

Cefodizime の嫌気性菌に対する抗菌作用

渡辺邦友・沢 赫代・沢村治樹・山岡一清
 青木 誠・加藤直樹・上野一恵
 岐阜大学医学部付属嫌気性菌実験施設

新しい注射用 cephalosporin 剤である Cefodizime(THR-221)の嫌気性菌に対する *in vitro* 抗菌作用を、GAM 寒天培地を用いる寒天平板希釈法で参考菌株および臨床分離株の計209株を対象として検討した。

THR-221は Cefotaxime, Cefmenoxime とほぼ同様の抗菌スペクトラムを示し、抗菌力もそれらに匹敵した。THR-221の抗菌作用が及びにくい菌種として β -lactamase 産生量の多い *B. fragilis* group, *C. innocuum*, *C. septicum*, *E. lentum* が挙げられた。THR-221は *B. fragilis* の β -lactamase により Cefotaxime よりわずかに強く加水分解を受けた。また、*B. fragilis* の増殖初期(10^8 cfu/ml)に THR-221を 1 MIC となるよう加えた場合殺菌的に作用し、Cefotaxime で再増殖が見られた 8 時間後でも再増殖は認められなかった。THR-221は 10^8 cfu/ml と β -lactamase の影響を受けやすい高接種菌量で MIC を測定した場合、*B. fragilis* に対し他の同系統の薬剤である Cefotaxime, Cefmenoxime, Ceftizoxime よりも優れる成績を示した。この現象は β -lactamase 産生性の *B. intermedius* についても見られた。嫌気性球菌の *Peptostreptococcus* の 4 菌種にも良好な抗菌作用を示したが、これらの菌種には Cefotaxime, Cefmenoxime よりやや劣った。THR-221の 1~2 mg/day, 7 日間投与の中止直後のマウス盲腸内から *C. difficile* が 20~40% に分離された。しかし、その頻度は Cefotaxime より低率であった。

Cefodizime(THR-221)は、西独のヘキスト社と仏のルセル社で合成開発された注射用の aminothiazolyl cephalosporin 剤である。本薬剤は、好気性のグラム陽性および陰性菌に抗菌作用を示す β -lactamase に安定な薬剤として開発された。その *in vitro* 抗菌力は従来のこの系統の薬剤とほぼ同程度で、特に顕著な特徴はないが、*in vivo* 抗菌力が *in vitro* での成績から想像されるよりも良好である点が注目されている^{1,2)}。著者らは本剤の嫌気性菌に対する抗菌スペクトラムと抗菌力、嫌気性菌の β -lactamase に対する安定性、マウス盲腸内細菌叢(特に *C. difficile*)への影響などを検討した。

I. 材料および方法

1. 供試菌株

研究室保存の代表参考菌株および ATCC 由来株 24 株と当研究室で最近 3 年間に臨床材料から分離した嫌気性菌 185 株を用いた。臨床分離株は *Bacteroides fragilis* 51 株, *B. bivius* 26 株, *B. intermedius* 17 株, *B. corporis* 6 株, *Fusobacterium nucleatum* 17 株, *Clostridium perfringens* 9 株, *Peptostreptococcus* spp. 59 株である。これらは、原則として PRASII media を用いる生化学的性状とガスクロマトグラフィーによる代謝産物中の低級脂肪酸の分析から VPI manual 第四版に基づき同定されたものであるが、一部 Rap ID ANA system を用いた数値同定とガスクロマトグラフィーによる代謝産物中の低級脂肪酸の分析結

果から同定したものも含まれる³⁾。これらの菌株は、10% スキムミルクを保護剤として -80°C で保存された。

2. 供試薬剤

THR-221 (ヘキスト AG) を主に用いた。対照薬剤として以下の 4 薬剤を中心に用いた。いずれも、その力価の明らかなものを用いた。

Cefoxitin(CFX)

Cefmenoxime(CMX)

Ceftizoxime(CZX)

Cefotaxime(CTX)

3. 薬剤の最小発育阻止濃度(MIC)の測定

寒天希釈法および液体希釈法によって測定した。寒天平板希釈法は日本化学療法学会の推奨する方法に準じて行った⁴⁾。すなわち、感受性測定用培地には GAM 寒天(日水)を用い、37°C で 24 時間または 48 時間 anaerobic glove box (Forma 社)(N₂ 80%, CO₂ 10%, H₂ 10%)で嫌気性培養後の MIC を求めた。液体培地希釈法は著者らの方法に従った⁵⁾。すなわち、測定用培地には GAM broth(日水)を用い、接種菌量は GAM broth での 24 時間培養菌液を Mc Farland No. 1 の半分の濁度に調整したものをを用いた。

4. 抗菌作用に及ぼす諸因子の影響—接種菌量

B. fragilis, *B. vulgatus*, *F. varium*, *S. intermedius*, *C. tertium*, *C. perfringens* の合計 6 株を用いて、接種菌量を 10^8 /ml から 10^9 /ml と 2 段階に変化させ、接種菌量が MIC

に及ぼす効果を検討した。

5. MIC と最小殺菌濃度(MBC)の比較

B. fragilis GAI 5562, GAI 0558株, *B. thetaiotaomicron* K-1, *F. nucleatum* GAI 5464の合計4株を用い, THR-221のGAM brothを用いた液体培地希釈法によるMICを測定し, その後MBCを測定した。

6. *B. fragilis* 産生の β -lactamaseに対する安定性

B. fragilis GAI 5562株, GAI 0558株およびGAI 1214株の3株を用い, 本薬剤の安定性をCephaloridine, Cefotaxime, Cefoxitin および Ampicillin を比較薬剤として検討した。被験菌株をGAM brothにて37℃, 4時間嫌気性培養した後, 4℃にて遠心分離(5000 rpm, 20分)して集菌後, 超音波処理にて菌体を破壊し, 再び4℃にて遠心(12000 rpm, 60分)した。この上清を粗酵素液として用いた。 β -lactamase 活性は photometric assay にて測定した⁶⁾。

7. 試験管内で増殖する *B. fragilis* に及ぼす影響

B. fragilis GAI 5562株をGAM broth中で発育させ, 対数増殖期(10^8 cfu/ml)に1/2, 1, 2および4 MIC濃度のTHR-221を作用させ, その後の菌数を経時的に算定した。対照薬剤としてCefotaximeを用いた。尚, *B. fragilis* GAI 5562に対するTHR-221とCefotaximeのMICは 10^6 cfu/ml接種で, ともに50 μ g/mlであった。

8. ラットパウチ内で増殖する *B. fragilis* に及ぼす影響

ラットパウチの作製は加藤らの方法に準じた⁷⁾。ラットはWistar系180~200g, 雄を用いた。*B. fragilis* GAI 5562をパウチ当たり 10^8 個を接種し, 24時間後に薬剤の投与を開始し, 経時的にパウチ内内容を吸引採取し菌数を測定し, パウチ内で増殖する *B. fragilis* に対する影響を観察した。THR-221の投与量は20 mg/kgとした。尚, 対照薬剤としてCefoxitinを用いた。

9. 薬剤投与とマウス盲腸内容物中に於ける *C. difficile* の出現

Table 1 Antibacterial spectrum

Organism	MIC (μ g/ml)				
	THR-221	CFX	CMX	CZX	CTX
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 3624	≤ 0.025	0.20	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>C. perfringens</i> ATCC 13123	≤ 0.025	0.39	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>C. septicum</i> ATCC 12464	6.25	0.39	3.13	50	12.5
<i>C. innocuum</i> ATCC 14501	25	25	3.13	50	6.25
<i>Eubacterium lentum</i> H-1	50	3.13	12.5	12.5	25
<i>E. aerofaciens</i> ATCC 25986	6.25	6.25	1.56	0.78	1.56
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 11828	0.20	0.39	0.20	0.20	0.20
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ATCC 15703	0.10	1.56	≤ 0.025	0.39	0.10
<i>Peptostreptococcus magnus</i> ATCC 14956	1.56	0.39	0.78	0.78	1.56
<i>P. prevotii</i> ATCC 9321	0.39	0.39	≤ 0.025	0.39	0.20
<i>P. anaerobius</i> ATCC 27337	0.39	0.39	0.20	0.10	0.10
<i>P. micros</i> VPI 5464	0.10	0.20	≤ 0.025	0.10	≤ 0.025
<i>P. asaccharolyticus</i> WAL 3218	0.20	0.20	0.20	0.20	≤ 0.025
<i>Streptococcus constellatus</i> ATCC 27823	0.78	6.25	0.20	0.78	0.39
<i>Staphylococcus saccharolyticus</i> ATCC 13953	0.78	0.20	≤ 0.025	0.10	0.20
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI 5562	1.56	12.5	3.13	0.39	1.56
<i>B. fragilis</i> GAI 0558	100	12.5	100	50	100
<i>B. melaninogenicus</i> GAI 5496	0.78	0.39	0.20	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL 2926	6.25	12.5	3.13	1.56	6.25
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL 3304	50	25	50	6.25	50
<i>Fusobacterium nucleatum</i> GAI 5464	0.20	0.20	≤ 0.025	0.20	≤ 0.025
<i>Veillonella parvula</i> ATCC 10790	0.20	0.20	0.20	0.20	0.39

ICR マウス, 18~20 g, 1群10匹を用い, 薬剤は1日1回7日間皮下に投与した。投与中止1日後にマウスを屠殺し, 盲腸内容物中の *C. difficile* の菌数を青木らの方法により定量培養した⁹⁾。*C. difficile* の選択培地はCCMA培地を用い, 培養操作はすべて anaerobic glove box 内で行った。

II. 成 績

1. THR-221の抗菌スペクトラム

THR-221のATCC由来の標準菌株を含む主要な嫌気性菌に対するMIC値をTable 1とTable 2に示した。

THR-221は 10^6 cfu/ml接種に於いて, *C. septicum* (6.25 μ g/ml), *C. innocuum* (25 μ g/ml), *E. lentum* (50 μ g/ml), *E. aerofaciens* (6.25 μ g/ml), *B. fragilis* の1株 (100 μ g/ml), *B. thetaiotaomicron* (6.25~50 μ g/ml)に対し6.25 μ g/ml以上のMICを示したが, 残りの15株に対してはすべて1.56 μ g/mlあるいはそれ以下のMICを示した。

THR-221は 10^8 cfu/ml接種に於いて, *E. aerofaciens* (12.5 μ g/ml), *E. lentum* (100 μ g/ml), *C. septicum* (12.5 μ g/ml), *C. innocuum* (25 μ g/ml), *B. fragilis* の2株 (50~200 μ g/ml), *B. thetaiotaomicron* の2株 (12.5~100 μ g/ml)に対し12.5 μ g/mlあるいはそれ以上のMICを示したが, その他の14株に対してはすべて3.13 μ g/mlあるいはそれ以下のMICを示した。すなわち, グラム陽性菌に対してはTHR-221の抗菌力はCMXより劣るものの, CTX, CZXおよびCFXとほぼ同等であり, グラム陰性菌でも *B. fragilis* に対してはCTXと同等, pigmented *Bacteroides* にはCMX, CFXと同等, *Fusobacterium*, *Veillonella* にはCFX, CZXと同等の成績であった。

2. 臨床分離株に対するMIC分布

THR-221のMICをCTX, CMX, CZXおよびCFXのそれらと比較検討し, Fig. 1~20に示した。 10^6 cfu/ml接種で見ると, *B. fragilis* 51株に対してTHR-221のMICは0.78~3.13 μ g/mlの感受性側と50~200 μ g/ml以上の

Table 2 Antibacterial spectrum

Organism	MIC (μ g/ml)				
	THR-221	CFX	CMX	CZX	CTX
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 3624	3.13	1.56	0.05	3.13	3.13
<i>C. perfringens</i> ATCC 13123	3.13	3.13	0.20	3.13	3.13
<i>C. septicum</i> ATCC 12464	12.5	0.39	6.25	100	12.5
<i>C. innocuum</i> ATCC 14501	25	100	6.25	50	6.25
<i>Eubacterium lentum</i> H-1	100	0.39	0.20	12.5	0.20
<i>E. aerofaciens</i> ATCC 25986	12.5	12.5	1.56	0.78	3.13
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 11828	0.39	0.78	0.39	0.39	0.39
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ATCC 15703	0.10	3.13	≤ 0.025	0.39	0.20
<i>Peptostreptococcus magnus</i> ATCC 14956	3.13	0.39	0.78	3.13	3.13
<i>P. prevotii</i> ATCC 9321	0.78	0.39	0.20	0.78	0.39
<i>P. anaerobius</i> ATCC 27337	0.78	0.78	0.20	0.10	0.20
<i>P. micros</i> VPI 5464	0.20	0.39	0.05	0.10	0.10
<i>P. asaccharolyticus</i> WAL 3218	0.39	0.39	3.13	0.20	0.39
<i>Streptococcus constellatus</i> ATCC 27823	0.78	12.5	0.20	1.56	0.39
<i>Staphylococcus saccharolyticus</i> ATCC 13953	1.56	0.78	0.39	0.39	0.78
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI 5562	50	12.5	50	12.5	50
<i>B. fragilis</i> GAI 0558	200	12.5	200	200	200
<i>B. melaninogenicus</i> GAI 5496	0.39	0.78	0.20	0.10	0.10
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL 2926	12.5	25	50	12.5	25
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL 3304	100	50	100	50	100
<i>Fusobacterium nucleatum</i> GAI 5464	0.39	0.39	0.10	0.39	0.39
<i>Veillonella parvula</i> ATCC 10790	0.20	0.39	0.20	0.20	0.20

Fig. 1 Antibacterial activity of THR-221 against
B. fragilis (51 strains, 10^6 cfu/ml)

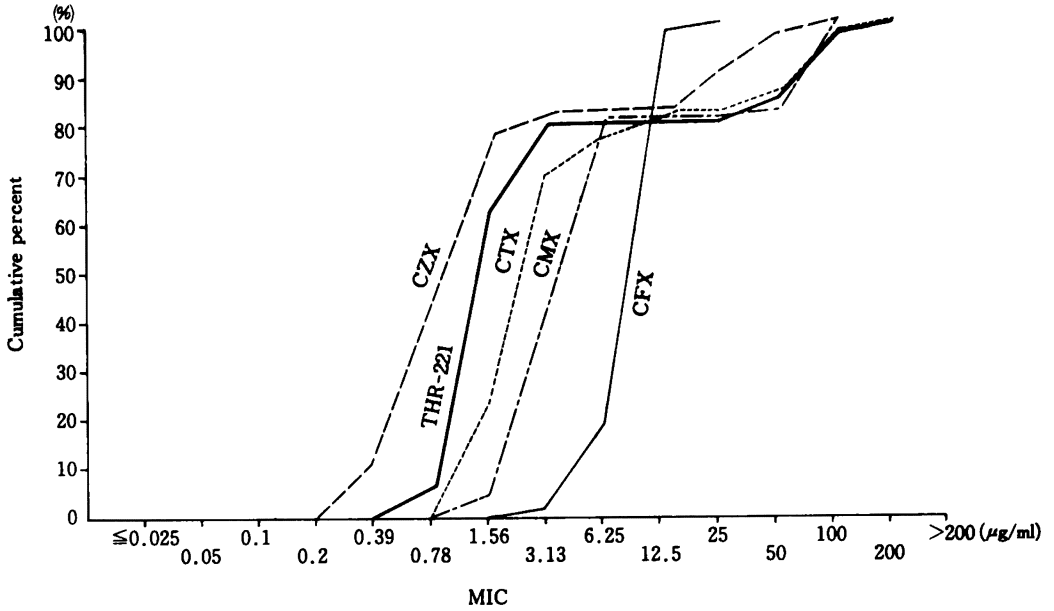


Fig. 2 Antibacterial activity of THR-221 against
B. fragilis (51 strains, 10^8 cfu/ml)

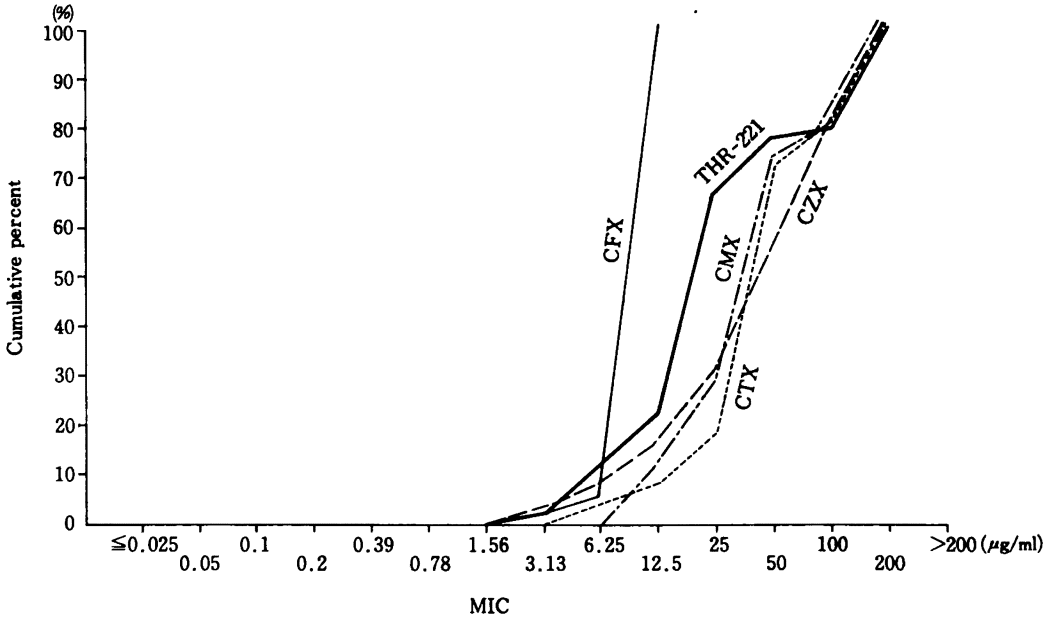


Fig. 3 Antibacterial activity of THR-221 against *B. bivius* (26 strains, 10^8 cfu/ml)

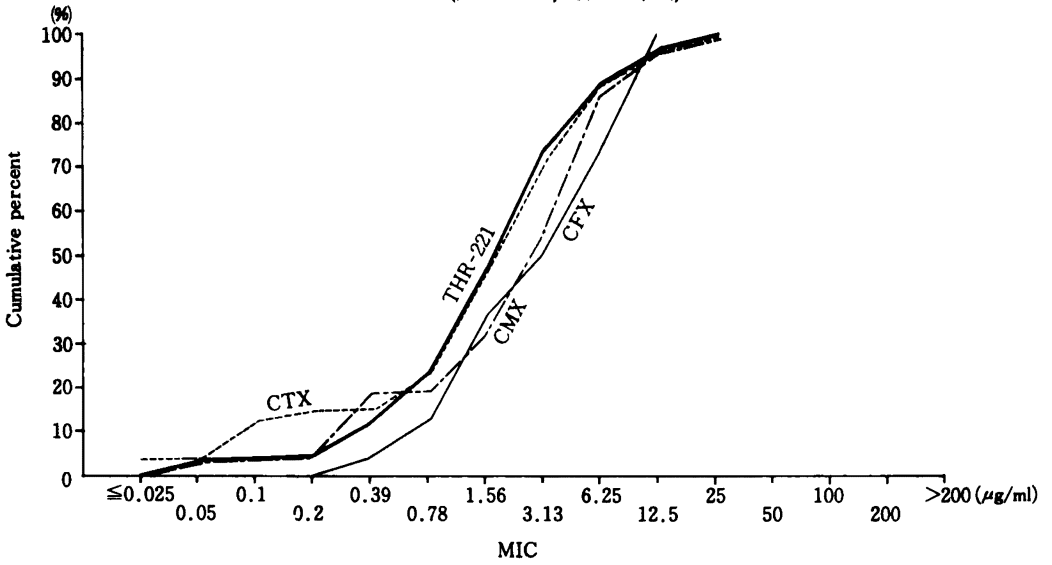


Fig. 4 Antibacterial activity of THR-221 against *B. bivius* (26 strains, 10^8 cfu/ml)

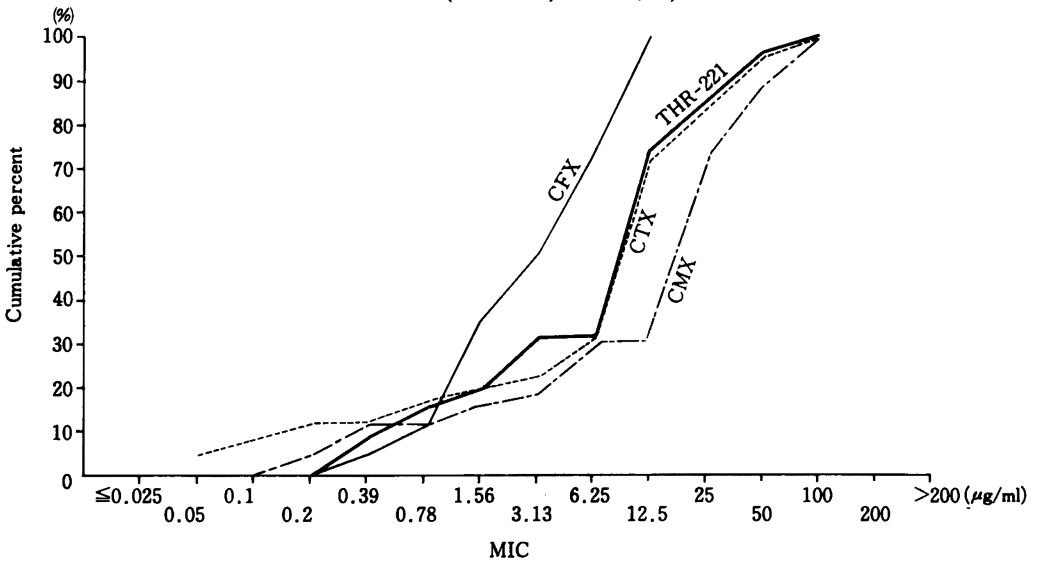


Fig. 5 Antibacterial activity of THR-221 against *B. intermedius* (17 strains, 10⁶ cfu/ml)

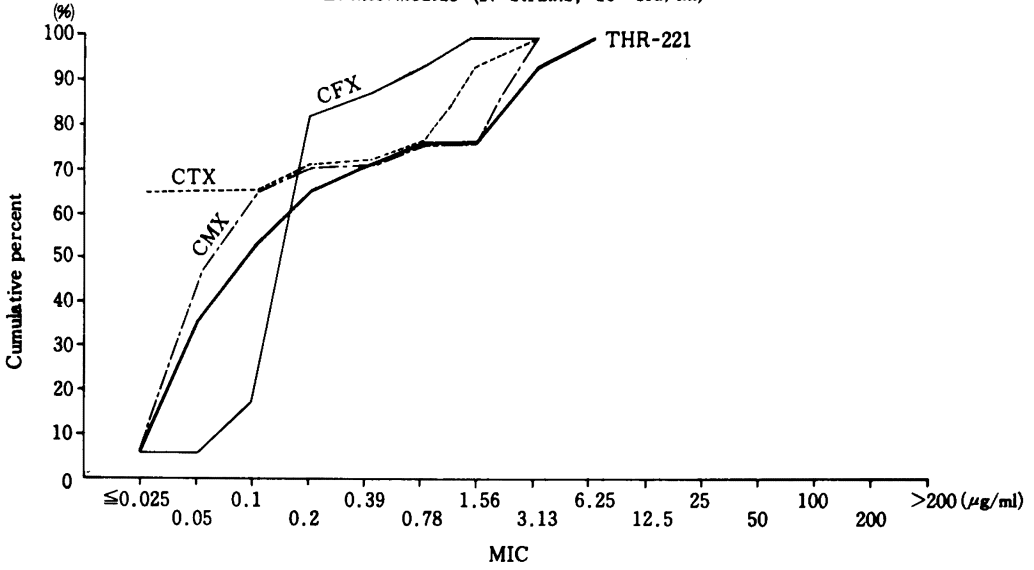


Fig. 6 Antibacterial activity of THR-221 against *B. intermedius* (19 strains, 10⁸ cfu/ml)

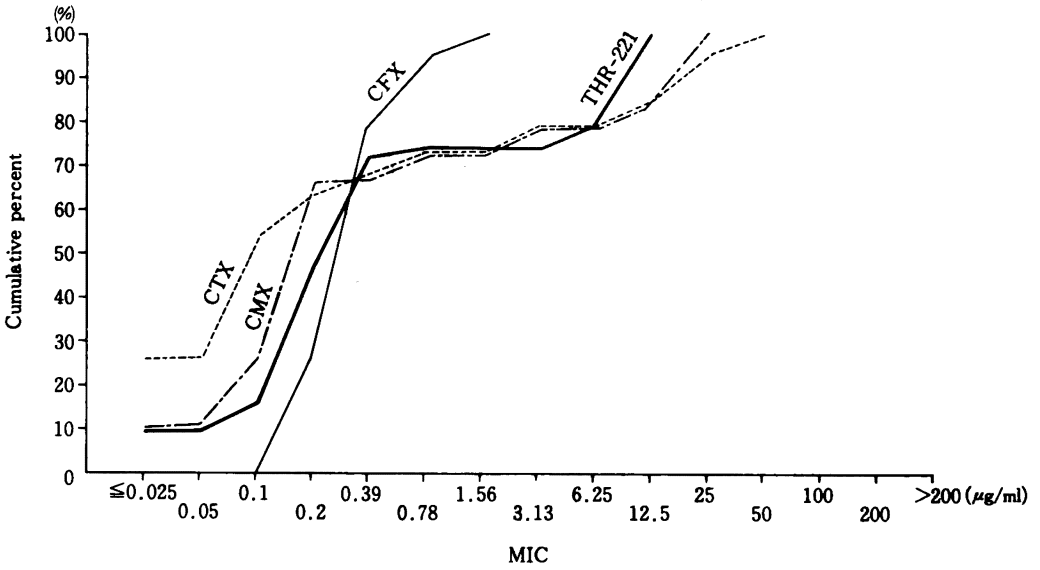


Fig. 7 Antibacterial activity of THR-221 against *B. corporis* (5 strains, 10⁸ cfu/ml)

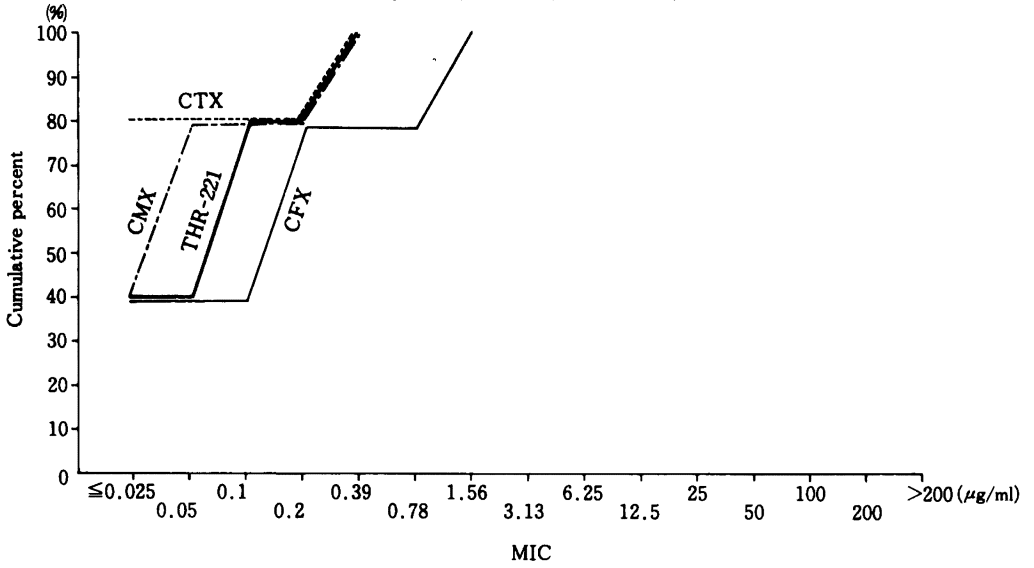


Fig. 8 Antibacterial activity of THR-221 against *B. corporis* (6 strains, 10⁸ cfu/ml)

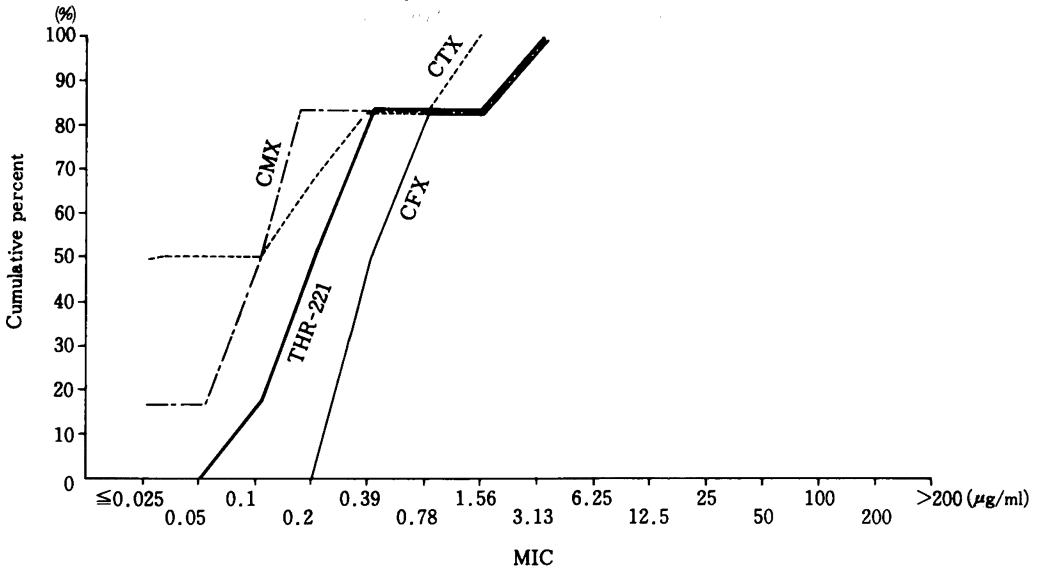


Fig. 9 Antibacterial activity of THR-221 against
F. nucleatum (17 strains, 10^8 cfu/ml)

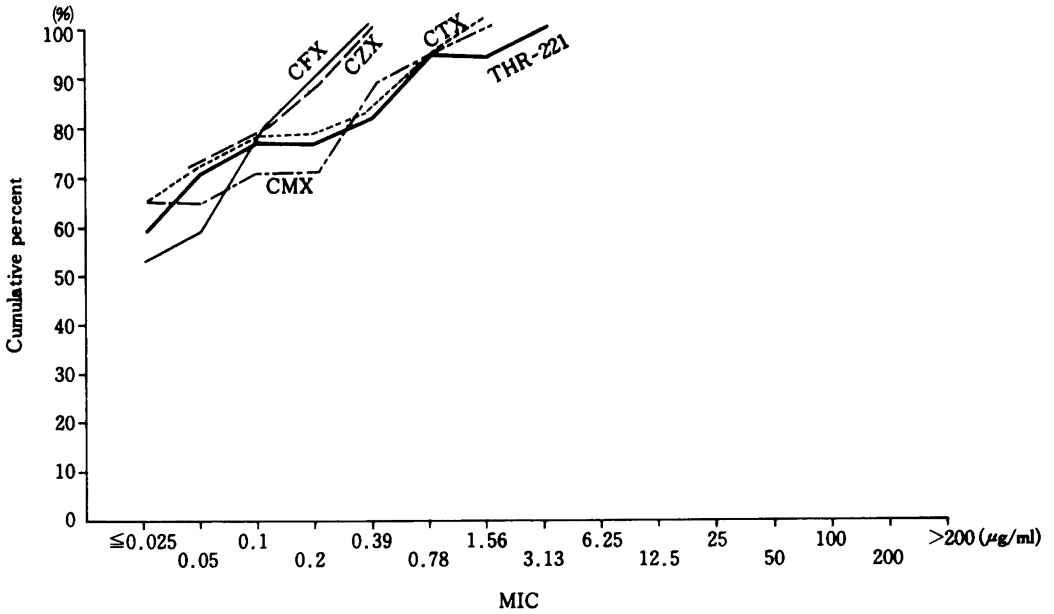


Fig. 10 Antibacterial activity of THR-221 against
F. nucleatum (17 strains, 10^8 cfu/ml)

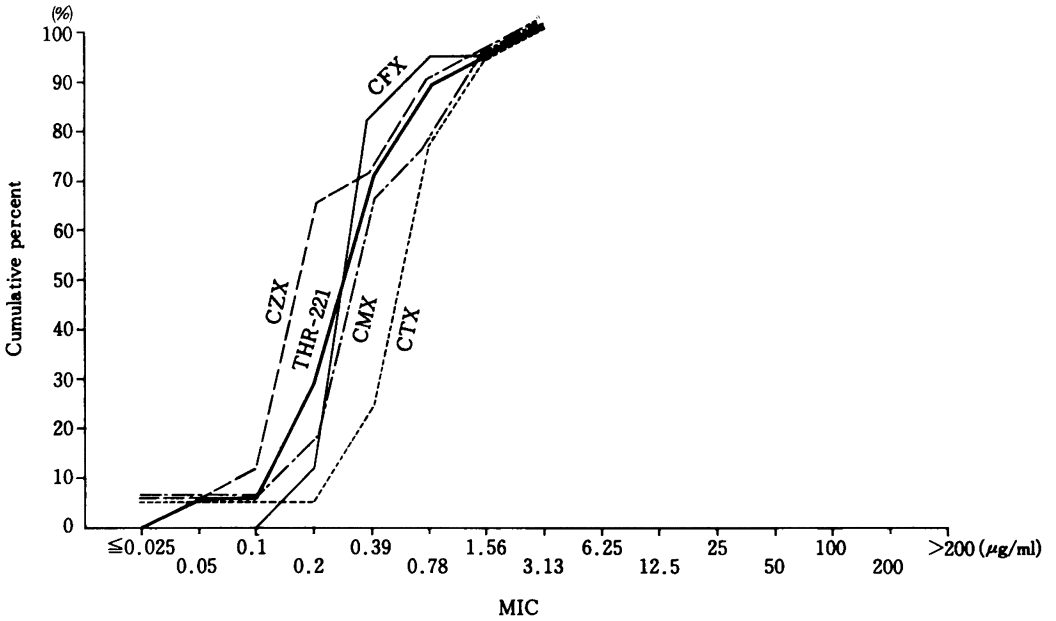


Fig. 11 Antibacterial activity of THR-221 against *C. perfringens* (9 strains, 10⁸ cfu/ml)

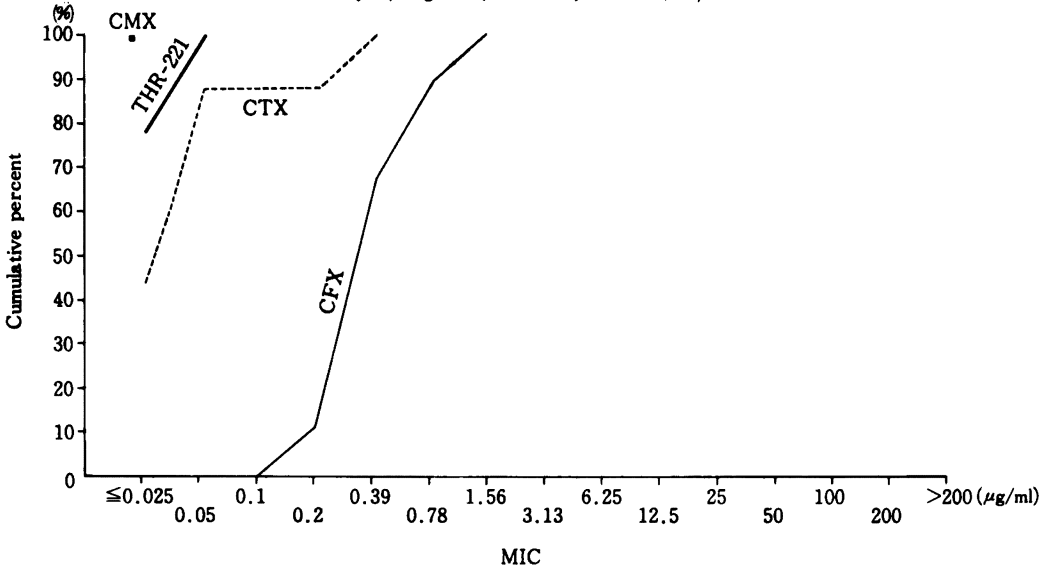


Fig. 12 Antibacterial activity of THR-221 against *C. perfringens* (9 strains, 10⁸ cfu/ml)

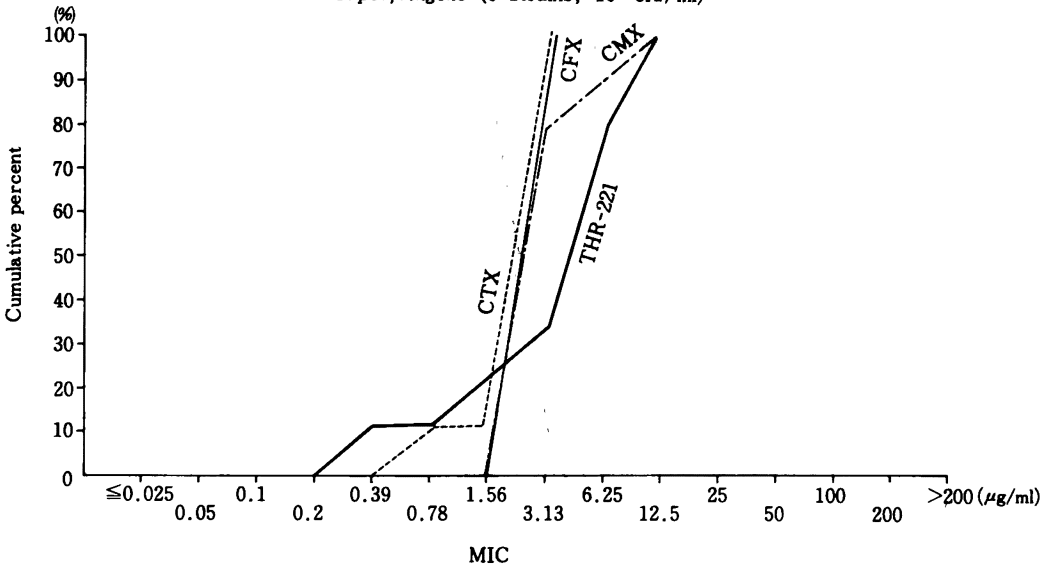


Fig. 13 Antibacterial activity of THR-221 against *P. magnus* (15 strains, 10⁶ cfu/ml)

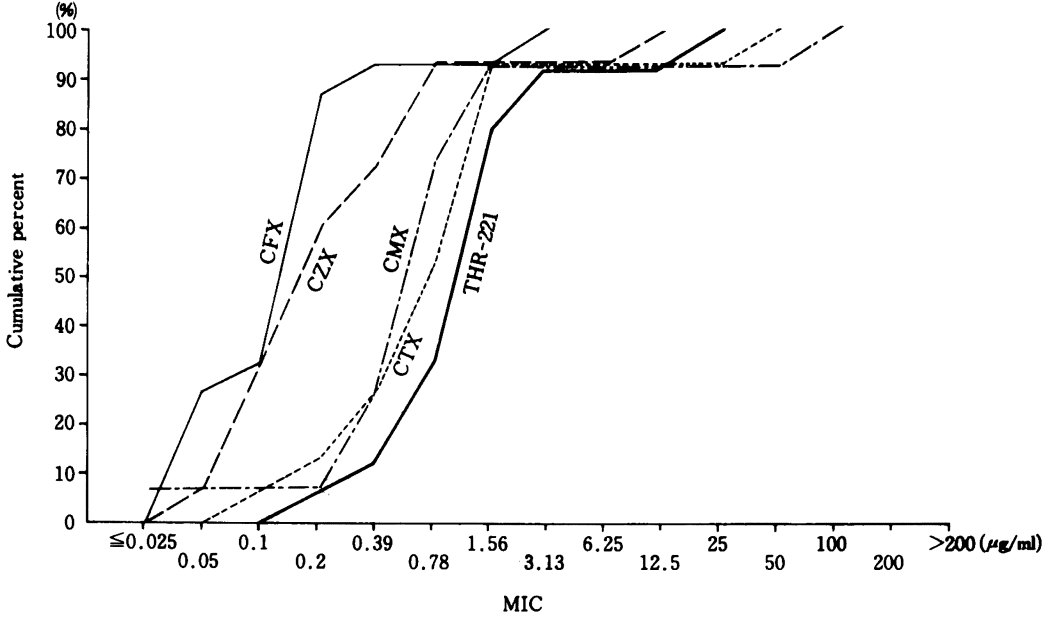


Fig. 14 Antibacterial activity of THR-221 against *P. magnus* (15 strains, 10⁸ cfu/ml)

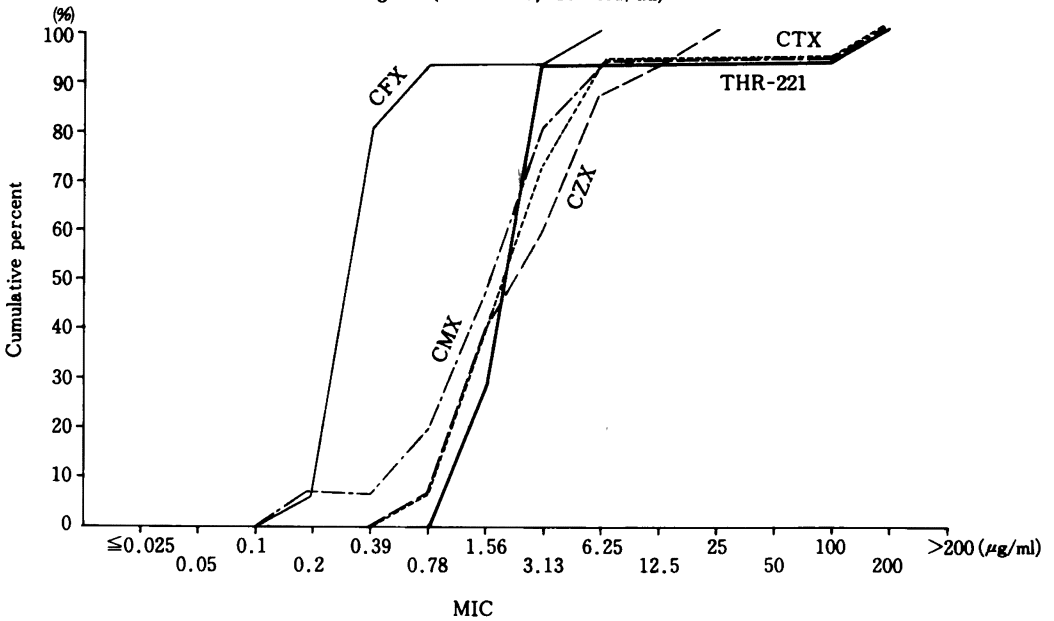


Fig. 15 Antibacterial activity of THR-221 against *P. asaccharolyticus* (15 strains, 10⁶ cfu/ml)

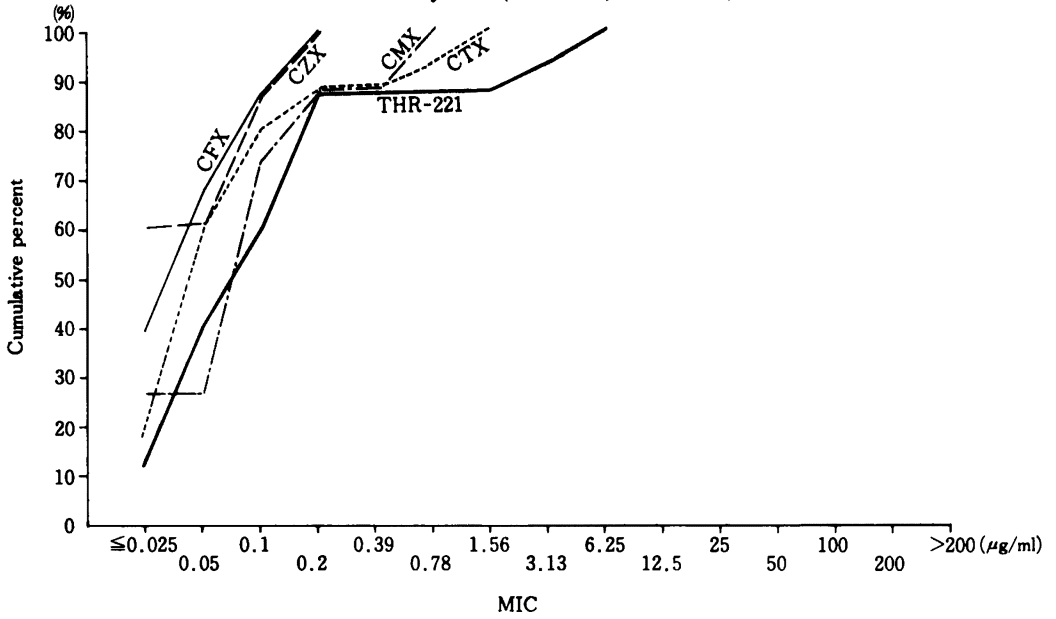


Fig. 16 Antibacterial activity of THR-221 against *P. asaccharolyticus* (15 strains, 10⁸ cfu/ml)

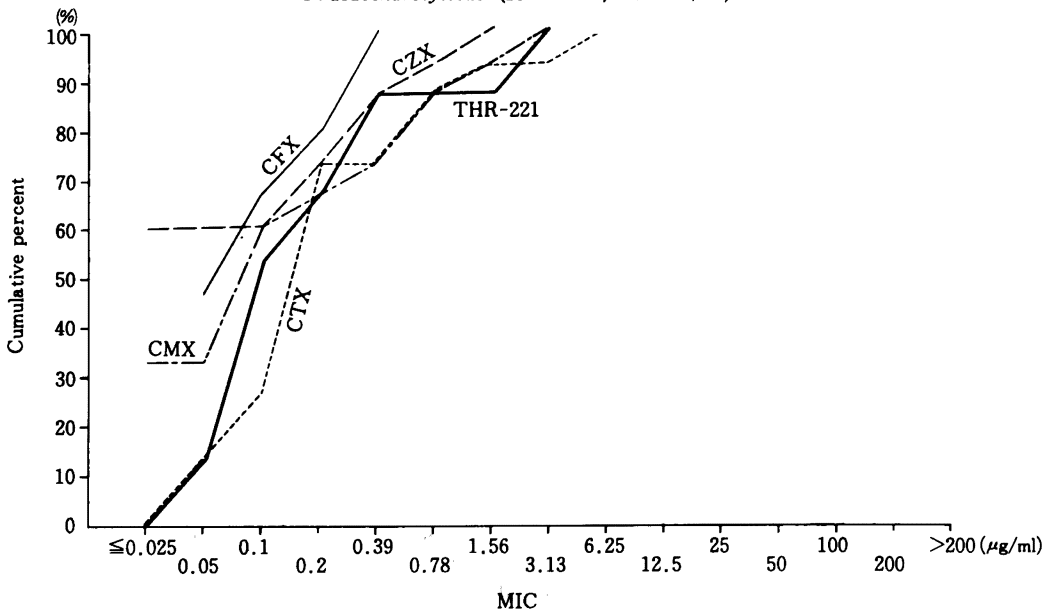


Fig. 17 Antibacterial activity of THR-221 against

P. prevotii (14 strains, 10^6 cfu/ml)

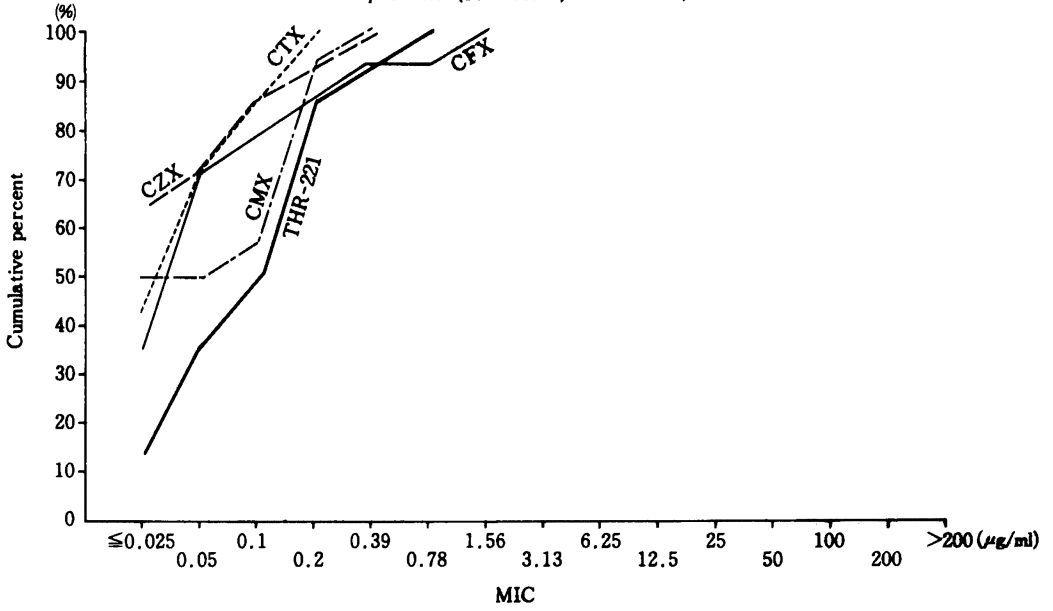


Fig. 18 Antibacterial activity of THR-221 against

P. prevotii (14 strains, 10^8 cfu/ml)

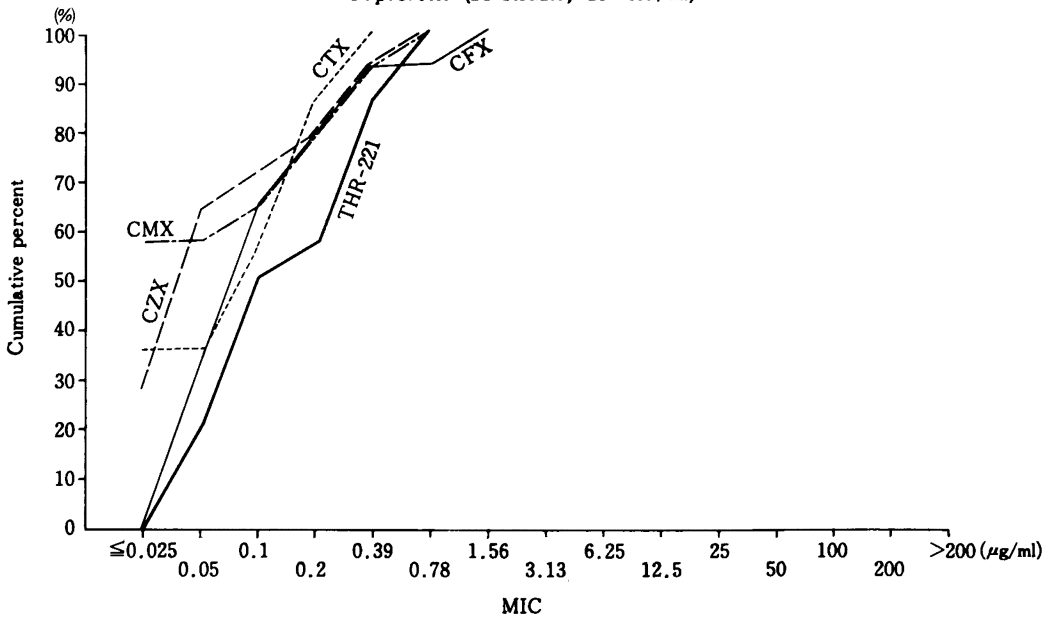


Fig. 19 Antibacterial activity of THR-221 against *P. anaerobius* (15 strains, 10⁶ cfu/ml)

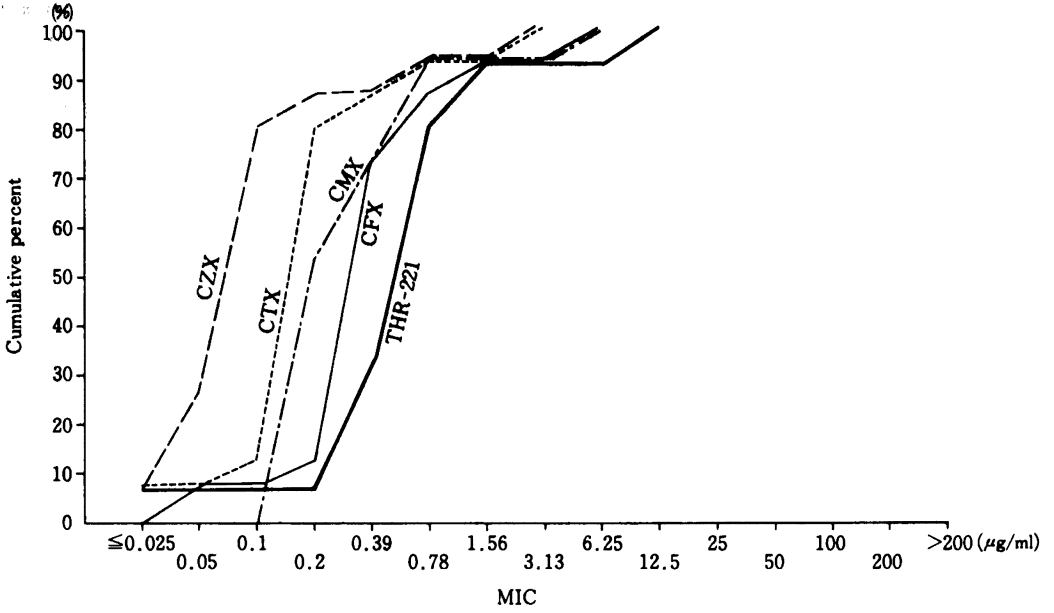
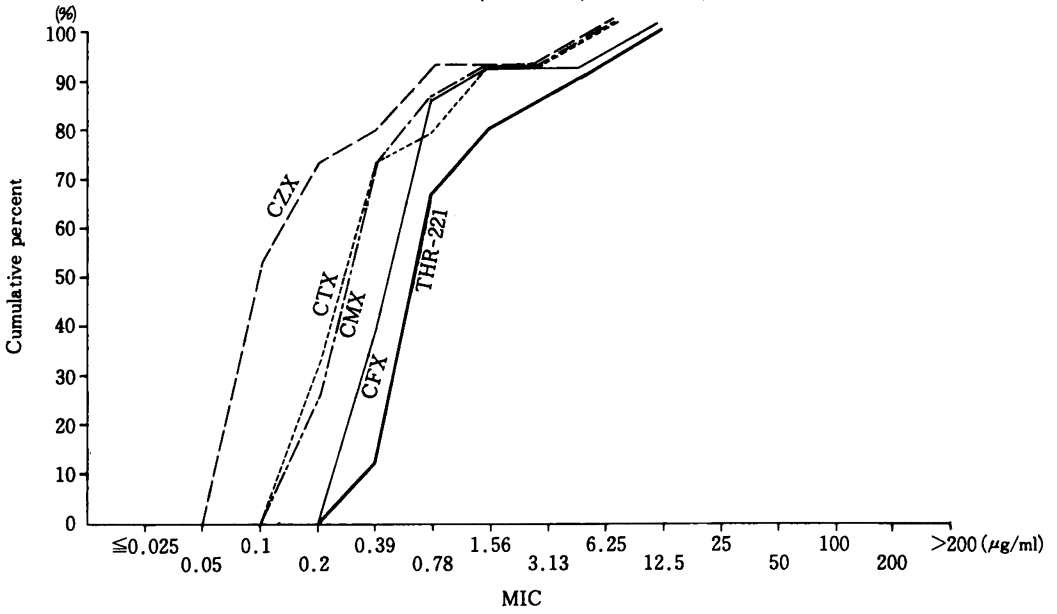


Fig. 20 Antibacterial activity of THR-221 against *P. anaerobius* (15 strains, 10⁸ cfu/ml)



耐性側の二峰性の分布を示した。対照薬剤との比較では THR-221 は感受性株に対しては CZX より若干劣り、CTX, CMX よりやや優れた MIC 分布を示し、耐性株に対しては CFX, CZX より劣り、CMX, CTX と同等の成績であった。しかし、 10^8 cfu/ml 接種でみると、感受性株に対して THR-221 は CFX について 2 番目に優れ、CMX, CTX, CZX より優れた成績を示した。しかし、耐性株に対しては CFX より劣り、CMX, CTX, CZX と同等の成績であった。

B. bivius に対して THR-221 の MIC は 1 株を除き 0.39 ~ 25 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、CTX と同等、CMX, CFX よりやや優れた。接種菌量の増加により 0.39 ~ 3.13 $\mu\text{g/ml}$ に分布する感受性側と 12.5 ~ 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上に分布する耐性側の二峰性に明確に分けられた。CTX と類似の MIC 分布を示し、CMX よりはやや優れ、CFX よりはやや劣った。*B. bivius* に対する CFX の MIC は接種菌量の大小に拘わらず 0.78 ~ 12.5 $\mu\text{g/ml}$ に分布した。しかし、詳細にみると 10^8 cfu/ml で 10^6 cfu/ml より 12.5 $\mu\text{g/ml}$ を示す株が多く見られた。

B. intermedius に対して 10^6 cfu/ml 接種で、THR-221 の MIC は 0.78 $\mu\text{g/ml}$ 以下に分布したが、3.13 ~ 6.25 $\mu\text{g/ml}$ の MIC を持つ比較的耐性な株も 4 株認められた。CTX, CMX と同様の MIC 分布であったが、その抗菌作用の強さは CTX, CMX, THR-221 の順であった。 10^8 cfu/ml 接種では二峰性が明確となり、感受性株には CTX, CMX, THR-221 の順で、耐性株には THR-221, CMX, CTX の順で優れた。

B. corporis に対する THR-221 の MIC は 10^6 cfu/ml 接種で 0.39 $\mu\text{g/ml}$ 以下に、 10^8 cfu/ml 接種では 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 以下に分布した。CTX, CMX よりやや劣る成績であった。

F. nucleatum に対する THR-221 の MIC は 10^6 cfu/ml 接種で 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 以下に分布し、CTX と類似のパターンを示した。

C. perfringens 9 株に対する THR-221 の MIC は 10^6 cfu/ml 接種で 0.05 $\mu\text{g/ml}$ 以下に分布し、CMX より劣り、CTX よりやや優れた成績であった。しかし、 10^8 cfu/ml 接種では 0.39 ~ 12.5 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、接種菌量の増加により MIC 値が大きく影響を受けた。

嫌気性球菌 4 菌種、すなわち、*P. magnus* 15 株、*P. anaerobius* 15 株、*P. prevotii* 14 株、*P. asaccharolyticus* 15 株に対する THR-221 の MIC₅₀ 値はそれぞれ 3.13, 1.56, 0.39 および 3.13 であった。対照薬剤との比較では CTX, CMX, CZX および CFX と殆ど同程度かやや劣る成績であった。

3. 接種菌量の MIC に及ぼす影響

接種菌量として 10^6 cfu/ml と 10^8 cfu/ml を用いた時の MIC の変動を検討した。*B. fragilis*, *C. tertium*, *C. perfringens* で特に顕著で、4 ~ 6 管の差異が認められた。*F. varium*, *B. vulgatus*, *S. intermedius* でも、接種菌量により MIC 値は 1 ~ 3 管の差異が認められた (Fig. 21)。

4. MIC と MBC の比較

検討した 4 菌種の MIC と MBC は同じ値を示した (Table 3)。

5. *B. fragilis* 産生の β -lactamase に対する THR-221 の安定性

B. fragilis 由来の β -lactamase に対する THR-221 の安定性を Table 4 に示した。

THR-221 は *B. fragilis* 3 株の産生する β -lactamase に対して CTX とほぼ同程度の安定性を示した。CER に対する分解を 100% とした時、THR-221 は 5562 株で 34%, 0558 株で 68%, 1214 株で 28% であった。

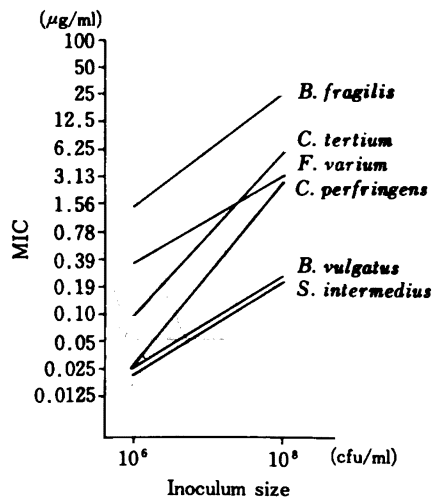
6. 試験管内で増殖する *B. fragilis* に対する影響

10^6 cfu/ml に増殖した *B. fragilis* GAI 5562 に THR-221 の MIC 濃度以上を作用させた時、殺菌的で 8 時間後でも再増殖はなかった。対照とした CTX でもほぼ同様の殺菌カーブを示したが、1 MIC の CTX で見られた薬剤と菌の接触後 8 時間での再増殖は、1 MIC の THR-221 では見られなかった (Fig. 22)。

7. ラットパウチ内で増殖する *B. fragilis* に対する影響

THR-221 の 20 mg/kg 静脈内投与は、ラットパウチ内で増殖している *B. fragilis* GAI 5562 に殆ど殺菌的に働かなかつた。しかし、対照薬剤として用いた CFX の 20

Fig. 21 Effect of inoculum size on MICs of THR-221



mg/kg 静脈内投与は、24時間後に1/10程度の菌数の減少が認められた。THR-221とCFXの*B. fragilis* GAI 5562に対するMICは、 10^6 cfu/ml接種時でそれぞれ50 μ g/ml, 12.5 μ g/mlであった(Fig. 23)。

8. マウス盲腸内細菌叢への影響

THR-221の1 mgを1日1回7日間皮下投与し、8日目に盲腸内容物中の*C. difficile*の菌数を算定した。THR-221投与マウス10匹中2匹で*C. difficile*が分離された。尚、盲腸内の*C. difficile*異常増殖惹起能の高い薬剤の一つとして知られるCTXの1 mg投与では、10匹中8匹に*C. difficile*の異常増殖が認められた(Table 5)。

Ⅲ. 考 察

THR-221はcephalosporinの基本骨格の3位に, mer-

capto-thiazolyl基を持つ新しいaminothiazolyl cephalosporinである¹⁾。この化合物は、好気性のグラム陽性およびグラム陰性菌に広い抗菌スペクトラムを有することが知られている。この化合物は、好気性菌では特に*Proteus*属、*B. catarrharis*および*H. influenzae*に対する抗菌作用に見るべきものがあるとされている^{1,3)}。

本報では、THR-221の嫌気性菌に対する抗菌作用を検討した。

THR-221の抗菌スペクトラムは、他のaminothiazolyl cephalosporinのそれらとよく似ていた⁹⁻¹¹⁾。その抗菌力はCTX, CMXとほぼ同等と考えられた。THR-221の抗菌力が及びにくい菌種として、*B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*の*B. fragilis* group, *Clostridium*属のうち*C. innocuum*, *C. septicum*, *Eubacterium*属のうち*E. lentum*, *E.*

Table 3 MICs and MBCs of THR-221 against anaerobes

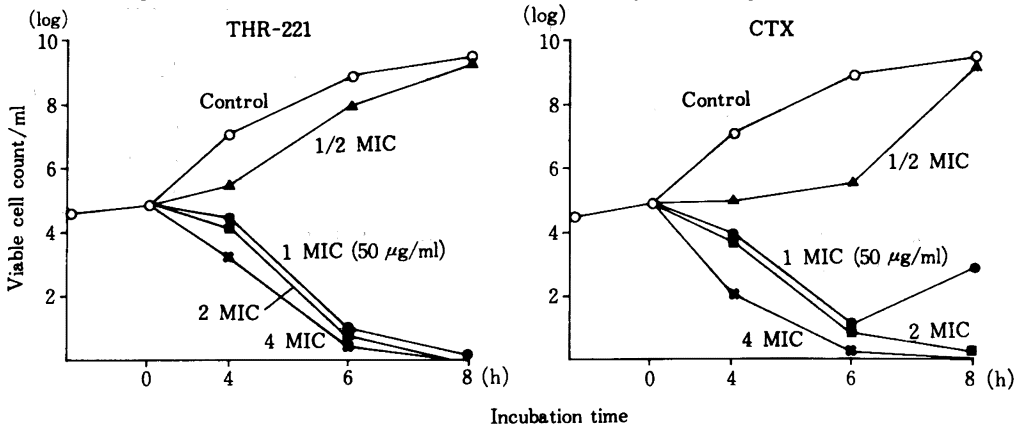
Organism	MIC	MBC
<i>B. fragilis</i> GAI 5562	50	50
<i>B. fragilis</i> GAI 0558	200	400
<i>B. thetaiotaomicron</i> K-1	12.5	12.5
<i>F. nucleatum</i> GAI 5464	0.39	0.39

Table 4 β -lactamase hydrolysis of THR-221 and three other β -lactams

Spectrophotometric assay, CER : 100

Organism	Relative hydrolysis rate			
	THR-221	CTX	CFX	ABPC
<i>B. fragilis</i> GAI 5562	34	23	—	—
<i>B. fragilis</i> GAI 0558	68	52	—	—
<i>B. fragilis</i> GAI 1214	28	26	—	9

Fig. 22 Bactericidal activities of THR-221 and CTX against *B. fragilis* GAI 5562



aerofaciens が明らかになった。これまで開発されてきた aminothiazolyl cephalosporin は、*B. fragilis* group の β -lactamase に不安定であった^{4,12}。THR-221 は今回の著者らの成績から知れるように、これまでのこの系統の薬剤と同様にやや不安定であることが *B. fragilis* group のある種の細菌に抗菌作用の弱い重要な原因であると考えられた。*B. fragilis* group 以外の *Clostridium* spp. と *Eubacterium* spp. は、いずれも β -lactamase を産生することが知られていない菌種である。THR-221 のこれらの菌種に対する抗菌作用の弱さの原因は不明である。

THR-221 の新しい臨床分離株に対する MIC 分布をみると、 β -lactamase 産生菌株に対し CTX, CMX より優れた力を見せた。すなわち、 β -lactamase を産生する菌

種である *B. fragilis* に対し、CMX, CTX よりやや優れた抗菌作用を示した。また、 10^6 cfu/ml 接種時には MIC 値が劣っていた CZX に、 10^8 cfu/ml では勝る成績を得た。 β -lactamase を産生する菌種である *B. bivius* に対し、THR-221 は CTX と同等の力を示し、CMX より優れた。同じく β -lactamase を産生する *B. intermedius* に対し、THR-221 は 10^8 cfu/ml の高い接種菌量で CMX, CTX より優れた抗菌力を示した。一方、嫌気性球菌に対しては、THR-221 は良好な抗菌作用を示したが、全体的に見て CTX, CMX よりやや劣ることが明らかになった。

THR-221 と CTX の *B. fragilis* の増殖曲線に及ぼす影響を見ると両者はほぼ同様であったが、詳細に見ると THR-221 は $1/2$ MIC では CTX より静菌作用が弱く、1

Fig. 23 Effect of THR-221 and CFX on viable cell count of *B. fragilis* inoculated in rat pouch

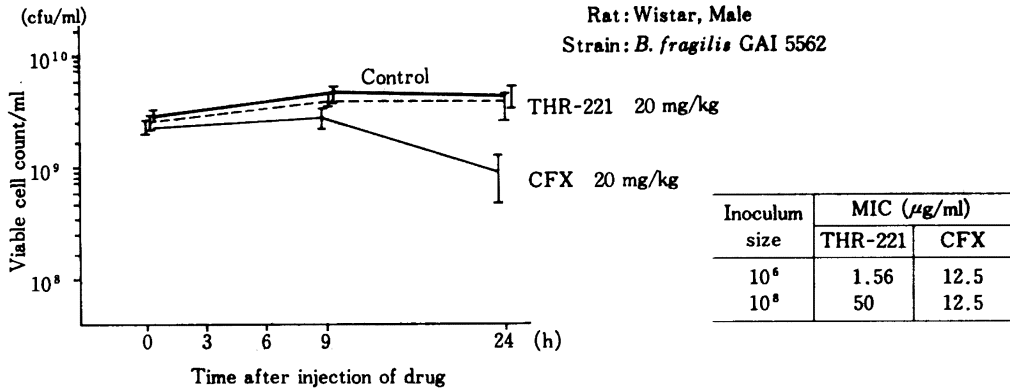


Table 5 Appearance of *C. difficile* in cecal contents of mice* administered THR-221, CTX and ABPC

Drug	Dose (mg/day)	Route	Growth of <i>C. difficile</i> **					Detection rate of <i>C. difficile</i> (%)
			4+	3+	2+	1+	0	
THR-221	1	s.c.		1		1	8	20
	2				1	3	6	40
CTX	1	s.c.	5	2		1	2	80
	2		5	2	1	1	1	90
ABPC	1	p.o.	5	3		1	1	90
Control							10	0

* : ICR, Male, B.W. (18~20 g), Administration (1~2 mg/day \times 7), n=10

** : 4+ ; 10^4 colonies or more/plate
 3+ ; 10^3 ~ 10^4 colonies/plate
 2+ ; 10^2 ~ 10^3 colonies/plate
 1+ ; 10^2 colonies or less/plate
 0 ; No colony

MICではCTXより強い殺菌作用が認められた。

パウチ内部に 10^9 cfu/ml以上に増殖した*B. fragilis*を有するラットにTHR-221の20 mg/kgを静注したが、パウチ内の菌数は全く変わらなかった。しかし著者らの経験では、このように高い菌量に増殖したパウチ内の*B. fragilis*の菌量を低下せしめることができる薬剤は、CFX以外認められていない。

CTXはマウス盲腸内の*C. difficile*の異常増殖を起こしやすい化学療法剤として知られている⁹⁾。THR-221は、CTXより*C. difficile*の異常増殖を起こす頻度が少なく、作用様式が少し異なると考えられた。

以上、THR-221は β -lactamase産生性の強い*B. fragilis* groupを除く臨床材料から、比較的頻繁に分離される嫌気性菌の菌種、特に*F. nucleatum*, *Peptostreptococcus* spp., pigmented *Bacteroides* spp.に対し良好な抗菌作用を示し、これらの菌種が関与することの多いと考えられる口腔と隣接した感染症あるいは下気道感染症に十分期待できると考えられる。また著者らの検討では、最近分離された*B. fragilis* 241株中、ニトロセフィン法とアジドメトリー法で、ともに陽性となる β -lactamase生産量の高い菌株は78株(32.4%)であり、ニトロセフィン法のみが陽性となる β -lactamase生産量の低い菌株は160株(66.4%)であることが知られている。THR-221は*B. fragilis*のうち全体の66.4%を占める β -lactamase生産量の低い菌株に対しては、臨床的に十分期待できるかも知れない。

文 献

- 1) KASAI, K.; A. TSUJI, S. MIYAZAKI, K. FUJIMOTO, S. GOTO, S. MASUYOSHI & S. ARAI: *In vitro* antibacterial activity and β -lactamase stability of cefodizime, a new cephalosporin antibiotic. The Japanese J. of Antibiotics 37(7): 1294~1305, 1984
- 2) KASAI, K.; A. TSUJI, S. MIYAZAKI, S. GOTO, K. FUJIMOTO, S. MASUYOSHI & S. ARAI: *In vivo* antibacterial activity of cefodizime, a new cephalosporin antibiotic. Japanese J. Antibiotics 37(7): 1306~1312, 1984
- 3) 西野武志, 羽原千恵子, 大槻雅子, 谷野輝雄: Cafodizimeの*in vitro*および*in vivo*抗菌作用。Chemotherapy 投稿中
- 4) TAJIMA, M.; K. SAWA, K. WATANABE & K. UENO: The β -lactamase of genus *Bacteroides*. J. Antibiotics 36(4): 423~428, 1983
- 5) 鈴木祥一郎, 上野一恵監修: 臨床嫌気性菌マニュアル。ニッスイライブラリー No. 6, 日水製薬 K.K., 東京, 1979
- 6) 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)の測定法。Chemotherapy 27(3): 559~560, 1979
- 7) 加藤直樹, 大橋葉津希, 渡辺邦友, 上野一恵: ラットパウチ内に於ける嫌気性菌の増殖。感染症学雑誌 投稿中
- 8) 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(7): 617~624, 1985
- 9) 村田加寿美, 江崎孝行, 甲畑俊郎, 二宮敬宇, 鈴木祥一郎, 渡辺邦友, 上野一恵: Cefotaximeの嫌気性菌に対する抗菌力。Chemotherapy 28(S-1): 33~41, 1980
- 10) 小林とよ子, 磯野美登利, 丸井 利, 山田 寿, 渡辺邦友, 上野一恵: Cefmenoximeの嫌気性菌に対する抗菌力。Chemotherapy 29(S-1): 42~52, 1981
- 11) 渡辺邦友, 上野一恵, 甲畑俊郎, 村田加寿美, 二宮敬宇, 鈴木祥一郎: Ceftizoxime(CZX)の嫌気性菌に対する抗菌力。Chemotherapy 28(S-5): 50~57, 1980
- 12) KESADO, Y.; K. WATANABE & K. UENO: Comparative antibacterial activities of 7 α -methoxy cephalosporins and 7 β -methoxyimino-acetamide cephalosporins against *Bacteroides fragilis*. Antimicrob. Agents Chemother. 25(1): 131~133, 1984

IN VITRO AND *IN VIVO* ACTIVITY OF CEFODIZIME AGAINST ANAEROBIC BACTERIA

KUNITOMO WATANABE, KAKUYO SAWA, HARUKI SAWAMURA, KAZUKIYO YAMAOKA,

MAKOTO AOKI, NAOKI KATO and KAZUE UENO

Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University School of Medicine, Gifu

We determined the *in vitro* activity of cefodizime (THR-221), a new parenteral cephalosporin, against 209 strains of reference and clinical isolates of anaerobic bacteria by agar dilution technique using GAM agar (Nissui) as basal medium. The *in vivo* activity of THR-221 was also determined against *B. fragilis* GAI-5562 using a rat pouch model. THR-221 was active against many anaerobic bacteria tested except *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *C. innocuum*, *C. septicum* and *E. lentum*, and had a spectrum very similar to those of cefotaxime and cefmenoxime. THR-221 was as stable as cefotaxime against the β -lactamase from three strains of *B. fragilis* tested.

A killing study showed that THR-221 was more bactericidal than cefotaxime against *B. fragilis* at $1 \times$ MIC and inhibited cell regrowth for up to 8 h.

MIC values of THR-221 were raised by increasing inoculum size. THR-221 showed superior activity to cefotaxime, cefmenoxime and ceftizoxime against clinical isolates of *B. fragilis* and *B. intermedius* when compared at higher inoculum concentrations. THR-221 was also active against anaerobic cocci, but was inferior to cefotaxime and cefmenoxime. Intravenous administration of THR-221 at a dose of 20 mg/kg twice daily for 2 days had no effect on *B. fragilis* GAI-5562 growing stationarily in the rat pouch. The MIC of THR-221 against *B. fragilis* GAI-5562 was 50 μ g/ml at a concentration of 10^8 cfu/ml. The influence of THR-221 on cecal flora of mice was also determined with special attention to *C. difficile*. THR-221 was given subcutaneously to mice at a dose of 1 or 2 mg/mouse for 7 days. The growth of *C. difficile* was observed on the first day after withdrawal of the drug, and the isolation frequency of *C. difficile* was 20% for the 1 mg, and 40% for the 2 mg dose.