.15 ~ 0.32)

Strain: *P. aeruginosa* Pl-21

(+): 5% mucin

MLD:  $3.5 \times 10^5$  (+) cfu/mouse

Mice: ICR, 4W, M,  $19 \pm 1\text{g}$  6 animals/group

示し、ANNE<sup>49</sup>、NEU<sup>51</sup>、EICKHOFF<sup>50</sup>、HALL<sup>52</sup>らの成績とほぼ同様の結果であった。

グラム陽性菌に対する CTRX の抗菌力は *S. aureus*、*S. epidermidis* では、CTX、LMOX、CAZ より強く、NEU<sup>51</sup>らの報告と同様の結果が得られた。

ブドウ糖非発酵菌のうち、*A. faecalis*、*P. cepacia* に対し CTRX は他剤よりも強い抗菌力がみられた。

$\beta$ -lactamase 産生菌株であるグラム陰性菌10菌種15菌株から得られた粗酵素に対して CTRX は *S. marces-*

*cens*、*P. aeruginosa* の産生する不活化酵素以外の不活化酵素に安定であった。なお嫌気性菌 *B. fragilis* の産生する不活化酵素に対しては CTRX は他の cephalosporin と同様に不安定であり、ARISAWA<sup>53</sup>、SHANNON<sup>100</sup>らが報告している *B. fragilis* の産生する不活化酵素の成績と一致していた。

マウス実験感染では *E. coli* C11 株を用いた感染防御効果において、CTRX は他剤より MIC が大きく、かつ短時間内殺菌作用が弱いにもかかわらず、すぐれた治療効

Fig. 29 Serum levels of mice

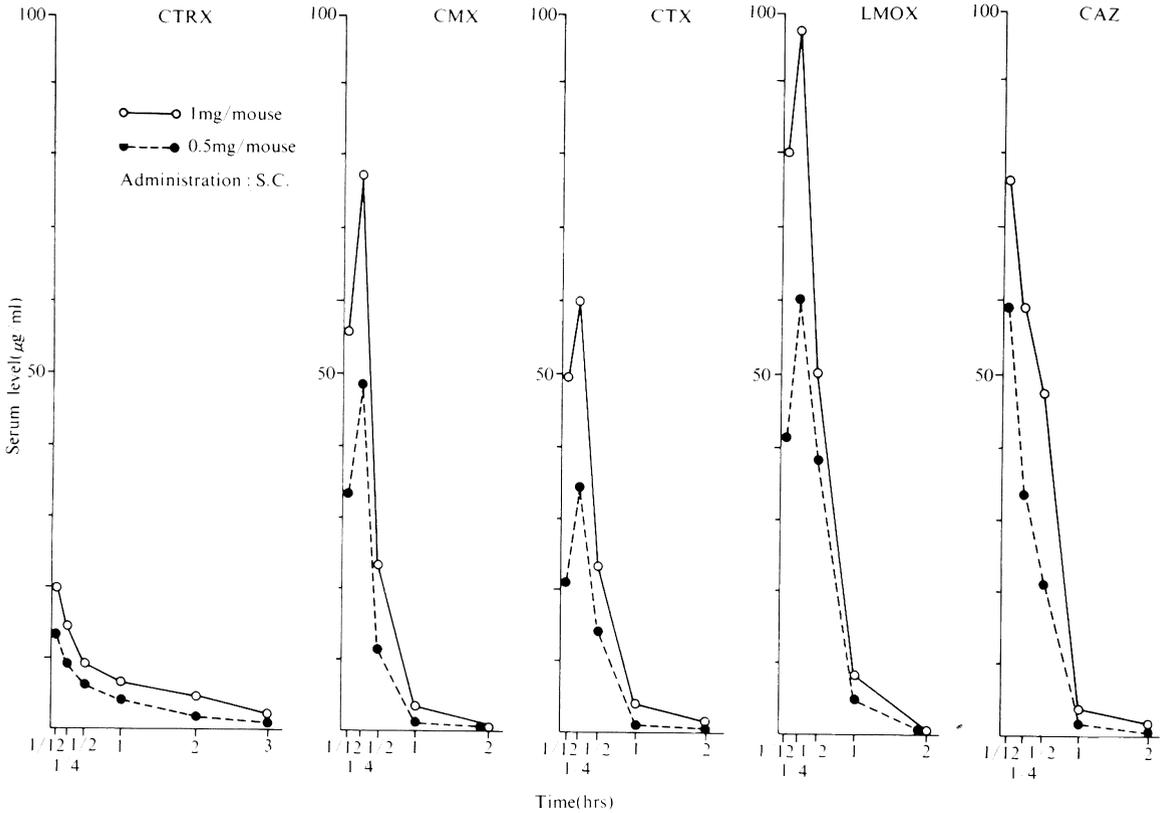
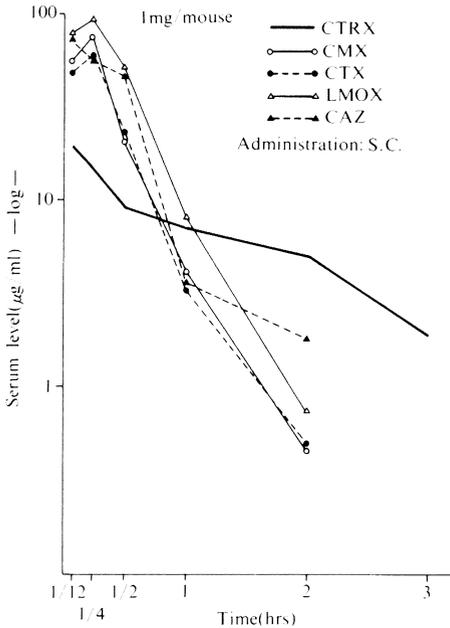


Fig. 30 Serum levels of mice



果が得られたが、この理由として CTRX のマウス血清中濃度が他剤より長く持続することに起因すると考えられた。

BESKID<sup>12)</sup>らの CTX より長く血清中濃度が持続するという報告からも裏付けられる。また *Klebsiella*, *Serratia* を用いた実験感染においても、*E. coli* の場合と同様、強い治療効果が認められ、CTRX の特徴である血清中濃度が長時間持続することは、他の多くの菌種に対しても良好な治療効果を期待できることが示唆された。

文 献

- 1) REINER, R.; U. WEISS, U. BROMBACHER, P. LANZ, M. MONTAVON, A. FURLLENMEIER, P. ANGEHRN & P. J. PROBST Ro13-9904/001, A novel potent and long-acting parenteral cephalosporin. *J. Antibiotics*. 33: 783~786, 1980
- 2) SHELTON, S.; J. D. NELSON & G. H. McCracken, JR: In vitro Susceptibility of Gram-negative bacilli from pediatric patients to moxalactam, cefotaxime, Ro 13-9904, and other cephalosporins. *Antimicrob. Agents Chemother.* 18: 476~479, 1980

- 3) ANNE, M. H. & G. P. BODEY : In vitro evaluation of Ro 13-9904. *Antimicrob. Agents Chemother.* 18 : 574~578, 1980
- 4) NEU, H. C. ; N. J. MEROPOL & K. P. FU : Antibacterial activity of ceftriaxone (Ro 13-9904), a  $\beta$ -lactamase-stable cephalosporin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 19 : 414~423, 1981
- 5) EICKHOFF, T. C. & J. EHRET: Comparative in vitro studies of Ro 13-9904, a new cephalosporin derivative. *Antimicrob. Agents Chemother.* 19 : 435~442, 1981
- 6) CLARKE, A. M. & S. J. V. ZEMCOV : Ro 13-9904 and GR 20263, two new cephalosporins with broad-spectrum activity : an in vitro comparison with other  $\beta$ -lactam antibiotics. *J. Antimicrob. Chemother.* 7 : 515~520, 1981
- 7) HALL, M. J. ; D. WESTMACOTT & P. WONG-KAI-IN : Comparative in vitro activity and mode of action of ceftriaxone (Ro 13-9904), a new highly potent cephalosporin. *J. Antimicrob. Chemother.* 8 : 193~203, 1981
- 8) ROLFE, R. D. & S. M. FINEGOLD : Comparative in vitro activity of ceftriaxone against anaerobic bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 22 : 338~341, 1982
- 9) ARISAWA, K. ; J. OHSHIMA, E. OHSAWA, H. B. MARUYAMA, Y. SEKINE & S. MITSUHASHI : Bacteriological comparison of the activities of ceftriaxone, a new long-acting cephalosporin, with those of other new cephalosporins. *Chem. Pharm. Bull.* 30 : 2544~2554, 1982
- 10) SHANNON, K. ; A. KING, C. WARREN & I. PHILLIPS : In vitro antibacterial activity and susceptibility of the cephalosporin Ro 13-9904 to  $\beta$ -lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.* 18 : 292~298, 1980
- 11) THEN, R. L. : Properties of Ro 13-9904 as a substrate and inhibitor of  $\beta$ -lactamases. *Chemotherapy* 27 : 25~31, 1981
- 12) BESKID, G. ; J. G. CHRISTENSON, R. CLEELAND, W. DELORENZO & P. W. TROWN : In vitro activity of ceftriaxone (Ro 13-9904), a new broad-spectrum semisynthetic cephalosporin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 20 : 159~167, 1981
- 13) GREENWOOD, D. & A. ELEY : Activity of a new cephalosporin antibiotic, Ro 13-9904, against dense populations of selected Enterobacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 19 : 66~71, 1981
- 14) ANGEHRN, P. ; P. J. PROBST, R. REINER & R. L. THEN : Ro 13-9904, a long-acting broad-spectrum cephalosporin : in vitro and in vivo studies. *Antimicrob. Agents Chemother.* 18 : 913~921, 1980
- 15) 日本化学療法学会 : 最小発育阻止濃度(MIC)の測定法再改定について。 *Chemotherapy* 29 : 76~79, 1981
- 16) 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

## BACTERIOLOGICAL EVALUATION ON A NEW CEPHEM ANTIBIOTIC, CEFTRIAOXONE (Ro 13-9904)

SACHIKO GOTO, MASATOSHI OGAWA, YASUKO KANEKO, SHUICHI MIYAZAKI,  
AKIYOSHI TSUJI and SHOGO KUWAHARA

Department of Microbiology, School of Medicine, Tohhoh University

A new cephem antibiotic, ceftriaxone (CTRX, Ro 13-9904), was compared with cefmenoxime (CMX), cefotaxime (CTX), latamoxef (LMOX) and ceftazidime (CAZ) about *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities. Following results were obtained.

Against gram-positive bacteria as *S. aureus* and *S. epidermidis*, CTRX showed a stronger antibacterial activity than CAZ and LMOX, while its antibacterial activity against Gram-negative bacteria was strong equally to other drugs. It was effective also against anaerobic bacteria, *B. fragilis*. CTRX was stable as other cephem drugs towards unpurified enzymes obtained from 10 strains of 15 sorts of bacteria producing  $\beta$ -lactamase which belonged to I to V types of Richmond's classification, while it was slightly unstable against inactivating enzyme produced by *B. fragilis*.

In experimental infections in mice, the ED<sub>50</sub> value of CTRX was smaller and its life-time in the serum was longer than those of CMX, CTX, LMOX and CAZ.