

Cefixime (CFIX) の嫌気性菌に対する 抗菌力について

沢 赫代・小林とよ子・神野英毅
渡辺邦友・上野一恵
岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設

新しく開発された第3世代 cephalosporin 系抗生剤の経口剤である Cefixime (CFIX) の嫌気性菌に対する抗菌力を経口剤である Cephalexin (CEX), Cefaclor (CCL), Amoxicillin (AMPC), Ofloxacin (OFLX) を対照薬剤として *in vitro* および *in vivo* で検討した。

参考菌株を用いた検討では、CFIX の嫌気性菌に対する抗菌スペクトラムは CEX, CCL より若干優れ、AMPC, OFLX には菌種により異なるが、ほぼ同等か若干劣り、*B. fragilis* group の一部、*F. mortiferum*, *C. difficile*, *C. innocuum*, *E. plauti* を除く広い範囲に亘った。抗菌力は強力で、上記の菌種を除き $3.13\mu\text{g/ml}$ 以下ではほとんどの菌株の発育を阻止した。

臨床分離株に対する感受性分布においても、参考菌株での成績を反映し、CFIX の優れた抗菌力が認められた。

CFIX は、*B. fragilis* の産生する β -lactamase に対し CEX, CEZ, PCG, ABPC より安定であるが、若干加水分解された。

CFIX は、*B. fragilis* に対して殺菌作用のあることが示唆された。

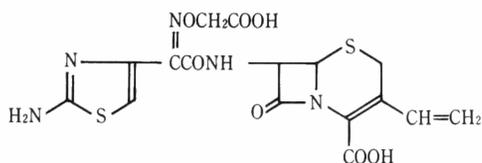
CFIX は、*E. coli* と *B. fragilis* との腹腔内混合感染、*F. necrophorum* による膿瘍に対して治療効果が認められた。

CFIX 投与マウスでは *C. difficile* の異常増殖はみられなかった。

はじめに

Cefixime (CFIX) は藤沢薬品中央研究所で開発された第3世代 cephalosporin 系抗生剤の経口剤である。CFIX の化学構造は下記の如くである。

Chemical structure of Cefixime, (6R, 7R)-7-[(Z)-2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-(carboxymethoxyimino)acetamido]-8-oxo-3-vinyl-5-thia-1-azabicyclo[4, 2, 0]oct-2-ene-2-carboxylic acid



CFIX は *E. coli* の penicillin-binding proteins (PBPs) 3, 1a, 1b に強い親和性を持ち、グラム陰性桿菌に強い抗菌力を示すことが知られている^{1,2)}。

著者らは CFIX の嫌気性菌に対する *in vitro* および *in vivo* の抗菌作用を検討したので報告する。

実験方法

1. 抗菌スペクトラム

研究室保有の ATCC (American Type Culture Collection), VPI (Virginia Polytechnic Institute), WAL (Wadsworth Anaerobes Laboratory), GAI (Gifu Anaerobes Institute) 由来の嫌気性菌60株の参考菌株を用い、CFIX の抗菌力を測定した。比較薬剤として経口薬剤である Cephalexin ($945\mu\text{g}/\text{mg}$: CEX), Cefaclor ($978\mu\text{g}/\text{mg}$: CCL), Amoxicillin ($980\mu\text{g}/\text{mg}$: AMPC), Ofloxacin ($1000\mu\text{g}/\text{mg}$: OFLX) を用いた。

2. 臨床分離株の感受性分布

最近 (3年以内) 各種臨床材料より分離された *Bacteroides* 属 94 株 (*B. fragilis* 52 株, *B. thetaiotaomi-*

Table 1 *In vitro* antibacterial activity of CFIX, CEX, AMPC and OFLX against reference strains of anaerobic bacteria

Organism	Inoculum size; 10 ⁸ cfu/ml				
	MIC (μ g/ml)				
	CFIX	CEX	CCL	AMPC	OFLX
<i>Bacteroides</i>					
<i>B. fragilis</i> GM 7000	12.5	100	>200	12.5	3.13
<i>B. fragilis</i> ATCC 25285	>200	>200	>200	25	3.13
<i>B. thetaiotaomicron</i> ATCC 29741	100	100	>200	25	25
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL 2926	100	100	>200	25	12.5
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL 3304	100	100	>200	50	25
<i>B. distasonis</i> ATCC 8503	0.78	50	12.5	1.56	6.25
<i>B. distasonis</i> GM 7007	25	50	>200	12.5	25
<i>B. vulgatus</i> ATCC 8482	6.25	25	25	6.25	12.5
<i>B. ovatus</i> ATCC 8483	100	200	>200	50	25
<i>B. uniformis</i> ATCC 8492	12.5	6.25	100	6.25	12.5
<i>B. eggerthii</i> ATCC 27754	0.20	6.25	3.13	0.20	6.25
<i>B. melaninogenicus</i> GAI 0410	0.10	0.78	0.78	≤ 0.025	1.56
<i>B. melaninogenicus</i> GAI 0413	0.10	0.78	1.56	0.05	1.56
<i>B. intermedius</i> GAI 0416	≤ 0.025	12.5	3.13	0.39	1.56
<i>B. intermedius</i> JKI 8	0.05	0.39	0.78	0.05	1.56
<i>B. asaccharolyticus</i> GAI 0412	0.10	0.78	0.78	≤ 0.025	1.56
<i>B. asaccharolyticus</i> GAI 0414	0.10	0.78	1.56	0.05	1.56
<i>B. asaccharolyticus</i> GAI 0415	≤ 0.025	0.78	0.10	0.39	1.56
<i>B. asaccharolyticus</i> ATCC 25260	0.20	25	6.25	0.78	1.56
<i>Capnocytophaga</i>					
<i>C. ochracea</i> ATCC 5531	≤ 0.025	0.78	3.13	0.20	0.20

cron 14 株, *B. uniformis* 12 株, *B. distasonis* 8 株, *B. intermedius* 3 株, *B. vulgatus* 2 株, *B. bivius* 2 株, *B. corporis* 1 株), *Fusobacterium varium* 1 株, *Propionibacterium acnes* 3 株, *Peptostreptococcus* 属 16 株 (*P. magnus* 9 株, *P. anaerobius* 6 株, *P. prevotii* 1 株), *Clostridium* 属 26 株 (*C. perfringens* 11 株, *C. difficile* 15 株) を用いて検討した。比較薬 CCL, CEX, AMPC, OFLX, Clindamycin (859 μ g/mg: CLDM) を用いて, 寒天平板希釈法によって比較検討した。

3. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

寒天平板希釈法による日本化学療法学会の推奨する方法に準じた³⁾。接種菌量は原則として10⁸cfu/mlと10⁶cfu/mlの菌液を用いてマイクロプランター (佐久間製作所) で接種したか, 接種菌量が MIC に及ぼす影響の検

討では, 10⁴cfu/mlの菌液をも用いた。使用培地は原則として GAM 寒天 (ニッスイ) を用いたが, MIC に及ぼす培地の影響の検討では 5% 羊血液加 Brucella 寒天 (BBL) および Wilkins-Chalgren 寒天 (BBL) を用いた。

嫌気培養は Anaerobic chamber (Forma 社) を用いて実施した。Anaerobic chamber には 3 種混合ガス (CO₂: H₂: N₂=10:10:80) を用いた。37°C24時間培養後に MIC を判定した。

4. *B. fragilis* の増殖曲線に及ぼす影響

CFIX が *B. fragilis* GM 7000 (CFIX: MIC=3.13 μ g/ml, 接種菌量10⁶cfu/ml) の増殖曲線に及ぼす影響は, CFIX の 1/2MIC, 1 MIC, 2 MIC および 4 MIC 量を含んだ GAM ブイオンを作製し, 各培地10mlに *B. fragilis* GM 7000 の GAM ブイオン18時間培養菌の

Table 2 *In vitro* antibacterial activity of CFIX, CEX, CCL, AMPC and OFLX against reference strains of anaerobic bacteria

Organism	Inoculum size; 10 ⁶ cfu/ml				
	MIC (μ g/ml)				
	CFIX	CEX	CCL	AMPC	OFLX
<i>Bacteroides</i>					
<i>B. fragilis</i> GM 7000	3.13	25	>200	12.5	3.13
<i>B. fragilis</i> ATCC 25285	6.25	25	>200	12.5	1.56
<i>B. thetaiotaomicron</i> ATCC 29741	25	25	>200	25	12.5
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL 2926	12.5	12.5	>200	25	12.5
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL 3304	25	25	>200	50	12.5
<i>B. distasonis</i> ATCC 8503	≤ 0.025	≤ 0.025	0.78	0.05	3.13
<i>B. distasonis</i> GM 7007	3.13	12.5	>200	12.5	12.5
<i>B. vulgatus</i> ATCC 8482	0.39	6.25	25	3.13	12.5
<i>B. ovatus</i> ATCC 8483	25	100	>200	25	25
<i>B. uniformis</i> ATCC 8492	1.56	3.13	25	3.13	6.25
<i>B. eggerthii</i> ATCC 27754	≤ 0.025	3.13	3.13	0.20	6.25
<i>B. melaninogenicus</i> GAI 0410	0.05	0.39	0.39	≤ 0.025	0.78
<i>B. melaninogenicus</i> GAI 0413	0.10	0.39	0.78	≤ 0.025	1.56
<i>B. intermedius</i> GAI 0416	≤ 0.025	3.13	3.13	0.39	1.56
<i>B. intermedius</i> JKI 8	≤ 0.025	0.20	0.39	≤ 0.025	0.78
<i>B. asaccharolyticus</i> GAI 0412	0.10	0.39	0.39	≤ 0.025	0.39
<i>B. asaccharolyticus</i> GAI 0414	0.10	0.39	0.39	≤ 0.025	0.78
<i>B. asaccharolyticus</i> GAI 0415	≤ 0.025	0.39	0.05	-0.20	0.78
<i>B. asaccharolyticus</i> ATCC 25260	0.10	12.5	3.13	0.39	0.78
<i>Capnocytophaga</i>					
<i>C. ochracea</i> ATCC 5531	≤ 0.025	0.39	1.56	0.10	0.10

0.1mlを接種した。このときの培地への接種菌量は 1×10^4 cfu/mlとなった。Anaerobic chamberのincubator内で1, 2, 4, 8および24時間培養後、各培養液中の生菌数をGAM寒天培地を用いての定量培養法によって測定した。なお、本実験の操作はすべてAnaerobic chamber内で実施した。

5. *B. fragilis*からの不活化酵素に対する安定性

β -lactamase産生株の*B. fragilis* GAI 0983, GAI 3790, GAI 1509, GAI 0844, GAI 0345の5株を用い、GAMブイヨンで37°C、一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。

薬剤はPenicillin G (PCG), Ampicillin (ABPC), Cephalothin (CET), Cefazolin (CEZ)を比較薬剤として用いた。

CFIXの粗酵素液に対する安定性はmacroiodometric

methodにより測定した⁴⁾。

6. *E. coli*と*B. fragilis*の混合感染マウスに対する治療効果

E. coli 01株(接種菌量 10^4 CFU)と*B. fragilis* GAI 0588株(接種菌量 10^8 CFU)をICR系雄マウス(16 \pm 1g)の腹腔内接種後5日以内に全例死亡する実験系を用いて検討した。

β -lactamase非産生の*E. coli* 01株(CFIX: MIC=0.39 μ g/ml, 接種菌量 10^6 cfu/ml)と β -lactamase産生の*B. fragilis* GAI 0588株(CFIX: MIC=12.5 μ g/ml, 接種菌量 10^6 cfu/ml)の24時間培養菌を用いた。*E. coli*の 10^4 CFUをマウス腹腔内に接種し、翌日に*B. fragilis*の 10^8 CFUを再び腹腔内に接種、直ちにCFIXを1日2回、1日量2mg, 1mg, 0.5mg, 5日間経口投与し、マウスの生死を非投与群と比較観察することでCFIX

Table 3 *In vitro* antibacterial activity of CFIX, CEX, CCL, AMPC and OFLX against reference strains of anaerobic bacteria

Organism	Inoculum size; 10 ⁸ cfu/ml				
	MIC (μ g/ml)				
	CFIX	CEX	CCL	AMPC	OFLX
<i>Fusobacterium</i>					
<i>F. nucleatum</i> ATCC 10953	0.10	0.78	1.56	≤ 0.025	6.25
<i>F. nucleatum</i> ATCC 25586	0.39	0.39	3.13	6.25	6.25
<i>F. nucleatum</i> F-1	0.20	0.78	3.13	0.20	6.25
<i>F. necrophorum</i> ATCC 25286	≤ 0.025	≤ 0.025	0.20	0.10	6.25
<i>F. mortiferum</i> B-1083	12.5	200	100	1.56	12.5
<i>F. mortiferum</i> VPI 5696	>200	200	>200	6.25	3.13
<i>F. mortiferum</i> VPI 4249	>200	100	100	3.13	1.56
<i>F. mortiferum</i> 9817	>200	100	100	1.56	3.13
<i>F. naviforme</i> VPI 4877	≤ 0.025	0.78	0.78	0.05	6.25
<i>F. gonidiaformans</i> VPI 4381	≤ 0.025	1.56	1.56	0.20	3.13
<i>F. gonidiaformans</i> VPI 0482	≤ 0.025	0.20	0.39	0.05	1.56
<i>Eubacterium</i>					
<i>E. cylindroides</i> ATCC 27803	12.5	≤ 0.025	0.39	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>E. aerofaciens</i> ATCC 25986	6.25	1.56	6.25	0.20	1.56
<i>E. limosum</i> ATCC 8486	3.13	6.25	12.5	0.10	6.25
<i>E. plauti</i> VPI 0310	200	>200	200	0.78	12.5
<i>E. plauti</i> VPI 0311	100	50	200	0.78	12.5
<i>Propionibacterium</i>					
<i>P. acnes</i> ATCC 11828	0.78	0.78	3.13	0.20	1.56
<i>P. acnes</i> ATCC 6919	0.10	0.39	0.78	0.05	1.56
<i>P. granulosum</i> ATCC 25564	3.13	1.56	1.56	0.10	0.39
<i>Bifidobacterium</i>					
<i>B. adolescentis</i> ATCC 15703	3.13	3.13	50	0.20	12.5

の治療効果を評価した。なお、各群10匹のマウスを使用した。

7. *Fusobacterium necrophorum* の実験的マウス皮下膿瘍に対する治療効果

F. necrophorum S-45株によるマウス皮下膿瘍に対するCFIXの治療効果をCCLと比較検討した。*F. necrophorum* (MIC=CFIX: ≤ 0.025 , CCL: 0.1μ g/ml, 接種菌量 10^6 cfu/ml)の24時間培養菌の0.3mlをICR系雄マウス(18 \pm 1g)の左腹部皮下に接種した。3日後に触診により膿瘍形成の認められたマウスを実験に供した。CFIXおよびCCLを1日2回、1日量2mg, 0.5mgを7日間経口投与した。1群10匹のマウスを用いた。毎日全身状態および体重を測定し、薬剤投与終了後

にマウスは屠殺、菌接種部位の膿瘍の変化を観察し、ついで膿瘍部位、肺、肝、脾および腎から*F. necrophorum*の検出を行った。*F. necrophorum*の検出は各臓器をGAM寒天に塗抹後、嫌気培養を行った。

8. CFIX投与によるマウス盲腸内容物中の*C. difficile*の出現

CFIXを1日2mg, 7日間経口投与し、マウス盲腸内容物からの*C. difficile*の出現を検討した。比較薬剤としてABPCを用いた⁵⁾。

実験成績

1. 抗菌スペクトラム

参考菌株60株に対するCFIXの抗菌力をCEX,

Table 4 *In vitro* antibacterial activity of CFIX, CEX, CCL, AMPC and OFLX against reference strains of anaerobic bacteria

Organism	Inoculum size; 10 ⁶ cfu/ml				
	MIC (μ g/ml)				
	CFIX	CEX	CCL	AMPC	OFLX
<i>Fusobacterium</i>					
<i>F. nucleatum</i> ATCC 10953	0.10	0.39	0.78	≤ 0.025	1.56
<i>F. nucleatum</i> ATCC 25586	0.05	0.20	0.78	≤ 0.025	1.56
<i>F. nucleatum</i> F-1	0.05	0.20	0.39	≤ 0.025	1.56
<i>F. necrophorum</i> ATCC 25286	0.025	0.05	0.05	≤ 0.025	3.13
<i>F. mortiferum</i> B-1083	0.78	100	50	0.78	12.5
<i>F. mortiferum</i> VPI 5696	0.39	3.13	12.5	0.78	1.56
<i>F. mortiferum</i> VPI 4249	0.78	6.25	50	0.78	1.56
<i>F. mortiferum</i> 9817	0.78	25	50	0.78	1.56
<i>F. naviforme</i> VPI 4877	0.025	0.20	0.39	0.05	3.13
<i>F. gonidiaformans</i> VPI 4381	0.025	0.10	0.20	0.10	3.13
<i>F. gonidiaformans</i> VPI 0482	0.025	0.05	0.05	≤ 0.025	0.78
<i>Eubacterium</i>					
<i>E. cylindroides</i> ATCC 27803	6.25	≤ 0.025	0.39	≤ 0.025	0.025
<i>E. aerofaciens</i> ATCC 25986	6.25	1.56	1.56	0.10	0.78
<i>E. limosum</i> ATCC 8486	1.56	3.13	6.25	0.10	3.13
<i>E. plauti</i> VPI 0310	100	12.5	12.5	0.20	0.025
<i>E. plauti</i> VPI 0311	50	12.5	50	0.39	6.25
<i>Propionibacterium</i>					
<i>P. acnes</i> ATCC 11828	0.78	0.78	1.56	0.20	1.56
<i>P. acnes</i> ATCC 6919	0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	0.39
<i>P. granulosum</i> ATCC 25564	0.78	0.78	0.39	≤ 0.025	0.20
<i>Bifidobacterium</i>					
<i>B. adolescentis</i> ATCC 15703	3.13	1.56	1.56	0.10	1.56

CCL, AMPC, OFLX を用いて、接種菌量を 10⁸cfu/ml と 10⁶cfu/ml で比較検討した。供試薬剤の嫌気性菌の参考菌株に対する MIC を 10⁸cfu/ml, 10⁶cfu/ml の接種菌量別に、*Bacteroides* 属, *Capnocytophaga* 属, *Fusobacterium* 属, *Eubacterium* 属, *Propionibacterium* 属, *Bifidobacterium* 属, *Peptostreptococcus* 属, *Streptococcus* 属, *Clostridium* 属の各菌種について Table 1, 2, 3, 4, 5 および 6 に示した。

強い β -lactamase 産生株である *B. fragilis* ATCC 25285, *B. thetaiotaomicron* ATCC 29741, WAL 2926, WAL 3304, *B. ovatus* ATCC 8483 株に対する CFIX の MIC は接種菌量により変動したが、それ以外の *Bacteroides* 属, *Capnocytophaga* 属に対して CFIX

は強い抗菌力を示し、CEX, CCL より優れた抗菌力を示した。とくに 10⁶cfu/ml 接種菌量で CFIX は CCL より著しい抗菌力の差を認めた。*Fusobacterium* 属では CFIX は CEX, CCL より優れた抗菌力を示したが、*F. mortiferum* に対しては CFIX は CEX, CCL と同様に抗菌力は認められなかった。*Eubacterium* 属, *Propionibacterium* 属, *Bifidobacterium* 属に対しては CFIX は比較薬剤と同様に強い抗菌力を示したが、*E. plauti* に対しては CEX, CCL と同様に抗菌力は認められなかった。

嫌気性の球菌である *Peptostreptococcus* 属, *Streptococcus* 属に対して CFIX は比較薬剤と同様に強い抗菌力を示した。*Clostridium* 属に対しても CFIX は強い

Table 5 *In vitro* antibacterial activity of CFIX, CEX, CCL, AMPC and OFLX against reference strains of anaerobic bacteria

Organism	Inoculum size; 10 ⁸ cfu/ml				
	MIC (μg/ml)				
	CFIX	CEX	CCL	AMPC	OFLX
<i>Peptostreptococcus</i>					
<i>P. anaerobius</i> ATCC 27337	1.56	3.13	1.56	0.39	0.78
<i>P. micros</i> VPI 5464-1	0.39	0.78	3.13	0.10	0.78
<i>P. parvulus</i> VPI 0546	0.78	0.05	0.05	0.05	0.78
<i>P. magnus</i> ATCC 29328	6.25	0.78	1.56	0.10	1.56
<i>P. magnus</i> ATCC 14956	12.5	12.5	12.5	0.20	3.13
<i>P. saccharolyticus</i> ATCC 13953	3.13	0.10	0.39	≤0.025	6.25
<i>P. saccharolyticus</i> WAL 3218	0.39	3.13	3.13	0.20	12.5
<i>Streptococcus</i>					
<i>S. intermedius</i> ATCC 27735	1.56	3.13	12.5	0.20	3.13
<i>Clostridium</i>					
<i>C. perfringens</i> ATCC 3624	12.5	50	25	0.20	12.5
<i>C. difficile</i> ATCC 9689	>200	100	200	1.56	12.5
<i>C. tetani</i> ATCC 19406	3.13	0.78	3.13	0.10	0.78
<i>C. tetani</i> ATCC 9714	3.13	0.78	1.56	0.39	0.39
<i>C. novyi</i> type A ATCC 19402	0.20	0.20	0.20	0.05	0.39
<i>C. sordellii</i> ATCC 9714	0.20	3.13	6.25	≤0.025	6.25
<i>C. histolyticum</i> ATCC 19401	6.25	6.25	12.5	0.20	0.39
<i>C. innocuum</i> ATCC 14501	>200	25	25	0.39	12.5
<i>C. clostridiiforme</i> ATCC 25537	12.5	200	100	0.39	50
<i>C. ramosum</i> ATCC 25582	100	100	100	0.10	25
<i>C. sporogenes</i> ATCC 19404	12.5	3.13	6.25	0.39	0.39
<i>C. sporogenes</i> ATCC 3584	6.25	3.13	6.25	0.10	0.39

抗菌力を示すが、*C. difficile*、*C. innocuum* に対しては抗菌力は認められなかった。

2. 基礎培地による MIC の変動

CFIX の MIC に及ぼす基礎培地の影響について検討した成績を Table 7 に示した。GAM 寒天培地、Brucella 血液寒天培地および Wilkins-Chalgren 培地を用いた。GAM 寒天培地と Brucella 血液寒天培地とは全く同様な成績を示したが、Wilkins-Chalgren 培地では *B. fragilis* GM 7000 株と *P. magnus* ATCC 29328、*E. limosum* ATCC 8486 株で MIC は低い、これらの菌株は薬剤不含の Wilkins-Chalgren 培地での発育が極めて悪いことから基礎培地の菌発育支持力が弱いことによると考えられる。

3. 臨床分離株の感受性分布

CFIX の臨床分離株に対する 10⁶cfu/ml 接種での感受性分布を比較した成績を Fig. 1 ~ 8, Table 8 に示した。対照薬剤には CCL, CEX, AMPC, OFLX, CLDM を用いた。*B. fragilis* 52 株 (OFLX のみ 26 株) に対する感受性分布は Fig. 1 に示す如く CFIX は OFLX には劣るが、AMPC, CEX, CLDM, CCL より優れていた。*B. thetaiotaomicron* 14 株に対する感受性分布は Fig. 2 に示す如く、CFIX は OFLX, AMPC, CEX より劣るが、CLDM, CCL より優れていた。*B. uniformis* 12 株に対する感受性分布は Fig. 3 に示す如く、CFIX は OFLX, AMPC とほぼ同等で、CEX, CLDM, CCL より優れていた。*B. distasonis* 8 株に対する感受性分布は Fig. 4 に示す如く、CFIX は OFLX より若干劣るが、AMPC, CEX, CCL,

Table 6 *In vitro* antibacterial activity of CFIX, CEX, CCL, AMPC and OFLX against reference strains of anaerobic bacteria

Organism	Inoculum size; 10 ⁶ cfu/ml				
	MIC (μ g/ml)				
	CFIX	CEX	CCL	AMPC	OFLX
<i>Peptostreptococcus</i>					
<i>P. anaerobius</i> ATCC 27337	1.56	0.78	1.56	0.10	0.78
<i>P. micros</i> VPI 5464-1	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>P. parvulus</i> VPI 0546	0.78	0.05	0.05	0.05	0.78
<i>P. magnus</i> ATCC 29328	0.78	0.20	0.39	0.05	0.20
<i>P. magnus</i> ATCC 14956	3.13	3.13	3.13	0.10	1.56
<i>P. saccharolyticus</i> ATCC 13953	3.13	0.05	0.20	≤ 0.025	0.78
<i>P. saccharolyticus</i> WAL 3218	0.39	3.13	3.13	0.20	6.25
<i>Streptococcus</i>					
<i>S. intermedius</i> ATCC 27735	1.56	3.13	6.25	0.20	1.56
<i>Clostridium</i>					
<i>C. perfringens</i> ATCC 3624	0.78	0.39	0.10	≤ 0.025	0.78
<i>C. difficile</i> ATCC 9689	>200	50	100	0.39	12.5
<i>C. tetani</i> ATCC 19406	0.39	0.78	1.56	0.05	0.20
<i>C. tetani</i> ATCC 9714	0.78	0.39	1.56	0.10	0.20
<i>C. novyi</i> type A ATCC 19402	0.20	0.10	0.20	≤ 0.025	0.39
<i>C. sordellii</i> ATCC 9714	0.20	3.13	1.56	≤ 0.025	3.13
<i>C. histolyticum</i> ATCC 19401	3.13	6.25	6.25	0.10	0.20
<i>C. innocuum</i> ATCC 14501	200	25	25	0.39	12.5
<i>C. clostridiiforme</i> ATCC 25537	≤ 0.025	≤ 0.025	1.56	0.05	0.10
<i>C. ramosum</i> ATCC 25582	50	50	50	≤ 0.025	12.5
<i>C. sporogenes</i> ATCC 19404	3.13	1.56	6.25	0.10	0.39
<i>C. sporogenes</i> ATCC 3584	3.13	3.13	6.25	0.10	0.20

Table 7 Comparison of MIC of CFIX on various media

Organism	Inoculum size ; 10 ⁸ cfu/ml		
	MIC (μ g/ml) on		
	GAM agar	Brucella blood agar	Wilkins-Chalgren agar
<i>B. fragilis</i> GM 7000	12.5	12.5	6.25
<i>B. fragilis</i> ATCC 25285	200	200	200
<i>B. melaninogenicus</i> GAI 0410	0.1	0.1	0.1
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL 2926	100	100	100
<i>P. magnus</i> ATCC 29328	6.25	6.25	3.13
<i>P. asaccharolyticus</i> ATCC 13953	3.13	3.13	3.13
<i>E. limosum</i> ATCC 8486	3.13	3.13	1.56
<i>C. difficile</i> ATCC 9689	200	200	200

Fig. 1 Sensitivity distribution of clinical isolates
B. fragilis Inoculum size 10⁶ cfu/ml

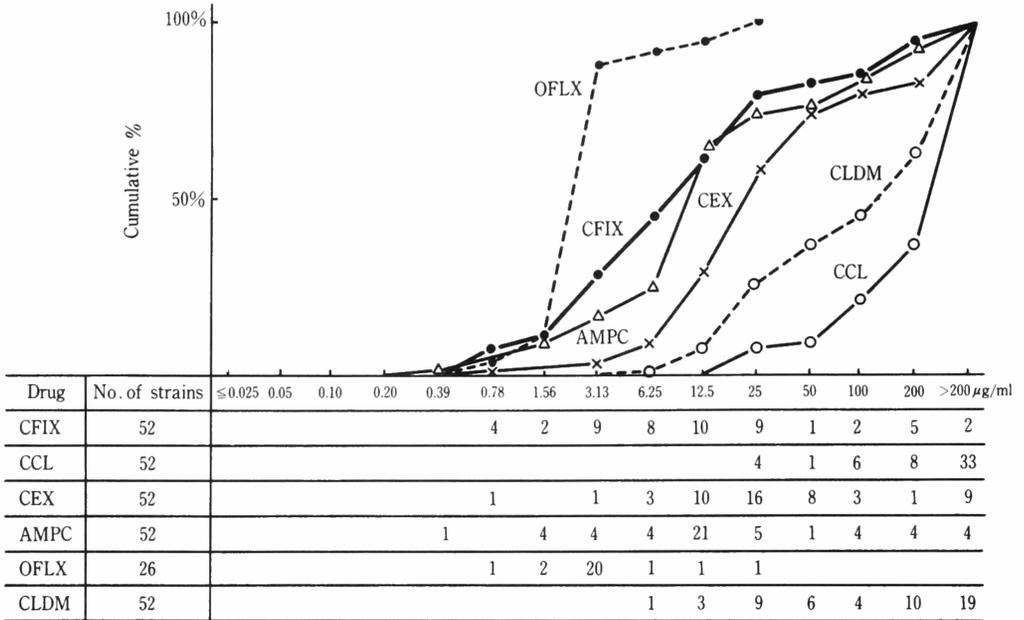


Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates
B. thetaiotaomicron Inoculum size 10⁶ cfu/ml

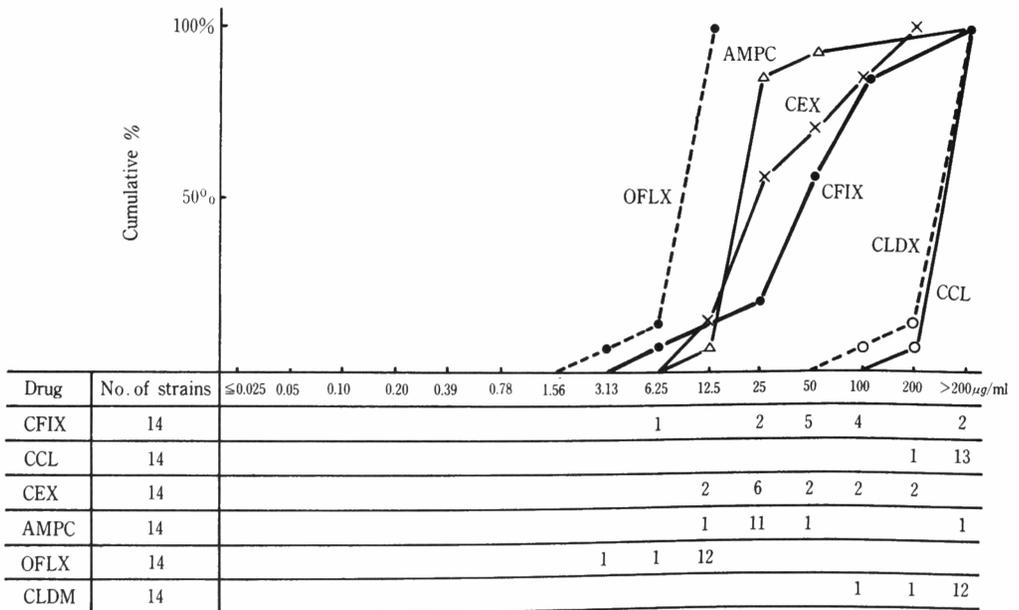


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates
P. magnus Inoculum size 10^6 cfu/ml

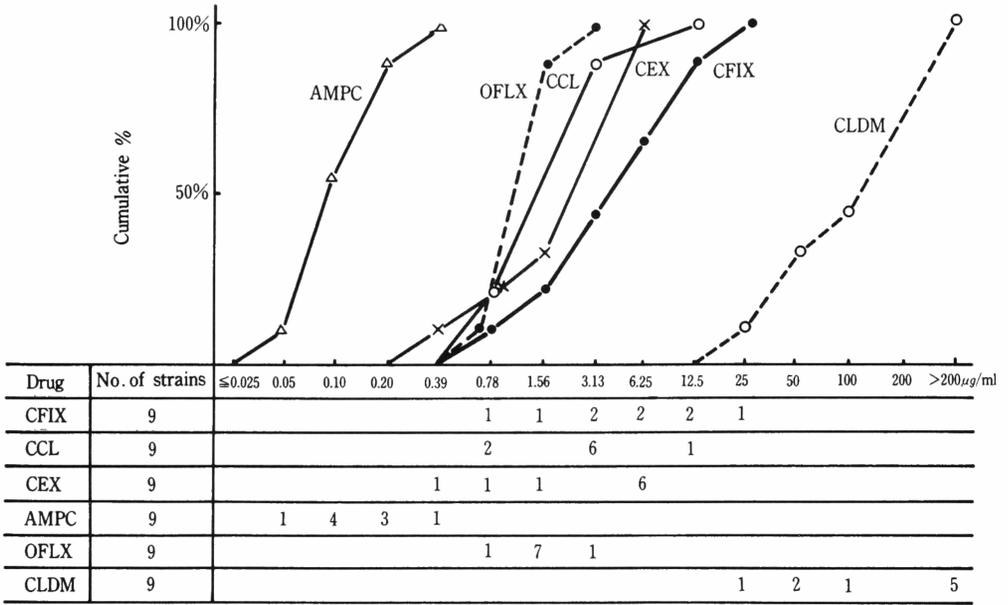


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates
P. anaerobius Inoculum size:10 cfu/ml

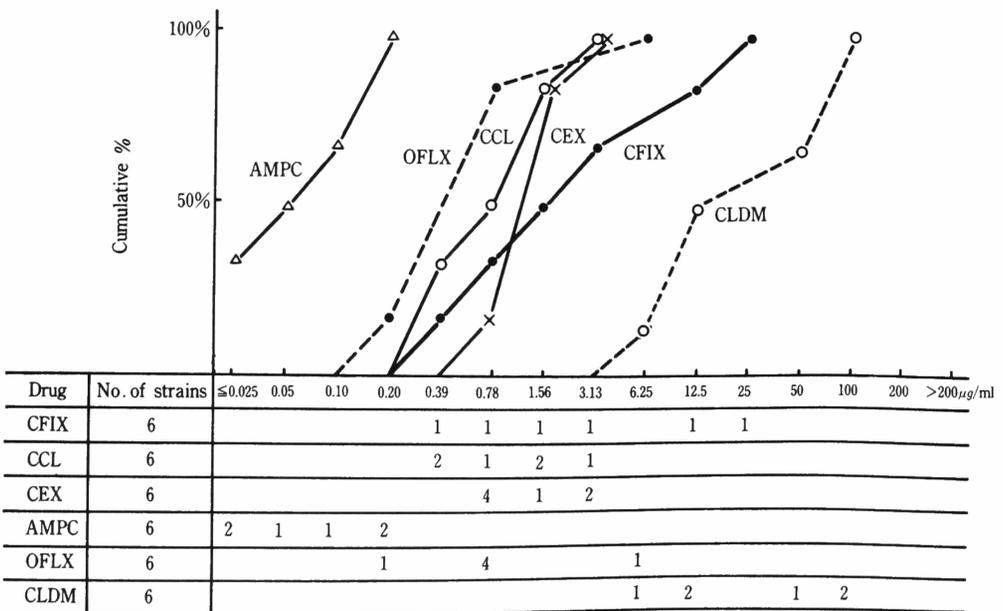


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates
C. difficile Inoculum size 10⁶cfu/ml

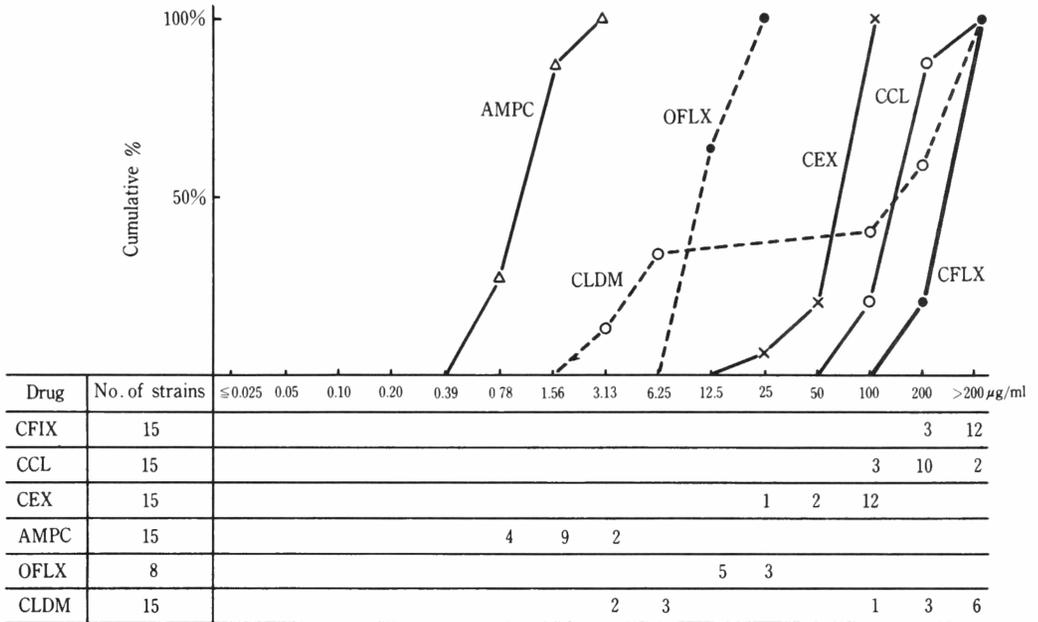
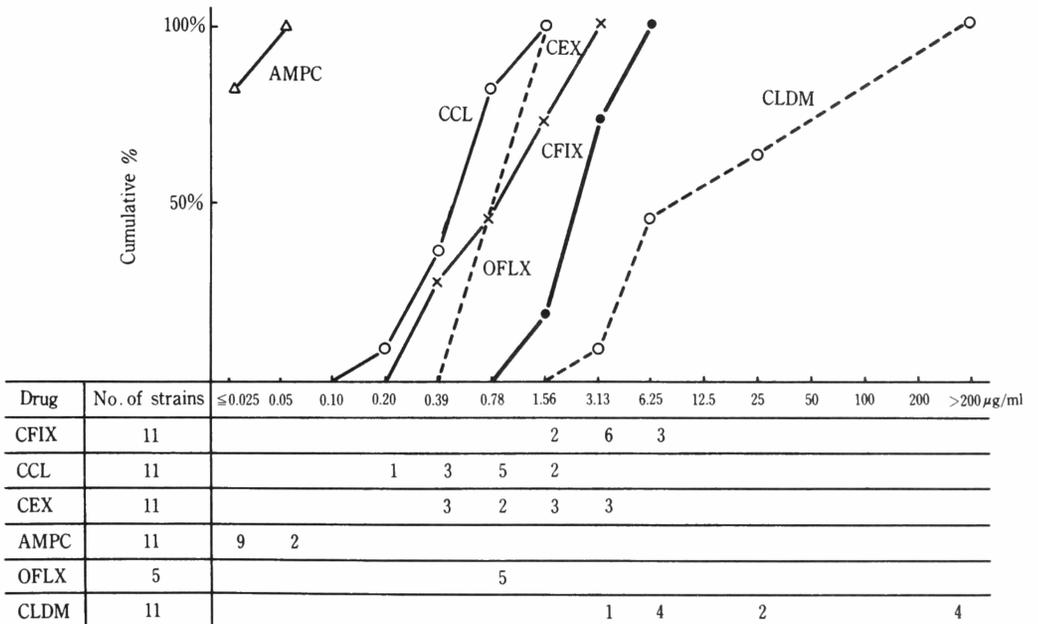


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates
C. perfringens Inoculum size 10⁶cfu/ml



CLDMより優れていた。*B. vulgatus*, *B. bivius*, *B. intermedius*, *B. corporis*, *F. varium*に対する感受性分布は被検菌株数が少ないために対照薬剤と比較することはできないが、Table 8に示す如くCFIXはこれらの菌種に対しても優れた抗菌力を示した。

嫌気性球菌である*P. magnus* 9株, *P. prevotii* 1株, *P. anaerobius* 6株に対する感受性分布はFig. 5, 6, Table 8に示す如く、CFIXはCCLとほぼ同等の抗菌力を示し、CLDMより優れていた。

P. acnes 3株に対するCFIXの抗菌力はTable 8に示す如く、優れた抗菌力を示した。

C. difficile 15株 (OFLXのみ8株)に対する感受性分布はFig. 7に示す如く、CFIXの抗菌力は認められず、AMPCが最も優れていた。*C. perfringens* 11株

(OFLXのみ5株)に対する感受性分布はFig. 8に示す如く、CFIXはAMPC, CCL, OFLX, CEXより劣るものの3.13~6.25 μ g/mlに分布した。

4. *B. fragilis*の増殖曲線に及ぼす影響

B. fragilis GM 7000の増殖曲線に及ぼすCFIXの影響を検討した成績をFig. 9に示した。CFIXは2 MIC, 4 MICの含有培地中で*B. fragilis* GM 7000株の発育を著明に阻止し、強い殺菌作用を示した。

5. *B. fragilis*からの不活化酵素に対する安定性

B. fragilis 5株から得られた粗酵素液に対するCFIXの安定性をPCG, ABPC, CETおよびCEZを対照薬剤として比較検討した成績をTable 9に示した。CFIXは*B. fragilis*からの粗酵素液に対してPCG, ABPC, CET, CEZより安定であることが認められ

Table 8 MIC values against clinical isolates (Inoculum size ; 10⁶ cfu/ml)

Organism	No. of strains	Drug					
		CFIX	CCL	CEX	AMPC	OFLX	CLDM
<i>B. vulgatus</i>	2	1.56 25	200 200	6.25 50	12.5 12.5	6.25 12.5	25 >200
<i>B. bivius</i>	2	0.78 6.25	3.13 >200	0.78 50	1.56 50	3.13 3.13	6.25 12.5
<i>B. melaninogenicus</i> ss. <i>intermedius</i>	3	0.10 0.39 3.13	0.39 1.56 3.13	0.39 1.56 1.56	≤0.025 0.10 0.20	1.56 1.56 1.56	3.13 6.25 12.5
<i>B. melaninogenicus</i> ss. <i>corporis</i>	1	6.25	100	6.25	25	6.25	6.25
<i>F. varium</i>	1	3.13	50	12.5	0.78	6.25	>200
<i>P. prevotii</i>	1	1.56	0.10	0.39	≤0.025	12.5	50
<i>P. acnes</i>	3	≤0.025 ≤0.025 0.10	≤0.025 ≤0.020 0.20	≤0.025 ≤0.025 0.39	≤0.025 ≤0.025 ≤0.025	0.20 0.78 0.78	1.56 12.5 25

Table 9 Stability of CFIX against β -lactamase from *B. fragilis*

Strain	Substrate	Relative rate of hydrolysis				
		CFIX	CET	CEZ	ABPC	PCG
<i>B. fragilis</i> GAI 0983		25	24,900	3,054	48	100
<i>B. fragilis</i> GAI 3790		28	52,857	4,436	49	100
<i>B. fragilis</i> GAI 1509		10	5,675	1,548	38	100
<i>B. fragilis</i> GAI 0844		0	358	2,354	18	100
<i>B. fragilis</i> GAI 0345		0	10,900	3,459	13	100

た。とくに、*B. fragilis* GAI 0844, GAI 0345株由来の粗酵素液に対しては全く安定であることが認められた。

6. *E. coli* と *B. fragilis* の混合感染マウスに対する治療効果

E. coli と *B. fragilis* の腹腔内混合感染マウスに対するCFIXの治療効果の成績をFig.10に示した。混合感染マウスの対照群は、感染後3日目までに全例死亡したが、治療群ではCFIXの1日2mg, 5日間投与群では10%, 1日1mg, 5日間投与群では40%, 1日0.5mg, 5日間投与群では90%のマウスが死亡した。すな

わち、CFIX 1日2mg投与群では著しい治療効果が認められた。なお、1日2mgおよび1mg, 5日間投与群で生存したマウスは、屠殺剖検により完治していることが認められたが、1日0.5mg, 5日間投与群で生存した1匹のマウスには腹壁および肝臓に膿瘍が認められた。

7. *F. necrophorum* による実験的マウス皮下膿瘍に対する治療効果

F. necrophorum によるマウス皮下膿瘍に対するCFIXの治療効果をCCLを対照薬剤として検討した成績をTable 10に示した。CFIXは1日量0.5mg投与でもCCLの1日量2mg投与群と同等の治療効果を示した。

8. CFIX投与によるマウス盲腸内容物中の*C. difficile*の出現

マウスにCFIXの2mgを1日1回7日間経口投与しても、マウス盲腸内容物中に*C. difficile*の異常増殖は認められなかった。しかし、対照薬剤であるABPC投与群では*C. difficile*の明らかな異常増殖が認められた(Table 11)。

考 察

Cefixime (CFIX) は藤沢薬品中央研究所で開発された第3世代cephalosporin系抗生剤の経口剤である。本剤の抗菌力は従来の経口β-lactam系抗生剤に比べ、Staphylococciに対しては若干劣り、Streptococciに対してはCCLとほぼ同等である。しかし、グラム陰性

Fig. 9 Effect of CFIX on viability of *B. fragilis* GM7000

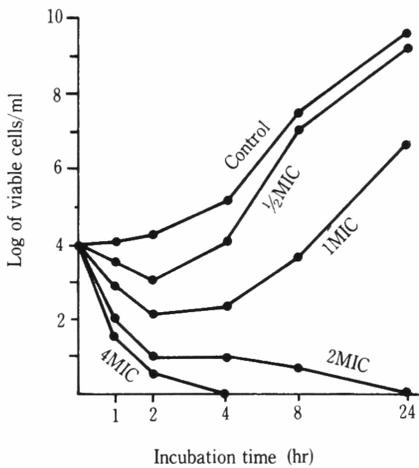
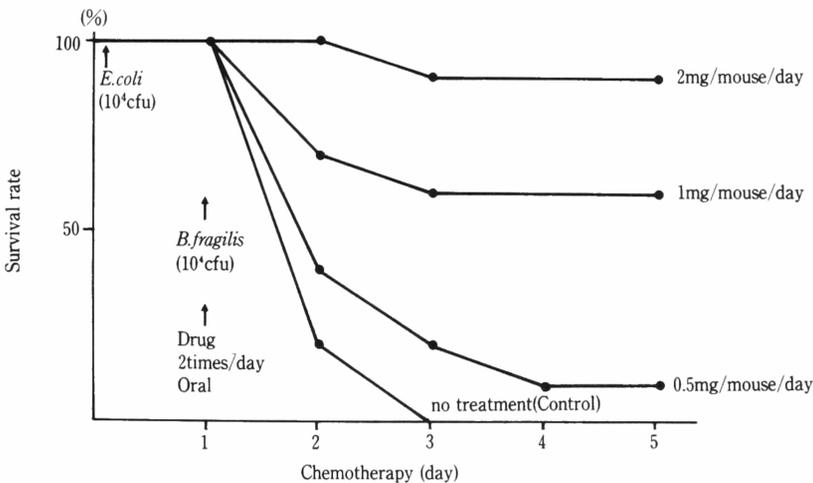


Fig. 10 Protecting effect of CFIX in experimental intraabdominal mixed infections in mice due to β-lactamase producing *B. fragilis* and β-lactamase non producing *E. coli*. (n=10)



桿菌に対しては本剤は従来の経口 β -lactam 剤より強い抗菌力が示されている²⁾。

今回の検討から、本剤は嫌気性菌に対しても広い抗菌スペクトラムと強い抗菌力を有することが認められた。しかし、 β -lactamase 産生性の *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *B. ovatus* では接種菌量により MIC が変動し、*Bacteroides* 属の産生する β -lactamase により CFIX は加水分解を受けることが示唆された。しかし、その程度は弱く、CET, CEZ より著しく安定、PCG, ABPC よりも安定である。SHIGI ら³⁾は1株の

B. fragilis を用いての実験で CFIX は CER, CCL よりも安定であるが、CEX, CZX, ABPC より若干不安定であるとしている。一方、*F. mortiferum*, *E. plauti*, *C. difficile*, *C. innocuum* は CFIX に高度自然耐性菌種である。

新鮮臨床分離株の CFIX に対する感受性分布は参考菌株での抗菌スペクトラムの成績をよく反映し、本剤の優れた抗菌力が認められた。

B. fragilis の増殖曲線に及ぼす検討において、2 MIC の濃度で菌の発育を著明に阻止したことから、CFIX

Table 10 Chemotherapeutic effect of CFIX and CCL in experimental subcutaneous abscess in mice due to *Fusobacterium necrophorum* (7 days treatment)

Drug		CFIX		CCL		Control
Dose (mg/mouse/day/oral)		2 mg	0.5 mg	2 mg	0.5 mg	0
No. of mouse used		10	10	10	10	10
General condition		good	good	good	good	poor
Body weight		↑	↑	↑	↗	↘
Local site injected	Abscess	0/10	6/10	3/10	6/10	10/10
	Ulcer	4/10	6/10	6/10	6/10	7/10
Recovery of organisms from :	Local site	2/10	4/10	3/10	7/10	10/10
	Lung	0/10	0/10	0/10	0/10	4/10
	Spleen	0/10	0/10	0/10	1/10	8/10
	Liver	0/10	1/10	1/10	3/10	10/10
	Kidney	1/10	0/10	0/10	1/10	3/10

Table 11 Appearance of *C. difficile* in caecum contents of mice administrated CFIX and ABPC

Drug	Dose * (mg/mouse)	Recovery of <i>C. difficile</i> in caecum contents **				Rate of appearance of <i>C. difficile</i> (%) from caecum contents				
		-	+	++	+++	20	40	60	80	100 (%)
CFIX	2 mg	8	2							
ABPC	2 mg			2	8					

* Medication : once a day for 7 days, route ; oral

** Grade of recovery : +++ : 10^3 cfu or more/ 10μ l of caecum contents
 ++ : $10^2 \sim 10^3$ cfu / 10μ l of caecum contents
 + : 10^2 cfu or less / 10μ l of caecum contents
 - : no growth

は強い殺菌作用を有することが示唆された。

E. coli と *B. fragilis* との腹腔内混合感染モデルおよび *F. necrophorum* による膿瘍形成マウスでの CFIX の治療実験において強い治療効果が認められた。

近年、抗菌剤療法と関連して *C. difficile* 性の腸炎や下痢が注目されている。著者ら⁹⁾が開発した実験方法を用いて、CFIX による *C. difficile* 下痢の発症の可能性について検討したところ、本剤の投与により *C. difficile* 下痢症の発症の可能性は低いことが示唆された。

以上の実験から、CFIX は嫌気性菌による単独感染はもとより、通性嫌気性菌と嫌気性菌との複数菌感染の抗生剤療法の経口剤として十分期待することができる。

文 献

1) SHIGI, Y.; Y. MATSUMOTO, M. KAIZU, Y. FUJI-

SHITA & H. KOJO: Mechanism of action of the new orally active cephalosporin FK027. *J. Antibiotics* 37: 790~796, 1984

- 2) KAMIMURA, Y.; H. KOJO, Y. MATSUMOTO, Y. MINE, S. GOTO & K. KUWAHARA: *In vitro* and *in vivo* antibacterial properties of FK027, a new orally active cephem antibiotic. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 25: 98~104, 1984
- 3) 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) 沢井哲夫, 高橋郁子: β -ラクタマーゼ活性測定法とその応用. *蛋白質 核酸 酵素* 23: 391~400, 1978
- 5) 青木 誠, 小林とよ子, 渡辺邦友, 上野一恵: 化学療法剤投与によるマウス盲腸内 *Clostridium difficile* の変動について. *Chemotherapy* 33: 617~623, 1985

IN VITRO AND IN VIVO ACTIVITIES OF CEFIXIME
AGAINST ANAEROBIC BACTERIA

KAKUYO SAWA, TOYOKO KOBAYASHI, HIDEKI KOHNO,
KUNITOMO WATANABE and KAZUE UENO
Institute of Anaerobic Bacteriology,
Gifu University School of Medicine

The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities of cefixime (CFIX), a new 3rd generation oral cephalosporin, against anaerobic bacteria were evaluated and compared with those of cephalexin (CEX), cefaclor (CCL), amoxicillin (AMPC), ofloxacin (OFLX) and clindamycin (CLDM). The results were as follows :

1. The antibacterial spectrum of CFIX against standard strains of anaerobic bacteria was somewhat broader than that of CEX and CCL and was almost equal or narrower than that of AMPC and OFLX. CFIX provided potent antibacterial activity against almost all of the strains tested except certain strains of the *B.fragilis* group, *F.mortiferum*, *C.difficile*, *C.innocuum* and *E.plauti*, and the MICs at the highest were 3.13 μ g/ml at inoculum size of 10⁸cells/ml.
2. The susceptibility distribution of CFIX against clinical isolates reflected the results with standard strains of anaerobic organisms ; CFIX provided a satisfactory antibacterial activity against these organisms.
3. CFIX was more stable than CET, CEZ, PCG and ABPC to β -lactamase by *B.fragilis*.
4. The effect of CFIX on viability suggested that the drug had a bactericidal activity against *B.fragilis*.
5. In experimental model with mice, CFIX provided a therapeutic effect against polymicrobial infection with *E.coli* and β -lactamase producing *B.fragilis* in the peritoneal cavity and abscess caused by *F.necrophorum*.
6. CFIX, unlike ABPC, caused no abnormal growth of *C.difficile* in mouse cecum.