

## Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) のメチシリン耐性 *Staphylococcus aureus* に対する抗菌作用

村上和久・野村和秀・土肥正善・吉田 正  
塩野義製薬株式会社研究所

Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) は、臨床分離された *Staphylococcus aureus* の感受性株には Cefazolin (CEZ) と同程度の抗菌活性を示したが、さらに、6315-S は、CEZ が抗菌活性を持たないメチシリン耐性 *S. aureus* (MRSA) にも比較的強い活性を示した。CEZ の最小発育阻止濃度 (MIC) が 25  $\mu\text{g/ml}$  以上である 137 株の MRSA に対する 6315-S の MIC 分布は、2 峰性を示した。これらの株を 6315-S の MIC が 12.5  $\mu\text{g/ml}$  以上のグループ (17% の株、H-MRSA) と 6.3  $\mu\text{g/ml}$  以下のグループ (83% の株、L-MRSA) に分けた。H-MRSA は、どの  $\beta$ -lactam 薬にも耐性であった。MRSA は、耐性に関与する PBP-2' を産生し、H-MRSA では、L-MRSA より産生量が多かった。6315-S は、他の薬剤と同様 PBP-2' に親和性が低かった。L-MRSA は、penicillinase plasmid を持ち、PBP-2' を誘導的に産生したが、6315-S は、他薬より誘導能が低く、これが、その抗菌活性に寄与する要因のひとつと考えられた。一方、L-MRSA の penicillinase plasmid を除いた亜株では親株の 8 倍の PBP-2' を産生していたにもかかわらず 6315-S の MIC は、親株と亜株で差がなく、6315-S には未知的作用があると推測された。一部の L-MRSA 株では、CEZ 耐性に penicillinase が関与していた。6315-S は、penicillinase に安定な構造であり、この安定性も抗菌活性に寄与すると思われた。

欧米諸国においては、1961 年に初めてメチシリン耐性 *Staphylococcus aureus* (MRSA) の分離が報告されているが<sup>1,2)</sup>、我国においても 1980 年頃より MRSA が増加していることが報告されている<sup>3)</sup>。これらの MRSA 株は、感受性株では検出されない新しいペニシリン結合蛋白質、(PBP-2') を産生している<sup>4)</sup>。多くの  $\beta$ -lactam 薬は、この PBP に非常に低い親和性しか示さず、そのために菌が耐性化すると考えられている。さらに、PBP-2' は、菌を  $\beta$ -lactam 薬存在下で培養することによって誘導的に産生されることも報告された<sup>5,6)</sup>。

Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef : FMOX) は、グラム陰性菌ばかりでなく、*S. aureus* に対しても抗菌スペクトルが拡大した抗生物質として開発された<sup>7)</sup>。我々は、既に、6315-S が MRSA に対しても強い抗菌作用を持っていることを報告した<sup>8)</sup>。本論文では、6315-S の MRSA に対する抗菌作用機序について述べる。

### I. 材料と方法

#### 1. 菌株

*S. aureus* は、国内各地の病院で臨床分離された株を用いた。

#### 2. 薬剤

6315-S (FMOX, 塩野義製薬), Cefazolin (CEZ, 藤沢薬品), Cefamandole (CMD, 塩野義製薬), Cefmetazole (CMZ, 三共), Methicillin (DMPPC, Sigma), Latamoxef (LMOX, 塩野義製薬), Ceftizoxime (CZX, 藤沢薬品), [<sup>14</sup>C] Penicillin G ([<sup>14</sup>C] PCG, Amersham), Ethidium bromide (Sigma) を用いた。Clavulanic acid は塩野義製薬研究所で調製された。

#### 3. Penicillinase plasmid の除去

Penicillinase plasmid の除去は、ethidium bromide 処理法、または、高温培養法で行なった。ethidium bromide 処理法では、菌を ethidium bromide を 4~16  $\mu\text{g/ml}$  含むトリプトソイブイオン培地で 37°C で一夜静置培養したのち、菌液を希釈してトリプトソイ寒天培地上に塗布し、さらに、37°C で一夜培養した。高温培養法では、菌を L-broth (trypton [Difco] : 10 g/L, yeast extract [Difco] : 5 g/L, NaCl : 5 g/L, pH 7.2) 中で 43°C で一夜振とう培養し、菌液を希釈し

てL-agar (1.5%の agar を含む L-broth) 上に塗布し、さらに、一夜 37°C で培養した。生じたコロニーの penicillinase 産生を nitrocefin またはヨード法で検出し、penicillinase 非産生菌株を分離した。

#### 4. ペニシリン結合蛋白質 (PBP) に対する $\beta$ -lactam 薬の親和性の測定

L-Broth 中で 37°C で一夜振とう培養した菌を 4.4  $\ell$  の L-broth に 5% 植菌し、さらに 37°C で 4 時間振とう培養した。6,800  $\times$  g で 4°C で遠心集菌し、0.01 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0) で 1 回洗浄した後、0.05 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0, 0.01 M MgCl<sub>2</sub> を含む) に懸濁した (計 170 ml)。懸濁した菌を氷水中で間歇的に正味 4 分間超音波破碎した。4°C で 5,300  $\times$  g で 15 分間遠心した上清をプールして 4°C で 100,000  $\times$  g で 30 分間遠心して膜画分を集め、2 回洗浄した後、同じ緩衝液に蛋白質濃度が 10 mg/ml になるように懸濁し、使用するまで -78°C に保存した。

100  $\mu$ l の膜画分と種々の濃度の薬剤溶液 10  $\mu$ l を混ぜて 30°C で 10 分間インキュベートした後、[<sup>14</sup>C]PCG (50  $\mu$ Ci/ml) を 30  $\mu$ l 加えてさらに、30°C で 10 分間インキュベートした。sarkosyl (10%) と PCG (60 mg/ml) の混合液を 10  $\mu$ l 加えて反応を止め、室温に 20~30 分間放置した後、30,000  $\times$  g で 30 分間遠心し、上清 30  $\mu$ l を SDS-ポリアクリルアミド平板ゲル電気泳動 (PAGE) にかけた。acrylamide は、8 または 9%, bis-acrylamide はその 0.75% の濃度を用いた<sup>4)</sup>。フルオログラフィー法で PBP を検出した。

#### 5. $\beta$ -Lactam 薬による PBP-2' の誘導

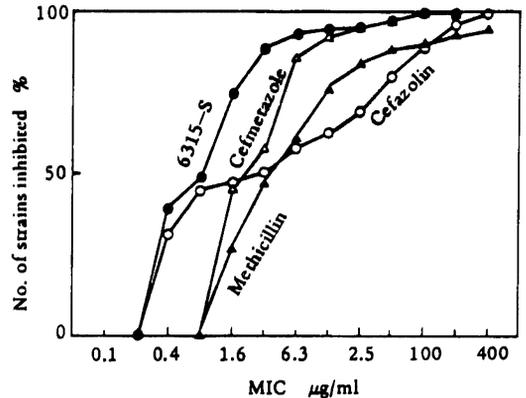
L-Broth 中で 32°C で一夜振とう培養した菌を 200 ml の L-broth に 5% 植菌した。32°C で 2.5 時間振とう培養した後、薬剤を加え、さらに、1.5 時間振とう培養した。膜画分は、[<sup>14</sup>C] PCG ラベルに用いた膜画分と同様に調製した。蛋白質濃度 4 mg/ml の膜画分 100  $\mu$ l に 10% の sarkosyl 溶液を 10  $\mu$ l 加えて膜蛋白質を溶かし、[<sup>14</sup>C] PCG ラベル実験と同じ条件で SDS-PAGE を行なった。Coomassie brilliant blue で、蛋白質を染色し、PBP-2' のバンドをデンストメータで比色定量した。

#### 6. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

MIC の測定は、日本化学療法学会標準法<sup>9)</sup> に準じて寒天希釈法で行なった。トリプトソイブイオン培地中で 37°C で一夜静置培養した菌液を同じ培地で 100 倍に希釈し、約 1  $\mu$ l を 2 倍系列希釈の薬剤を含むミュラーヒントン寒天培地 (0.5% の NaCl を含む) に接種した。本文中に記した温度で約 20 時間培養後、MIC を判定した。

Fig. 1 MIC distributions of  $\beta$ -lactam antibiotics against 360 strains of *S. aureus* clinically isolated

MICs were determined at 37°C.



## II. 結 果

### 1. 臨床分離株に対する 6315-S の抗菌活性

臨床分離された 360 株の *S. aureus* に対する MIC 分布を 6315-S, CEZ, CMZ, DMPPC で比較した (Fig. 1)。6315-S は、約 50% の感受性株に対しては、CEZ と同程度の強い抗菌力を示し、CMZ や DMPPC よりも約 4 倍抗菌活性がすぐれていた。さらに、MRSA に対しても他 3 薬に比べ抗菌活性が強かった。

セファゾリン耐性 (MIC  $\geq$  25  $\mu$ g/ml) の 137 株について 6315-S と CEZ の MIC 分布を Fig. 2 に示した。6315-S の MIC 分布は、12.5  $\mu$ g/ml 以上 (17%) と 6.3  $\mu$ g/ml 以下 (83%) の部分にそれぞれピークを持ち、6315-S に感受性の低い株を H-MRSA、高い株を L-MRSA と名づけた。H-MRSA は、調べたどの  $\beta$ -lactam 薬に対しても耐性であった。

### 2. $\beta$ -Lactam 剤の PBP-2' 親和性と誘導能

耐性に関与している PBP-2' に対する  $\beta$ -lactam 薬の親和性を [<sup>14</sup>C] PCG ラベル法で測定した (Fig. 3)。6315-S は、他薬と同様に、30  $\mu$ g/ml まで PBP-2' に親和性を示さなかった。

PBP-2' は、 $\beta$ -lactam 薬存在下で菌を培養することによって誘導的に産生される蛋白質であることが知られているので<sup>5, 6)</sup>、種々の  $\beta$ -lactam 薬の 32°C における PBP-2' 誘導能を比較した。Fig. 4 は、6315-S または CZX 存在下で 90 分培養した菌の膜蛋白標品を SDS-PAGE にかけて、蛋白質を染色した結果である。CZX 存在下で培養した時に増量しているバンドが PBP-

Fig. 2 MIC distributions of 6315-S and cefazolin against 137 strains to which MICs of cefazolin were more than 25  $\mu\text{g/ml}$

MICs were determined at 37°C.

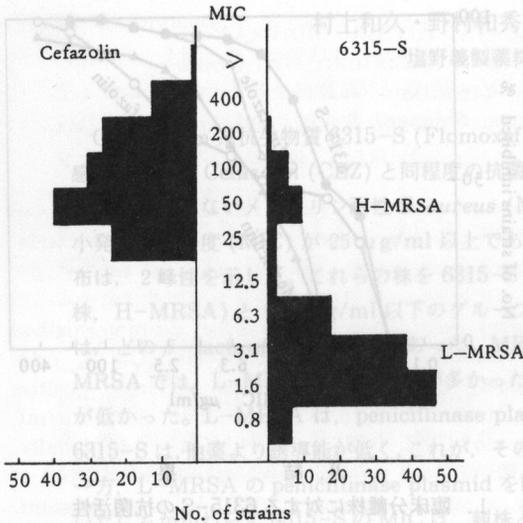
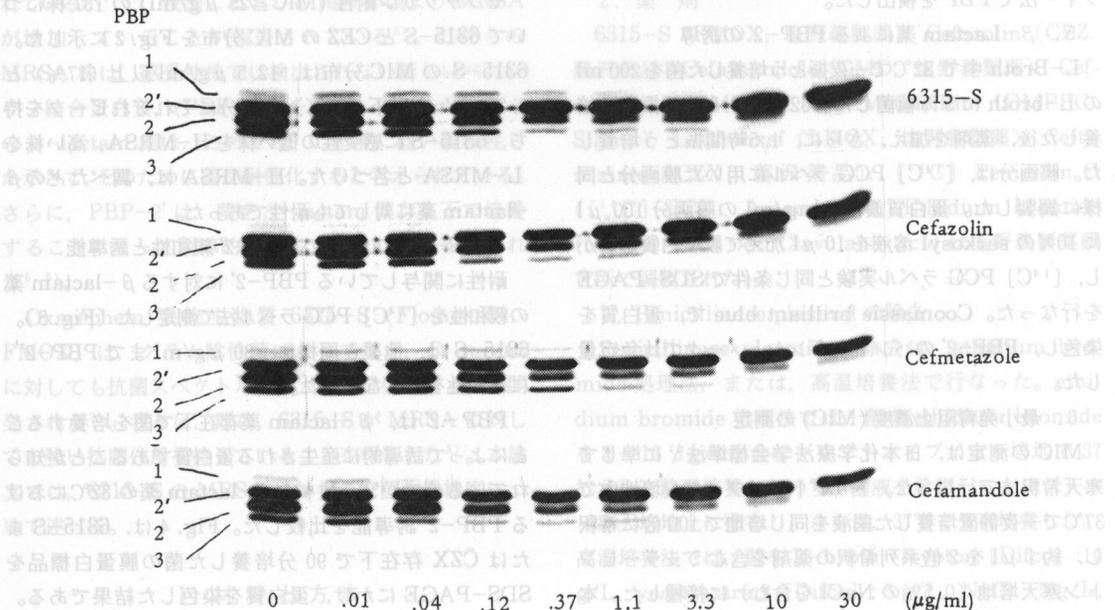


Fig. 3 Affinities of  $\beta$ -lactam antibiotics for PBP-2' of methicillin-resistant *S. aureus*

$\beta$ -Lactams at the concentrations indicated in the figure were incubated with bacterial membrane at 30°C for 10 min. prior to the addition of [ $^{14}\text{C}$ ] penicillin G.

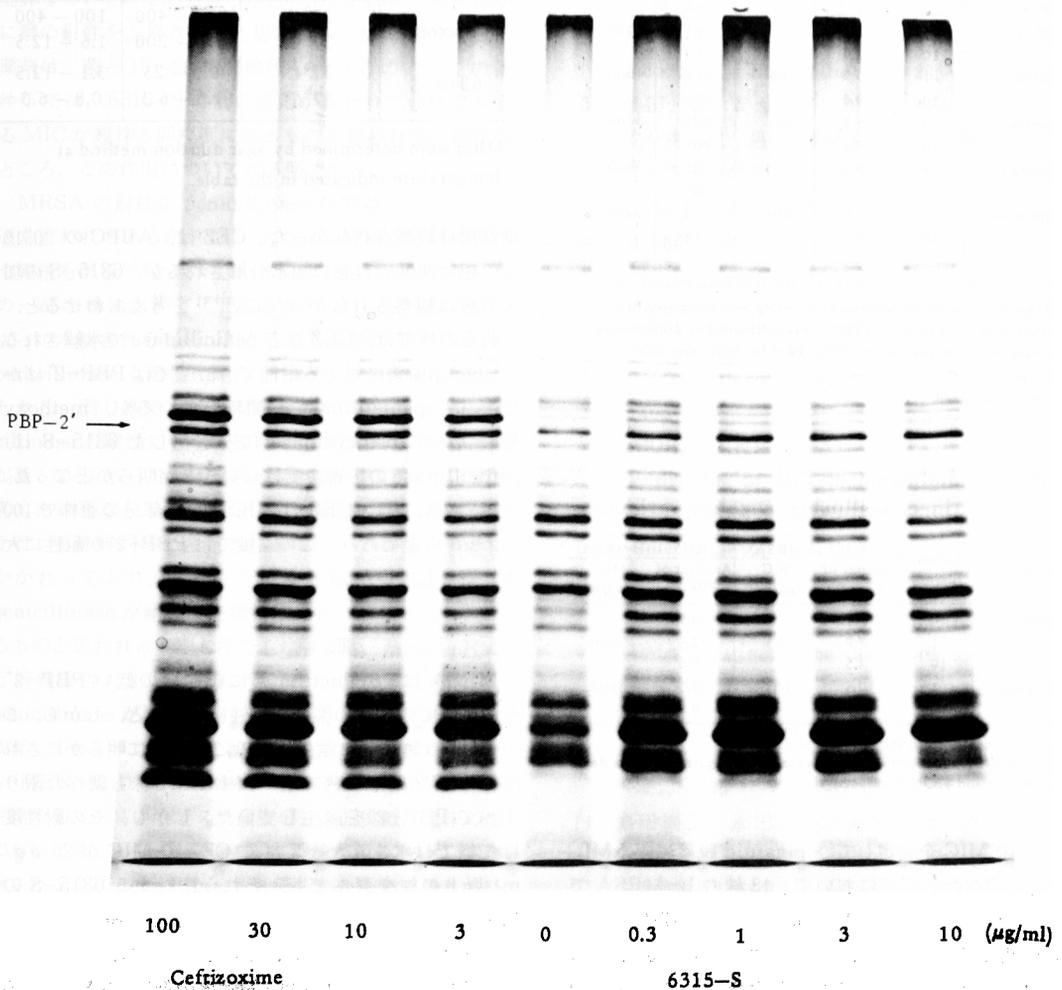


2'であることは、このバンドが pH 5.5 の培地で培養した時には消失すること、あるいは、 $[^{14}\text{C}]$  PCG ラベル実験で検出された PBP-2' が、バンドと同じ易動度を持ち、しかも、誘導産生される性質があることにより確認した。CZX に比べ 6315-S の PBP-2' 誘導能が低いことは明らかであるが、このバンドをデンストメーターで比色定量する方法で各種薬剤の誘導能をさらに詳しく比較した (Table 1)。Penicillinase を産生する L-MRSA 株では、6315-S は、非誘導時の 1.7 倍程度しか PBP-2' を誘導せず、MIC も 6.3  $\mu\text{g/ml}$  であった。他の薬剤は、5.8~9 倍 PBP-2' を誘導し、MIC も高い値を示した。L-MRSA におけるこの誘導能は、penicillinase 誘導能と平行していた。これらの  $\beta$ -lactam 薬について MIC と PBP-2' 誘導能は、よく相関していた。一方、H-MRSA 株では、非誘導時でも L-MRSA 株の 4.4 倍もの PBP-2' を産生していた。6315-S は、CEZ よりは低かったが、CZX と同程度の誘導能を示し、MIC も高かった。

L-MRSA の penicillinase 非産生亜株においては、PBP-2' は、構成的に、しかも親株の 8 倍も産生されて

Fig. 4. Induction of PBP-2' by 6315-S or ceftizoxime in penicillinase-producing L-MRSA strain SR3636

PBP-2' was induced at 32°C by  $\beta$ -lactams at the concentrations indicated in the figure. Membrane proteins were stained with Coomassie brilliant blue R-250.



おり、6315-S 10  $\mu$ g/ml 存在下で培養すると産生量は低下したが、それでも親株の 4.6 倍量であった (Table 2)。しかし、この亜株では、PBP-2' が増加していたにもかかわらず、6315-S の MIC は、親株と同じであった。したがって、この場合には、PBP-2' 産生量と 6315-S 感受性とは、MIC でみた限りにおいては相関が認められなかった。一方、H-MRSA では、PBP-2'

産生量は親株と亜株で差はなかった。

3. セファゾリン耐性における penicillinase の関与  
多くの MRSA は、penicillinase を誘導的に産生する。耐性に対する penicillinase の寄与を調べるために penicillinase plasmid を除去することを試み、23 株の L-MRSA と 10 株の H-MRSA で penicillinase 非産生亜株を分離した。親株とその亜株に対する 6315-S

Table 1 Induction of PBP-2' at 32°C in penicillinase-producing MRSA strains

Antibiotic	Concn (μg/ml)	SR3636 (L-MRSA)		SR3636 (H-MRSA)	
		Amount of PBP-2'	MIC (μg/ml)	Amount of PBP-2'	MIC (μg/ml)
Control	0	1		4.4	
6315-S	1	1.7	6.3	9.1	100
	10	1.4		7.9	
	10	7.7	200	12.0	400
Cefazolin	1	7.7	200	12.0	400
	10	9.0		12.5	
	10	6.2	200	ND	>400
Latamoxef	3	6.2	200	ND	>400
	10	7.4		ND	
Cefmetazole	1	6.8	25	ND	100
	10	5.8		ND	
Ceftioxime	1	7.6	>400	6.2	>400
	10	7.6		7.5	

PBP-2' was induced at 32°C for 90 min. After SDS-polyacrylamide gel electrophoresis, membrane proteins were stained with Coomassie Brilliant Blue R-250 and amount of PBP-2' was determined by densitometry. Values are relative to that of control for SR3636. MICs were also determined at 32°C.

ND: Not determined.

Table 2 Induction of PBP-2' at 32°C in penicillinase-negative variants

Antibiotic	Concn (μg/ml)	SRM401 (L-MRSA)		SRM551 (H-MRSA)	
		Amount of PBP-2'	MIC (μg/ml)	Amount of PBP-2'	MIC (μg/ml)
Control	0	8.1		4.9	
6315-S	1	7.8	6.3	12.5	100
	10	4.6		9.6	
Ceftioxime	1	10.5	ND	5.5	ND
	10	10.1		8.9	

Details were described in the footnote of Table 1.

Strains SRM401 and SRM551 were penicillinase-negative variants derived from SR3636 and SR3626, respectively.

と CEZ の MIC を測定して、plasmid 脱落に伴う MIC の変化を調べた。37°C において、13 株の L-MRSA で CEZ の MIC が 1/8 以下に減少したが、6315-S の MIC の変化は 1/2 以下以内であった (Table 3)。その他、CEZ の MIC が 1/4 に減少した株が 3 株、CEZ の MIC に変化がなく、6315-S の MIC が 1/4 に減少した株が 2 株、両薬の MIC 共変化が 1/2 以内の株が 13 株、両薬の MIC が 0.4 μg/ml 以下になって感受性株化した株が 2 株であった。CEZ の MIC が 1/8 以下になる 13 株のうち 3 株で、親株とその亜株に対する clavulanic acid と CEZ の相乗作用をチェス盤法で測定した。いずれの株においても親株では fractional inhibitory concentration (FIC) index が 0.1~0.38 となり相乗作用が認められたが、penicillinase 非産生亜株では相

Table 3 Contribution of penicillinase to cefazolin resistance in 13 out of 33 MRSA strains

Antibiotic	Temperature	MIC range (μg/ml) for:	
		Parents	Penicillinase-negative variants
Cefazolin	32°C	100 - 400	100 - 400
	37°C	25 - 200	1.6 - 12.5
6315-S	32°C	6.3 - 25	3.1 - 12.5
	37°C	1.6 - 6.3	0.8 - 6.3

MICs were determined by agar dilution method at temperature indicated in the table.

乗作用は観察されなかった。CEZ は、ABPC の 0.15 % の相対速度で有意に加水分解されるが、6315-S の加水分解は観察されなかったこと<sup>10)</sup>を考えあわせると、これらの株では、CEZ など penicillinase で水解される β-lactam 薬に対する耐性で、37°C では PBP-2' ばかりでなく penicillinase も関与しているが、methoxy 基によって penicillinase に安定化した 6315-S は、penicillinase の影響を受けないことが明らかとなった。一方、32°C では、CEZ の MIC は、大部分の亜株で 100 μg/ml 以上であり、この温度では PBP-2' が耐性に大きく寄与していた。

### III. 考 察

MRSA は、β-lactam 薬に親和性の低い PBP-2' を産生してこれらの薬剤に耐性になること、しかも、この PBP は誘導的に産生されることが既に明らかにされている<sup>4-6)</sup>。本研究で用いた MRSA 株も調べた限りすべて PBP-2' を産生していた。しかし、その耐性度は一様ではなく、たとえば、CEZ の MIC が 25 μg/ml 以上の株を選んでも、それらに対する 6315-S の MIC は、0.8 から 200 μg/ml まで広く分布していた。この分布は、2 峰性を示したので、我々は、MRSA を耐性度の高い H-MRSA と耐性度の低い L-MRSA の 2 つのグループに分けた。両グループ間での耐性度の違いには、他の要因もあるかもしれないが、少なくとも、PBP-2' の産生量の差が反映しているものと思われる。

Penicillinase を産生する L-MRSA 株では、他薬に比べ、6315-S の PBP-2' 誘導能は低く、MIC とよく相関していた。したがって、6315-S が L-MRSA に強い抗菌活性を示す要因のひとつとして、その低い PBP-2' 誘導能があると思われる。一方、penicillinase 非産生亜株では、親株の 8 倍もの PBP-2' を構成的に

産生しており、その産生量だけを見ると H-MRSA と類似しているにもかかわらず、6315-S の MIC は親株と差がなく、上記のような相関は認められなかった。しかし、予備実験の結果によれば、penicillinase 非産生亜株、あるいは、CEZ で PBP-2' を誘導した親株に 2 時間だけ 6315-S を作用させた場合には耐性度は、上昇しているため、亜株の場合にも、PBP-2' は、確かに菌の耐性を上昇させると思われる。MIC 測定では、薬剤は、菌と 18~20 時間接触し続けるので、この条件下では、6315-S の別の作用が表われて亜株に対する MIC が親株と同程度になるものと思われる。現在のところ、この作用については不明である。

MRSA の耐性に penicillinase は関与していないと通常言われているが<sup>11)</sup>、一方では、関与しているという報告もある<sup>12)</sup>。我々は、本研究に用いた L-MRSA の一部の株において CEZ のように penicillinase によって水解される薬剤に対し、培養温度が 37°C の時は、penicillinase も耐性に関与していることを確認した。しかし、同じ株でも培養温度が 32°C の時には、penicillinase の耐性に対する寄与は小さかった。培養温度が高くなるに従って PBP-2' の産生量が減少すること<sup>1)</sup>と考えあわせると、penicillinase が耐性に関与するか否かは、その時同時に産生される PBP-2' の量と密接にかかわっており、PBP-2' の量が減少するにつれて penicillinase が耐性度を維持するのに重要になってくるものと思われる。同じ株でも培養温度、培地の pH など培養条件によって PBP-2' 産生量が異なるので、penicillinase が耐性に関与するか否かは、培養条件に依存しているであろう。臨床分離された MRSA では、L-MRSA より H-MRSA の方が penicillinase 非産生株の割合が高いので（未発表データ）実際に臨床の場合においても、L-MRSA に属する株が耐性株として選択されるのに penicillinase も何らかの役割を果しているものと思われる。したがって 6315-S のように penicillinase に安定であることは、MRSA に対する作用においても他の菌種の場合同様重要な性質のひとつであろう。

本研究において、我々は、6315-S の L-MRSA に対する比較的高い抗菌活性には、6315-S の低い PBP-2' 誘導能と penicillinase 安定性が寄与していることを明らかにした。

（実験期間：1983 年 2 月~1985 年 10 月）

#### 謝 辞

本研究を行なうにあたり、PBP-2' 分離に適した

SDS-ポリアクリルアミド平板ゲル電気泳動法について御指導していただきました順天堂大学医学部 横田 健教授に感謝いたします。

#### 文 献

- 1) JEVONS, M. P. : "Celbenin"-resistant *Staphylococci*. *Brit. Med. J.* 1 : 124~125, 1961
- 2) BARBER, M. : Methicillin-resistant *Staphylococci*. *J. Clin. Pathol.* 14 : 385~393, 1961
- 3) 島田 馨, 安達桂子, 田中喜久子, 上条仁子, 佐々木宗男, 轟山 勲, 稲松孝思, 浦山京子 : セフェムを含む多剤耐性黄色ブドウ球菌の分離状況と 41 抗生剤に対する感受性. *Chemotherapy* 31 : 835~841, 1983
- 4) UTSUI, Y. & T. YOKOTA : Role of an altered penicillin-binding protein in methicillin- and cephem-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 28 : 397~403, 1985
- 5) UBUKATA, K.; N. YAMASHITA & M. KONNO : Occurrence of a  $\beta$ -lactam-inducible penicillin-binding protein in methicillin-resistant *Staphylococci*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 27 : 851~857, 1985
- 6) CHAMBERS, H. F. ; B. J. HARTMAN & A. TOMASZ : Increased amounts of a novel penicillin-binding protein in a strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* exposed to nafcillin. *J. Clin. Invest.* 76 : 325~331, 1985
- 7) 亀田康雄, 永田 弘, 元川清司, 深尾 孝, 中本省三, 渡辺芳浩, 吉田 正 : Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) の *in vitro* 抗菌作用. *Chemotherapy* 35 (S-1) : 76~107, 1987
- 8) MURAKAMI, K. ; M. DOI, Y. KAMEDA, T. YOSHIDA & K. SHIMADA : Contribution of  $\beta$ -lactamase stability of 6315-S to its activity against cephem-resistant *Staphylococcus aureus*. 24th Intersci. Conf. *Antimicrob. Agents Chemother.* abstr. no.641, 1984
- 9) 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
- 10) 村上和久, 土肥正善, 野村和秀, 中本省三,

- 吉田 正 : Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) の  $\beta$ -Lactamase に対する安定性とペニシリン結合蛋白質への親和性。Chemotherapy 35 (S-1) : 115~120, 1987
- 11) SABATH, L. D. : Mechanisms of resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics in strains of *Staphylococcus aureus*. Ann. Intern. Med. 97 : 339~344, 1982
- 12) KONO, M. ; M. SASATSU, K. O'HARA, Y. SHIIMI & T. HAYASAKA : Mechanism of resistance to some cephalosporins in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemother. 23 : 938~940, 1983

## ANTIBACTERIAL ACTION OF 6315-S (FLOMOXEF) AGAINST METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

KAZUHISA MURAKAMI, KAZUHIDE NOMURA, MASAYOSHI DOI and TADASHI YOSHIDA  
Shionogi Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd.

6315-S (flomoxef), an oxacephem antibiotic, was active against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), against which cefazolin (CEZ) showed poor activity. Since MIC distribution of 6315-S against 137 strains of MRSA had two peaks, the strains were divided into two groups, L-MRSA (83%) and H-MRSA (17%), against which MIC's of 6315-S were less than 6.3  $\mu$ g/ml and more than 12.5  $\mu$ g/ml, respectively. H-MRSA strains were resistant to all other  $\beta$ -lactam antibiotics tested. MRSA strains produced PBP-2', which is associated with bacterial resistance, and the amount of PBP-2' was large in H-MRSA and small in L-MRSA. Although 6315-S, as well as the other  $\beta$ -lactams, showed no affinity at up to 30  $\mu$ g/ml for PBP-2', its ability to induce PBP-2' of penicillinase-producing L-MRSA was very low as compared with those of CEZ, Ceftizoxime, latamoxef and cefmetazole. This characteristic seemed to contribute to the antibacterial activity of 6315-S against L-MRSA. On the other hand, deletion of penicillinase-plasmid from L-MRSA increased PBP-2' production 8-fold. Nevertheless, parent and penicillinase-negative variants showed similar susceptibility to 6315-S. This non-correlation between susceptibility and amount of PBP-2' suggests that 6315-S has some unidentified function in its antibacterial activity against L-MRSA. In some L-MRSA strains, penicillinase was involved in the bacterial resistance to CEZ at 37°C, as shown by synergism between clavulanic acid and CEZ. 6315-S was stable against penicillinase, which also contributed to its activity.