新しいセフェム系抗生物質 Ceftriaxone (Ro 13-9904)に関する細菌学的評価

西野武志・大槻雅子・千田尚人・谷野輝雄
京都薬科大学微生物学教室

要　　約

新しく開発されたセフェム系抗生物質ceftriaxone(CTRX, Ro 13-9904)に関する細菌学的評価を既知抗生物質と比較検討した。

CTRXの抗菌スペクトラムは比較薬として用いたcefotaxime (CTX)と同様，グラム陽性菌，陰性菌に幅広く分布し，その抗菌力もCTXとほぼ同等であった。CTRXは *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Serratia marcescens* に対して作用濃度に応じた殺菌作用を示した。しかし，MICと3時間MLC(99.9%殺菌に要する濃度)の間には大きな差が認められ *in vitro* では接種菌量により，抗菌力が変化した。マウス実験的感染症に対するCTRXの効果は，使用した菌株全てにおいて，CTXより優れた効果を示した。また，*in vivo* における接種菌量と治療効果について検討を行ったところ，CTRXの菌量による治療効果の低下度は小さかった。CTRXはペニシリン結合蛋白質中，PBP 3に対して最も親和性が高かった。

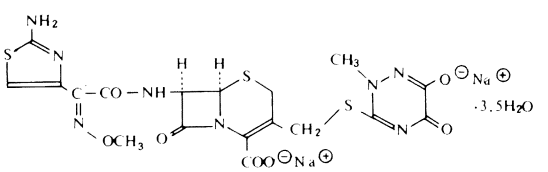
はじめに

Ceftriaxone (CTRX, Ro 13-9904)は新しく開発された注射用セフェム系抗生物質で，Fig. 1に示す構造式を有している。化学名は(Z)-(6R, 7R)-7-〔2-(2-amino-4-thiazolyl-2-(methoxyimino) acetamido〕-3-{〔(2, 5-dihydro-6-hydroxy-2-methyl-5-oxo-as-triazin-3-yl) thio〕methyl}-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo-〔4,2,0〕oct-2-ene-2-carboxylic acid disodium saltで分子式 $C_{18}H_{16}O_7N_8S_3Na_2 \cdot 3.5H_2O$, 分子量661.59の帯微黄白色の粉末である[1,2]。

本薬はグラム陽性菌，陰性菌に幅広い抗菌スペクトラムを有し，*Proteus vulgaris, Pseudomonas cepacia, Bacteroides fragilis* 以外が産生する β-lactamaseに対して安定であり，血中半減期が長いと報告されている[3~6]。

今回，われわれはCTRXの細菌学的評価を既知cefotaxime (CTX)[7]，cefotiam (CTM)[8]を比較薬として検討したので報告する。

Fig. 1 Chemical structure of CTRX



I．実験材料および実験方法

1．使用菌株および使用薬

教室保存の標準株と臨床分離株を用いた。Ceftriaxone (CTRX, Ro 13-9904), cefotaxime (CTX), cefotiam (CTM), cefazolin (CEZ), cefmetazole (CMZ), latamoxef (LMOX), ceftizoxime (CZX)はいずれも力価の明らかな標品を用いた。

2．感受性測定法

前培養にtryptosoya broth (TSB,ニッスイ)，感受性測定用培地にheart infusion agar (HIA,ニッスイ)を用い，日本化学療法学会感受性測定法[9]に従って行った。なお，*Streptococcus* 属，*Corynebacterium diphtheriae* には10%馬脱繊維血液を添加した同培地を，*Haemophilus influenzae* には3%Fildes enrichment (Difco)を添加した同培地を用いて測定した。また，*Bacteroides* 属，*Clostridium* 属にはGAM agar（ニッスイ）を用い，嫌気性菌の最小発育阻止濃度(MIC)測定法[10]に従って測定した。*Neisseria* 属には1%の割合にサプリメントを加えたGonococcus medium（栄研）を用い，37℃，48時間ローソク培養後のMICを求めた。

3．殺菌作用

Heart infusion broth（HIB，ニッスイ）で増殖させた対数期の菌に，種々の濃度の薬を作用させ，作用4時間

Table 1 Antibacterial spectra of CTRX, CTX and CTM

Gram-positive bacteria (10^8 cells/ml)

Organisms	CTRX	CTX	CTM
Staphylococcus aureus 209-P JC	3.13	1.56	0.39
〃 Smith	6.25	1.56	0.78
〃 Terajima	6.25	1.56	0.78
〃 Neumann	6.25	1.56	0.78
〃 E-46	3.13	1.56	0.39
〃 No. 80 (PC^r)	3.13	1.56	1.56
Staphylococcus epidermidis	25	6.25	1.56
Streptococcus pyogenes S-23	0.025	0.012	0.05
〃 Cook	0.05	0.025	0.05
〃 C-203	0.012	0.012	0.05
Streptococcus faecalis	>100	>100	>100
Streptococcus viridans	>100	>100	>100
Streptococcus pneumoniae type I	0.025	0.025	0.10
〃 type II	0.025	0.012	0.10
〃 type III	0.025	0.025	0.10
Micrococcus luteus ATCC 9341	0.10	0.05	0.20
Bacillus subtilis ATCC 6633	3.13	3.13	0.39
Bacillus anthracis	12.5	12.5	1.56
Corynebacterium diphtheriae	1.56	1.56	0.78

MIC (μg/ml)

Table 2 Antibacterial spectra of CTRX, CTX and CTM

Gram-negative bacteria (10^8 cells/ml)

Organisms	CTRX	CTX	CTM
Neisseria gonorrhoeae	≦0.0015	0.006	0.025
Neisseria meningitidis	≦0.0015	0.003	0.05
Escherichia coli NIHJ JC-2	0.10	0.20	0.20
〃 NIH	0.05	0.025	0.10
〃 K-12	0.012	0.012	0.10
Citrobacter freundii NIH 10018-68	25	12.5	50
Salmonella typhi T-287	0.05	0.025	0.05
〃 O-901	0.012	0.012	0.05
Salmonella paratyphi A	0.025	0.012	0.05
〃 B	0.025	0.012	0.05
Salmonella enteritidis	0.20	0.10	0.20
Shigella dysenteriae EW-7	0.05	0.025	0.10
Shigella flexneri 2a EW-10	0.05	0.025	0.10
Shigella boydii EW-28	0.05	0.025	0.10
Shigella sonnei EW-33	0.025	0.025	0.10
Klebsiella pneumoniae KC-1	0.025	0.025	0.10
〃 NCTC 9632	0.025	0.025	0.10
Enterobacter cloacae NCTC 9394	0.39	0.39	>100
Enterobacter aerogenes	0.10	0.10	>100
〃 NCTC 10006	0.39	0.39	>100
Hafnia alvei NCTC 9540	1.56	0.78	>100
Serratia marcescens IFO 3736	0.20	0.20	>100
Proteus vulgaris OX-19	3.13	3.13	>100
Proteus mirabilis 1287	0.003	0.003	0.20
Proteus morganii Kono	0.78	12.5	>100
Proteus rettgeri NIH 96	6.25	100	>100
Proteus inconstans NIH 118	3.13	0.39	>100
Pseudomonas aeruginosa No. 12	>100	50	>100
〃 Nc-5	25	25	>100
Pseudomonas maltophilia ATCC 13637	>100	>100	>100

MIC (μg/ml)

後までの生菌数を測定した。

4．MIC と MLC

最小発育阻止濃度測定用培地から経時的に薬剤無添加の平板にレプリカを行い，3，6，20時間後に接種時の菌を99.9%殺菌するに要する濃度(MLC)を求めた。

5．接種菌量の影響

抗菌力に及ぼす接種菌量の影響を HIB を用い，液体希釈法により検討した。すなわち，培地中に接種する菌数を種々の割合に調整した後 MIC を測定し，その値の変動により判断した。また，HIB 中で増殖させた対数期の菌に薬を作用させ，生菌数を測定することにより，接種菌量と殺菌効果の関連性を検討した。

6．マウス実験的感染症に対する治療効果

ddY 系雄性マウス（体重 18±1 g）1群10匹を用い，6%gastric mucin (Orthana-Kemisk-Fabrik A／S)と

Table 3 Antibacterial spectra of CTRX, CTX and CTM

Anaerobic bacteria (10^8 cells/ml)

Organisms	CTRX	CTX	CTM
Clostridium tetani	1.56	1.56	0.78
Clostridium perfringens	6.25	6.25	12.5
Clostridium spologenes	1.56	3.13	0.78
Bacteroides fragilis GM 7000	25	12.5	200
〃 ATCC 25285	50	25	200
〃 V-240-2	>200	>200	>200
〃 V-283	>200	200	>200
Bacteroides thetaiotaomicron 5600	>200	>200	>200
Bacteroides distasonis clin-99-3	25	25	200
Bacteroides vulgatus ES-14	12.5	25	200
Bacteroides ovatus Ju-6-1	50	25	200

MIC (μg/ml)

Table 4 Antibacterial spectra of CTRX, CTX and CTM

Gram-positive bacteria (10^6 cells/ml)

Organisms	CTRX	CTX	CTM
Staphylococcus aureus 209-P JC	1.56	1.56	0.20
〃 Smith	6.25	1.56	0.39
〃 Terajima	6.25	1.56	0.39
〃 Neumann	3.13	1.56	0.78
〃 E-46	3.13	0.78	0.39
〃 No. 80 (PC^r)	3.13	1.56	0.39
Staphylococcus epidermidis	12.5	3.13	0.78
Streptococcus pyogenes S-23	0.025	0.012	0.05
〃 Cook	0.025	0.012	0.05
〃 C-203	0.012	<0.012	0.025
Streptococcus faecalis	50	100	>100
Streptococcus viridans	100	>100	>100
Streptococcus pneumoniae type I	0.025	0.012	0.10
〃 type II	0.012	0.012	0.05
〃 type III	0.025	0.012	0.05
Micrococcus luteus ATCC 9341	0.10	0.025	0.20
Bacillus subtilis ATCC 6633	1.56	0.39	0.20
Bacillus anthracis	6.25	12.5	0.78
Corynebacterium diphtheriae	1.56	0.78	0.78

MIC (μg/ml)

等量混合した菌液をマウス腹腔内に接種し，接種2時間後に1回皮下治療を行った。7日目の生存率からLITCHFIELD-WILCOXON法[11]によりED$_{50}$(mg/mouse)およびその95%信頼限界値を算出し，治療効果として示した。

7．ペニシリン結合蛋白質(PBPs)への親和性

B. G. SPRATTの方法[12]により*Escherichia coli* K-12の膜画分を調製し，〔^{14}C〕benzylpenicillin (PCG)とのコンペティションにより各PBPsへのCTRXの親和性を検討した。X線フィルム上の〔^{14}C〕PCGによる感光度はDUAL-WAVELENGTH TLC SCANNERS-90 (Shimadzu)で測定し，この値から50%阻害濃度を求めた。

II．実 験 結 果

1．抗菌スペクトラム

教室保存のグラム陽性菌，陰性菌に対する試験管内抗菌力を測定した結果をTable 1～6に示した。Table 1, 2, 3は10^8cells/ml, Table 4, 5, 6は10^6cells/ml接種時の成績を示している。CTRXはCTX, CTM同様，グラム陽性菌，陰性菌に広範囲に抗菌力を有していた。CTRXの抗菌力はCTXとほぼ同等であり，グラム陽性菌ではCTMに若干劣るようであったが，グラム陰性菌に対してはCTMより優れた抗菌力を示した。しかし，*Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas maltophilia*に対する感受性は他のグラム陰性菌に比べ低かった。

2．臨床分離株に対する感受性分布

臨床分離株に対する感受性分布と累積分布を10^8 cells/mlと10^6cells/mlについて検討した結果をFig. 2～27に示した。

1）*Staphylococcus aureus*の場合

Fig. 2, 3に示すように10^8cells/mlではCTRXは3.13 μg/ml, CTXは1.56μg/ml, CTMは0.78μg/mlにピークを有する1峰性の分布を示し，CTRXは他の2薬に比べ抗菌力が弱かった。10^6cells/mlでも同傾向を示した。

2）*Escherichia coli*の場合

Fig. 4, 5に示す結果を得た。すなわち，10^8cells/ml,

Table 5 Antibacterial spectra of CTRX, CTX and CTM

Gram-negative bacteria (10^6 cells/ml)

Organisms	CTRX	CTX	CTM
Neisseria gonorrhoeae	≦0.0015	0.003	0.025
Neisseria meningitidis	≦0.0015	≦0.0015	0.025
Escherichia coli NIHJ JC-2	0.05	0.05	0.05
〃 NIH	0.025	0.012	0.025
〃 K-12	0.012	0.012	0.05
Citrobocter freundii NIH 10018-68	0.20	0.10	0.20
Salmonella typhi T-287	0.05	0.012	0.025
〃 O-901	0.012	0.012	0.05
Salmonella paratyphi A	0.025	0.012	0.05
〃 B	0.025	0.012	0.025
Salmonella enteritidis	0.05	0.05	0.05
Shigella dysenteriae EW-7	0.05	0.025	0.05
Shigella flexneri 2a EW-10	0.025	0.025	0.05
Shigella boydii EW-28	0.025	0.012	0.05
Shigella sonnei EW-33	0.025	0.025	0.05
Klebsiella pneumoniae KC-1	0.025	0.025	0.10
〃 NCTC 9632	0.012	0.025	0.10
Enterobacter cloacae NCTC 9394	0.20	0.10	1.56
Enterobacter aerogenes	0.025	0.012	0.10
〃 NCTC 10006	0.20	0.10	1.56
Hafnia alvei NCTC 9540	0.20	0.10	0.78
Serratia marcescens IFO 3736	0.05	0.10	6.25
Proteus vulgaris OX-19	0.003	0.006	12.5
Proteus mirabilis 1287	<0.0016	<0.0016	0.20
Proteus morganii Kono	0.012	0.025	1.56
Proteus rettgeri NIH 96	3.13	12.5	0.39
Proteus inconstans NIH 118	0.10	0.20	3.13
Pseudomonas aeruginosa No. 12	25	25	>100
〃 Nc-5	1.56	0.78	>100
Pseudomonas maltophilia ATCC 13637	100	50	>100

MIC (μg/ml)

Table 6 Antibacterial spectra of CTRX, CTX and CTM

Anaerobic bacteria (10^6 cells/ml)

Organisms	CTRX	CTX	CTM
Clostridium tetani	0.20	0.20	0.20
Clostridium perfringens	3.13	3.13	6.25
Clostridium spologenes	1.56	1.56	0.78
Bacteroides fragilis GM 7000	1.56	0.78	12.5
〃 ATCC 25285	6.25	3.13	50
〃 V-240-2	200	200	200
〃 V-283	100	50	200
Bacteroides thetaiotaomicron 5600	>200	200	200
Bacteroides distasonis clin-99-3	6.25	6.25	100
Bacteroides vulgatus ES-14	6.25	6.25	25
Bacteroides ovatus Ju-6-1	25	25	100

MIC (μg/ml)

10^6cells／ml いずれの接種時にも CTRX は CTX とほぼ同様の分布を示し，CTM に比べ良好な感受性を示した。

3）*Klebsiella pneumoniae* の場合

Fig. 6, 7に示すようにCTRXはCTXと同様10^8cells／ml で0.10μg／ml，10^6cells／ml で0.05μg／ml にピークを有する分布を示し，CTM に比べ良好な成績を示した。接種菌量が異なっても，同様の傾向であった。

4）*Enterobacter* spp. の場合

Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae の場合，Fig. 8～11 に示す結果を得た。10^8cells／ml ではほとんどの株が CTM に耐性であった。CTRX は 0.10 μg／ml から＞100 μg／ml に感受性を示し，CTX とほぼ同様の結果であった。10^6cells／ml では CTRX, CTX の感性化に比べ，CTM の感性化が著しかったが，3 者間の傾向は 10^6cells／ml と同様であった。

5）*Serratia marcescens* の場合

Fig. 12, 13に示すように10^8cells／ml 接種時の CTRX の感受性は 0.2 μg／ml から＞100 μg／ml にあり，CTX とほぼ同等の抗菌力を示した。一方，CTM では全株が耐性を示し，CTRX, CTX が優れた抗菌力を有していた。また，10^6cells／ml では CTM の感性化が著し

Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates *Staphylococcus aureus* 43 strains (10^8 cells/ml)

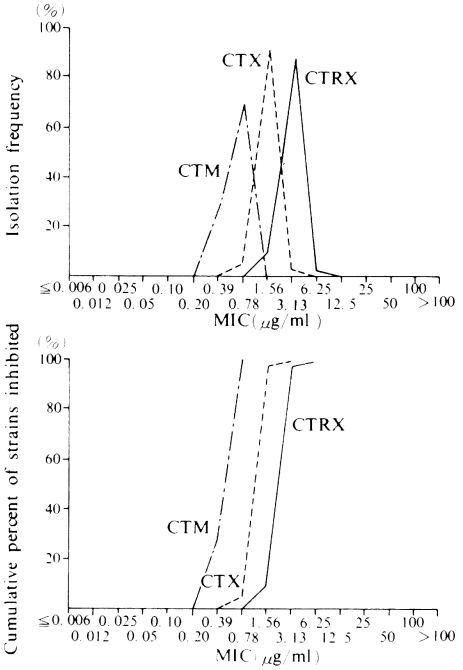


Fig. 3 Sensitivity distribution of clinical isolates *Staphylococcus aureus* 43 strains (10^6 cells/ml)

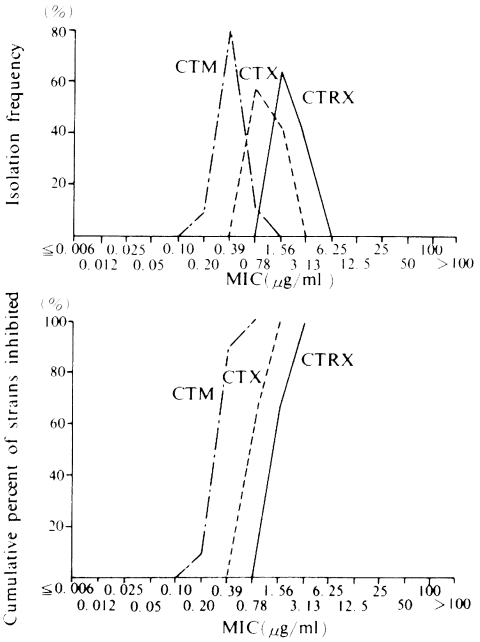


Fig. 4 Sensitivity distribution of clinical isolates *Escherichia coli* 53 strains (10^8 cells/ml)

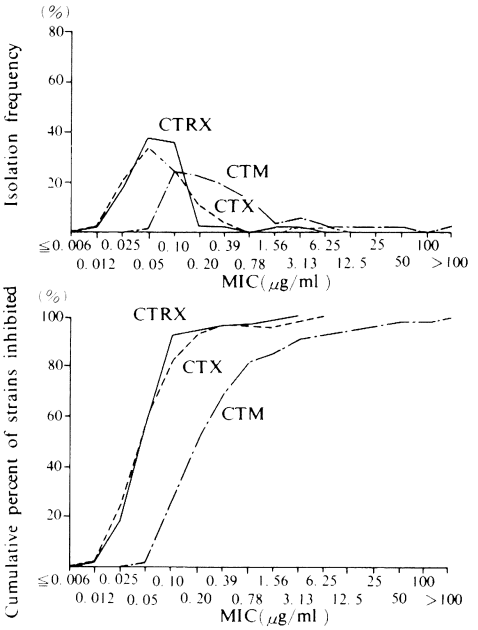


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates *Escherichia coli* 53 strains (10^6 cells/ml)

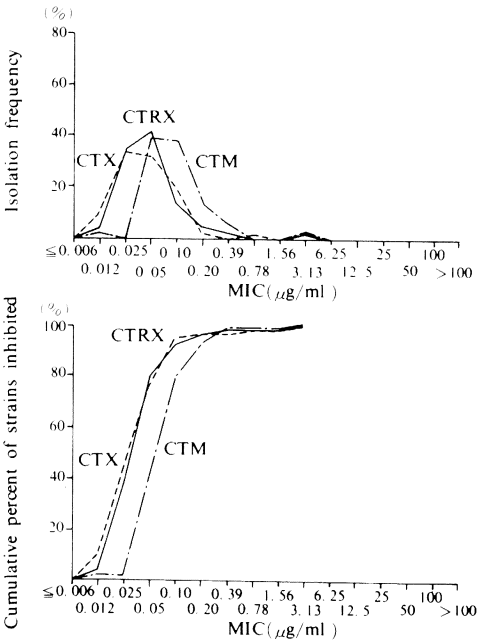


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates *Klebsiella pneumoniae* 40 strains (10^8 cells/ml)

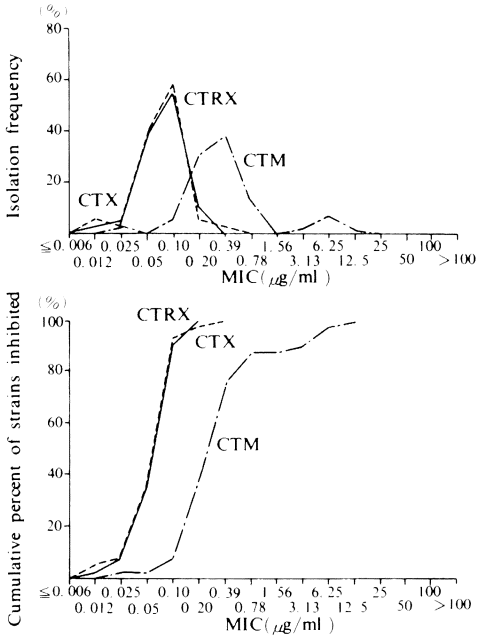


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates *Klebsiella pneumoniae* 40 strains (10^6 cells/ml)

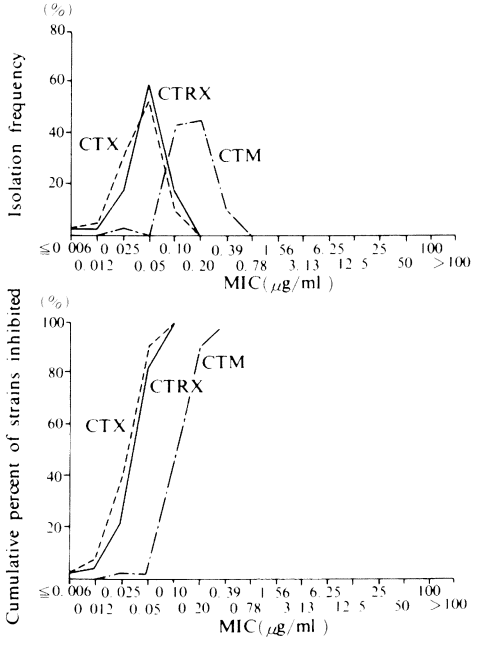


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates *Enterobacter aerogenes* 22 strains (10^8 cells/ml)

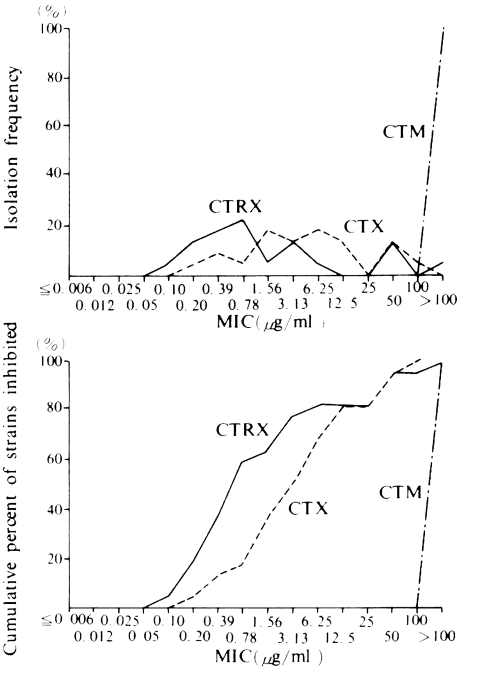


Fig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates *Enterobacter aerogenes* 22 strains (10^6 cells/ml)

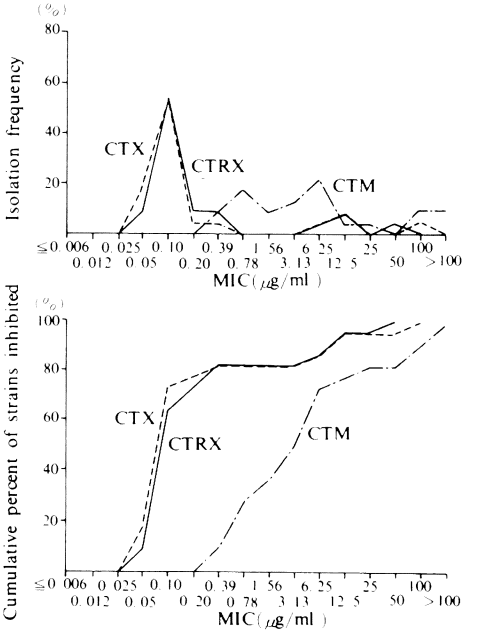


Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates *Enterobcter cloacae* 22 strains (10^8 cells/ml)

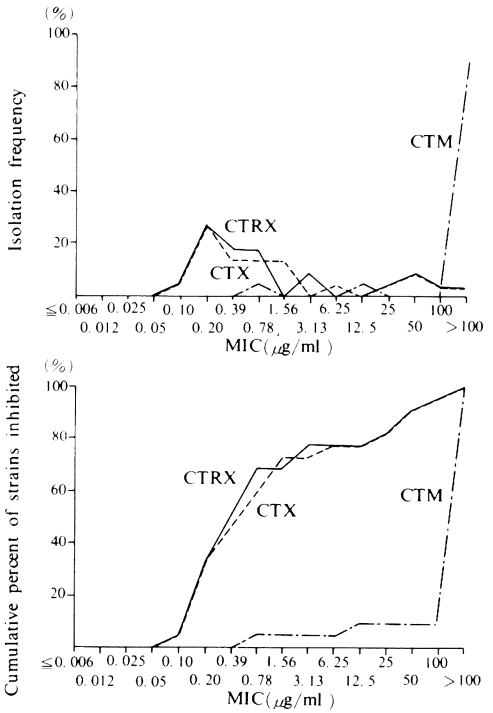


Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates *Enterobcter cloacae* 22 strains (10^6 cells/ml)

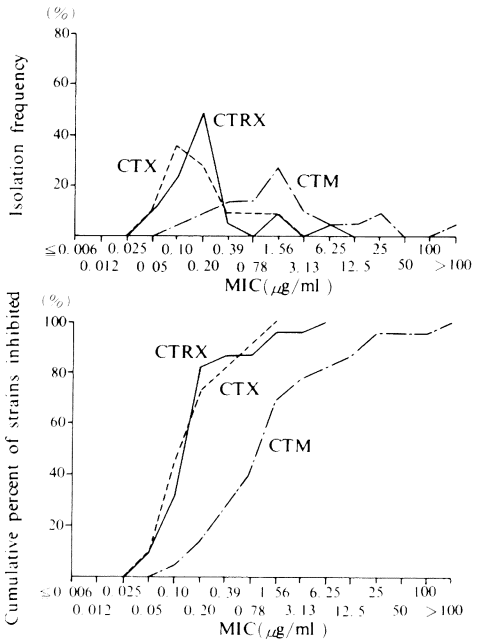


Fig. 12 Sensitivity distribution of clinical isolates *Serratia marcescens* 54 strains (10^8 cells/ml)

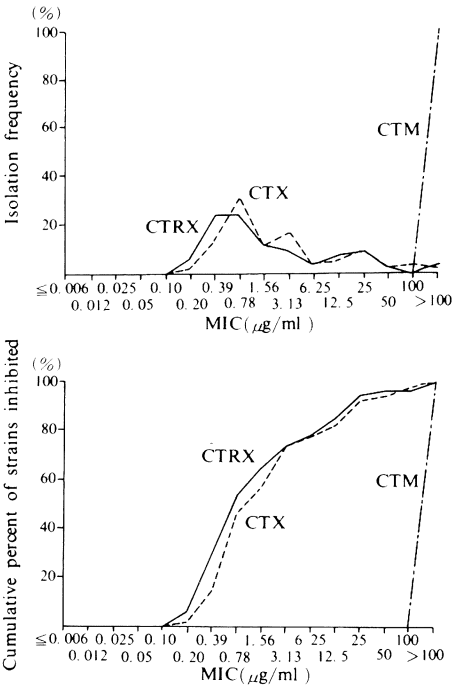


Fig. 13 Sensitivity distribution of clinical isolates *Serratia marcescens* 54 strains (10^6 cells/ml)

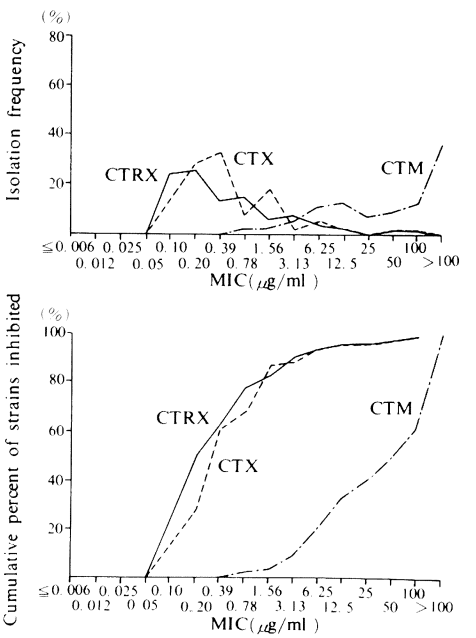


Fig. 14 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus vulgaris* 37 strains (10^8 cells/ml)

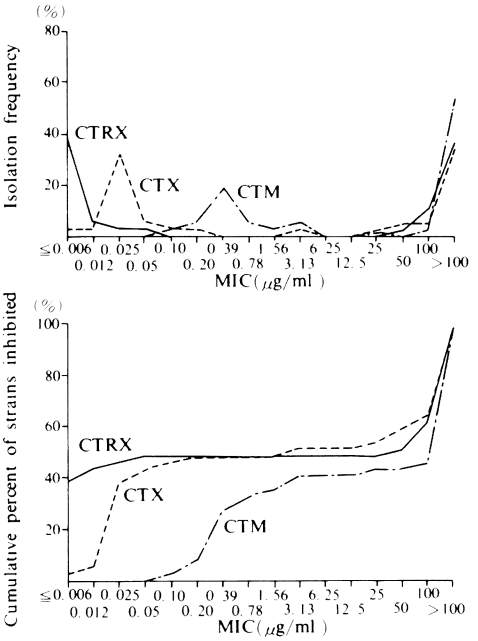


Fig. 15 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus vulgaris* 37 strains (10^6 cells/ml)

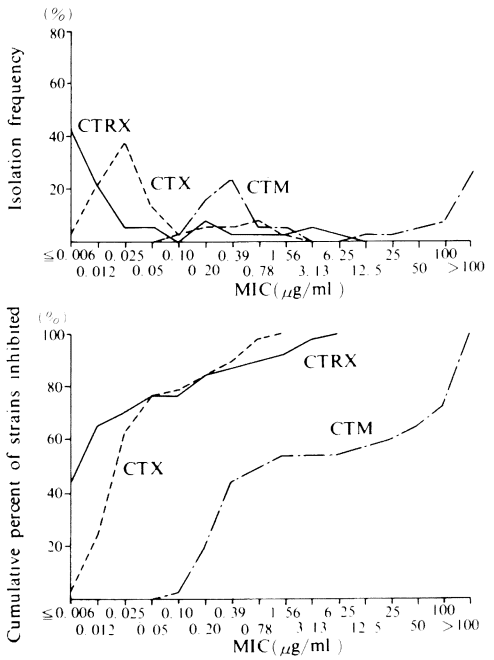


Fig. 16 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus mirabilis* 29 strains (10^8 cells/ml)

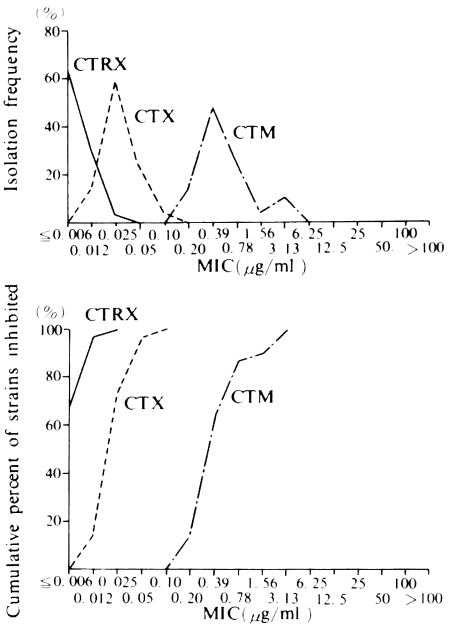


Fig. 17 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus mirabilis* 29 strains (10^6 cells/ml)

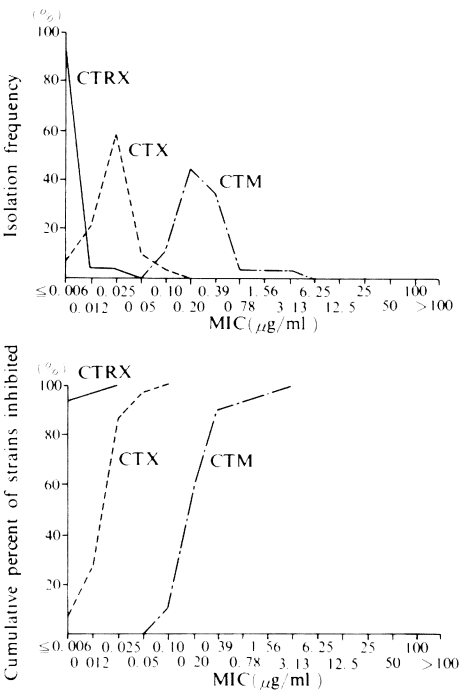


Fig. 18 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus morganii* 27 strains (10^8 cells/ml)

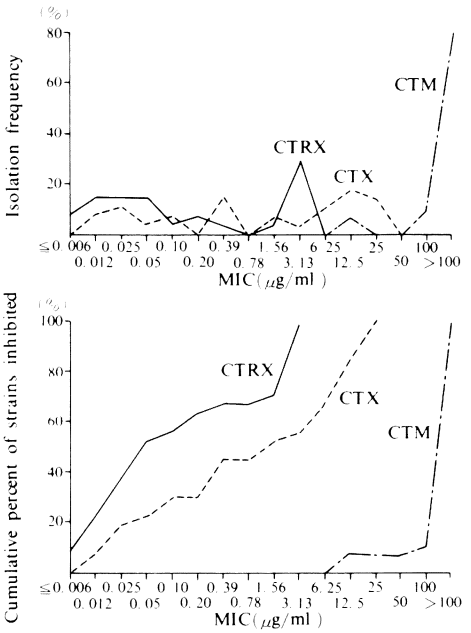


Fig. 19 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus morganii* 27 strains (10^6 cells/ml)

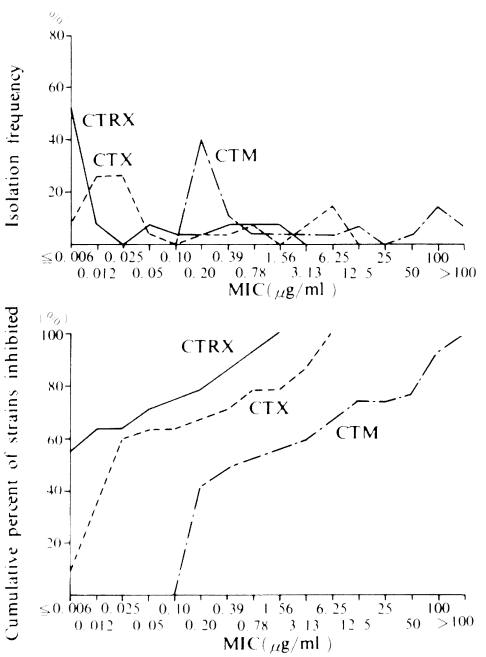


Fig. 20 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus rettgeri* 16 strains (10^8 cells/ml)

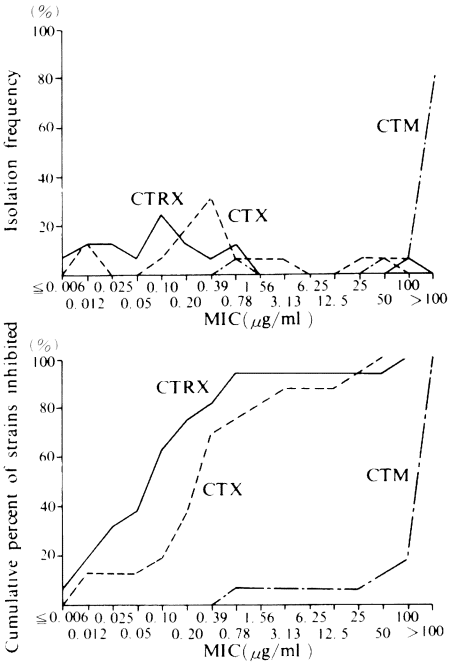


Fig. 21 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus rettgeri* 16 strains (10^6 cells/ml)

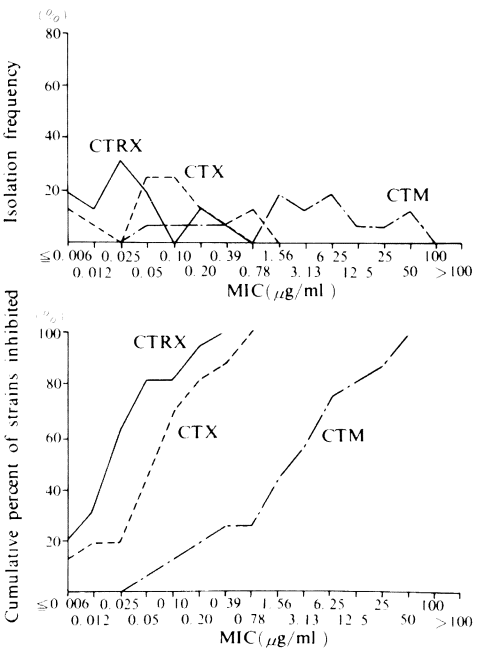


Fig. 22 Sensitivity distribution of clinical isolates *Haemophilus influenzae* 40 strains (10^8 cells/ml)

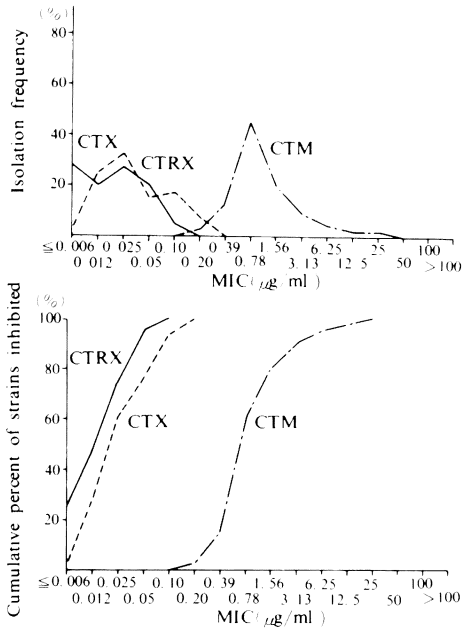


Fig. 23 Sensitivity distribution of clinical isolates *Haemophilus influenzae* 40 strains (10^6 cells/ml)

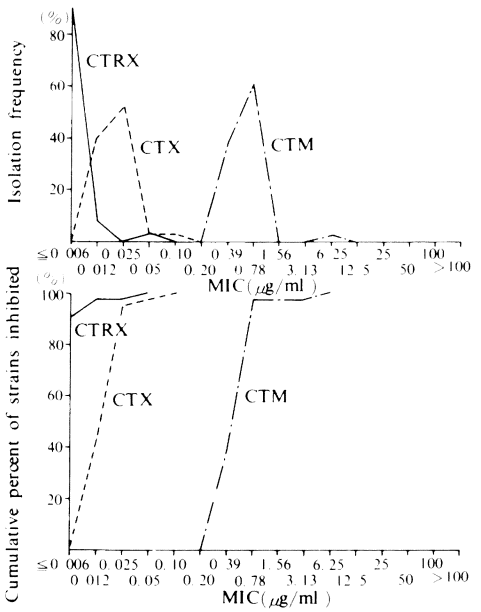


Fig. 24 Sensitivity distribution of clinical isolates *Pseudomonas aeruginosa* 42 strains (10^8 cells/ml)

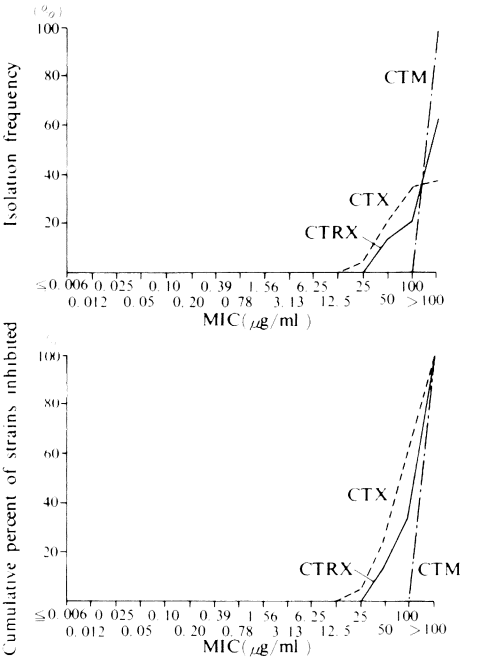


Fig. 25 Sensitivity distribution of clinical isolates *Pseudomonas aeruginosa* 42 strains (10^6 cells/ml)

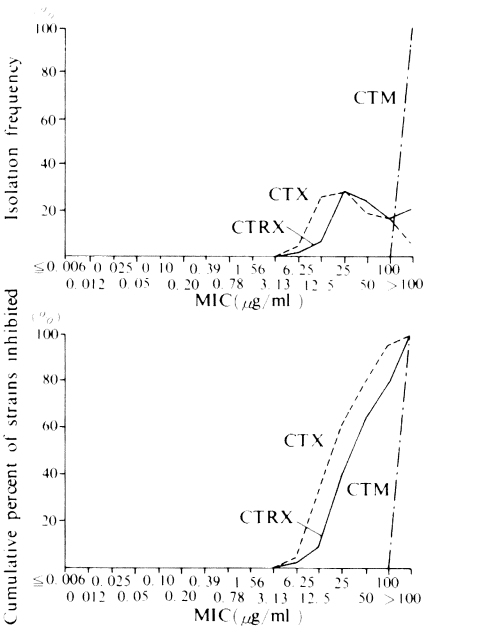


Fig. 26 Sensitivity distribution of clinical isolates *Acinetobacter calcoaceticus* 32 strains (10^8cells/ml)

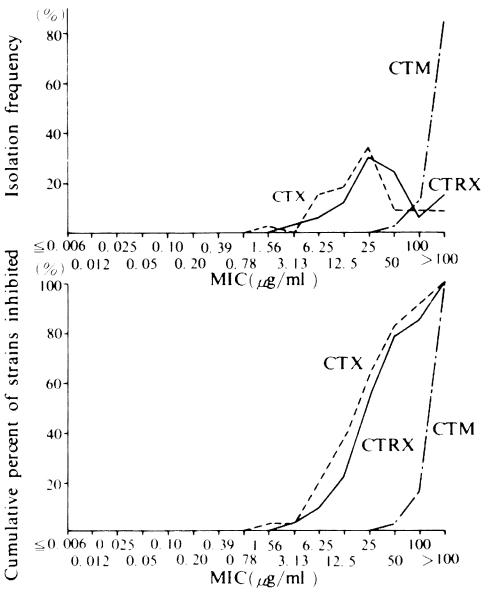
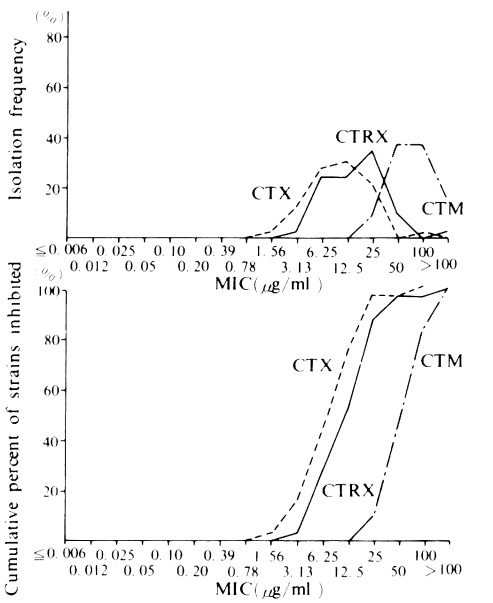


Fig. 27 Sensitivity distribution of clinical isolates *Acinetobacter calcoaceticus* 32 strains (10^6 cells/ml)



かったか，3薬間の傾向は変わらなかった。

6）*Proteus* spp. の場合

Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, Proteus morganii, Proteus rettgeri の成績をそれぞれ Fig. 14, 15, Fig. 16, 17, Fig. 18, 19, Fig. 20, 21 に示した。*Proteus vulgaris* の場合には 10^8cells／ml で CTRX は≦0.006 μg／ml と＞100 μg／ml に，CTX は 0.025 μg／ml と＞100 μg／ml に，CTM は 0.39 μg／ml と＞100 μg／ml に 2 峰性のピークを示し，CTRX, CTX, CTM の順に良好な抗菌力を有していた。しかし，＞100 μg／ml を示す株は 34～54％存在していた。10^6cells／ml では 10^8cells／ml で CTRX, CTX に＞100 μg／ml を示した株の感性化が著しかった。

Proteus mirabilis の場合には，CTRX は 10^8cells／ml，10^6cells／ml 接種いずれの場合にも 0.025 μg／ml 以下で全株の増殖が阻止された。抗菌力は CTRX, CTX, CTM の順に良好であった。

Preteus morganii の場合には CTRX は 10^8cells／ml で 3.13 μg／ml，10^6cells／ml で 1.56 μg／ml の濃度で全株の増殖を阻止し，CTRX, CTX, CTM の順に抗菌力が優れていた。10^6cells／ml でも同様な傾向を示した。

Proteus rettgeri の場合も CTRX, CTX, CTM の順に抗菌力が優れていた。

8）*Haemophilus influenzae* の場合

Fig. 22, 23 に示す成績を得た。10^8cells／ml 接種時の CTRX は 0.10 μg／ml で全株の増殖を阻止し，他薬に比べ抗菌力が優れていた。10^6cells／ml 接種時には 3 薬とも感性化が認められた。

9）*Pseudomonas aeruginosa* の場合

Fig. 24, 25 に示す結果を得た。すなわち，CTM は 10^8, 10^6cells／ml 接種とも全株が＞100 μg／ml の MIC であった。CTRX，CTX では 10^8cells／ml 接種時にそれぞれ 65％，38％が＞100 μg／ml の値を示したが，10^6 cells／ml 接種時には若干の感性化が認められた。

10）*Acinetobacter calcoaceticus* の場合

Fig. 26, 27 に示す成績が得られた。10^8cells／ml 接種時のピークは CTRX, CTX で 25 μg／ml，CTM で＞100 μg／ml であり，CTRX は CTX とほぼ同等の感受性分布を示した。10^6cells／ml 接種時には 3 薬とも若干感性化が認められた。

3．殺菌作用

Fig. 28 は *Escherichia coli* KC-14, Fig. 29 は *Klebsiella pneumoniae* KC-1, Fig. 30は *Serratia marcescens* T-55 に対する CTRX の殺菌効果を検討した結果である。いずれの場合も 10^6cells／ml で薬を作用させたもので，作用濃度に応じた効果が認められた。しかし，5MIC に相

Fig. 28 Effect of CTRX, CTX and CTM on viability of *Escherichia coli* KC-14

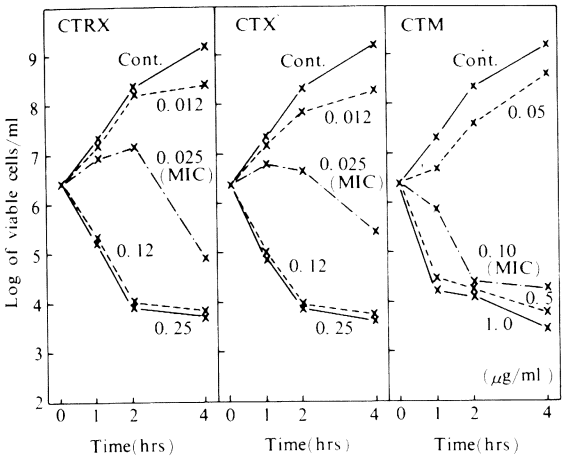
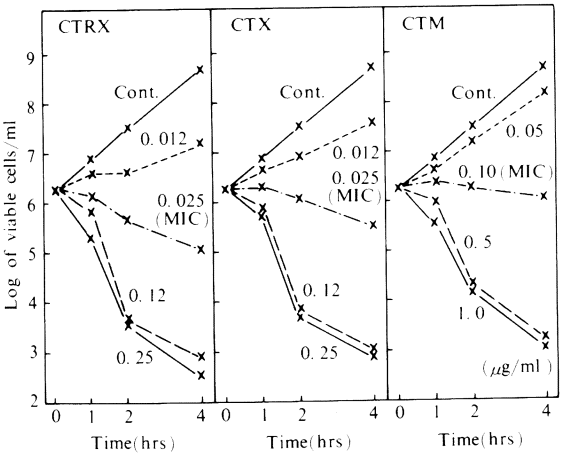


Fig. 29 Effect of CTRX, CTX and CTM on viability of *Klebsiella pneumoniae* KC-1



当する濃度以上を作用させてもその殺菌効果に差が認められなかった。*Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* に対する CTRX の殺菌効果は CTX と同等であった。

4．MIC と MBC

MIC と 3，6，20 時間接触後の 99.9% 殺菌に要する濃度 MLC との関係を検討した結果が Fig.31 である。*Escherichia coli* の場合にはいずれの薬においても MIC と 20 時間 MLC 値は同じで，3 時間，6 時間目の MLC_{50} と 20 時間目の MLC_{50} の差は著しかった。CTRX, CTX, CTM の 20 時間 MLC はそれぞれ 0.05 μg／ml，0.025 μg／ml，0.10 μg／ml であり，3 時間 MLC は 50 μg／

Fig. 30 Effect of CTRX and CTX on viability of *Serratia marcescens* T-55

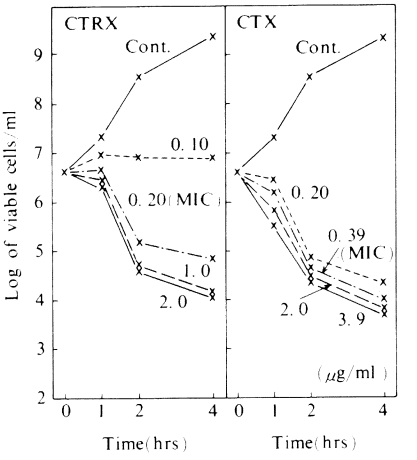
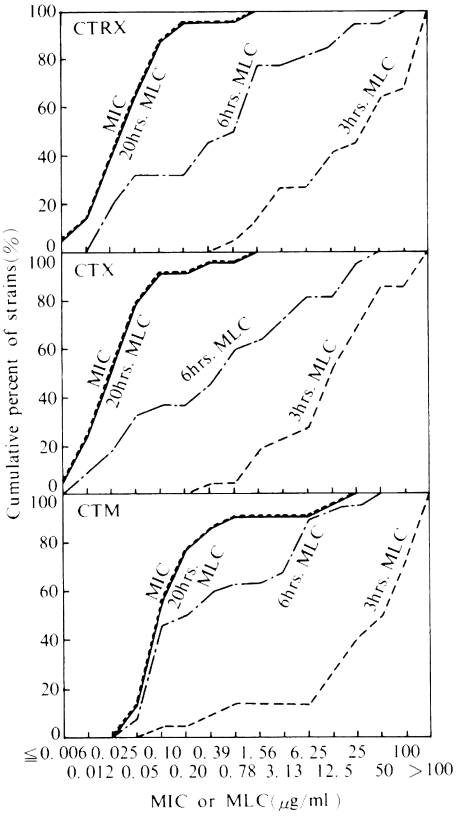


Fig. 31 Sensitivity distribution of clinical isolates *Escherichia coli* 22 strains (10^8cells/ml)



ml, 12.5 μg／ml, 50 μg／ml であった。

5．接種菌量の影響

Table 7 は抗菌力に及ぼす接種菌量の影響を検討した成績である。*Escherichia coli* KC-14 の接種菌量が低下すると 3 薬とも抗菌力が良好となった。Fig. 32 は *Escherichia coli* KC-14 の接種菌量と殺菌効果について検討した成績である。いずれも，5MIC に相当する濃度を作用させた。CTRX では CTX, CTM と同様 10^6cells／ml で作用させると 1 時間目で生菌数の減少が認められた。10^7cells／ml で作用させると 1 時間目の菌数の減少度は小さく，10^8cells／ml で作用させると，静菌的な作用しか認められなかった。

Table 7 Influence of inoculum size of *Escherichia coli* KC-14 on the antibacterial activity

Inoculum size (cells/ml)	CTRX	CTX	CTM
2.9×10^7	0.78	1.56	3.13
2.9×10^6	0.20	0.39	0.39
2.9×10^5	0.10	0.10	0.20
2.9×10^4	0.10	0.05	0.20
2.9×10^3	0.05	0.025	0.10

MIC (μg/ml)

Fig. 32 Effect of CTRX, CTX and CTM on viability of *Escherichia coli* KC-14

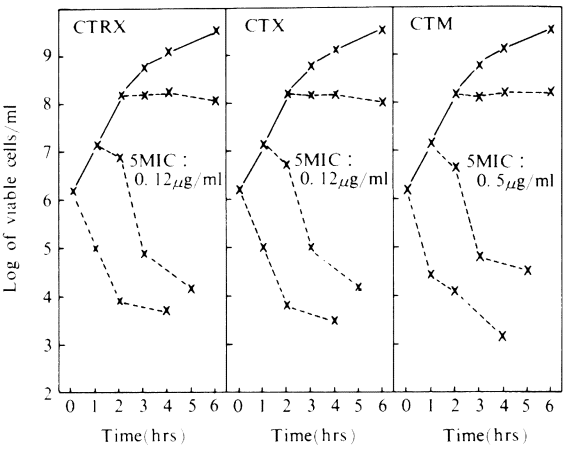


Table 8 Protecting effect of CTRX, CTX and CTM on experimental infection in mice

Organisms	Challenge dose (cells/mouse)	Antibiotics	ED_{50} (mg/mouse)	MIC (μg/ml) 10^8	MIC (μg/ml) 10^6
Streptococcus pneumoniae III	132 LD_{50} (8.0×10^2)	CTRX	0.011 (0.0065 ~ 0.019)	0.025	0.025
		CTX	2.3 (1.3 ~ 4.0)	0.025	0.012
		CTM	1.5 (0.95 ~ 2.4)	0.10	0.05
Escherichia coli KC-14	170 LD_{50} (9.5×10^3)	CTRX	0.0006 (0.00008 ~ 0.0048)	0.025	0.012
		CTX	0.0021 (0.0012 ~ 0.0036)	0.025	0.025
		CTM	0.0067 (0.0039 ~ 0.011)	0.10	0.025
Klebsiella pneumoniae KC-1	3200 LD_{50} (3.5×10^3)	CTRX	0.0024 (0.0015 ~ 0.0038)	0.025	0.025
		CTX	0.15 (0.09 ~ 0.25)	0.025	0.025
		CTM	1.1 (0.72 ~ 0.67)	0.10	0.10
Serratia marcescens T-55	50 LD_{50} (2.0×10^7)	CTRX	0.30 (0.19 ~ 0.47)	0.20	0.20
		CTX	0.75 (0.48 ~ 1.17)	0.39	0.20
		CTM	4.7 (2.5 ~ 8.9)	>100	1.56
Proteus morganii 101	770 LD_{50} (2.3×10^6)	CTRX	0.0007 (0.00047 ~ 0.0011)	0.025	≦0.0012
		CTX	0.12 (0.077 ~ 0.18)	0.10	0.012
		CTM	1.2 (0.42 ~ 3.4)	>100	0.20

( ): 95% confidence limits

6．マウス実験的感染症に対する治療効果

Streptococcus pneumoniae type III, *Escherichia coli* KC-14, *Klebsiella pneumoniae* KC-1, *Serratia marcescens* T-55, *Proteus morganii* 101 に対する CTRX の治療効果を検討した成績が Table 8 である。いずれの菌株に対しても，CTRX は 3 薬中最も優れた治療効果を示し，CTX の 2.5～200 倍優れていた。

Table 9 は *Escherichia coli* KC-14 のマウスに接種する菌量を変化させた場合の治療効果について検討した結果である。マウスへの接種量を 1.7×10^4cells／mouse から 1.7×10^6cells／mouse に変えた場合，LMOX, CZX では 12～13 倍程度効果が低下するのに比べ，CTRX 治療では CEZ, CMZ とほぼ同程度の変化しか示さなかった。

Table 9 Protecting effects of CTRX, CEZ, CMZ, LMOX and CZX on experimental infection with *Escherichia coli* KC-14 in mice

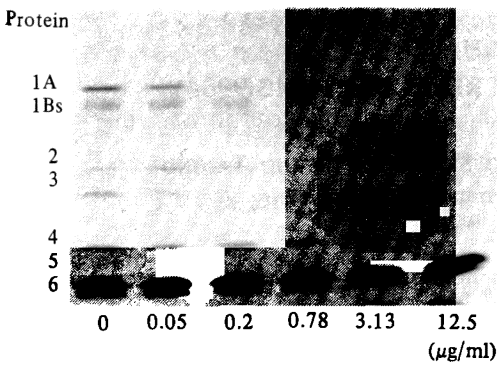
ED_{50} (mg/mouse)	Challenge dose (cells/mouse)	
	1.7×10^4	1.7×10^6
CTRX	0.00032 (0.00024 ~ 0.00043)	0.0010 (0.00094 ~ 0.0011)
CEZ	0.046 (0.040 ~ 0.052)	0.11 (0.096 ~ 0.12)
CMZ	0.043 (0.038 ~ 0.047)	0.062 (0.050 ~ 0.076)
LMOX	0.0026 (0.0023 ~ 0.0030)	0.034 (0.028 ~ 0.042)
CZX	0.00070 (0.00061 ~ 0.00081)	0.0084 (0.0055 ~ 0.013)

Mouse: ddY-strain, Male, 17 ~ 18g
Challenge route: I.P. infection of 0.5ml/3% mucin
( ): 95% confidence limits

7．ペニシリン結合蛋白質(PBPs)への親和性

Escherichia coli K-12 の PBPs への CTRX の親和性を検討したのがFig. 33, Table 10である。表中の濃度は CTRXのμg／mlを示している。PBPs 3, 1A, 1Bs, 2, 4 などへの親和性が認められる。各 PBPs への 50%阻害濃度を求めた Table10 の結果からも CTRX は PBP 3, 1A, 1Bs, 2, 4 の順に親和性が高いことが示された。

Fig. 33 Fluorography showing competition of CTRX for ^{14}C-labeled penicillin G binding in *Escherichia coli* K-12



III．考　　察

新しく開発されたセフェム系抗生物質 CTRX の細菌学的評価を既知抗生物質と比較検討した。抗菌スペクトラムは比較薬とした CTX と同様で，グラム陽性菌，陰性菌に広く分布し，その抗菌力も CTX と同等であった。CTRX は CTX と同等の抗菌力，抗菌スペクトラムを有することから，すなわち，Indole 陽性の *Proteus* や *Serratia marcescens* そして *Enterobacter* spp. などにも抗菌力を示すことから，β-lactamase に対する安定性が良好であることが考えられる。

マウスを用いた実験的感染症に対する治療効果では，CTRX は CTX, CTM に比べ優れた効果を示した。特に，CTX と比較すると *in vitro* 抗菌力においては両薬間にほとんど差がない場合にも CTRX の効果が優れていた。このことは本薬の血中半減期が他薬に比べ非常に長い[5,6]という特徴に起因しているのかも知れない。接種菌量と殺菌作用の関係で，CTRX は薬剤作用時の菌数が増すと殺菌効果が減弱することや，99.9%殺菌に要する濃度は薬剤との接触時間が長くなるほど低下することから，*in vivo* では治療に際してはこれらのことを考慮して

Table 10 Competition of antibiotics with ^{14}C-labeled penicillin G for binding to PBPs in cytoplasmic membranes of *Escherichia coli* K-12 *in vitro*

PBP	1A	1Bs	2	3	4	5	6
Concentration of CTRX (μg/ml)	0.056	0.15	0.37	<0.05	1.15	>12.5	>12.5

投与すべきであると考えられた。しかし，*in vivo* でマウスへの感染菌量を変えた場合の治療効果を検討してみるとCTRXはCEZやCMZ同様に感染菌量による治療効果の変動度は小さく，*in vitro* と異なる結果が得られた。このこともCTRXの血中半減期が長いことに起因しているのかも知れない。

CTRXの抗菌力発現には β-lactamaseに安定であること[3,4]の他，β-lactam剤の作用標的中のPBP 3, 1A, 1Bsに，特にPBP 3に親和性が強いということによっていると考えられる。PBP 3への親和性の強さは図には示していないが，*Escherichia coli* にCTRXを作用させた場合の形態変化の観察において，溶菌よりも菌体の伸長化が広い濃度域にわたって認められることからも推測された。

文　献

1) REINER, R. ; U. WISS, U. BROMBACHER, P. LANZ, M. MONTAVON, A. FURLENMEIER, P. ANGEHRN & P. J. PROBST : Ro 13-9904, a novel potent and long-acting parenteral cephalosporin. J. Antibiotics. 33 : 783～786, 1980
2) 第29回日本化学療法学会東日本支部総会，新薬シンポジウム，Ro 13-9904 (ceftriaxone)，仙台，1982
3) 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
4) ARISAWA, M. ; 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. Pham. Bull. 30 : 2544～2554, 1982
5) SEDDON, M. ; R. WISE, A. P. GILLETT & R. LIVINGSTON : Pharmacokinetics of Ro 13-9904, a broad-spectrum cephalosporin. Antimicrob. Agents Chemother. 18 : 240～242, 1980
6) PATEL, I. H. ; S. CHEN, M. PARSONNET, M. R. HACKMAN, M. A. BROOKS, J. KONIKOFF & S. A. KAPLAN : Pharmacokinetics of ceftriaxone in humans. Antimicrob. Agents Chemother. 20 (5) : 634～641, 1981
7) 西野武志，大槻雅子，宮川行正，谷野輝雄：新しいセファロスポリン系抗生物質Cefotaximeに関する細菌学的評価。Chemotherapy 28 (S-1) : 42～64, 1980
8) 西野武志，岩日朋幸：新合成セファロスポリンCefotiam (SCE-963)に関する細菌学的評価。Chemotherapy 27 (S-3) , 45～66, 1979
9) 日本化学療法学会MIC測定委員会：最小発育阻止濃度(MIC)測定法改定について。Chemotherapy 22 : 1126～1128, 1974
10) 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
11) LITCHFIELD, J. T. & F. WILCOXON A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharmacol. Exp. Ther. 96 : 99～113, 1949
12) SPRATT, B. G. : Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation, and shape of *Escherichia coli* K-12. Proc. Nat. Acad. Sci. 72 : 2999～3003, 1975

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

TAKESHI NISHINO, MASAKO OHTSUKI, NAOTO SENDA and TERUO TANINO
Department of Microbiology, Kyoto Pharmaceutical University

Ceftriaxone (CTRX, Ro 13-9904), a newly-developed cephem antibiotic, was compared bacteriologically with other antibiotics. CTRX was proved to possess a broad antibacterial spectrum against gram-positive and gram-negative bacteria, as well as an antibacterial efficacy, similarly to cefotaxime (CTX) which was used as a reference drug.

CTRX showed a bactericidal action corresponding to its concentration against *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens.* There was observed a big difference between its MIC and 3 hrs' MLC (concentration to achieve a 99.9% kill) while the antibacterial action *in vitro* varied due to the inoculum size of bacteria. CTRX was more effective than CTX in experimental infections in mice with all the strains used. In the study on the relationship between *in vivo* inoculum size and efficacy, the effect of CTRX varied little on an increased inoculum size. CTRX showed the highest affinity to PBP3 among penicillin binding proteins.