

新しい oxacephem, 6315-S (Flomoxef) の試験管内抗菌力,
 β -lactamases 安定性, 作用点ペニシリン結合蛋白 (PBP) に対する
 安定性, および血清補体と白血球との協力的食菌・殺菌作用

横田 健・鈴木映子・新井京子・加藤尚代
 順天堂大学医学部細菌学教室

6315-S (Flomoxef) は, 新しい広域 oxacephem 抗生物質である。本剤は多くの新 cephem 抗生物質に高度耐性を示す, メチシリン・セフェム耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) にも強い抗菌力を示すとされる。

6315-S の *S. aureus*, MRSA, *S. epidermidis*, β -streptococci, *S. pneumoniae*, *E. coli* (R⁺), *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. rettgeri*, *M. morgani*, *S. marcescens*, *E. cloacae*, *A. calcoaceticus*, *C. freundii*, *H. influenzae*, および *B. fragilis* の 25~58 臨床分離株に対する MIC はそれぞれ 0.39, 6.25, 3.13, 0.78, 0.2, 0.1, 0.1, 0.2, 0.39, 0.39, 3.13, 6.25, 100, 50, 3.13, 1.56 および 1.56 μ g/ml であった。

6315-S は, 各種細菌の作る penicillinase (PCase) 型 β -lactamases (II b, III, IV および V 型) と, cephalosporinase (CEPase) 型 β -lactamases (I a および I c 型) とのすべてに高い安定性を示した。またこれらの β -lactamases に対する K_i 値は, 0.18 μ M から 1.275 μ M に亘る比較的小さな値を示した。

E. coli を使用し, その増殖に影響を与えない最高の補体量, 0.75 units/ml と, 50% 増殖阻止濃度 (ID_{50}) の 6315-S を共存させると, それぞれ単独に加えた時より強い殺菌効果を示した。またマウス培養マクロファージ ($M\phi$) による *E. coli* の食菌・殺菌作用には, 1/4 MIC 以上の 6315-S は協力的に働いた。

6315-S は, グラム陽性球菌および *E. coli*, *B. fragilis* 等に *R plasmid* の有無にかかわらず強い殺菌作用を示す上, 良好な生体内効果が予測されるので, 応用価値の高い oxacephem と考えられる。

Oxime 型および cephamycin 型 cephem の新誘導体が多数実用化されたが, これらの欠点はブドウ球菌に対する抗菌力が弱いことである。いわゆる第三世代 cephem が広く臨床で使われた結果, 弱い抗ブドウ球菌作用のため Methicillin-cephem-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) の臨床分離率が増加しつつある。MRSA は上記の新 cephem に高度耐性を示すので, その感染症は新しい難治感染の一つとして注目されている。6315-S は Latamoxef (LMOX) に続いて我が国で開発された第 2 の oxacephem である。LMOX がグラム陰性菌にやや偏った強い抗菌力を示すのに対し, 6315-S (Flomoxef: FMOX) はグラム陽性球菌, 特にブドウ球菌に作用が強いと言う。本研究の目的は 6315-S の基礎的な試験管内抗菌力を評価し, 作用点における阻害効果の程度および各種 β -lactamases に対する安定性を検討したものである。また生体内効果を

を予測する一助として, 血清補体および培養マクロファージ ($M\phi$) との協力的食菌・殺菌作用も調べた。

I. 材料および実験方法

1. 臨床分離株に対する MIC の測定

東京大学医科学研究所, 島田馨教授から分与された 58 株の MRSA および順天堂大学臨床病理学教室から分与された 50 株の *S. aureus*, 29 株の *Staphylococcus epidermidis*, 22 株の *Streptococcus pneumoniae*, 23 株の β -streptococci, 種々の R 因子を持つ 52 株の *Escherichia coli* CS 2, 45 株の *Klebsiella pneumoniae*, 50 株の *Proteus mirabilis*, 41 株の *Proteus vulgaris*, 29 株の *Providencia rettgeri*, 54 株の *Morganella morgani*, 50 株の *Serratia marcescens*, 45 株の *Enterobacter cloacae*, 48 株の *Citrobacter freundii*, 50 株の *Acinetobacter calco-*

aceticus, 24 株の Ampicillin (ABPC) 耐性 *Haemophilus influenzae*, 50 株の *Pseudomonas aeruginosa*, 29 株の *Xanthomonas maltophilia*, および 47 株の *Bacteroides fragilis* に対する最小発育阻止濃度 (MIC) は, 日本化学療法学会法に準拠し, L-broth 18 時間培養液を希釈した 10^8 cfu/ml 浮遊液を, 希釈系列薬剤を含む Mueller-Hinton 寒天平板 (DIFCO) にマイクロプランターでスポットする方法で調べた。

2. ペニシリン結合蛋白 (PBP) に対する結合親和性の検討

E. coli NIHJ JC-2, *S. marcescens* 13, *P. vulgaris* 33, *A. calcoaceticus* 5, 感受性 *S. aureus* 108-1-1 および MRSA, *S. aureus* 108-1 の PBP に対する結合親和性は, SPRATT¹⁾ の方法を改良した競合結合実験法で検討した。すなわち前報²⁾に記載した方法で対数増殖期の菌体を集め, 音波破砕を超速心分画で得た膜画分に, 0.1~1,600 μ g/ml の非放射性 6315-S または LMOX を加え 30°C 10 分間反応させたあと 0.1 mM の ¹⁴C-PCG (AMERSHAM: 54 μ Ci/ μ moles/ml), さらに 30°C 10 分間反応させた。ザルコシルで細胞質膜を溶かし, 外膜その他不溶成分を遠心で取り除いた後, 1% SDS 存在下で 100°C 2 分間加熱し, 膜蛋白を解離させた。ブドウ球菌の PBP を調べるには 8% acrylamide slab gel, その他の菌では 10% acrylamide slab gel を使用し電気泳動にかけた。gel を洗って増感剤を浸み込ませた後乾燥し, KODAK X-Omat レントゲンフィルムに密着して -80°C 20 日間感光させた。

3. β -lactamases に対する安定性と結合親和性の検討

RICHMOND 分類 Ia, Ic, IIb, III (TEM), IV および V (OXA) 型 β -lactamases はそれぞれ *E. cloacae* NEK 39, *P. vulgaris* 33, *P. mirabilis* JY-10, *E. coli* CS 2 (RK1), *K. pneumoniae* 42 および *E. coli* CS 2 (RE 45) の対数増殖後期の細胞を集め, 超音波破砕と, 超速心分画で得た菌体抽出液を粗酵素として使用した³⁾。6315-S および対照薬のこれら β -lactamases に対する安定性は macroiodometry⁴⁾ で調べた。また 6315-S の K_i 値は Ia および Ic 型 β -lactamases (CEPase) では Cephaloridine (CER) を, IIb, III, IV および V 型 β -lactamase (PCase) では Ampicillin (ABPC) を基質とし, 種々の濃度の 6315-S 存在下における酵素活性を, acidimetry⁵⁾ (pH 指示薬法) で測定し Dixon plot から求めた。

4. 6315-S と血清補体との協力的殺菌作用の検討

10 ml の L-broth 中で一夜 37°C 振盪培養された *E. coli* NIHJ JC-2 を新鮮 L-broth で 10,000 倍に希釈した。希釈菌液を中試験管に 5 ml ずつ分注し, 3 本一組としてその 1 本に ID_{50} の 6315-S を, 次の 1 本に 20% 非働化人血清と 0.75 units/ml のモルモット補体を加え, 最後の 1 本に ID_{50} の 6315-S と血清・補体を加えた。37°C で振盪培養を続けながら 1, 3, 5 および 24 時間目にそれぞれの一部を採り平板法により生菌数を測定した。

5. 6315-S とマウス培養 M ϕ との協力的食菌・殺菌作用の検討

M ϕ は ICR 雄マウス腹腔を, 8 ml の 10% fetal calf serum 加 F 12 培地 (日水製薬) で洗って採取し, 遠心後同培地 5 ml に浮遊した。細胞浮遊液 0.1 ml (10^4 cells) をカバースリップを沈めた 24 穴 FALCON multidish の各 well に分注し, 5% CO₂ 存在下で 30 分静置後同培地を 1 ml ずつ追加して CO₂ 存在下で一夜培養した。翌日浮遊細胞を含んだ培地を除き, 20% L-CM (conditioned medium L-929)⁶⁾ 加同培地 1 ml と交換した。これを 37°C 2 時間 CO₂ 存在下で培養した後, 一夜 L-broth 中に培養した *E. coli* NIHJ JC-2 を M ϕ の 50 倍量 (5×10^5 cfu) 接種した。一部の well には 1~1/8 MIC の 6315-S を添加した。菌接種と薬剤添加後 5 時間目にカバースリップを取り出し, Saline G で軽く洗った後, Giemsa 染色して光顕像を調べた。

II. 成 績

1. 各種細菌臨床分離株に対する 6315-S の抗菌力
6315-S は Fig. 1 のとおり比較した cephem 系抗生物質の中では最も強い抗菌力を黄色ブドウ球菌に示した。

Fig. 1 Cumulative sensitivity of 50 strains of *S. aureus* to 6315-S and other cephalosporins

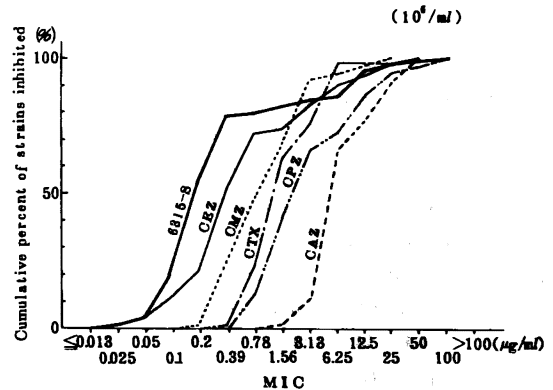


Fig. 2 Cumulative sensitivity of 58 strains of *S. aureus* (cephem resistant) to 6315-S and other cephalosporins (10^8 /ml)

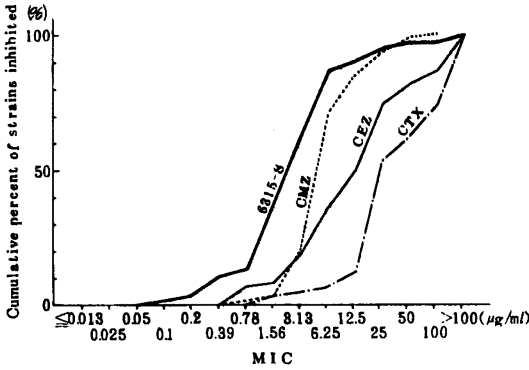


Fig. 5 Cumulative sensitivity of 23 strains of β -streptococci to 6315-S and other cephalosporins (10^8 /ml)

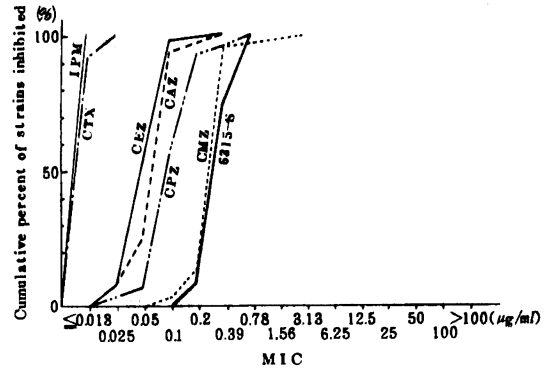


Fig. 3 Cumulative sensitivity of 29 strains of *S. epidermidis* to 6315-S and other cephalosporins (10^8 /ml)

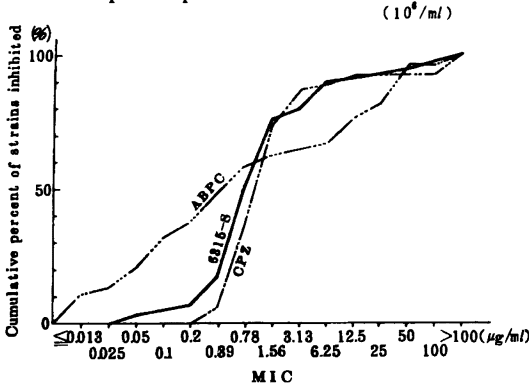


Fig. 6 Cumulative sensitivity of 52 subclones of *E. coli* carrying various R(bla)plasmids to 6315-S and other cephalosporins (10^8 /ml)

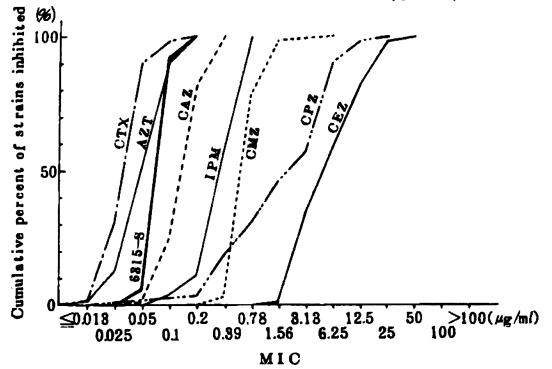
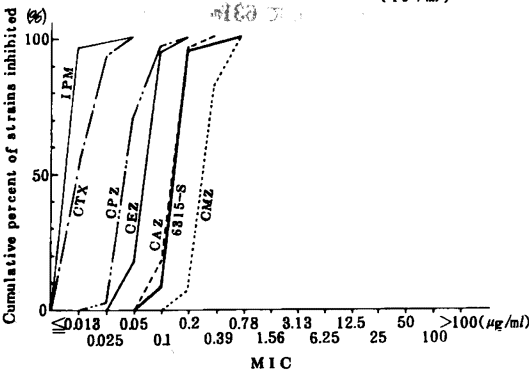


Fig. 4 Cumulative sensitivity of 22 strains of *S. pneumoniae* to 6315-S and other cephalosporins (10^6 /ml)



感受性株では Cefazolin (CEZ) に優るが中等度の耐性株が少数ながらみられた。MRSA 58 株に対しては、Cefotaxime (CTX) にはもちろん CEZ より強い抗菌力を示し、低度耐性株では Cefmetazole (CMZ) より抗菌力が強く、高度耐性株ではほぼ同程度であった (Fig. 2)。

S. epidermidis に対しては、Fig. 3のごとく ABPC 耐性株にも抗菌力を持ち、Cefoperazone (CPZ) と同程度であった。

S. pneumoniae および β -streptococci には Fig. 4 および 5のとおり、oxime 型の CTX および Imipenem にやや劣るが全株 0.78 μ g/ml 以下で増殖が阻止された。

種々の R plasmid を持つ *E. coli* CS 2 の 52 亜株に対する抗菌力を Fig. 6 に示した。

Fig. 7 Cumulative sensitivity of 45 strains of *K. pneumoniae* to 6315-S and other cephalosporins ($10^8/ml$)

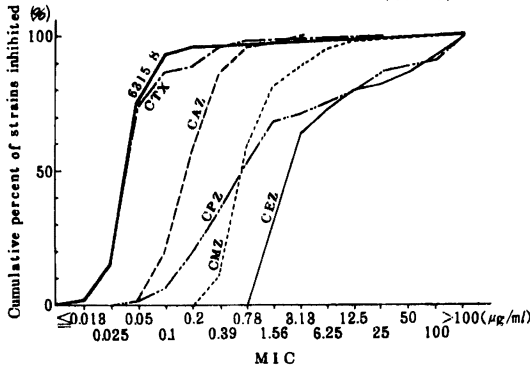


Fig. 10 Cumulative sensitivity of 29 strains of *P. rettgeri* to 6315-S and other cephalosporins ($10^8/ml$)

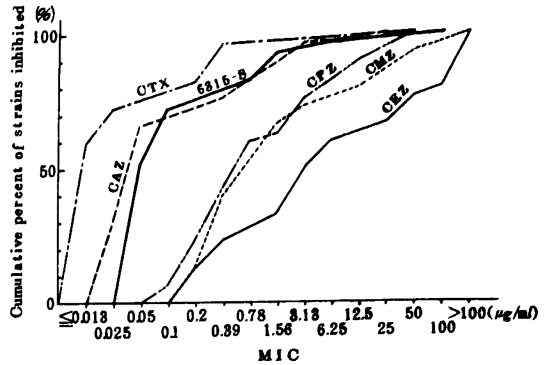


Fig. 8 Cumulative sensitivity of 50 strains of *P. mirabilis* to 6315-S and other cephalosporins ($10^8/ml$)

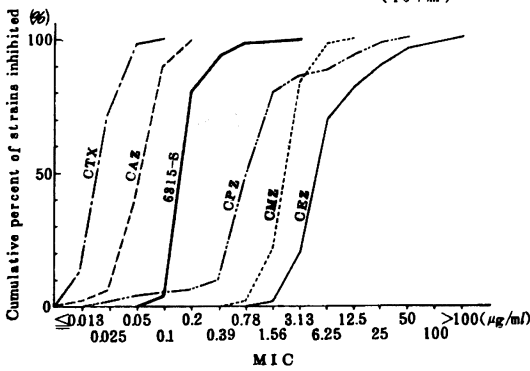


Fig. 11 Cumulative sensitivity of 54 strains of *M. morgani* to 6315-S and other cephalosporins ($10^8/ml$)

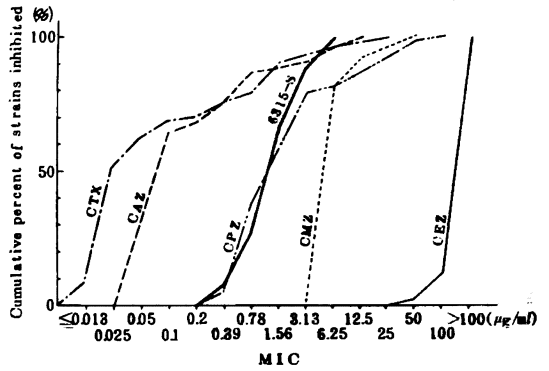
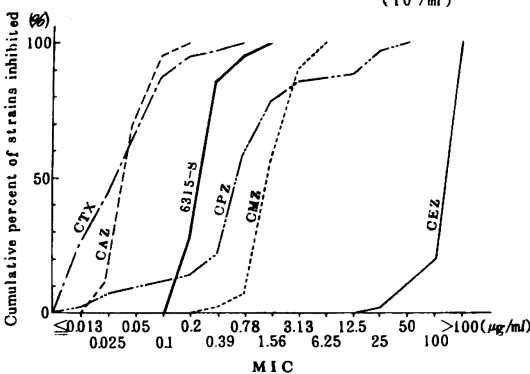


Fig. 9 Cumulative sensitivity of 41 strains of *P. vulgaris* to 6315-S and other cephalosporins ($10^8/ml$)



CTXに近い強い抗菌力がみられる。*K. pneumoniae* に対しても Fig. 7 のとおり、調べた cephem 中では CTX と共に最も抗菌力が強い。

Proteus 属の菌に対して 6315-S の抗菌力は Fig. 8~10 および 11 のごとく、CTX と Cefprozil (CPZ) には劣るが、Ceftazidime (CAZ) には劣るが、CPZ や CMZ よりかなり強い。

Fig. 12 のとおり *E. cloacae* に対する 6315-S の抗菌力は中等度に止まる。

S. marcescens に対して 6315-S は CPZ と同程度の抗菌力を示し、CTX と CAZ に劣るが *C. freundii* には CTX, CAZ に近い強い抗菌力を示した。*A. calcoaceticus* では 6315-S の抗菌力は弱い。また *P. aeruginosa* および *X. maltophilia* には、6315-S は殆ど抗菌力を持たない。ABPC 耐性 *H. influenzae* に対しその増殖を 6315-S は全株 1.56 $\mu g/ml$ 以下で

Fig.12 Cumulative sensitivity of 45 strains of *E. cloacae* to 6315-S and other cephalosporins

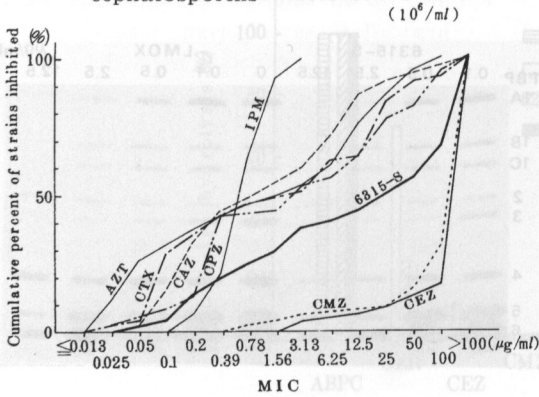


Fig.13 Cumulative sensitivity of 47 strains of *B. fragilis* to 6315-S and other cephalosporins

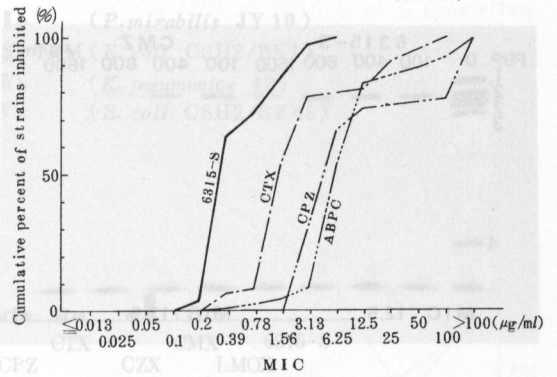
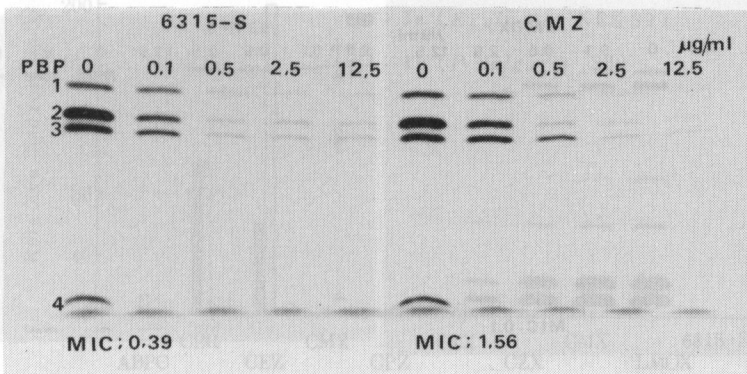


Fig.14 Competition of 6315-S and LMOX for penicillin-binding proteins of *S. aureus* 108-1-1 (sensitive)



抑えたが、その力は CAZ, CPZ および CTX に及ばなかった。6315-S は 7 α 位に OCH₃ を持つので β -lactamase 安定性が高く、Ic 型酵素を多量に作る *B. fragilis* に対しても Fig.13 のごとく強い抗菌力を示した。

以上をまとめると 6315-S は MRSA を含むブドウ球菌、R 因子の有無に拘らず、*E. coli*, *K. pneumoniae*, *B. fragilis* 等に対し、他の cephem 新誘導体より強いまたは同等の抗菌力を示すが、*Proteus* 属、*Enterobacter* 等への力が若干弱く、*Pseudomonas* 属の菌には抗菌力を持たないと結論される。

2. 作用点 PBP に対する 6315-S の結合親和性
薬剤感受性 *S. aureus* 108-1-1 の PBP に対する結合親和性を CMZ に比べると、抗菌力の良さを反映

し、Fig.14 のとおり CMZ より低濃度で、この菌必須の PBP 2 と 3 を完全に飽和する。

MRSA の PBP に対してはその特有画分 PBP 2' に比較的高濃度では、Fig.15 のとおりなお結合親和性を保つが、特有画分に対する親和性は CMZ のそれより弱い。

MRSA に対する MIC が等しいにも拘らず、その PBP 特異画分への結合親和性が CMZ より劣る理由は現在不明である。

グラム陰性菌の PBP に対する結合親和性を LMOX のそれと比較すると、*E. coli*, *P. vulgaris* に対しては LMOX と同程度の結合親和性を示し (Fig.16 および 17), *S. marcescens* では PBP 2 および 3 に対する 6315-S の親和性が LMOX のそれにやや優り (Fig.

Fig.15 Competition of 6315-S and LMOX for penicillin-binding proteins of *S. aureus* 108-1

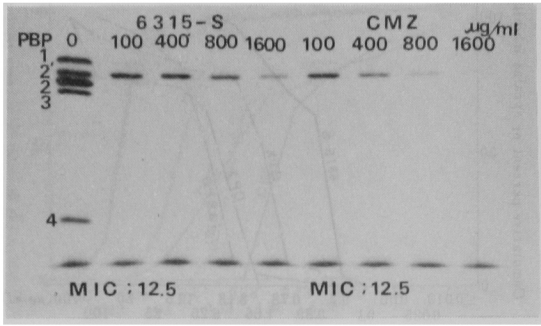


Fig.18 Competition of 6315-S and LMOX for penicillin-binding proteins of *S. marcescens* 13

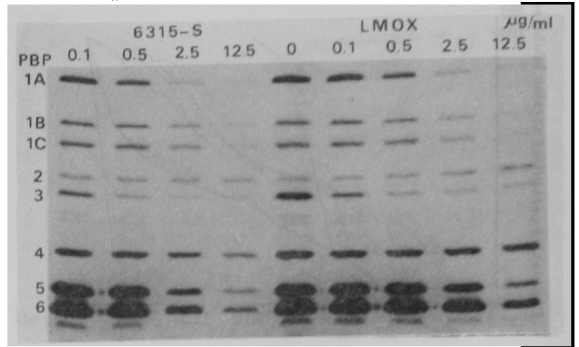


Fig.16 Competition of 6315-S and LMOX for penicillin-binding proteins of *E. coli* NIHJ JC-2

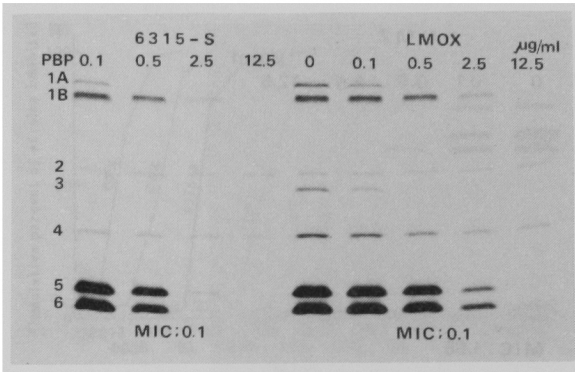


Fig.19 Competition of 6315-S and LMOX for penicillin-binding proteins of *A. calcoaceticus* 5

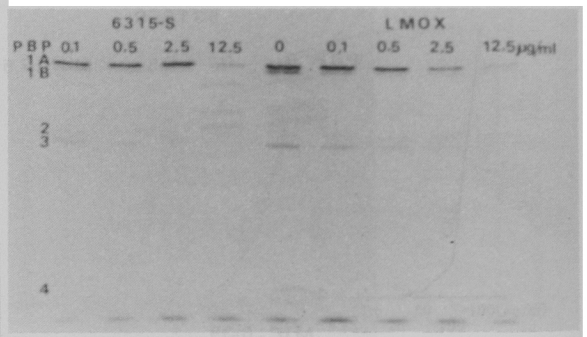
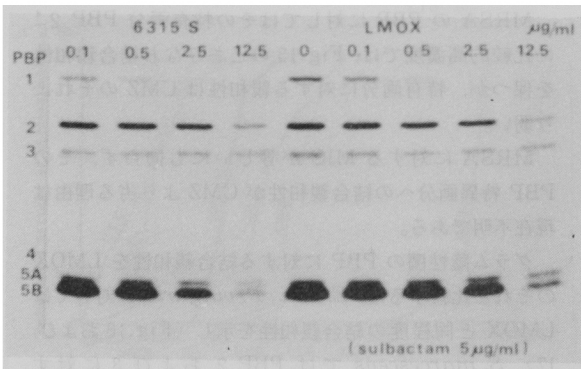


Fig.17 Competition of 6315-S and LMOX for penicillin-binding proteins of *P. vulgaris* 33



18), *A. calcoaceticus* では PBP 1A に対する親和性が LMOX より低く、この菌に対する本剤の抗菌力が LMOX に及ばないことをよく表している (Fig.19)。

3. 6315-S の各種 β -lactamases に対する安定性と結合親和性

Macroiodometry で測定した CEPase (Ia および Ic 型) の 6315-S に対する V_{max} と他の薬剤に対するそれと比較すると、Fig.20 のとおり 6315-S は LMOX と共に CEPase では全く加水分解されず高い安定性を示した。

Plasmid 性または chromosome origin PCase に対しても、6315-S は Fig.21 のとおり LMOX 同様全く水解されない。

各種 β -lactamase に対する結合親和性を K_i 値として算出すると、Table 1 のとおり 6315-S は Ia、

Fig.20 Stability of cephalosporins against various penicillinase-type β -lactamases

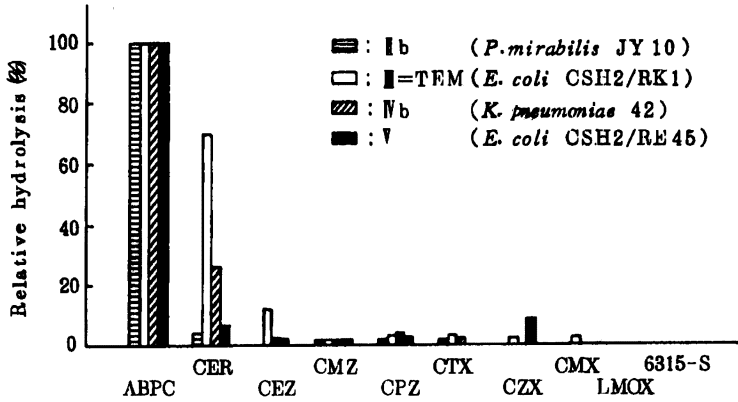


Fig.21 Stability of cephalosporins against various cephalosporinase-type β -lactamases

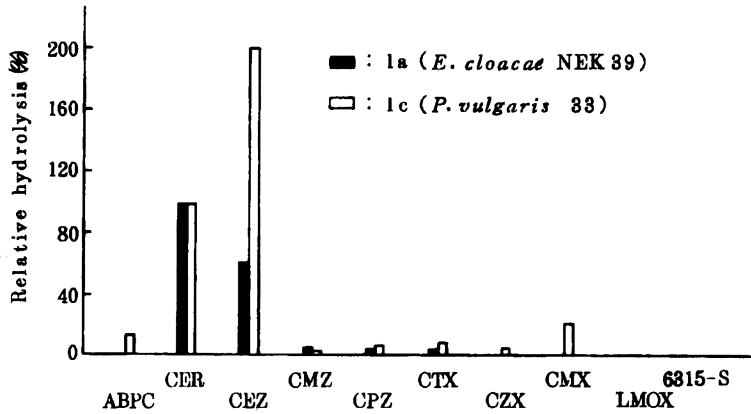
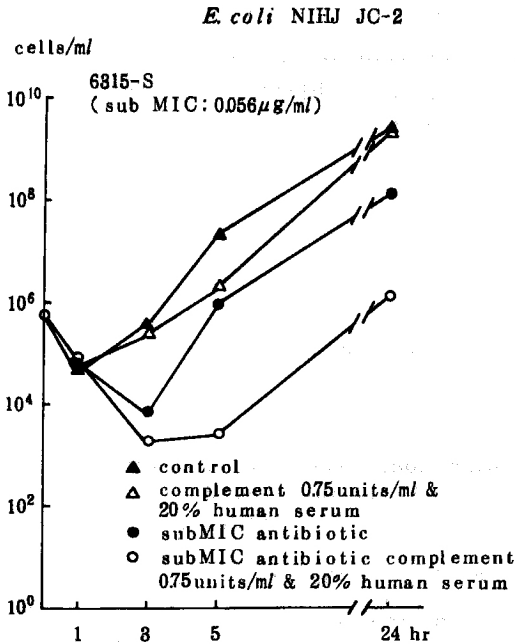


Table 1 Affinity of new β -lactamases-tolerant cephalosporins to various β -lactamases

Richmond classification	Enzyme		Substrate	
	Source of enzyme	Specific activity (unit/mg)	Km	Ki
			CER, ABPC	6315-S
Ia	<i>E. cloacae</i> NEK 39	201.0	200 μ M	0.18 μ M
Ic	<i>P. vulgaris</i> 38	21.9	115	5.7
Ib	<i>P. mirabilis</i> JY 10	863.6	65	1275
II	<i>E. coli</i> CSH2/RK1	256.5	29	120
IVb	<i>K. pneumoniae</i> 42	100.6	44	494
V	<i>E. coli</i> CSH2/RE45	196.0	21	18

Fig. 22 Synergy of bactericidal effect with the complement



Ic および V に対する結合親和性が小さく、II b, III, IVb に対する結合親和性は弱い。

しかし、それらは oxime 型 cephem の結合親和性に比べるとかなり小さいので水解はされなくとも、結合親和性による耐性が、6315-S では β -lactamases 産生菌に生ずる恐れは否定できない。

4. 6315-S と血清補体との協力的殺菌作用

E. coli の増殖に影響を与えない最高の補体量、0.75 units/ml と、ID₅₀ の 6315-S を共存させると、それぞれを単独で加えた場合に比べ、Fig. 22 のとおり生菌数の減少が大きい。

すなわち 6315-S と血清補体とは協力的殺菌作用を示すことが解る。

5. 6315-S とマウス培養 M ϕ との協力的食菌・殺菌作用

マウス培養 M ϕ に *E. coli* NIHJ を感染させると M ϕ はよく菌細胞を食菌するが、培養 M ϕ は生体内ほどの活性を示さないで菌は細胞内で増殖を続け、Fig. 23 のとおりやがて細胞を破壊して外に遊出する。

6315-S 存在下では Fig. 24 のごとく、MIC の場合はもちろんのこと、Fig. 25 および 26 のとおり 1/2 MIC, 1/4 MIC 存在下でもややフィラメント化した菌細胞はよく食菌され、細胞内で消化が進んで細胞は正常に留まる。

Fig. 23 Death of cultured mouse-macrophages phagocytizing cells of *E. coli* NIHJ-JC2 in the absence of antibiotics at 5 hrs. after the infection

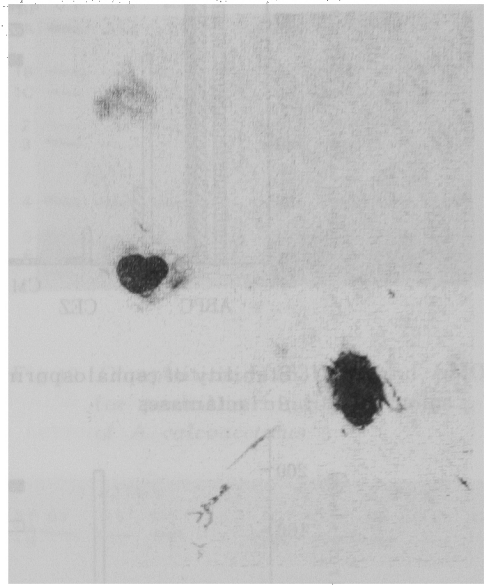


Fig. 24 Digestion of filamentous cells of *E. coli* NIHJ-JC2 in the presence of 1 MIC of 6315-S, by cultured mouse-macrophages at 5 hrs. after the infection

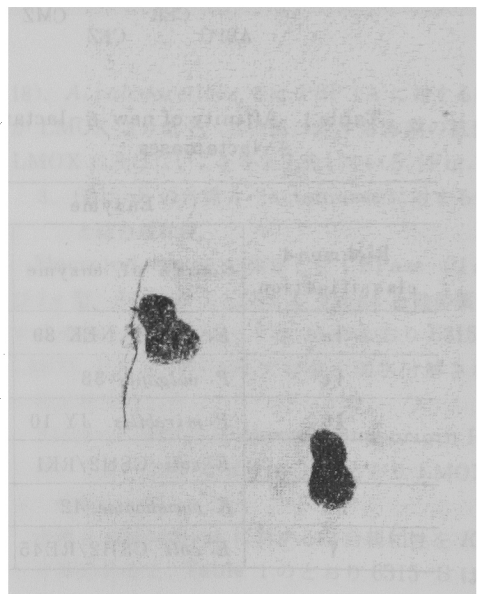


Fig.25 Digestion of filamentous cells of *E. coli* NIHJ-JC2 in the presence of 1/2 MIC of 6315-S, by cultured mouse macrophages at 5 hrs. after the infection

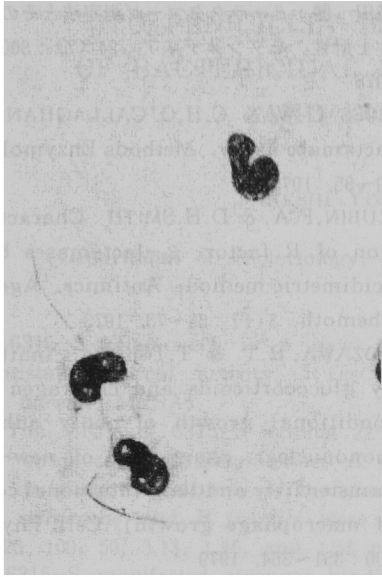


Fig.26 Digestion of filamentous cells of *E. coli* NIHJ-JC2 in the presence of 1/4 MIC of 6315-S, by cultured mouse macrophages at 5 hrs. after the infection

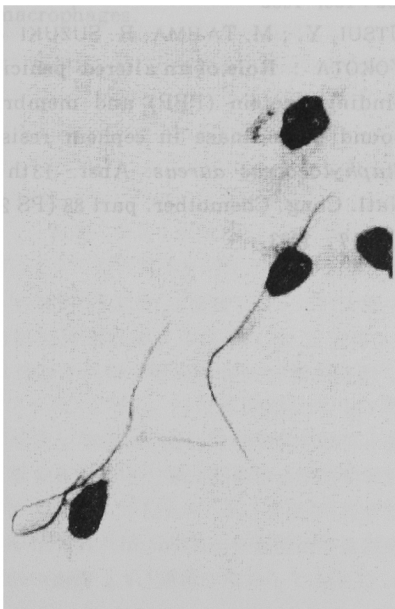
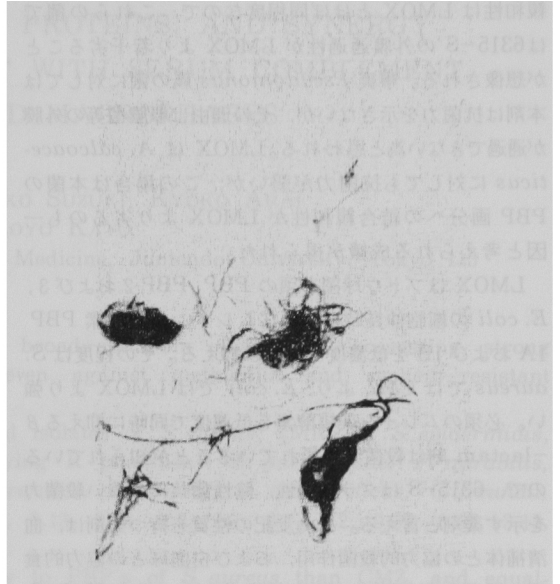


Fig.27 Destruction of cultured mouse-macrophages by filamentous cells of *E. coli* NIHJ-JC2 in the presence of 1/8 MIC of 6315-S at 5 hrs. after the infection



細胞内に見られる空胞は、食菌した菌細胞を消化した phagosome の名残である。しかし、1/8 MIC の 6315-S の存在下では菌の消化は必ずしも完全でなく Mφ細胞の破壊も見られるようになる(Fig. 27)。

III. 考 察

6315-S はブドウ球菌、特に MRSA に強い抗菌力を示す広域 oxacephem として開発された薬剤である。黄色ブドウ球菌感受性株に対しては、CEZ より抗菌力が強く、MRSA にはこの種の変異株にもなお相当程度の抗菌力を残す CMZ に優るとも劣らぬ力を持っている。MRSA は各種 β -lactam 抗生物質に結合親和性の低下した特異画分、PBP 2' を持っていることが既に明らかにされており⁷⁾、MRSA に抗菌力を保持する CMZ 等はこの特異画分への親和性が他の β -lactam 剤より高いことも知られているが⁸⁾、6315-S の MRSA の大部分に抗菌力を示しながら、特異画分 PBP 2' への結合親和性は CMZ ほど高くない。その理由は現在不明であるが、PBP の競合結合実験は非放射性薬剤と PBP との共有結合の強弱をみているので、現在の実験方法では立証できない別の結合様式(例えばイオン結合)によって MRSA 特有のムレイン架橋酵素を抑えてい

るのかもしれない。

6315-S は *E. coli* や *K. pneumoniae* 等には LMOX と同程度の強い抗菌力を示すが, *Proteus* 属の菌, *E. cloacae*, *S. marcescens* 等には LMOX より抗菌力が弱い。これらの菌の PBP 諸画分に対する結合親和性は LMOX とほぼ同程度なので, これらの菌では 6315-S の外膜通過性が LMOX より若干劣ることが想像される。事実 *Pseudomonas* 属の菌に対しては本剤は抗菌力を示さないが, その理由は緑膿菌等の外膜が通過できない為と思われる。LMOX は *A. calcoaceticus* に対しても抗菌力が弱い, この場合は本菌の PBP 画分への結合親和性が LMOX より劣るのも一因と考えられる成績が得られた。

LMOX はブドウ球菌必須の PBP, PBP 2 および 3, *E. coli* の細胞伸長時に必要なムレイン架橋酵素 PBP 1A および 1B を低濃度で同時に抑える。その程度は *S. aureus* では CMZ より, *E. coli* では LMOX より強い。必須のムレイン架橋酵素を低濃度で同時に抑える β -lactam 剤は殺菌力に優れていることが知られているので, 6315-S はグラム陽性, 陰性菌共に, 強い殺菌力を示す薬剤と言える。また上記の性質を持つ薬剤は, 血清補体との協力的殺菌作用, および白血球との協力的食菌・殺菌作用も強いことが想像される。事実 6315-S の補体および M ϕ との協力作用は良好であることが立証された。試験管内抗菌力およびその作用機序の検討結果からみる限り, 6315-S はブドウ球菌, 特に MRSA にも強い抗菌力を示す広域 oxacephem 系抗生物質として, 臨床価値の高い新薬剤であると考えられた。

文 献

- 1) SPRATT, R.G. : Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation, and shape of *Escherichia coli* K 12. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 72: 2999~3003, 1975
- 2) 横田 健, 関口玲子, 東 映子 : Cefmenoxime (SCE-1365) の各種 β -lactamases およびペニシリン結合タンパク質に対する親和性とその抗菌力との関係。Chemotherapy 29 : 32~41, 1981
- 3) 横田 健 : β -ラクタマーゼ測定法とその酵素活性と耐性。モダンメディア 24 (7) : 360~377, 1978
- 4) ROSS, G.W. & C.H.O'CALLAGHAN : β -lactamase assay. Methods Enzymol. 43 : 69~85, 1975
- 5) RUBIN, F.A. & D.H.SMITH : Characterization of R factor β -lactamases by the acidimetric method. Antimicrob. Agents & Chemoth. 3 (1) : 68~73, 1973
- 6) NOZAWA, R.T. & T.TOKOTA : Inhibition by glucocorticoids and choeragen of the conditional growth of poorly adherent mononuclear phagocytes of new-born hamster liver and lung (hormonal control of macrophage growth). Cell. Physiol. 100 : 351~364, 1979
- 7) YOKOTA, T. & R.SEKIGUCHI : Change of penicillin-binding proteins in methicillin and cephem-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. Abst. 22nd Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother. 432 : 125, 1982
- 8) UTSUI, Y. ; M. TAJIMA, R. SUZUKI & T. YOKOTA : Role of an altered penicillin-binding protein (PBP) and membrane-bound penicillinase in cephem-resistant *Staphylococcus aureus*. Abst. 13th int. Natl. Cong. Chemother. part 88 (PS 2.11/3) : 7, 1983

A NEW OXACEPHEM, 6315-S (FLOMOXEF),
ITS ANTIBACTERIAL ACTIVITY *IN VITRO*,
STABILITY TO β -LACTAMASES, BINDING-AFFINITY
TO PENICILLIN-BINDING PROTEINS, AND SYNERGY
OF BACTERICIDAL EFFECT WITH SERUM COMPLEMENT
AND CULTURED MACROPHAGES

TAKESHI YOKOTA, EIKO SUZUKI, KYOKO ARAI
and NAOYO KATO

Department of Bacteriology, School of Medicine, Juntendo University, Tokyo 113

6315-S (flomoxef) is a new parenteral broad-spectrum oxacephem possessing strong antistaphylococcal activity. It is effective even against methicillin and cephem-resistant *S. aureus* (MRSA).

The MIC's of 6315-S against 22-58 clinical isolates of *S. aureus*, (MRSA), *S. epidermidis*, β -streptococci, *S. pneumoniae*, *E. coli* (carrying R plasmids), *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. rettgeri*, *M. morgani*, *S. marcescens*, *E. cloacae*, *A. calcoaceticus*, *C. freundii*, *H. influenzae* and *B. fragilis* were 0.39, 6.25, 3.13, 0.78, 0.2, 0.1, 0.1, 0.2, 0.39, 0.39, 3.13, 6.25, 100, 50, 3.13, 1.56, and 1.56 respectively.

6315-S manifested stronger binding affinity to PBP's of *S. aureus* than CMZ, and equally, high affinity to PBP's of *E. coli* and *S. marcescens* as did LMOX. Its binding affinity to PBP's of *P. vulgaris* and *A. calcoaceticus*, however, was slightly weaker than that of LMOX.

6315-S was highly stable to all types of penicillinase (IIb, III, IV and V) and cephalosporinase (Ia and Ic). K_i values of 6315-S for those enzymes were rather low.

6315-S showed good bactericidal synergy with serum complement and cultured mouse-macrophages.