

6315-S (Flomoxef) の嫌気性菌に対する抗菌作用

沢 赫代・青木 誠・神野英毅
 小林とよ子・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

新しく開発されたオキサセフェム系抗生物質である 6315-S (Flomoxef) の嫌気性菌に対する抗菌力を CEZ, CMX, CTM, CMZ, LMOX, CTT, CPZ, CTX, CFX を対照薬剤として *in vitro* および *in vivo* で検討した。

46 株の参考菌株を用いた検討では, 6315-S はすべての対照薬剤より極めて広い抗菌スペクトラムと強い抗菌力を示した。

臨床分離株 162 株に対する感受性分布においては, 参考菌株での成績を反映し, 6315-S の極めて優れた抗菌力がみとめられた。

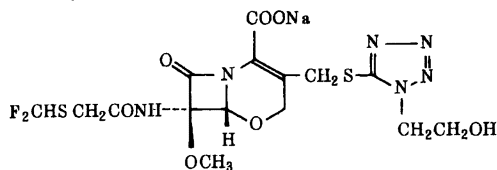
6315-S は *B. fragilis* の不活化酵素に対して CFX と同様に全く加水分解を受けず, CER, CEZ, CPZ, CTX, CMX より安定であることがみとめられた。

6315-S は *B. fragilis* に対して殺菌作用のあることが示唆された。

6315-S は *B. fragilis* と *E. faecalis* との腹腔内混合感染マウスに対して優れた治療効果がみとめられた。

6315-S (Flomoxef : FMOX) は塩野義製薬研究所で開発された新しい注射用オキサセフェム系抗生物質の誘導体である。化学名は(6R,7R)-7-[2-(difluoromethylthio)acetamido]-7-methoxy-3-[(1-hydroxyethyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl]-8-oxo-5-oxa-1-azabicyclo [4. 2. 0] oct-2-ene-2-carboxylic acid sodium salt で, 化学構造は Fig.1 に示す如くである。

Fig.1 Chemical structure of 6315-S



著者らは 6315-S の嫌気性菌に対する抗菌活性を Latamoxef (LMOX), Cefmenoxime (CMX), Ceftizoxime (CZX), Cefazolin (CEZ), Cefotiam (CTM), Cefoxitin (CFX), Cefmetazole (CMZ), Cefotetan (CTT), Cefoperazone (CPZ), Cefotaxime (CTX) のそれと比較したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 使用薬剤

力価の明らかな次の薬剤を用いた。

LMOX (シオノギ製薬 K.K.), CMX (武田薬品 K.K.), CZX (藤沢薬品 K.K.), CEZ (藤沢薬品 K.K.), CTM (武田薬品 K.K.), CFX (万有製薬 K.K.), CMZ (三共 K.K.), CTT (山之内製薬 K.K.), CPZ (富山化学 K.K.) および CTX (ヘキスト K.K.) を用いた。

2. 使用菌株

参考菌株および臨床分離菌株は岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設の保存株を用いた。臨床分離菌株は昭和 57 年 1 月より昭和 59 年 2 月までに各種臨床材料から分離され, Virginia Polytechnic Institute (VPI) の方法に準じて同定したものである¹⁾。菌株の保存は 10% スキムミルクを保護剤として -80°C の超低温庫で凍結保存された。

3. 使用培地

GAM 寒天 (ニッスイ製薬 K.K.), GAM ブイヨン (ニッスイ製薬 K.K.) を用いて薬剤感受性測定を行なった。増殖曲線に対する影響を検討するためには GAM ブイヨンを使用した。

4. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

日本化学療法学会標準法に準じて²⁾, GAM 寒天平板希釈法で MIC を測定した。GAM ブイヨンで 37°C, 18 時間嫌気培養した菌液を 10⁸cfu/ml, 10⁶cfu/ml になるように GAM ブイヨンで希釈した。菌液の希釈操作

は Anaerobic glove box (Forma 社) 内で行なった。ミクロプランター (佐久間製作所) を用いて各菌液の約 5 μ l を薬剤含有 GAM 寒天培地に接種し、37°C、18 時間嫌気培養後に MIC を測定した。*Clostridium difficile* に対する MIC 測定は、薬剤含有 GAM 寒天培地を Anaerobic glove box のインキュベーター外室に 24 時間静置して十分還元させた培地を用い、菌接種から培養操作の全てを Anaerobic glove box 内で行なった。*C. difficile* には oxygen sensitive な菌株があり、通常の Bench technic を用いて MIC 測定を実施する場合、MIC 値は 1 ~ 3 管感受性側に判定される。この場合の MIC 値は薬剤の抗菌力に酸素の影響が加味された値である。したがって、*C. difficile* の MIC 測定には、すべての培養操作を完全な嫌気環境が保たれている Anaerobic glove box 内で実施した。

5. 殺菌効果試験

1) 最小殺菌濃度 (MBC) の測定

β -lactamase 産生性 *Bacteroides fragilis* GAI 6283, 6305, 6306, 6264 および 4999 株を用いて MBC を測定した。被検菌株を GAM ブイオンで 37°C、18 時間 Anaerobic glove box 内で嫌気培養後、各濃度の薬剤含有 GAM ブイオンに 1 白金耳量宛接種した。37°C、18 時間嫌気培養後、肉眼で濁度の有無を観察し、濁度のまったく認められない最小の薬剤濃度を MIC とした。ついで MIC 以上の濃度の試験管から、薬剤の含有しない GAM 寒天培地に 1 白金耳量を接種、37°C、24 時間嫌気培養後、菌の発育を観察した。菌の発育が認められない薬剤濃度の最も低い濃度を MBC とした。なお、LMOX を比較薬剤として検討した。

2) 増殖曲線に及ぼす薬剤の影響

被検菌 *B. fragilis* GAI-6283, 4999 株を GAM ブイオンに 3×10^7 cfu/ml に接種し、37°C、2 時間嫌気培養後、薬剤を 1 および 2 MIC 添加して、さらに嫌気培養を継続した。経時的に定量培養法によって生菌数を測定して、薬剤の効果を検討した。本実験における全ての操作は完全に嫌気環境が保持されている Anaerobic glove box 内で実施した。

6. 不活化酵素に対する安定性

B. fragilis GAI 0558, 0543, 6306 株の 3 株を用い、GAM ブイオンで 37°C、18 時間嫌気培養した菌体を超音波で破壊した遠心上清を粗酵素液とした。この粗酵素液に対する 6315-S の安定性を、Cephaloridine (CER), CEZ, CMX, CTX, CFX, CPZ と比較検討した。6315-S の粗酵素液に対する安定性は macroiodometric method により測定した²⁾。

7. *Enterococcus faecalis* と *B. fragilis* の混合感染マウスに対する治療効果

E. faecalis と *B. fragilis* の腹腔内混合感染マウスに対する 6315-S の治療効果を、LMOX と比較検討した。 β -lactamase 産生性 *B. fragilis* GAI 0588 株 (MIC=6315-S : 0.78 / 1.56 μ g/ml, LMOX : 3.13 / 3.13 μ g/ml ; 接種菌量, 10^8 cfu/ 10^8 cfu) の 8×10^8 cfu をマウス腹腔内に注射し、次いで *E. faecalis* GAI #10 株 (MIC=6315-S : 100/100 μ g/ml, LMOX : 1600/1600 μ g/ml) の 5×10^7 cfu を腹腔内に注射した。*B. fragilis* と *E. faecalis* を混合接種した 2 時間後から、6315-S または LMOX の 1 mg, 2 mg を 1 日 1 回、2 日間皮下注射し、7 日間マウスの生死を観察した。マウスは ICR 系、雄 (18 \pm 2g), 1 群 10 匹を用いた。

8. 6315-S 投与によるマウス盲腸内容物中の *C. difficile* の異常増殖

ICR 系、雄 (18 \pm 2g) のマウスを用い、6315-S および CMZ を 2 mg/マウス/日を、1 日 2 回に分けて 7 日間連続皮下投与し、薬剤投与中止 1 日後と 7 日後にマウスを屠殺、盲腸内容物中の *C. difficile* の検索を行なった。*C. difficile* の検索は、切除した盲腸を直ちに Anaerobic glove box 内に入れ、この中で *C. difficile* の選択培地である CCMA 培地に塗抹培養した。CCMA 培地は 24 時間嫌気環境内で十分還元された培地を用いた。37°C、48 時間嫌気培養後、疑わしい集落を釣菌して同定した。*C. difficile* と同定された菌株は、毒素産生性の有無をラテックス試薬 (ダイヤトロン社) を用いてチェックした。

9. 嫌気培養法

本実験には Anaerobic glove box (Forma 社, N₂ : 80%, CO₂ : 10%, H₂ : 10%) を用いた。

II. 実験成績

1. 抗菌スペクトラム

参考菌株 46 株に対する 6315-S の抗菌力を LMOX, CMX, CZX および CFX を用いて、接種菌量を 10^8 cfu/ml と 10^9 cfu/ml で比較検討した成績を Table 1 ~ 6 に示した。

6315-S の *Bacteroides*, *Fusobacterium* に対する抗菌力は LMOX とほぼ同等で強く、CMX, CZX, CFX より優れていた。とくに *Fusobacterium varium*, *Fusobacterium mortiferum* では LMOX より強い抗菌力を示した。*Peptostreptococcus*, *Streptococcus*, *Veillonella*, *Clostridium*, *Eubacterium* に対しては、比較薬剤と同様に強い抗菌力を示した。

Table 1 *In vitro* antibacterial activity of 6315-S, Latamoxef, Cefmenoxime, Ceftizoxime and Cefoxitin against reference strains of anaerobic bacteria.

Reference strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	6315-S	LMOX	CMX	CZX	CFX
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC-25285	0.78	0.78	3.13	6.25	6.25
<i>B. fragilis</i> GM-7000	0.78	0.78	3.13	6.25	6.25
<i>B. thetaiotaomicron</i> ATCC-29741	3.13	6.25	50	6.25	12.5
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL-2926	6.25	6.25	50	12.5	25
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL-3304	6.25	6.25	100	50	25
<i>B. asaccharolyticus</i> ATCC-25260	0.10	0.39	0.20	0.78	0.39
<i>B. asaccharolyticus</i> GAI-0415	0.10	0.20	0.05	0.05	0.20
<i>B. asaccharolyticus</i> GAI-0414	0.20	0.78	0.10	0.20	0.39
<i>B. vulgatus</i> ATCC-29327	0.39	0.20	3.13	0.78	1.56
<i>B. vulgatus</i> ATCC-8482	3.13	3.13	50	6.25	6.25
<i>B. distasonis</i> GM-7007	3.13	6.25	12.5	6.25	12.5
<i>B. distasonis</i> ATCC-8503	1.56	1.56	0.78	0.39	1.56
<i>B. ovatus</i> ATCC-8483	25	50	100	25	25
<i>B. uniformis</i> ATCC-8492	0.78	0.78	6.25	6.25	0.78
<i>B. capillosus</i> ATCC-29799	1.56	3.13	3.13	6.25	12.5
<i>B. melaninogenicus</i> GAI-0411	1.56	1.56	1.56	3.13	3.13
<i>B. melaninogenicus</i> JKI-8	0.20	0.39	0.10	0.10	0.39
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC-10953	0.10	0.39	0.20	0.39	0.20
<i>F. nucleatum</i> F-1	0.10	1.56	0.10	0.39	0.39
<i>F. nucleatum</i> Fev-1	0.05	0.39	0.10	0.39	0.20
<i>F. nucleatum</i> ATCC-25586	0.10	0.78	0.39	0.39	0.39
<i>F. varium</i> ATCC-8501	1.56	12.5	12.5	25	6.25
<i>F. mortiferum</i> VPI-4249	1.56	6.25	100	100	6.25
<i>F. mortiferum</i> VPI-5696	0.39	1.56	50	>100	1.56

Inoculum 10^8 cfu/ml

Table 2 *In vitro* antibacterial activity of 6315-S, Latamoxef, Cefmenoxime, Ceftizoxime and Cefoxitin against reference strains of anaerobic bacteria.

Reference strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	6315-S	LMOX	CMX	CZX	CFX
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC-25285	0.39	0.39	3.13	0.78	3.13
<i>B. fragilis</i> GM-7000	0.39	0.39	1.56	6.25	3.13
<i>B. thetaiotaomicron</i> ATCC-29741	0.78	3.13	12.5	1.56	12.5
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL-2926	3.13	3.13	25	1.56	12.5
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL-3304	6.25	3.13	25	3.13	6.25
<i>B. asaccharolyticus</i> ATCC-25260	≤ 0.025	0.20	≤ 0.025	≤ 0.025	0.20
<i>B. asaccharolyticus</i> GAI-0414	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	0.20
<i>B. vulgatus</i> ATCC-29327	0.20	0.10	0.78	≤ 0.025	0.78
<i>B. vulgatus</i> ATCC-8482	1.56	1.56	6.25	0.20	6.25
<i>B. distasonis</i> GM-7007	1.56	0.78	3.13	0.78	12.5
<i>B. distasonis</i> ATCC-8503	0.39	1.56	0.20	0.10	0.78
<i>B. ovatus</i> ATCC-8483	3.13	6.25	25	6.25	6.25
<i>B. uniformis</i> ATCC-8492	0.39	0.05	3.13	6.25	0.78
<i>B. melaninogenicus</i> GAI-0411	0.10	1.56	≤ 0.025	0.39	1.56
<i>B. melaninogenicus</i> JKI-8	0.10	0.39	0.05	≤ 0.025	0.20
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC-10953	0.05	0.39	0.10	0.20	0.20
<i>F. nucleatum</i> F-1	0.05	0.39	0.05	≤ 0.025	0.10
<i>F. nucleatum</i> Fev-1	0.05	0.39	≤ 0.025	0.10	0.05
<i>F. nucleatum</i> ATCC-25586	0.05	0.39	≤ 0.025	0.05	0.20
<i>F. varium</i> ATCC-8501	0.78	6.25	3.13	3.13	3.13
<i>F. mortiferum</i> VPI-4249	0.39	3.13	0.39	1.56	1.56
<i>F. mortiferum</i> VPI-5696	0.39	0.78	0.39	12.5	0.78

Inoculum 10^8 cfu/ml

Table 3 *In vitro* antibacterial activity of 6315-S, Latamoxef, Cefmenoxime, Ceftizoxime, and Cefoxitin against reference strains of anaerobic bacteria.

Reference strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	6315-S	LMOX	CMX	CZX	CFX
<i>Clostridium sordellii</i> ATCC-9714	0.20	1.56	0.20	0.10	0.39
<i>C. perfringens</i> ATCC-3624	25	100	>100	50	6.25
<i>C. perfringens</i> ATCC-13123	0.39	3.13	3.13	3.13	1.56
<i>C. sporogenes</i> ATCC-3584	0.39	3.13	6.25	>100	0.39
<i>C. sporogenes</i> ATCC-19404	0.39	1.56	6.25	100	0.78
<i>C. histolyticum</i> ATCC-19401	0.20	0.78	3.13	25	0.78
<i>C. novyi</i> ATCC-19402	0.05	0.78	0.10	0.20	0.10
<i>C. ramosum</i> ATCC-25582	0.78	6.25	0.20	6.25	6.25
<i>C. tertium</i> ATCC-19405	0.39	3.13	12.5	>100	0.78
<i>C. innocuum</i> ATCC-14501	6.25	>100	12.5	25	50
<i>C. clostridiiforme</i> ATCC-25537	0.78	1.56	1.56	6.25	6.25
<i>Eubacterium limosum</i> ATCC-8486	0.39	6.25	0.05	6.25	0.78
<i>E. cylindroides</i> ATCC-27803	1.56	6.25	1.56	1.56	6.25
<i>E. plauti</i> VPI-0310	0.78	6.25	1.56	6.25	6.25
<i>E. plauti</i> VPI-0311	3.13	6.25	12.5	>100	12.5
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC-11827	0.05	0.39	0.05	0.05	0.10
<i>P. acnes</i> ATCC-11828	0.20	3.13	0.20	0.20	0.39

Inoculum 10^8 cfu/mlTable 4 *In vitro* antibacterial activity of 6315-S, Latamoxef, Cefmenoxime, Ceftizoxime, and Cefoxitin against reference strains of anaerobic bacteria.

Reference strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	6315-S	LMOX	CMX	CZX	CFX
<i>Clostridium sordellii</i> ATCC-9714	0.20	1.56	0.20	0.10	0.39
<i>C. perfringens</i> ATCC-3624	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	0.39
<i>C. perfringens</i> ATCC-13123	0.39	0.05	0.78	0.05	0.78
<i>C. sporogenes</i> ATCC-3584	0.39	0.78	1.56	50	0.39
<i>C. sporogenes</i> ATCC-19404	0.39	0.78	3.13	50	0.39
<i>C. histolyticum</i> ATCC-19401	0.20	0.39	3.13	25	0.78
<i>C. novyi</i> ATCC-19402	0.05	0.20	0.10	0.10	0.10
<i>C. ramosum</i> ATCC-25582	0.39	6.25	0.20	6.25	3.13
<i>C. tertium</i> ATCC-19405	0.20	3.13	3.13	100	0.78
<i>C. innocuum</i> ATCC-14501	6.25	100	6.25	12.5	50
<i>Eubacterium limosum</i> ATCC-8486	0.39	6.25	≤ 0.025	3.13	0.78
<i>E. cylindroides</i> ATCC-27803	≤ 0.025	6.25	≤ 0.025	0.78	0.20
<i>E. plauti</i> VPI-0310	0.20	0.78	≤ 0.025	3.13	1.56
<i>E. plauti</i> VPI-0311	0.78	1.56	1.56	6.25	6.25

Inoculum 10^8 cfu/ml

Table 5 *In vitro* antibacterial activity of 6315-S, Latamoxef, Cefmenoxime, Ceftizoxime, and Cefoxitin against reference strains of anaerobic bacteria.

Reference strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	6315-S	LMOX	CMX	CZX	CFX
<i>Peptostreptococcus magnus</i> ATCC-29328	0.78	3.13	0.78	6.25	0.39
<i>P. asaccharolyticus</i> WAL-3218	0.20	0.20	0.20	0.10	0.20
<i>P. anaerobius</i> ATCC-27337	0.20	3.13	0.39	0.20	0.78
<i>Streptococcus parvulus</i> VPI-0546	0.78	3.13	0.39	0.39	1.56
<i>S. intermedius</i> ATCC-27735	1.56	12.5	0.10	0.39	6.25
<i>S. constellatus</i> ATCC-27823	1.56	25	0.20	1.56	6.25
<i>S. mutans</i> ATCC-25175	0.39	3.13	0.05	0.10	1.56
<i>Veillonella parvula</i> ATCC-10790	0.39	3.13	0.39	0.20	0.39

Inoculum 10^8 cfu/mlTable 6 *In vitro* antibacterial activity of 6315-S, Latamoxef, Cefmenoxime, Ceftizoxime, and Cefoxitin against reference strains of anaerobic bacteria.

Reference strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	6315-S	LMOX	CMX	CZX	CFX
<i>Peptostreptococcus magnus</i> ATCC-29328	0.10	0.39	≤ 0.025	0.20	0.10
<i>P. asaccharolyticus</i> WAL-3218	0.10	0.20	0.05	0.10	0.20
<i>P. anaerobius</i> ATCC-27337	0.10	1.56	≤ 0.025	0.20	0.78
<i>Streptococcus parvulus</i> VPI-0546	0.39	6.25	≤ 0.025	0.20	1.56
<i>S. intermedius</i> ATCC-27735	0.78	12.5	0.05	0.39	6.25
<i>S. constellatus</i> ATCC-27823	0.78	12.5	≤ 0.025	0.78	6.25
<i>S. mutans</i> ATCC-25175	0.20	3.13	≤ 0.025	0.05	1.56
<i>Veillonella parvula</i> ATCC-10790	0.10	0.78	0.39	0.20	0.20

Inoculum 10^6 cfu/ml

6315-Sの抗菌力は他の比較薬剤と異なり、接種菌量の影響をほとんど受けなかった。すなわち、6315-Sはグラム陰性、陽性、有芽胞の嫌気性菌に広範囲な抗菌スペクトラムを有し、 β -lactamase産生の*B. fragilis* groupに対しても極めて強い抗菌活性を示した。

2. 臨床分離株の感受性分布

最近、臨床材料から分離した*B. fragilis* 92株(最も新しい菌株)、5年前までに分離した*B. fragilis* 21株、*Bacteroides intermedius* 3株、*Bacteroides asaccharolyticus* 3株、*Bacteroides bivius* 4株、*Peptostreptococcus magnus* 2株、*Peptostreptococcus anaerobius* 4株、*Clostridium perfringens* 14株、*Clostridium difficile* 16株の6315-Sに対する感受性分布をCMX、CZX、CFX、LMOXと比較検討した成績をFig.2~19に示した。

接種菌量は 10^8 cfu/ml、と 10^6 cfu/mlについて検討した。最も新しく分離された*B. fragilis* 92株の6315-Sに対する感受性分布については、CEZ、CMX、CTM、CMZ、LMOX、CTTと比較検討し、Fig.2、3に示した。

B. fragilis : 6315-Sの抗菌力はFig.2~5に示す如く、新鮮分離株および古い分離菌株に対して極めて強く、比較薬剤であるCEZ、CMX、CTM、CMZ、LMOX、CTT、CFX、CZXよりも著しく優れていることがみとめられた。とくにFig.2~3に示す*B. fragilis*の95%の菌株が β -lactamase産生株であるが、全菌株が低いMIC分布を示した。

B. intermedius : 6315-Sは他の比較薬剤と同様に強い抗菌力を示した。

B. asaccharolyticus : 6315-Sは他の比較薬剤と同様に強い抗菌力を示した。

Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates *B. fragilis* 92 strains 10^8 cfu/ml

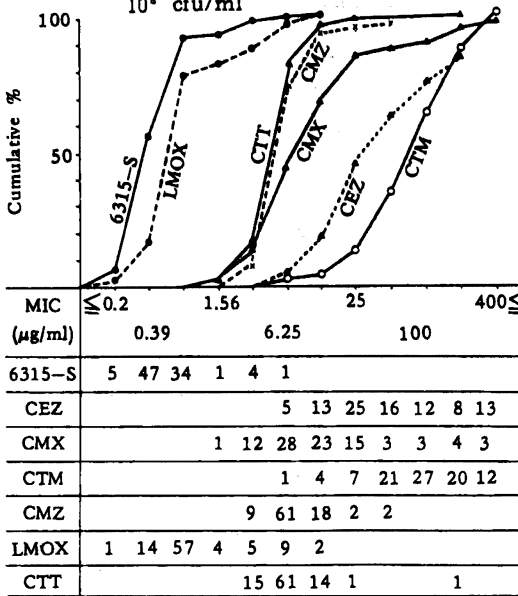
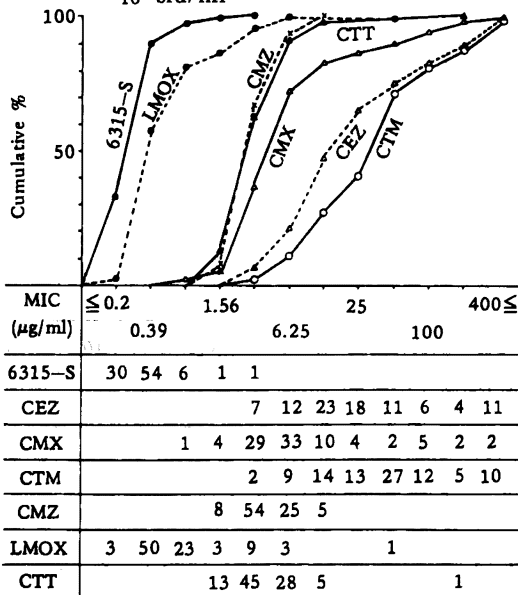


Fig. 3 Sensitivity distribution of clinical isolates *B. fragilis* 92 strains 10^6 cfu/ml



B. bivius : 6315-S は比較薬剤より抗菌力が弱く、4株中3株の MIC は 25 μg/ml であった。

P. magnus : 6315-S は強い抗菌力を示した。

P. anaerobius : 6315-S は他の比較薬剤と同様に強い抗菌力を示した。

Fig. 4 Sensitivity distribution of clinical isolates *B. fragilis* 21 strains 10^8 cfu/ml

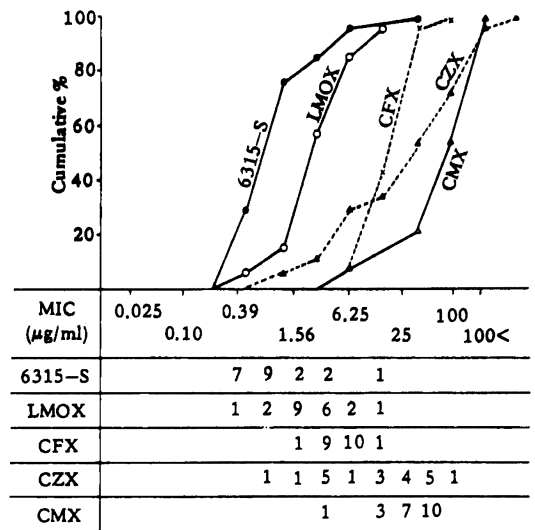
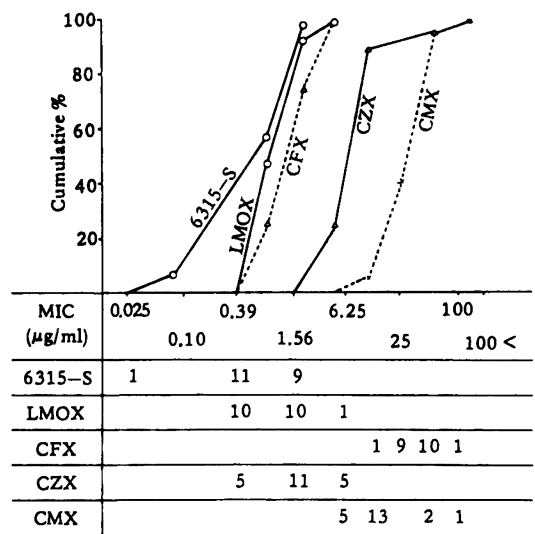


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates *B. fragilis* 21 strains 10^6 cfu/ml



C. perfringens : 6315-S の抗菌力は比較薬剤より強いことがみとめられた。

C. difficile : 6315-S の抗菌力は比較薬剤より著しく強く、全被検菌株の MIC は 6.25 μg/ml 以下であった。

Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates *B. intermedius* 3 strains 10^8 cfu/ml

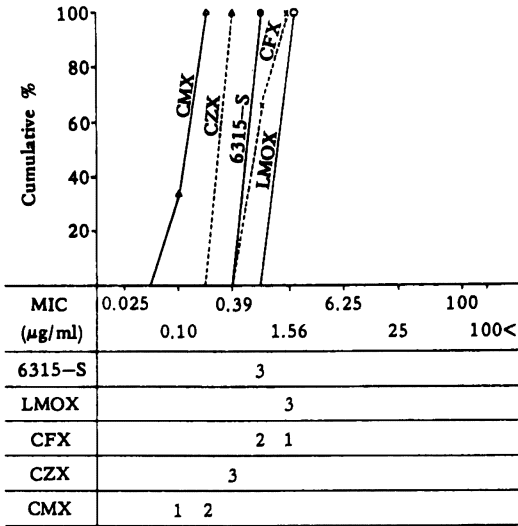


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates *B. asaccharolyticus* 3 strains 10^8 cfu/ml

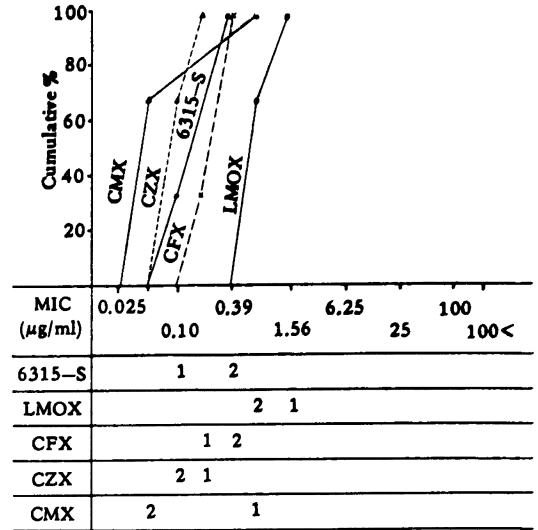


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates *B. intermedius* 3 strains 10^6 cfu/ml

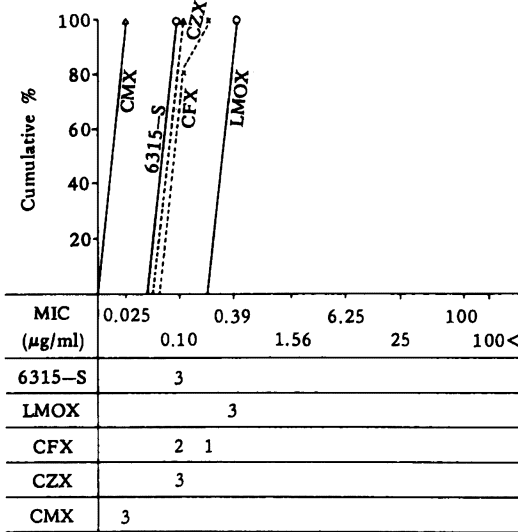
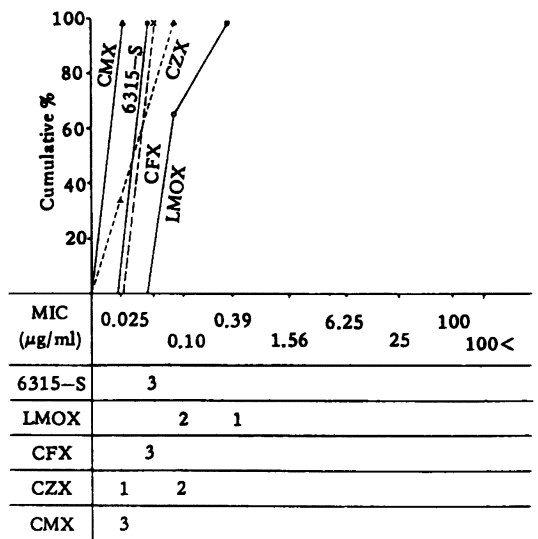


Fig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates *B. asaccharolyticus* 3 strains 10^6 cfu/ml



2. *B. fragilis* に対する MBC

B. fragilis 5株を用いて6315-SのMICとMBCをLMOXを比較薬剤として検討した成績をTable 7に示した。6315-SのMICとMBCはLMOXとほぼ同様に近値を示し、6315-Sの殺菌作用が示唆された。

3. *B. fragilis* の増殖曲線に及ぼす影響

B. fragilis GAI 4999, GAI 6283の2株の増殖曲線に及ぼす6315-Sの影響を検討した成績をFig. 20, 21に示した。LMOXを比較薬剤として検討した。6315-SはLMOXと同様にβ-lactamase産生の*B. fragilis*

Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates *B. bivius* 4 strains 10^8 cfu/ml

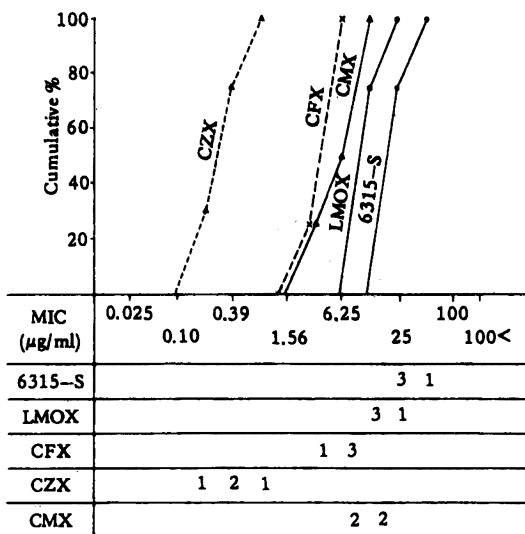


Fig. 12 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. magnus* 2 strains 10^8 cfu/ml

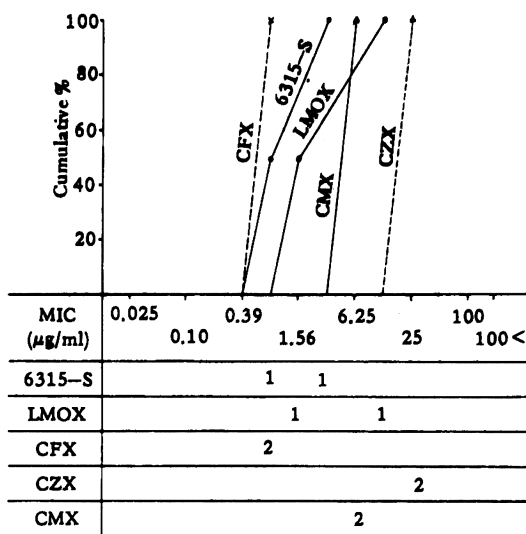


Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates *B. bivius* 4 strains 10^6 cfu/ml

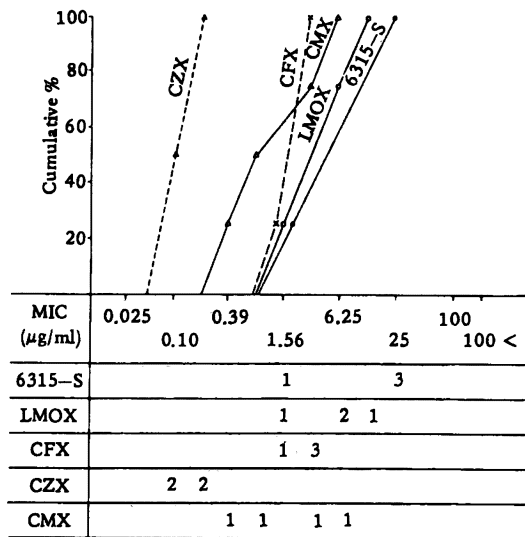
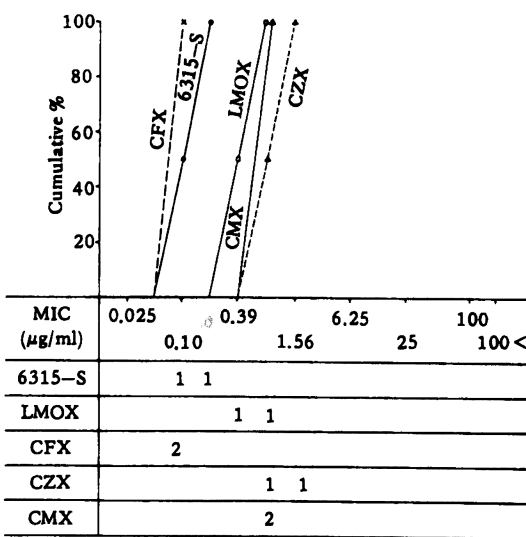


Fig. 13 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. magnus* 2 strains 10^6 cfu/ml



に対して1 MIC 含量 GAM ブイオン中で強い殺菌効果を示した。

4. *B. fragilis* の不活化酵素に対する安定性

B. fragilis 3 株から得られた不活化酵素に対する 6315-S の安定性を CER, CMX, CTX, CPZ, CFX,

CEZ と比較検討した成績を Fig.22 に示した。6315-S は Cephamycin 系抗生剤である CFX と同様に *B. fragilis* の不活化粗酵素液に対して極めて安定であることがみとめられた。

5. *B. fragilis* と *E. faecalis* の混合感染マウスに対

Fig. 14 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. anaerobius* 4 strains 10^8 cfu/ml

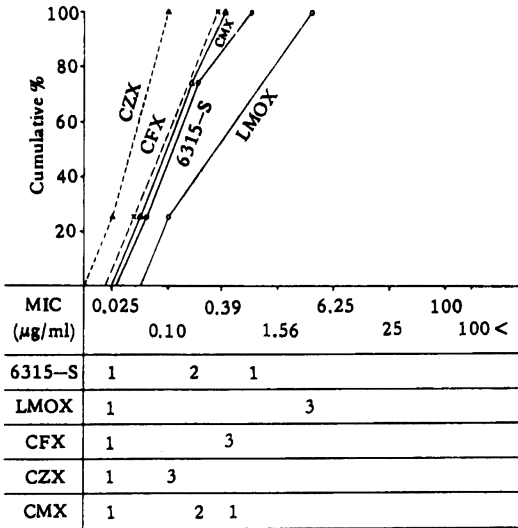


Fig. 16 Sensitivity distribution of clinical isolates *C. perfringens* 14 strains 10^8 cfu/ml

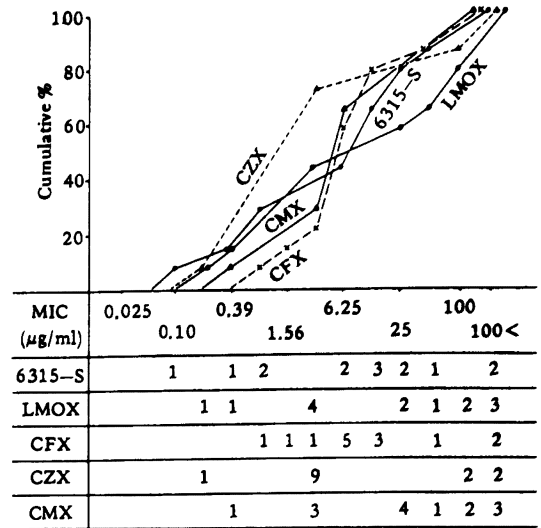


Fig. 15 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. anaerobius* 4 strains 10^6 cfu/ml

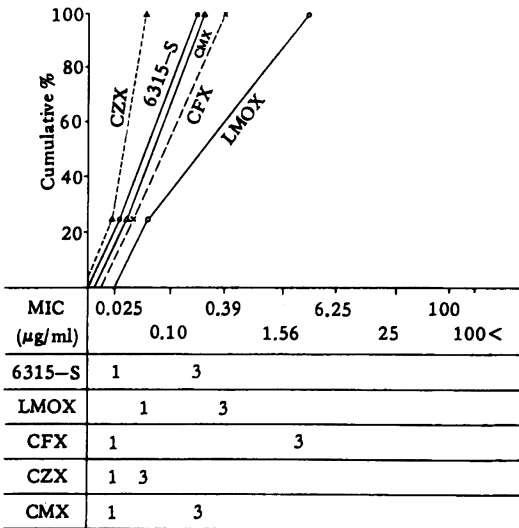
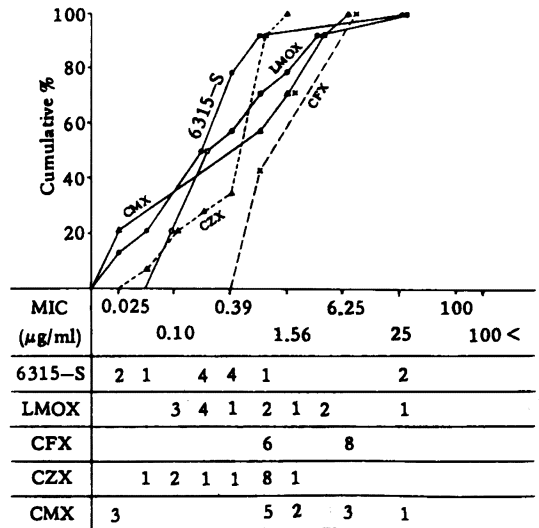


Fig. 17 Sensitivity distribution of clinical isolates *C. perfringens* 14 strains 10^6 cfu/ml



する治療効果

B. fragilis と *E. faecalis* の腹腔内混合感染マウスに対する 6315-S の治療効果を検討した成績を Fig. 23 に示した。

本実験系マウスでは非治療群は 80% の死亡率を示し

たが、6315-S の皮下投与群では著しく高い生存率を示した。

6. 6315-S 投与によるマウス盲腸内容物中の *C. difficile* の出現

6315-S 投与マウスにおける *C. difficile* の出現につ

Fig. 18 Sensitivity distribution of clinical isolates *C. difficile* 16 strains 10^8 cfu/ml

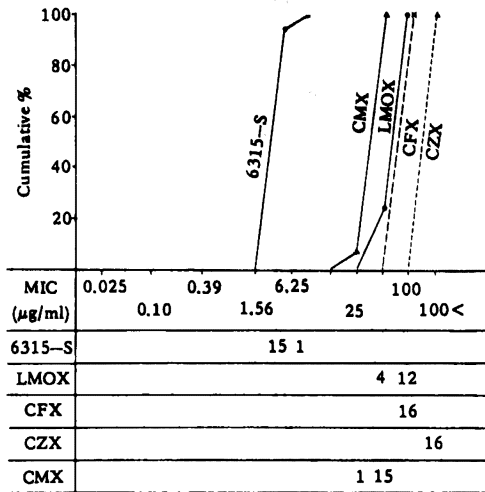


Fig. 19 Sensitivity distribution of clinical isolates *C. difficile* 16 strains 10^9 cfu/ml

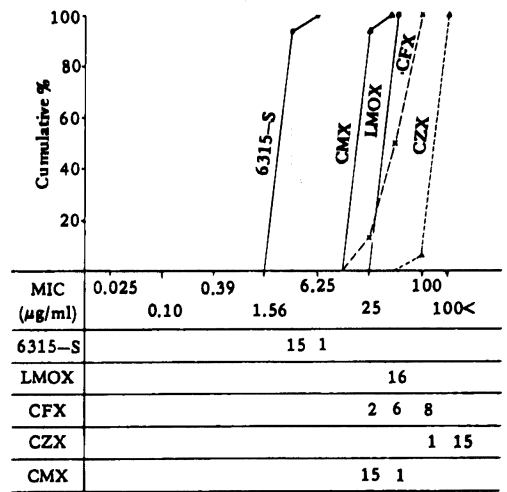


Fig. 20 Effect of 6315-S and LMOX on viability of *B. fragilis* GAI 4999

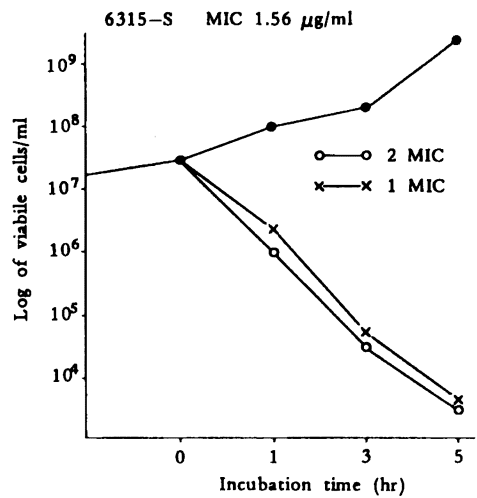
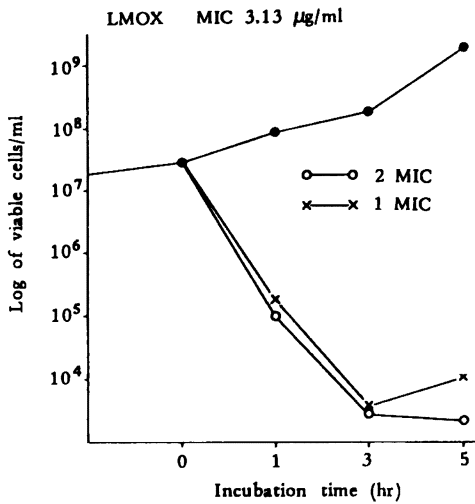


Table 7 MICs and MBCs of 6315-S or LMOX against reference strains of *B. fragilis*

Organism	6315-S (µg/ml)		LMOX (µg/ml)	
	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>B. fragilis</i> (GAI-6283)	1.56	3.13	3.13	12.5
<i>B. fragilis</i> (GAI-6305)	3.13	25	6.25	6.25
<i>B. fragilis</i> (GAI-6306)	1.56	12.5	6.25	25
<i>B. fragilis</i> (GAI-6264)	1.56	6.25	6.25	25
<i>B. fragilis</i> (GAI-4999)	0.78	0.78	0.78	1.56

いては、CMZを比較薬剤として検討した成績をTable 8に示した。6315-S投与中止後1日目では盲腸内容物中に *C. difficile* の出現はみとめられなかったが、7日後では44.4%のマウスから *C. difficile* を $10^2 \sim 10^8$ cfu/gに検出した。CMZ投与群においても、CMZでは12.5%に検出された。しかし、この現象は、他のすべてのcephem系抗生剤でもみとめられ、6315-Sに特徴的な現象ではない⁴⁾。

Fig. 21 Effect of 6315-S and LMOX on viability of *B. fragilis* GAI 6283

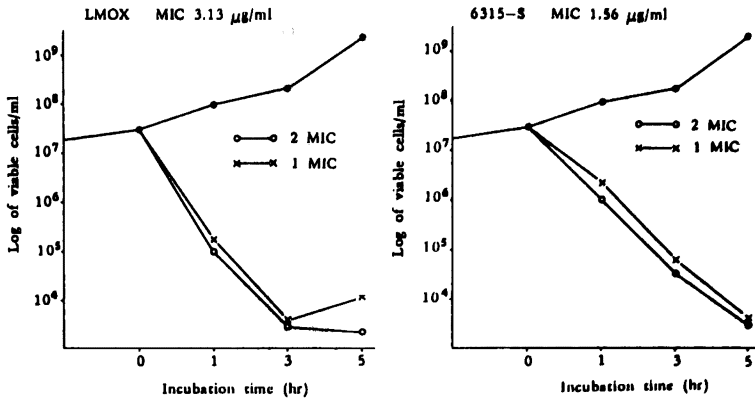


Fig. 22 Stability of 6315-S and reference antibiotics to the β -lactamases derived from *B. fragilis* isolates

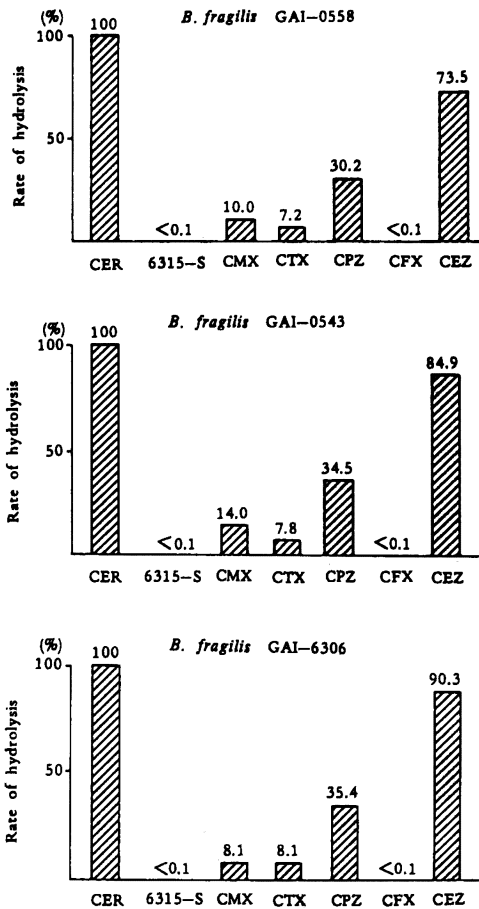


Fig. 23 Therapeutic effect of 6315-S and LMOX against experimental mice infection due to *B. fragilis* and *E. faecalis*

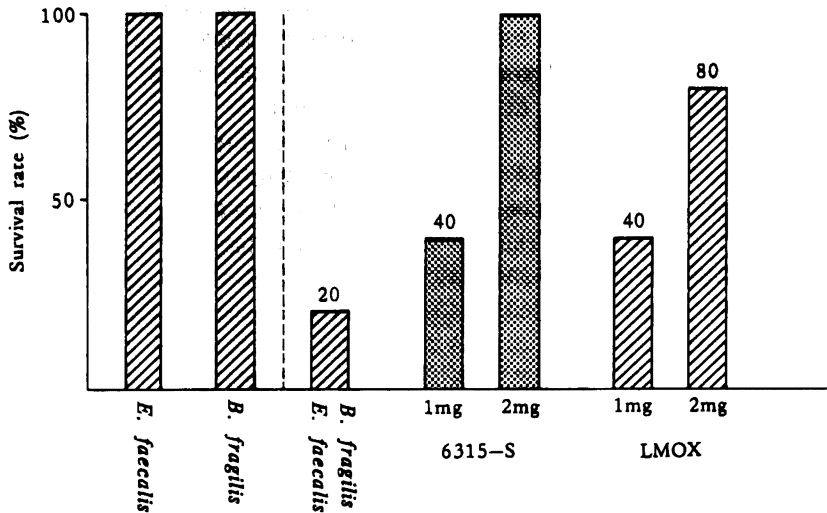


Table 8 The effect of 6315-S on the microflora of caecum contents of mice

Drug	On the 1st day after withdrawal of drug		On the 7th day after withdrawal of drug	
	Isolation frequency of <i>C. difficile</i>	No. of <i>C. difficile</i>	Isolation frequency of <i>C. difficile</i>	No. of <i>C. difficile</i>
6315-S	0	0	44.4 %	$10^2 \sim 10^8$
CMZ	0	0	12.5 %	5.4×10^5
Control	0	0	0	0

III. 考 察

6315-Sは塩野義製薬研究所で開発された新しい注射用オキサセフェム系抗生物質である。

本剤は、グラム陰性、陽性の嫌気性菌に対して極めて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。従来の多くのセフェム系抗生物質では*C. difficile*に対する抗菌力が弱い、本剤は*C. difficile*に対しても強い抗菌力を示した。6315-Sは β -lactamase産生の*B. fragilis* groupの菌種に対しても強い抗菌力を示し、LMOX, CMZ, CTT, CFXなど*B. fragilis*に強い抗菌力を有するcephamycin系抗生物質よりもさらに強い抗菌力を示した。

β -lactam剤に対する耐性機構の重要な1つは β -lactamaseを産生して薬剤の不活化である。cephamycin系抗生物質の*B. fragilis* groupに対する強い抗菌力は、本剤が*B. fragilis* groupの産生する β -lactamaseに安定であることが重要である。6315-Sが*B. fragilis*の不活化酵素に極めて安定で、加水分解を受けないことを明らかにした。

新鮮な臨床材料分離株の6315-S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みとめられた。

*B. fragilis*の増殖曲線に及ぼす検討において、1 MICの濃度で菌の発育を著明に阻止したところから、6315-S

は強い殺菌作用を有することが示唆された。

これらの *in vitro* の強い抗菌活性は、*B. fragilis* と *E. faecalis* の混合感染マウスに対しても、よく反映し、優れた *in vivo* 効果をもとめた。

以上の実験成績から、6315-S は嫌気性菌による単独感染はもとより、通性嫌気性菌と好気性菌との複数菌感染の抗生剤療法としても十分期待することができる。

文 献

- 1) HOLDEMAN, V. L. et al.: Anaerobe Laboratory Manual, Virginia Polytechnic Institute, Virginia State University, Virginia, U.S.A. 1974
- 2) 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
- 3) 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
- 4) 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 ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF 6315-S (FLOMOXEF) AGAINST ANAEROBIC BACTERIA

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

6315-S (Flomoxef : FMOX), a new oxacephem cephalosporin, showed a broad spectrum of antibacterial activity against Gram-positive and Gram-negative anaerobic bacteria, including the β -lactamase producing *Bacteroides fragilis* group and *Clostridium difficile*.

Its *in vitro* activity was much stronger than that of CER, CTM, CMX, CMZ, CPZ, CTX, LMOX, CFX and CTT.

It was also resistant to hydrolysis by β -lactamase derived from *B. fragilis*.

6315-S was the most effective of all the antibiotics tested against intra-abdominal sepsis in mice due to *B. fragilis* and *E. faecalis*.