

## 新経口セファロsporin Cefotiam hexetil の細菌学的評価

五島瑛智子・小川正俊・金子康子・桑原章吾

東邦大学医学部微生物学教室\*

新経口セファロsporin cefotiam hexetil (CTM-HE) の *in vitro* 抗菌力は cefotiam (CTM) として測定し, *in vivo* 活性は CTM-HE を用いて, cefaclor (CCL), cephalixin (CEX) を対照薬剤として検討した。

CTM の *in vitro* 抗菌力は *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae*, *Bordetella pertussis* に対し, CCL, CEX より強かった。

*In vivo* において, CTM-HE は, *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* に対し, CCL, CEX より強い治療効果を示した。CCL および CEX が無効である methicillin 耐性 *S. aureus* に対して; CTM-HE は治療効果を示し, また CCL および CEX が無効である  $\beta$ -lactamase 産生菌に対しても CTM-HE は有効であった。

**Key words** : Cefotiam hexetil, 細菌学的評価, *in vitro* 抗菌力, *in vivo* 抗菌力

武田薬品工業(株)中央研究所において, 注射用セファロsporin, cefotiam (CTM) の 1-(cyclohexyloxy-carbonyloxy) ethyl 基によるエステル化により, 消化管吸収性に改良が加えられた。このエステル化合物, cefotiam hexetil (CTM-HE, SCE-2174) は経口投与により消化管より吸収され, 同時にエステル部分が加水分解され, 血中では cefotiam として存在し, 抗菌活性を発揮する。

本報告は, CTM-HE の *in vitro* および *in vivo* 抗菌

作用を cefaclor (CCL)<sup>1)</sup>, cephalixin (CEX) と比較した細菌学的評価の概要である。

Fig. 1 に CTM-HE の構造式をしめした。*in vitro* 抗菌力には CTM<sup>2)</sup> を使用し, *in vivo* では CTM-HE を用いた。

### 実験材料

#### 1. 使用菌株

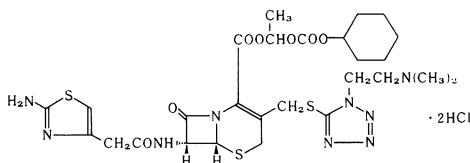
教室保存株および昭和 55~60 年の間に臨床材料から分離したグラム陽性菌およびグラム陰性菌の多数株を使用した。

#### 2. 使用薬剤

CTM-HE (CTM, 649  $\mu\text{g}/\text{mg}$ , 武田薬品)  
 cefotiam (CTM, 826  $\mu\text{g}/\text{mg}$ , 武田薬品)  
 cefaclor (CCL, 958  $\mu\text{g}/\text{mg}$ , 塩野義製薬)  
 cephalixin (CEX, 900  $\mu\text{g}/\text{mg}$ , 万有製薬)

#### 3. 感受性測定

前培養に Mueller Hinton broth (MHB; Difco), 感受性測定に Mueller Hinton medium (MHM;



(R,S)-1-(cyclohexyloxy-carbonyloxy)ethyl (+)-(6R,7R)-7-[2-(2-amino-4-thiazolyl)acetamido]-3-[[[1-(2-dimethylaminoethyl)-1H-tetrazol-5-yl]thio]methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate dihydrochloride

Fig. 1 Chemical structure of cefotiam hexetil

Difco)をもちいて、日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法に準じて行なった<sup>3)</sup>。

*Streptococcus pneumoniae* および *Streptococcus pyogenes* に対しては、Brain Heart infusion agar (Difco) を用い、*Haemophilus influenzae* では、Fildes 消化血液を5%添加した Mueller Hinton medium を使用した。

*Bordetella pertussis* の場合、20%馬血液添加の Bordet-Gengou Agar Base (Difco) にて48時間の前培養菌を1%casamino acid および0.35% NaCl 液に懸濁した。測定用培地としては10%馬血液添加の Bordet-Gengou Agar Base を使用し48時間培養した。

*Neisseria gonorrhoeae* の場合には GC medium base (Difco) に supplement として cocarboxylase 0.001 g, glucose 20 g, glutamine 0.5 g を蒸留水 100 ml に溶解したものを2%加え、ろうそく培養で測定した。

嫌気性菌の場合には、前培養には GAM broth (日水)、測定用培地は GAM agar (日水) を使用した。

#### 4. 殺菌作用測定法

*Klebsiella pneumoniae* GN69 株を用い、Mueller Hinton broth に接種し、菌数が約  $10^6$  cells/ml になったとき、CTM の 1/2 MIC, 1 MIC, 2 MIC 量を添加し、37°C で振盪培養した。添加後 1, 3, 6, 24 時間後の生菌数を測定した。CCL, CEX についても同様に比較した。

#### 5. マウス実験感染における感染防御効果

マウスは ICR 系、雄、体重  $19 \pm 1$  g を用い、*Staphylococcus aureus* Smith, methicillin 耐性 *S. aureus* TMS 288, *S. aureus* TMS 6, *Escherichia coli* 94, *K. pneumoniae* 3 K 25,  $\beta$ -lactamase 産生菌の *Morganella morganii* GN 125, *E. coli* 35, *Proteus vulgaris* GN 76, *E. coli* ML 1410 RGN 823, *K. pneumoniae* GN 69, *P. vulgaris* 9 を感染菌とした。

普通寒天斜面培地で20時間増殖後、集菌した菌体を所定の菌量に生理食塩液で希釈し、腹腔内に接種した。感染1時間後に経口投与にて、CTM-HE, CCL, CEX による治療を行なった。観察は感染後5日間行ない、マウスの生死により ED<sub>50</sub> を Van der Waerden method により算出した。

#### 6. マウス血清中濃度

感染実験に用いた同条件のマウスを1群8匹とし、

CTM-HE, CCL, CEX を 1 mg/mouse, 0.5 mg/mouse を経口投与した。5分, 15分, 30分, 1時間, 2時間後に断頭採血した血液の一定量を1群ずつプールし、血清中濃度を CTM-HE は CTM としての濃度を *Proteus mirabilis* ATCC 21100 を検定菌として、また CCL, CEX では *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を検定菌とする薄層ディスク法にて測定した。

### 実験成績

#### 1. 抗菌スペクトル

グラム陽性菌, グラム陰性菌について抗菌力を検討した結果を Table 1, 2 に示した。

$10^6$  cells/ml 接種において、CTM のグラム陽性菌, グラム陰性菌に対する抗菌力は、CCL および CEX より強く、CCL, CEX に耐性である *P. vulgaris*, *M. morganii*, *Providencia rettgeri*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii* に対しても、強い抗菌力を示した。

$\beta$ -lactamase 産生菌に対する成績を Table 3, 4 に示した。

CTM は  $10^6$  cells/ml 接種において CCL, CEX に耐性を示す *M. morganii*, *P. rettgeri*, *Providencia stuartii* に対し抗菌力がみとめられ、Richmond type の III, IV 型  $\beta$ -lactamase 産生株に対しても、CCL, CEX より強い抗菌力を示した。

嫌気性菌に対する成績を Table 5, 6 に示したが、CTM は CCL, CEX より強い抗菌力が認められた。

#### 2. 臨床分離株の感受性分布

臨床材料から分離された *S. aureus* 83 株, *S. pyogenes* 28 株, *S. pneumoniae* 28 株, *Enterococcus faecalis* 27 株, *Enterococcus faecium* 12 株, *Enterococcus avium* 14 株, *E. coli* 30 株, *K. pneumoniae* 24 株, *P. mirabilis* 25 株, *P. vulgaris* 25 株, *M. morganii* 30 株, *P. rettgeri* 25 株, *P. stuartii* 30 株, *Enterococcus cloacae* 13 株, *S. marcescens* 21 株, *H. influenzae* 18 株, *Bordetella pertussis* 21 株, *B. fragilis* 23 株に対する CTM, CCL, CEX の3薬剤の感受性分布を比較した成績を Fig. 2~21 に示した。

外来患者から分離された *S. aureus* に対する  $10^8$  cells/ml 時の CTM の MIC が  $12.5 \mu\text{g/ml}$  以下の株は 68%, CCL 0%, CEX 42% ( $10^8$  cells/ml 接種),  $10^6$  cells/ml 接種では、CTM 74%, CCL 37

Table 1 Antibacterial spectra of cefotiam, cefaclor and cephalixin

Organisms	Inoculum size 10 <sup>6</sup> cells/ml		
	CTM	CCL	CEX
<i>S. aureus</i> 209-P	0.39	12.5	3.13
<i>S. pneumoniae</i> type 1	0.1	0.78	0.39
<i>S. pneumoniae</i> type 2	0.1	3.13	3.13
<i>S. pneumoniae</i> type 3	0.2	3.13	3.13
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	0.2	1.56	3.13
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.39	0.2	25
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.78	0.78	3.13
<i>K. pneumoniae</i> IFO 3512	0.1	3.13	3.13
<i>K. oxytoca</i> 1	0.1	12.5	12.5
<i>S. flexneri</i> 2a 2	0.2	50	3.13
<i>S. typhi</i> S60	0.39	3.13	25
<i>P. mirabilis</i> 1287	1.56	25	>100
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	>100	>100	>100
<i>M. morganii</i> IFO 3848	1.56	>100	>100
<i>P. rettgeri</i> IFO 13501	0.1	>100	>100
<i>P. stuartii</i> IFO 12930	6.25	>100	>100
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	>100	>100	>100
<i>C. freundii</i> 2	12.5	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	>100	>100	>100
<i>A. calcoaceticus</i> NCTC 7844	>100	>100	>100
<i>A. faecalis</i> NCTC 655	>100	>100	>100
<i>A. xylosoxidans</i> TMS 73	>100	>100	>100

CTM : cefotiam, CCL : cefaclor, CEX : cephalixin

Table 2 Antibacterial spectra of cefotiam, cefaclor and cephalixin

Organisms	Inoculum size 10 <sup>6</sup> cells/ml		
	CTM	CCL	CEX
<i>S. aureus</i> 209-P	0.39	3.13	0.78
<i>S. pneumoniae</i> type 1	0.05	0.78	0.39
<i>S. pneumoniae</i> type 2	0.05	3.13	1.56
<i>S. pneumoniae</i> type 3	0.1	1.56	3.13
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	0.1	0.2	0.39
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.39	0.2	0.78
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.2	0.78	3.13
<i>K. pneumoniae</i> IFO 3512	0.05	3.13	1.56
<i>K. oxytoca</i> 1	0.1	12.5	6.25
<i>S. flexneri</i> 2a 2	0.1	3.13	3.13
<i>S. typhi</i> S60	0.1	3.13	12.5
<i>P. mirabilis</i> 1287	0.2	12.5	12.5
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	0.1	>100	>100
<i>M. morganii</i> IFO 3848	0.1	>100	>100
<i>P. rettgeri</i> IFO 13501	0.1	>100	>100
<i>P. stuartii</i> IFO 12930	<0.05	6.25	6.25
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	0.78	>100	>100
<i>C. freundii</i> 2	1.56	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	>100	>100	>100
<i>A. calcoaceticus</i> NCTC 7844	>100	>100	>100
<i>A. faecalis</i> NCTC 655	1.56	12.5	6.25
<i>A. xylosoxidans</i> TMS 73	>100	>100	>100

CTM : cefotiam, CCL : cefaclor, CEX : cephalixin

Table 3 *In vitro* activity against  $\beta$ -lactamase-producing strains

Inoculum size : 10<sup>6</sup> cells/ml

Organisms	Richmond type	MIC ( $\mu$ g/ml)		
		CTM	CCL	CEX
<i>S. aureus</i> 35		>100	6.25	>100
<i>S. marcescens</i> 78	Ia	>100	>100	>100
<i>P. morgani</i> GN 125	Ia	>100	>100	>100
<i>P. rettgeri</i> GN 624	Ia	>100	>100	>100
<i>P. stuartii</i> GN 627	Ia	>100	>100	>100
<i>E. cloacae</i> 91	Ia	>100	>100	>100
<i>C. freundii</i> GN 346	Ia	>100	>100	>100
<i>E. coli</i> 35	Ib	50	>100	>100
<i>P. vulgaris</i> GN 76	Ic	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> 11	Id	>100	>100	>100
<i>P. mirabilis</i> GN 79	IIb	>100	>100	>100
<i>E. coli</i> 121	II	>100	25	6.25
<i>E. coli</i> ML 1410 RGN 14	III	>100	>100	>100
<i>E. coli</i> ML 1410 RGN 823	III	6.25	>100	>100
<i>E. coli</i> 18	III	>100	100	>100
<i>K. pneumoniae</i> 134	IV	>100	>100	>100
<i>K. pneumoniae</i> GN 69	IV	6.25	>100	>100
<i>E. coli</i> ML 1410 RGN 238	Va	>100	>100	>100
<i>P. vulgaris</i> 9	V	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> 47	V	>100	>100	>100

CTM : cefotiam, CCL : cefaclor, CEX : cephalixin

Table 4 *In vitro* activity against  $\beta$ -lactamase-producing strains

Inoculum size : 10<sup>6</sup> cells/ml

Organisms	Richmond type	MIC ( $\mu$ g/ml)		
		CTM	CCL	CEX
<i>S. aureus</i> 35		0.78	3.13	6.25
<i>S. marcescens</i> 78	Ia	>100	>100	>100
<i>P. morgani</i> GN 125	Ia	0.78	>100	>100
<i>P. rettgeri</i> GN 624	Ia	25	>100	>100
<i>P. stuartii</i> GN 627	Ia	25	>100	>100
<i>E. cloacae</i> 91	Ia	>100	>100	>100
<i>C. freundii</i> GN 346	Ia	>100	>100	>100
<i>E. coli</i> 35	Ib	0.78	100	100
<i>P. vulgaris</i> GN 76	Ic	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> 11	Id	>100	>100	>100
<i>P. mirabilis</i> GN 79	IIb	100	>100	>100
<i>E. coli</i> 121	II	100	0.78	3.13
<i>E. coli</i> ML 1410 RGN 14	III	<0.2	1.56	6.25
<i>E. coli</i> ML 1410 RGN 823	III	<0.2	1.56	6.25
<i>E. coli</i> 18	III	<0.2	6.25	6.25
<i>K. pneumoniae</i> 134	IV	<0.2	1.56	1.56
<i>K. pneumoniae</i> GN 69	IV	<0.2	0.78	6.25
<i>E. coli</i> ML 1410 RGN 238	Va	<0.2	1.56	6.25
<i>P. vulgaris</i> 9	V	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> 47	V	>100	>100	>100

CTM : cefotiam, CCL : cefaclor, CEX : cephalixin

Table 5 Antibacterial activity against anaerobic bacteria  
Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

Organisms	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	CTM	CCL	CEX
<i>B. fragilis</i> GM 7004	>100	>100	>100
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL 3304	25	100	6.25
<i>B. distasonis</i> TMS 58	25	100	6.25
<i>B. vulgatus</i> ATCC 29327	6.25	50	>100
<i>F. necrophorum</i> TMS 82	0.78	25	3.13
<i>F. varium</i> TMS 112	0.78	25	3.13
<i>F. necleatum</i> TMS 110	0.78	25	3.13
<i>P. prevotii</i> GM 1001	50	100	25
<i>P. variabilis</i> GM 1002	$\leq 0.025$	25	$\leq 0.025$
<i>P. asaccharolyticus</i> TMS 83	1.56	>100	12.5
<i>P. magnus</i> ATCC 14956	$\leq 0.025$	0.78	$\leq 0.025$
<i>C. sporogenes</i> TMS 118	1.56	25	3.13
<i>C. botulinum</i> type A	1.56	25	6.25
<i>C. botulinum</i> type B	6.25	>100	100
<i>C. botulinum</i> type C	0.39	1.56	3.13
<i>C. botulinum</i> type D	1.56	6.25	6.25
<i>C. botulinum</i> type E	0.2	3.13	3.13
<i>C. botulinum</i> type F	0.78	12.5	6.25
<i>C. perfringens</i> ATCC 13123	3.13	50	3.13
<i>C. difficile</i> No. 11011	>100	>100	>100
<i>C. difficile</i> TMS 29	>100	50	25
<i>C. tetanii</i> TMS 89	1.56	25	6.25

CTM : cefotiam, CCL : cefaclor, CEX : cephalixin

Table 6 Antibacterial activity against anaerobic bacteria  
Inoculum size :  $10^8$  cells/ml

Organisms	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	CTM	CCL	CEX
<i>B. fragilis</i> GM 7004	>100	>100	>100
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL 3304	12.5	50	12.5
<i>B. distasonis</i> TMS 58	12.5	50	12.5
<i>B. vulgatus</i> ATCC 29327	3.13	50	25
<i>F. necrophorum</i> TMS 82	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
<i>F. varium</i> TMS 112	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
<i>F. necleatum</i> TMS 110	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	0.05
<i>P. prevotii</i> GM 1001	25	50	25
<i>P. variabilis</i> GM 1002	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
<i>P. asaccharolyticus</i> TMS 83	0.2	0.39	1.56
<i>P. magnus</i> ATCC 14956	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
<i>C. sporogenes</i> TMS 118	$\leq 0.025$	0.39	0.1
<i>C. botulinum</i> type A	1.56	6.25	6.25
<i>C. botulinum</i> type B	3.13	25	25
<i>C. botulinum</i> type C	0.2	1.56	0.78
<i>C. botulinum</i> type D	0.78	1.56	6.25
<i>C. botulinum</i> type E	0.2	0.78	0.78
<i>C. botulinum</i> type F	0.78	1.56	6.25
<i>C. perfringens</i> ATCC 13123	0.39	12.5	1.56
<i>C. difficile</i> No. 11011	>100	50	50
<i>C. difficile</i> TMS 29	1.56	6.25	6.25
<i>C. tetanii</i> TMS 89	1.56	$\leq 0.025$	6.25

CTM : cefotiam, CCL : cefaclor, CEX : cephalixin

%, CEX 68%であり, CTM の抗菌力が強くかつ接種菌量の影響を受けにくいこともわかった。

入院患者から分離された *S. aureus* に対する CTM の MIC は, CCL, CEX より強い抗菌力が認められたが, 3 剤とも, 外来患者 (MRSA の分離率: 21%) より入院患者分離株 (MRSA の分離率: 66.6%) に感受性が低いことが認められた。

Methicillin 耐性 *S. aureus* に対し, CTM の抗菌力は CCL, CEX より強いことがみられた。10<sup>6</sup> cells/ml 接種時における MIC が 12.5 μg/ml 以下を示す株は CTM 50%, CCL 35%, CEX 40%であった。

*S. pyogenes* に対し, 10<sup>8</sup> cells/ml 接種時において CTM, CCL, CEX の 3 剤間に大きな差は認められないが, 10<sup>6</sup> cells/ml 接種では, CTM は全株 0.1 μg/ml の濃度で発育が阻止され, CCL は 1.56 μg/ml, CEX は 0.78 μg/ml と 7.8~15.6 倍の強い抗菌力が認められた。

*S. pneumoniae* の場合, CTM は 10<sup>8</sup> cells/ml 接種時に 0.78 μg/ml の濃度において全株の発育が阻止され, CCL は 3.13 μg/ml, CEX 6.25 μg/ml であった。10<sup>6</sup> cells/ml 接種では, CTM 0.1 μg/ml, CCL 1.56 μg/ml, CEX 6.25 μg/ml で, CTM の強い抗菌力が認められた。

*E. faecalis* では CTM, CCL, CEX の 3 剤とも抗菌力が弱かった。

*E. faecium* の場合も, CTM, CCL, CEX とも抗菌力が弱かった。

*E. avium* に対しても, 3 剤の抗菌力は弱いことが認められた。

*E. coli* に対する CTM の MIC 分布は, 10<sup>6</sup> cells/ml 接種では, 0.2~0.78 μg/ml, CCL では 0.39~12.5 μg/ml, CEX 3.13~12.5 μg/ml であり, CTM は強い抗菌力を示した。10<sup>8</sup> cells/ml 接種において CTM の MIC は 10<sup>6</sup> cells/ml に比べ大きな変化が認められなかったが, CCL, CEX の両剤はとも 10<sup>6</sup>, 10<sup>8</sup> cells/ml の MIC に変化が認められた。

*K. pneumoniae* の場合, 10<sup>8</sup> cells/ml 接種および 10<sup>6</sup> cells/ml 接種において, CTM は CCL より 1 管から 2 管強い抗菌力を示し, CEX よりは 4 管程強いことが認められた。この場合も *E. coli* 同様, 高度耐性株は接種菌数により CCL, CEX において MIC の変化が認められた。

*P. mirabilis* においては, 10<sup>6</sup> cells/ml 接種で CTM のピークは 0.39 μg/ml, CCL 1.56 μg/ml,

CEX は 12.5 μg/ml を示し, CCL, CEX より明らかに強い抗菌力であった。一方, 10<sup>8</sup> cells/ml 接種においては 3 剤とも, 全株 100 μg/ml 以上の MIC を示した。

*P. vulgaris* に対する CTM の MIC は, 10<sup>8</sup> cells/ml 接種時においては CCL, CEX と同様に 100 μg/ml 以上の分布を示したが, 10<sup>6</sup> cells/ml 接種では CTM が CCL, CEX よりやや強い抗菌力を示した。

*M. morgani* の 10<sup>8</sup> cells/ml 接種では, CTM, CCL, CEX の 3 剤とも抗菌力が弱かったが, 10<sup>6</sup> cells/ml 接種では, CTM は 0.1~50 μg/ml の MIC 分布 (ピークは 0.39 μg/ml) を示し, 他剤より強い抗菌力を示した。

*P. rettgeri* では, 接種菌量 10<sup>6</sup> cells/ml 接種の場合, CTM において 12.5 μg/ml 以下の MIC を示す株は 80%, CCL 28%, CEX 8%であった。

10<sup>8</sup> cells/ml 接種では, CTM は他剤と同様に接種菌量の影響を受けやすく, その抗菌力が弱かった。

*P. stuartii* の場合, CTM は 10<sup>8</sup> cells/ml 接種においてはピークが 3.13 μg/ml を示し, CCL, CEX より強い抗菌力を示した。10<sup>6</sup> cells/ml 接種時においても, CTM は 0.1~3.13 μg/ml の分布を示し, CCL, CEX が 100 μg/ml 以上の株が認められるのに対し, 全株 3.13 μg/ml の濃度において発育が阻止された。

*E. cloacae* に対し 10<sup>8</sup> cells/ml 接種時に, 各薬剤共に 10<sup>6</sup> cells/ml に比べその抗菌力は劣ったが, しかし CTM は CCL, CEX よりやや強い抗菌力であった。10<sup>6</sup> cells/ml 接種では, CTM の 6.25 μg/ml の濃度において 77% の株が発育を阻止されたが, CCL では 31%, CEX では 23% のみの株が発育を阻止されたにすぎず, CTM の強い抗菌力が認められた。

*S. marcescens* の場合, 10<sup>8</sup> cells/ml 時の MIC は *E. cloacae* と同様の傾向を示した。一方 10<sup>6</sup> cells/ml 接種の場合, CTM の MIC 分布は 0.2~>100 μg/ml と幅広い分布を示したが, 12.5 μg/ml の濃度において 67% の株が発育を阻止され, CCL および CEX は 0% と, CTM が強い抗菌力を示した。

*H. influenzae* では, CTM は 10<sup>8</sup> cells/ml 接種では, 1.56 μg/ml, 10<sup>6</sup> cells/ml 接種の場合 0.1 μg/ml の濃度において全株の発育が阻止され, 10<sup>8</sup>, 10<sup>6</sup> cells/ml 時の CCL, CEX の MIC に比べより強い抗菌力であった。

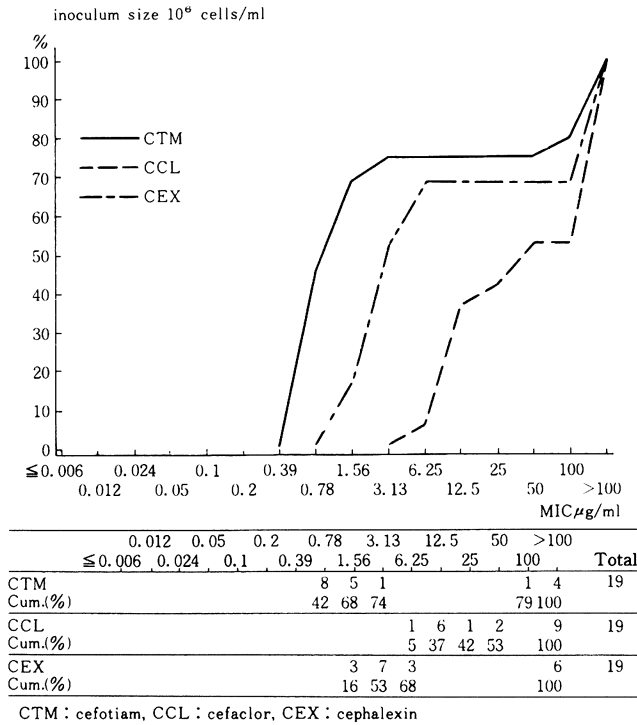
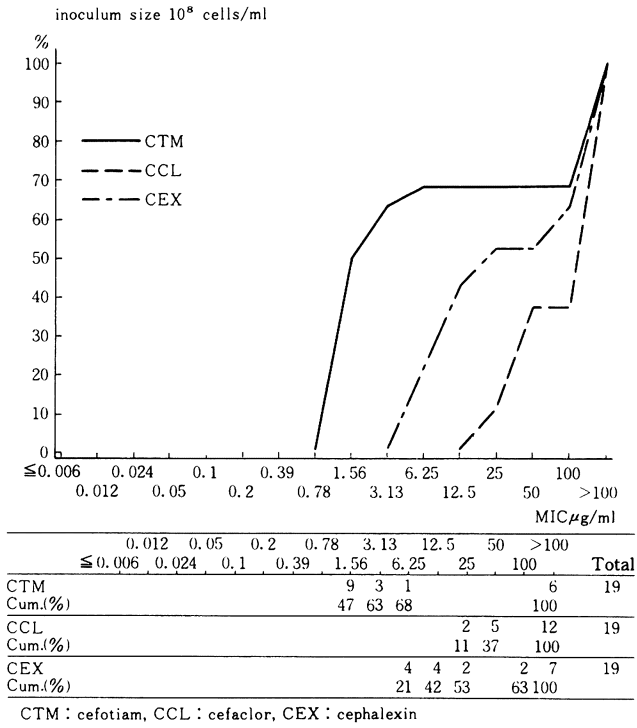


Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. aureus* 19 strains (outpatients)

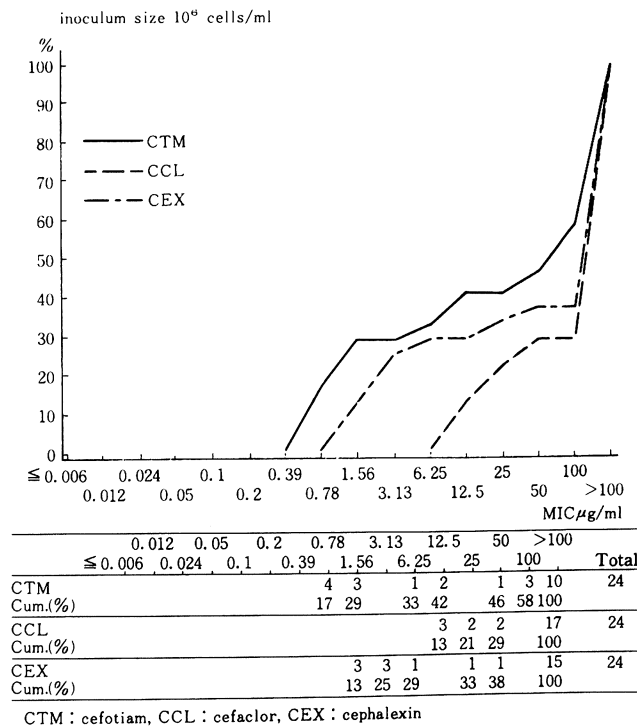
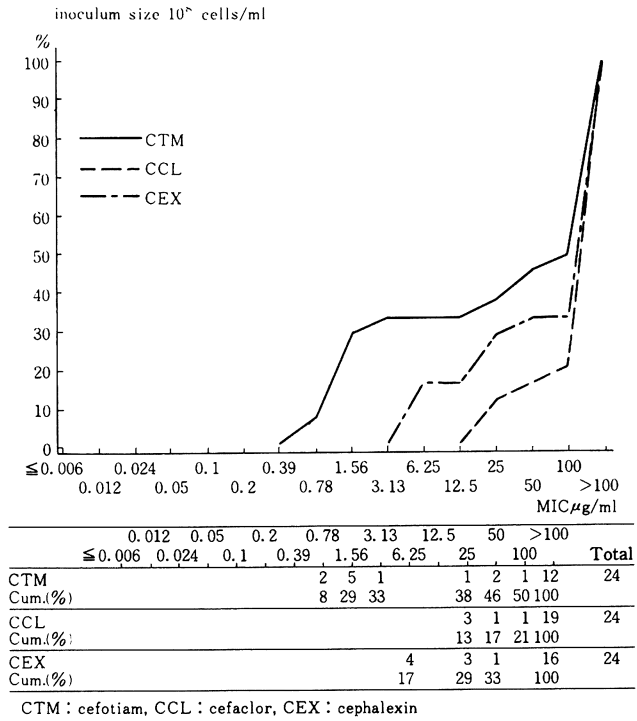


Fig. 3 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. aureus* 24 strains (inpatients)



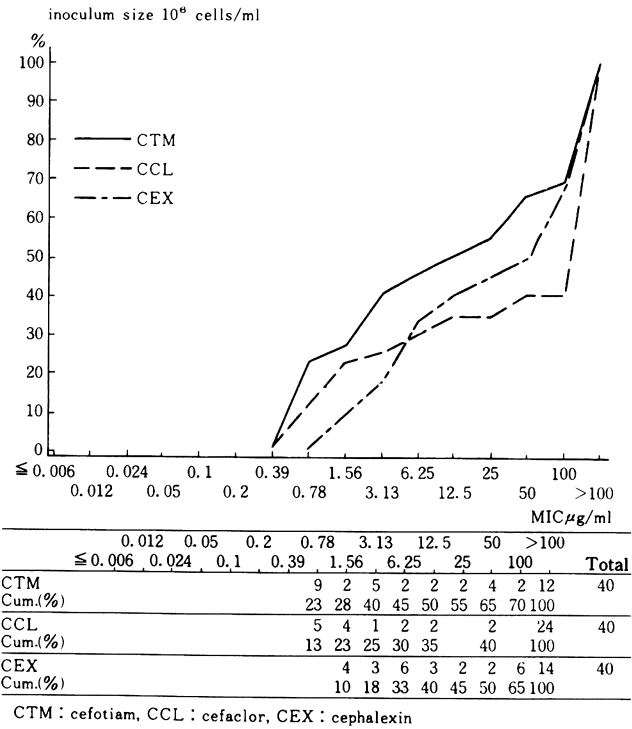
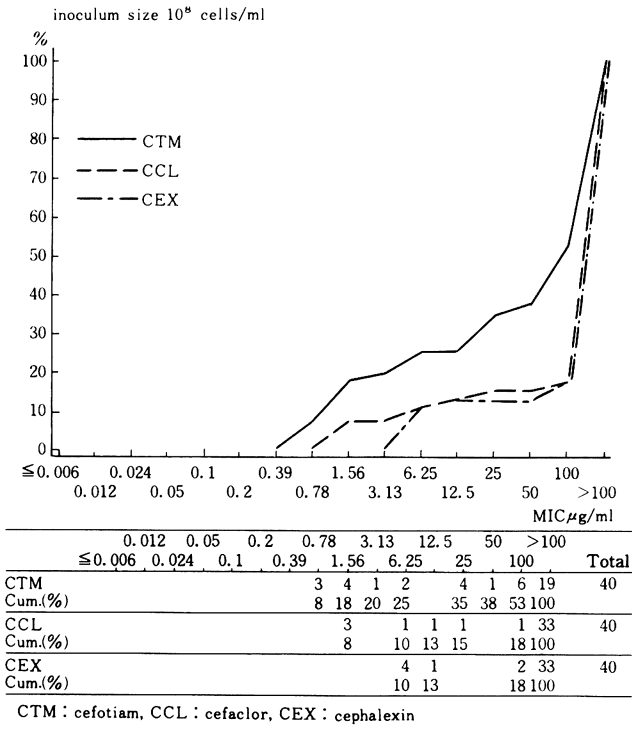


Fig. 4 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. aureus* 40 strains (MRSA)

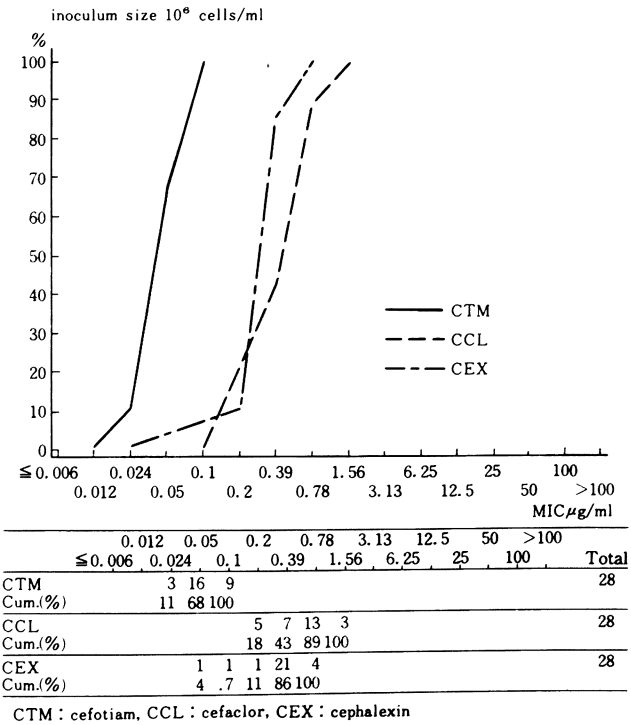
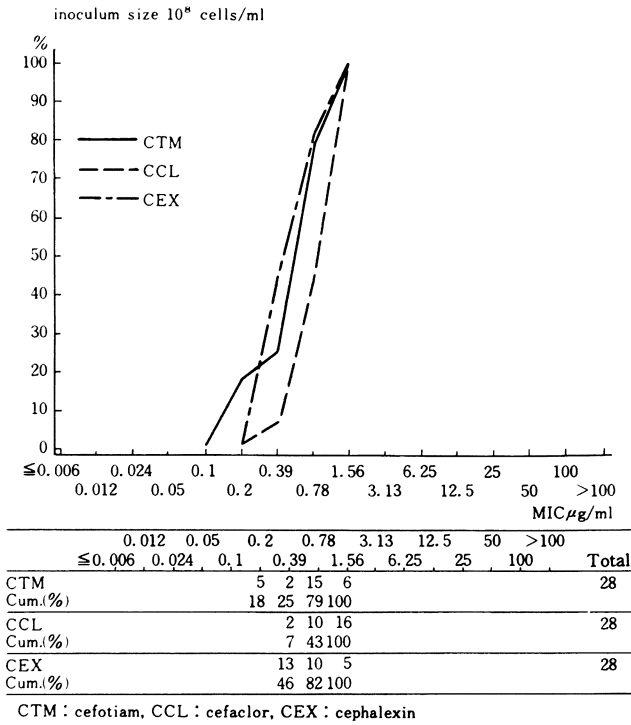


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. pyogenes* 28 strains

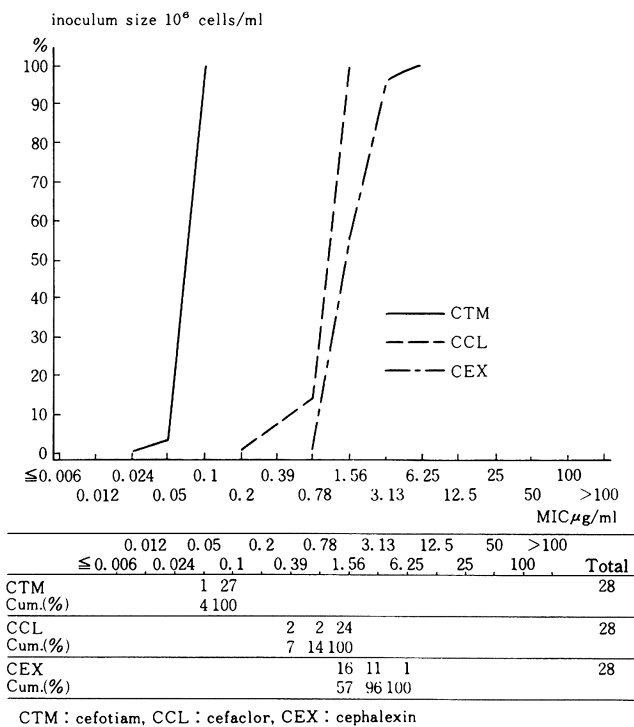
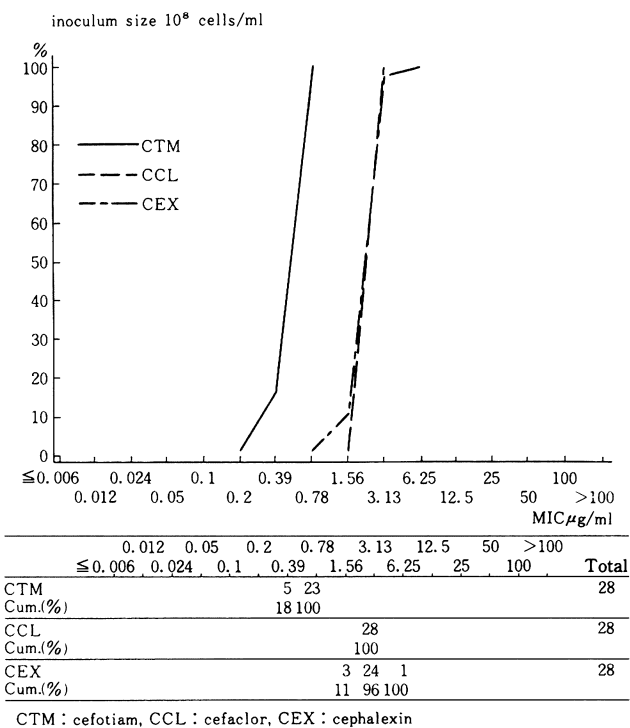


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. pneumoniae* 28 strains

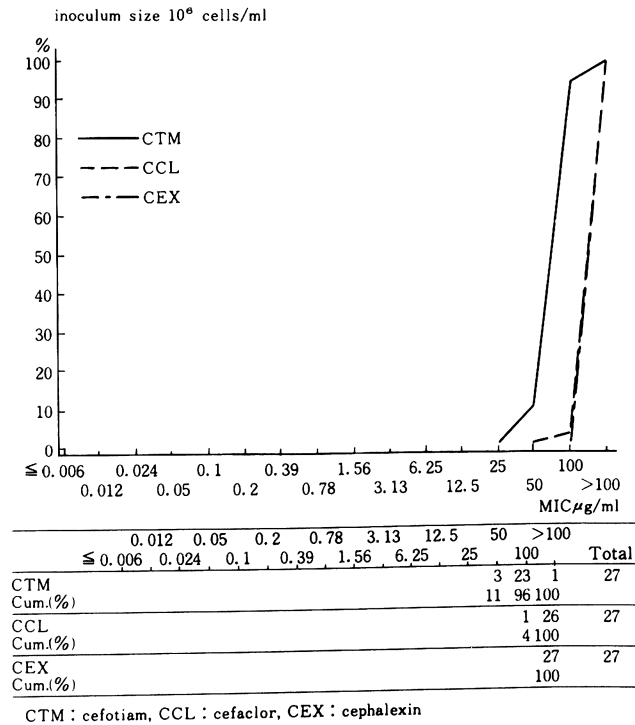
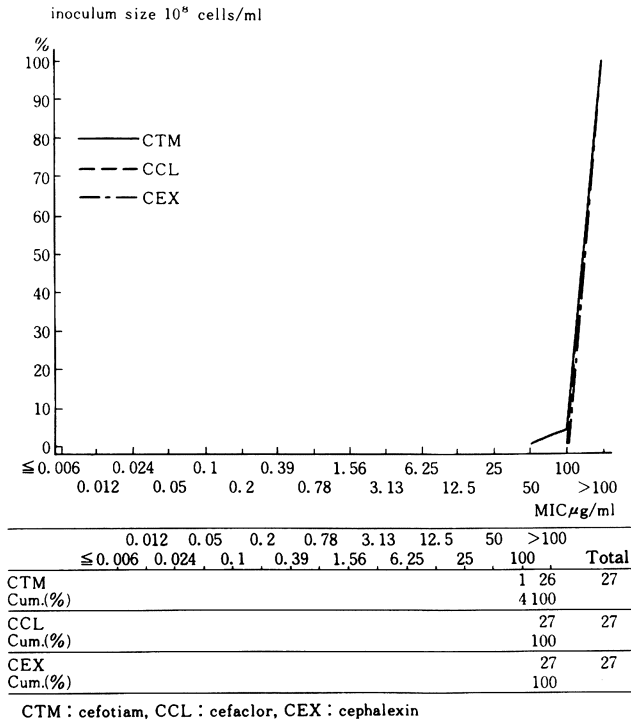


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates *E. faecalis* 27 strains

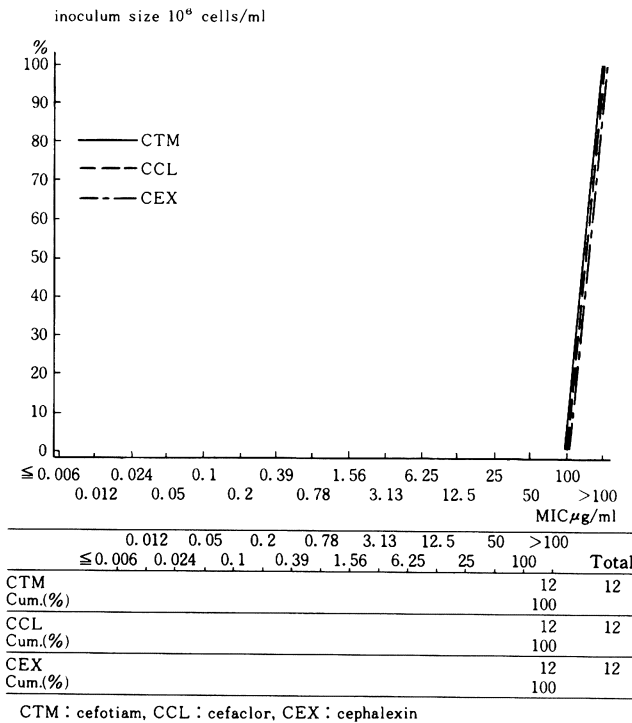
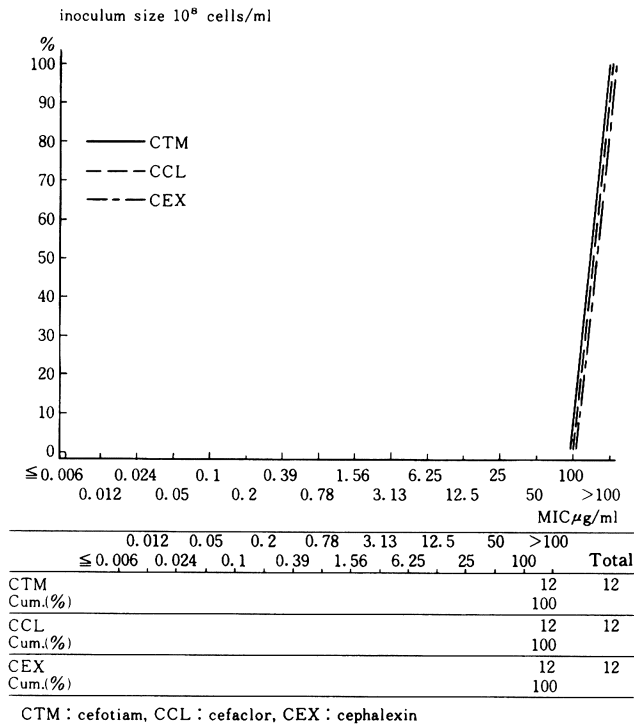


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates *E. faecium* 12 strains

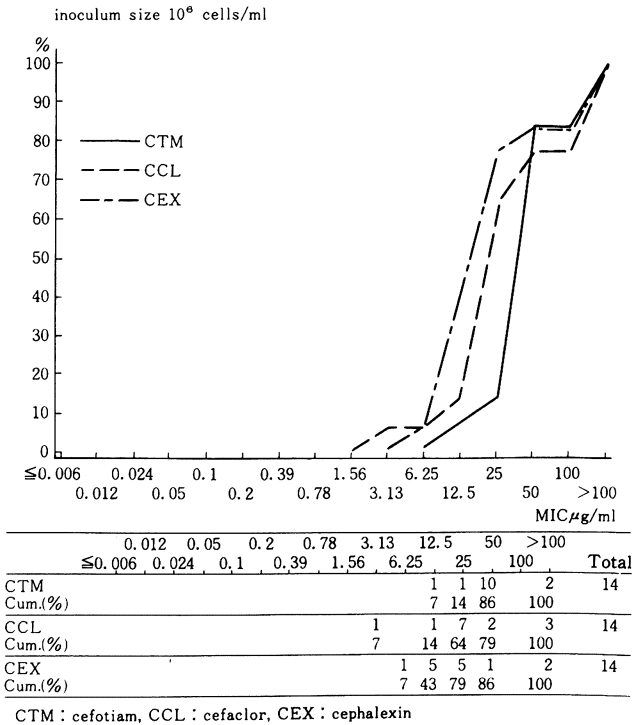
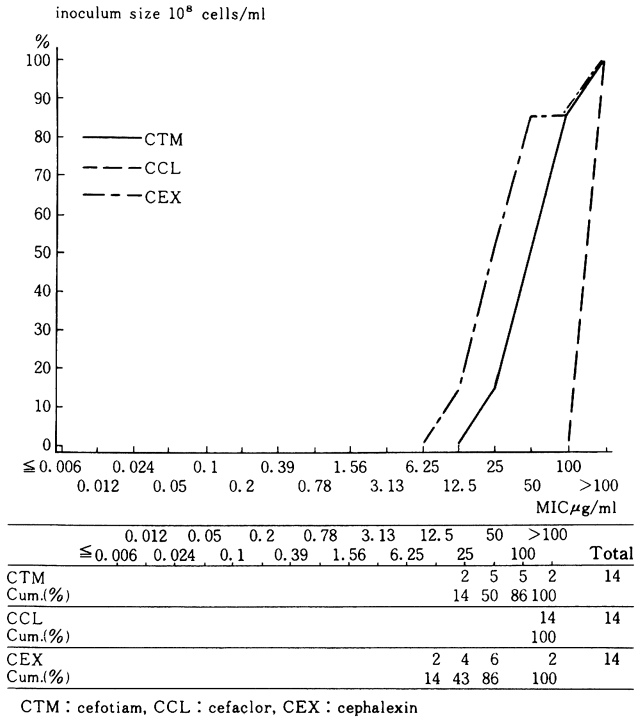


Fig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates *E. avium* 14 strains

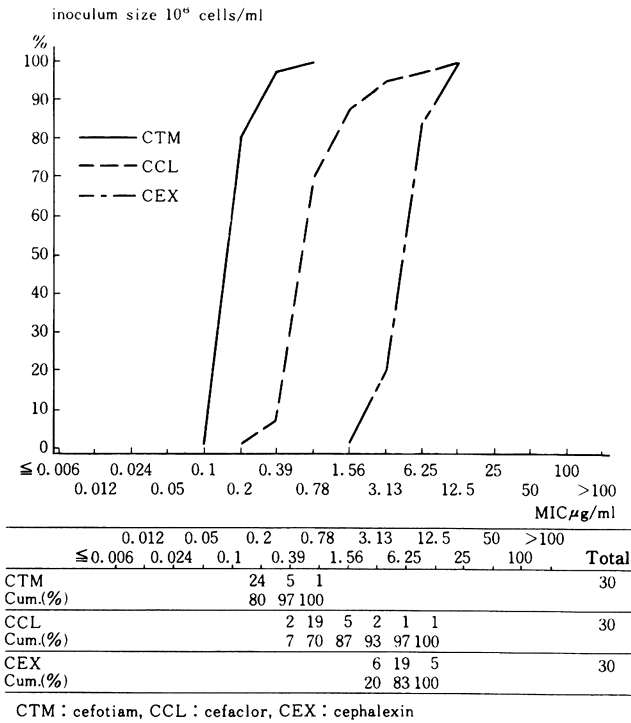
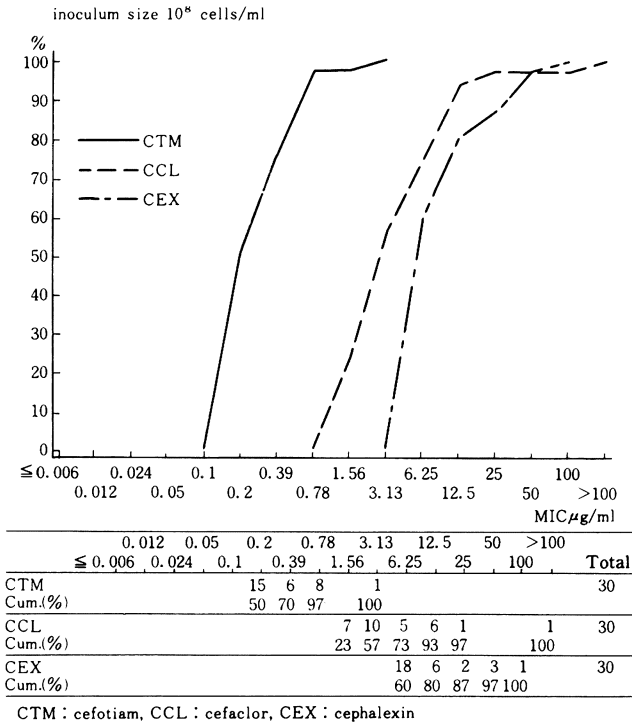


Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates *E. coli* 30 strains

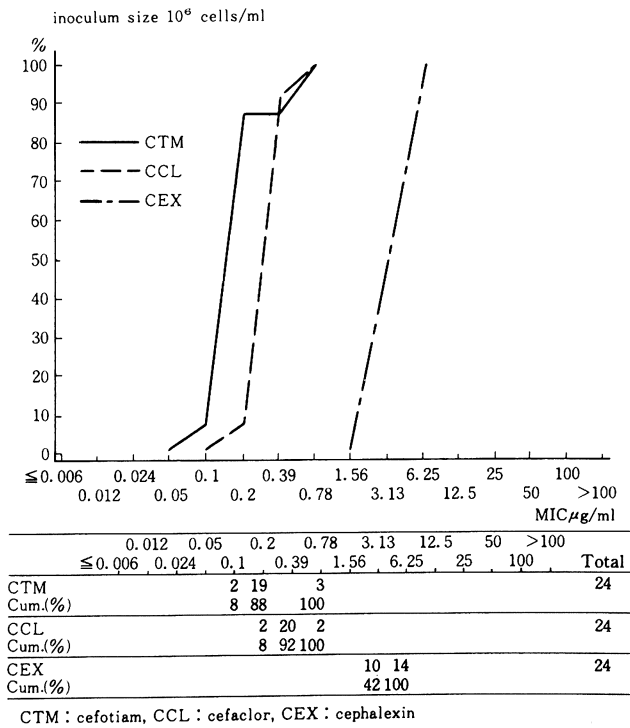
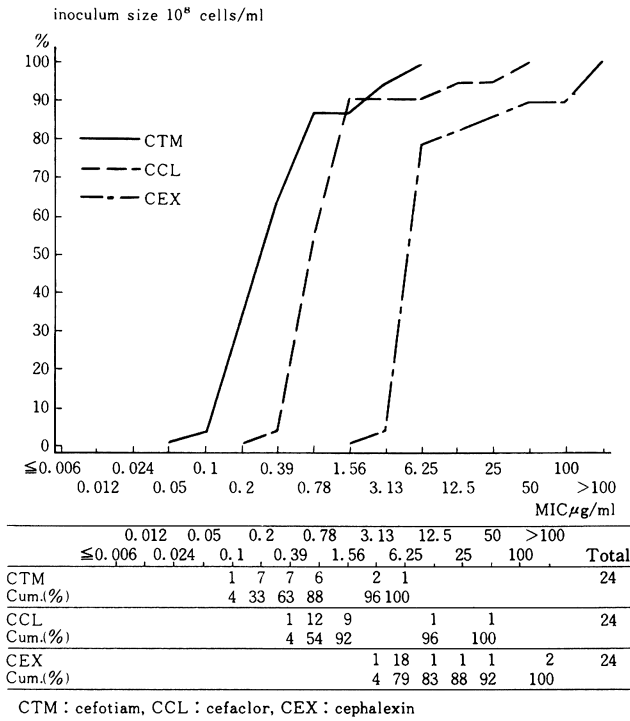


Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates *K. pneumoniae* 24 strains



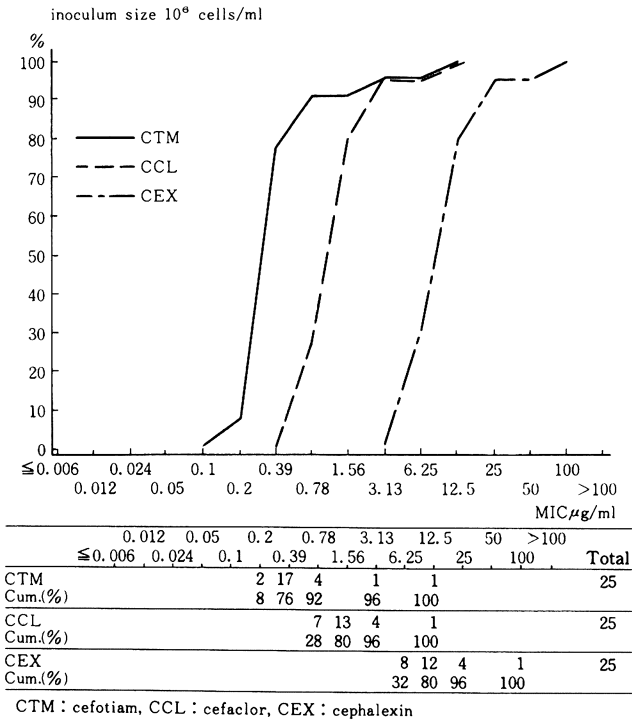
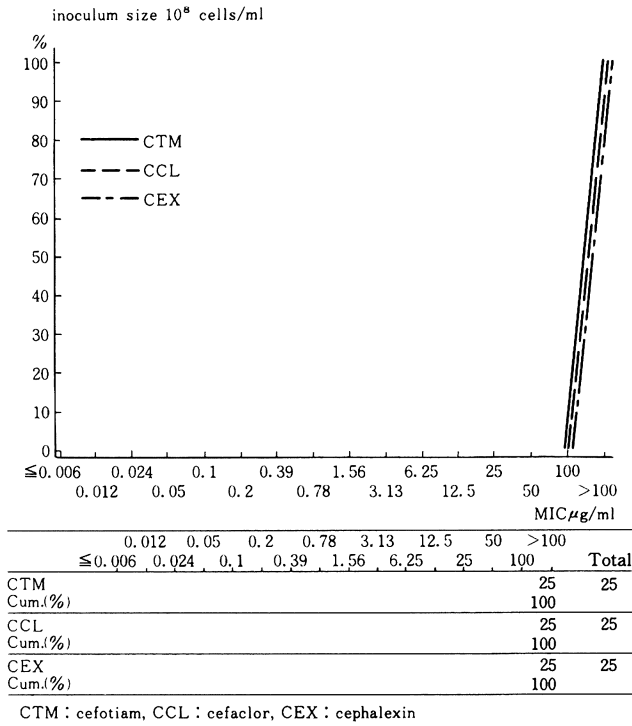


Fig. 12 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. mirabilis* 25 strains

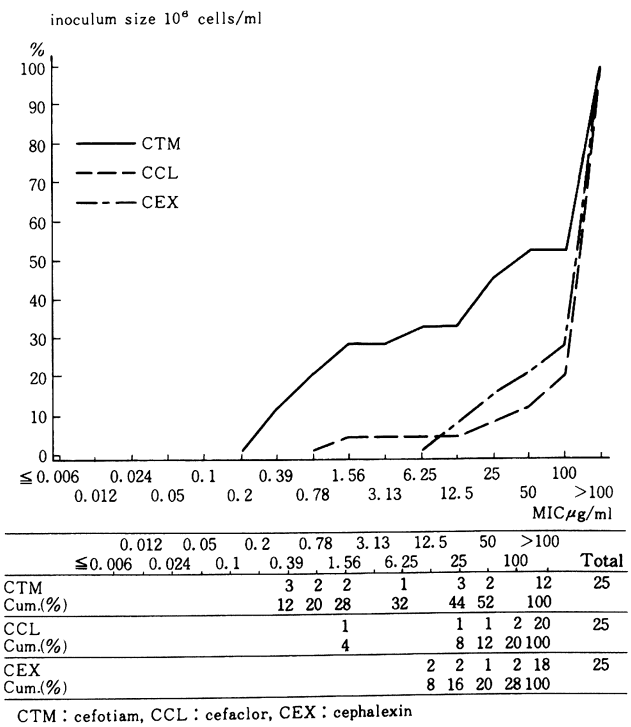
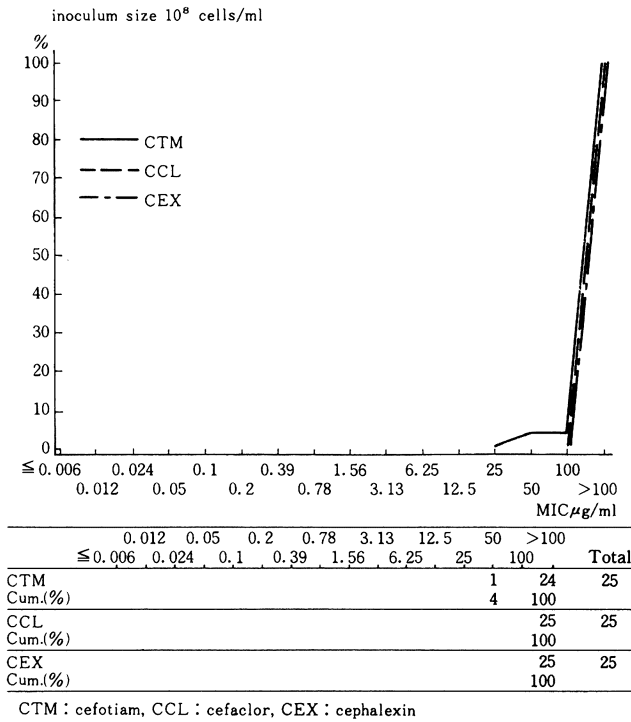


Fig. 13 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. vulgaris* 25 strains

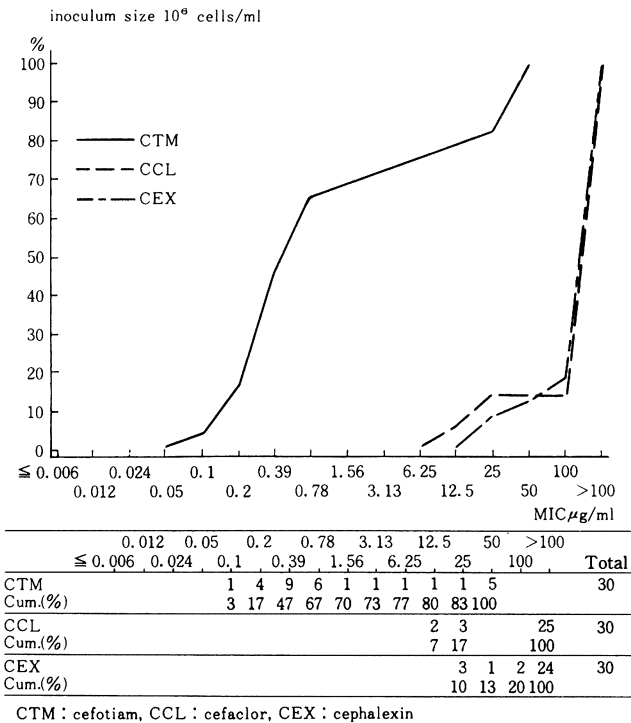
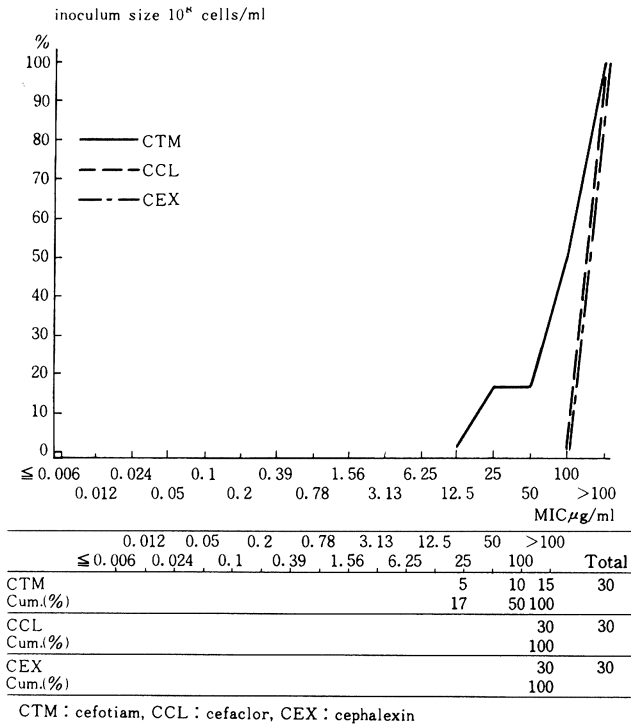


Fig. 14 Sensitivity distribution of clinical isolates *M. morgani* 30 strains

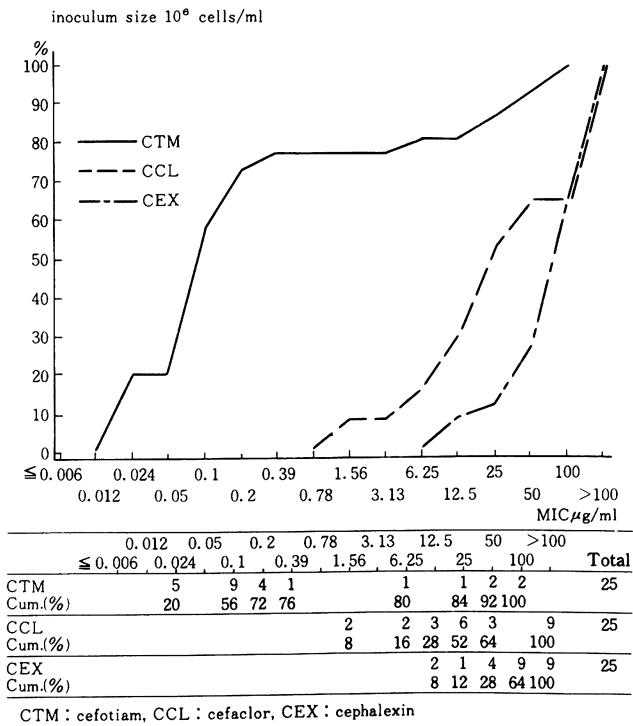
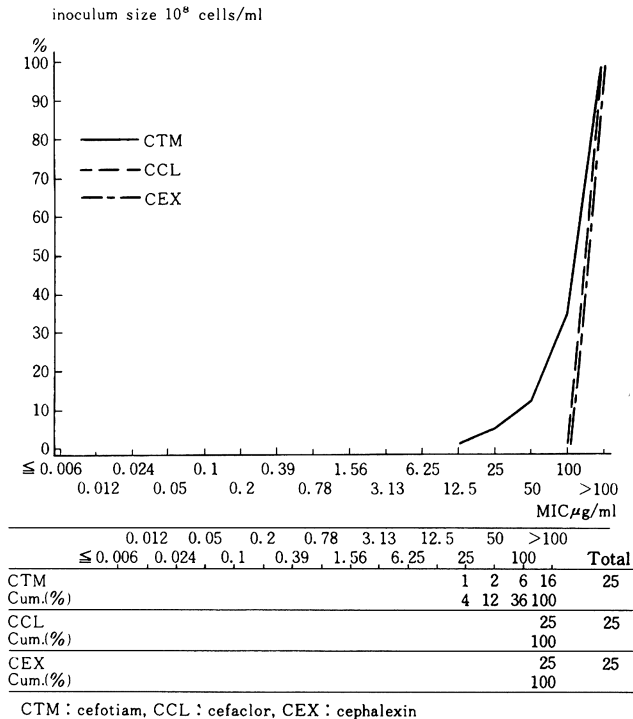


Fig. 15 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. rettgeri* 25 strains

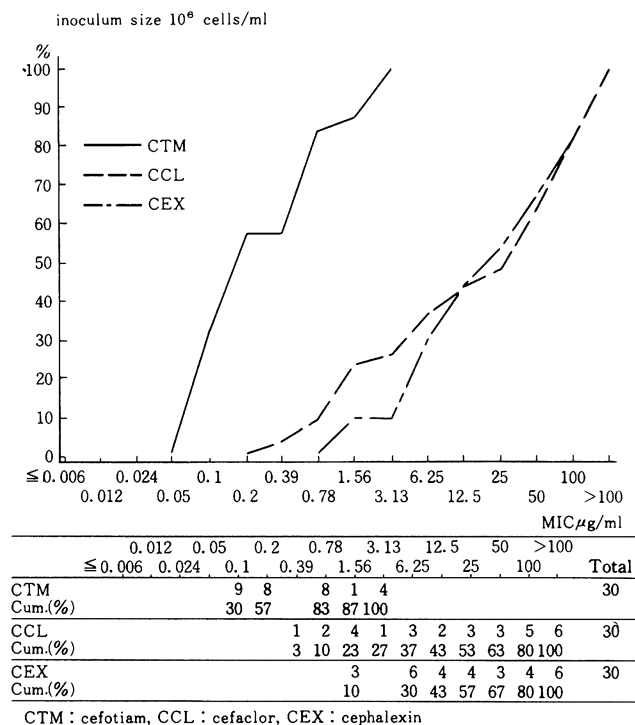
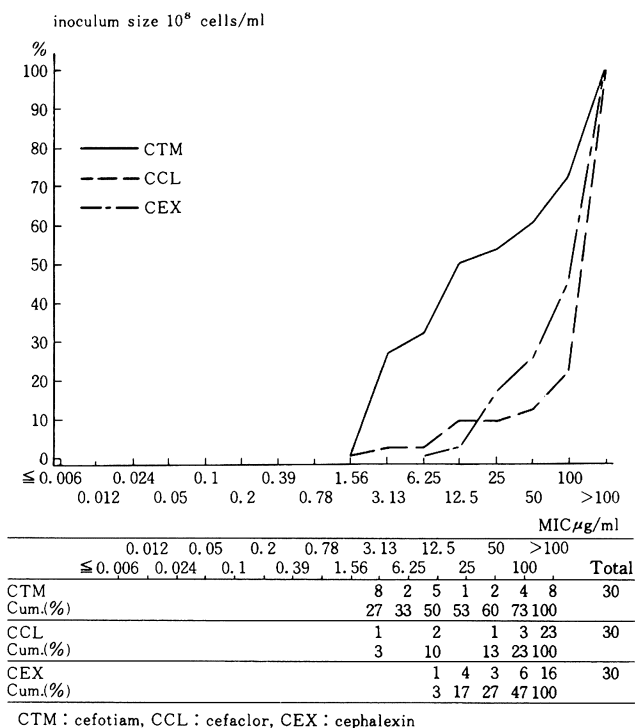


Fig. 16 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. stuartii* 30 strains

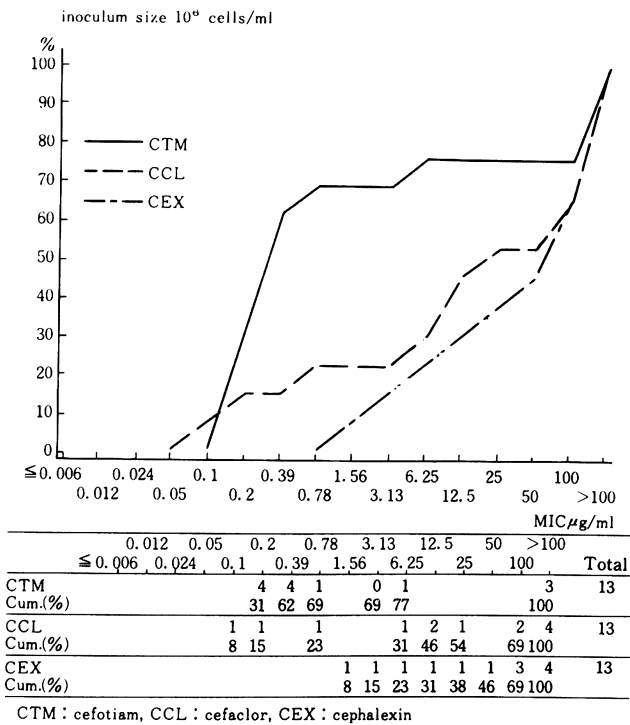
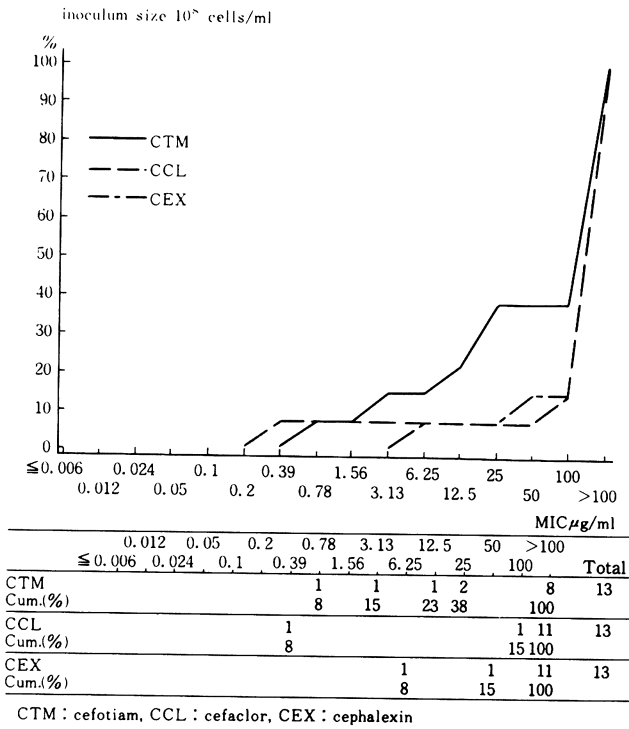


Fig. 17 Sensitivity distribution of clinical isolates *E. cloacae* 13 strains

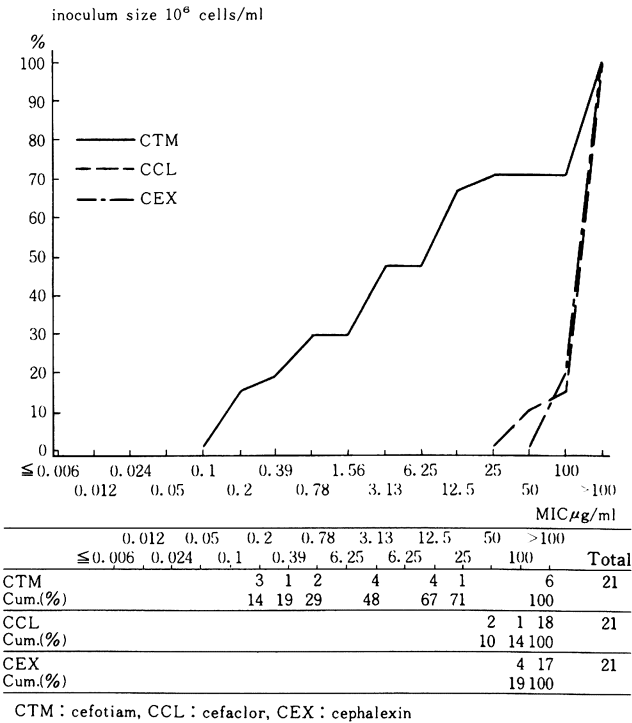
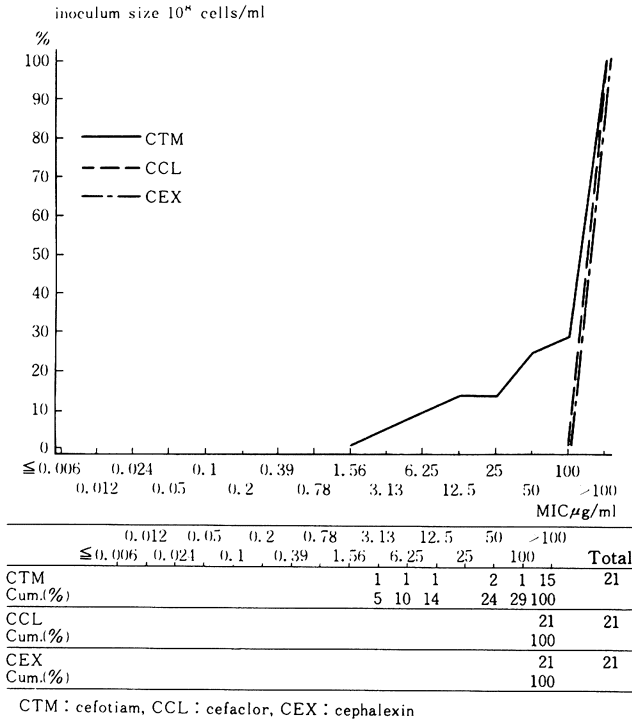


Fig. 18 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. marcescens* 21 strains

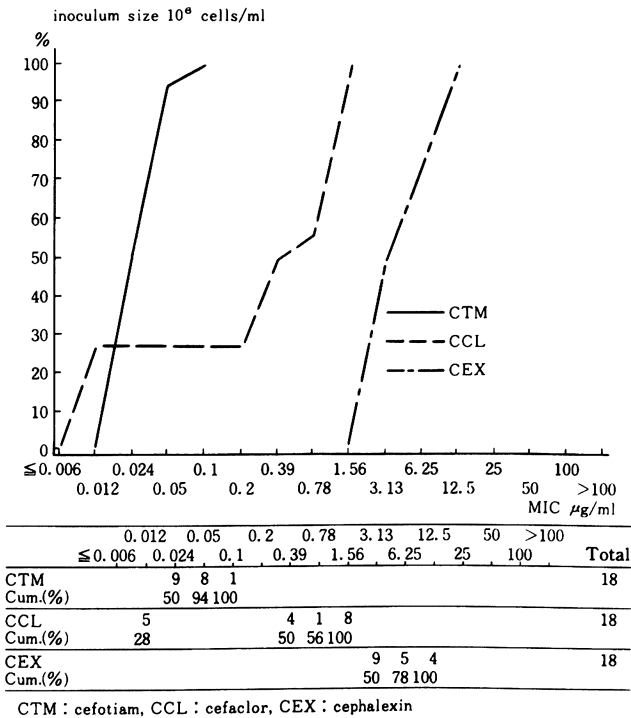
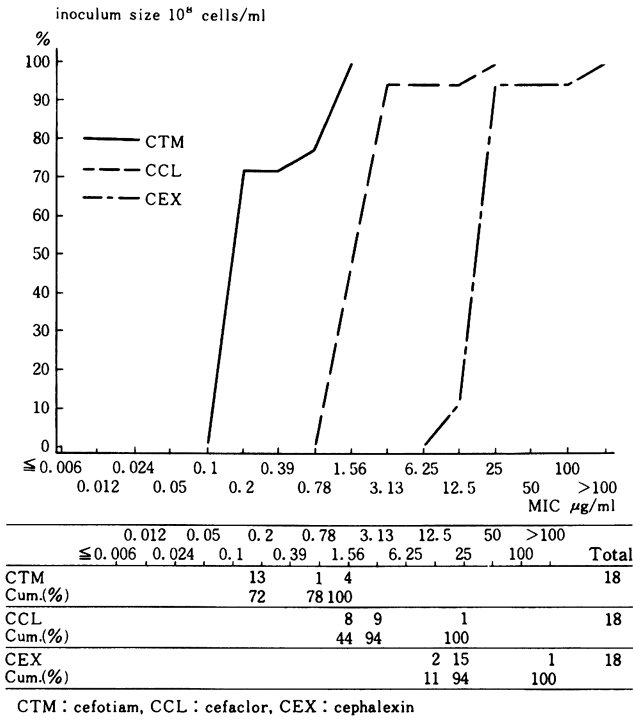


Fig. 19 Sensitivity distribution of clinical isolates *H. influenzae* 18 strains



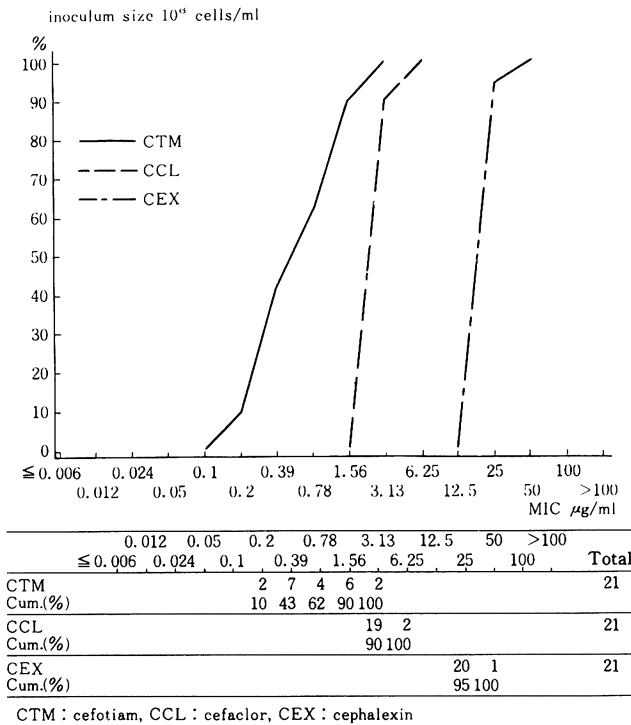
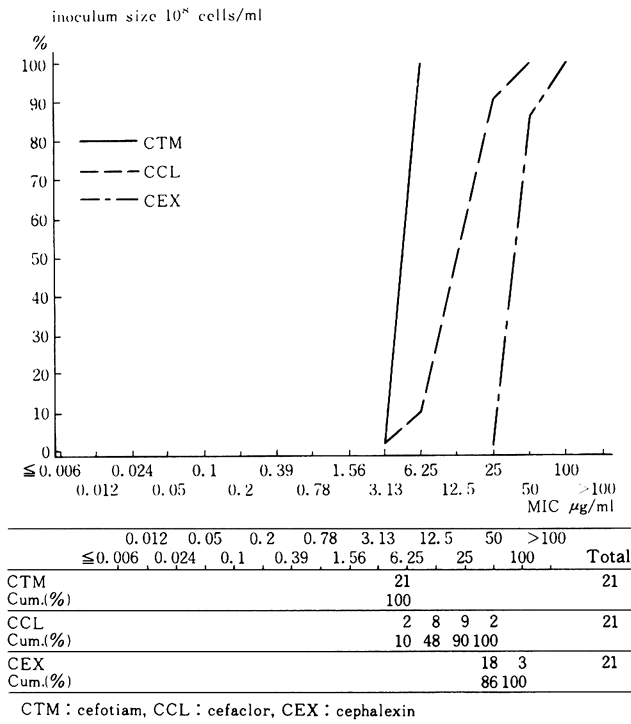


Fig. 20 Sensitivity distribution of clinical isolates *B. pertussis* 21 strains

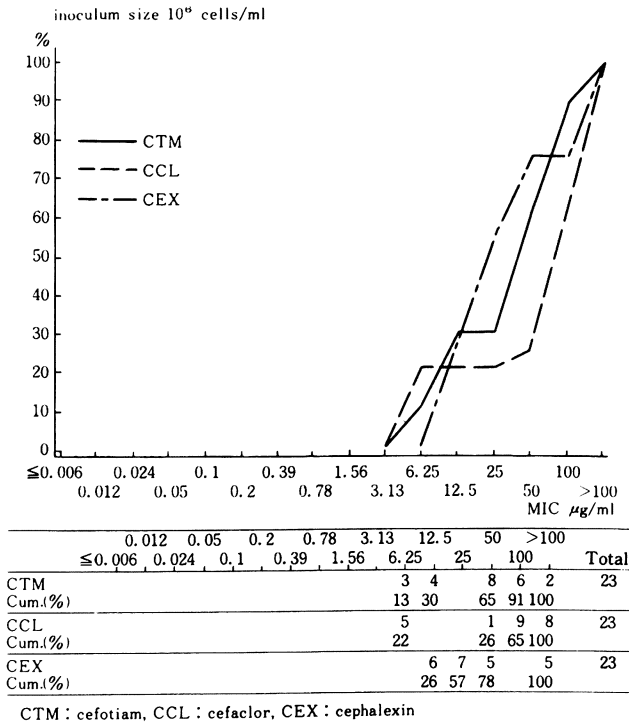
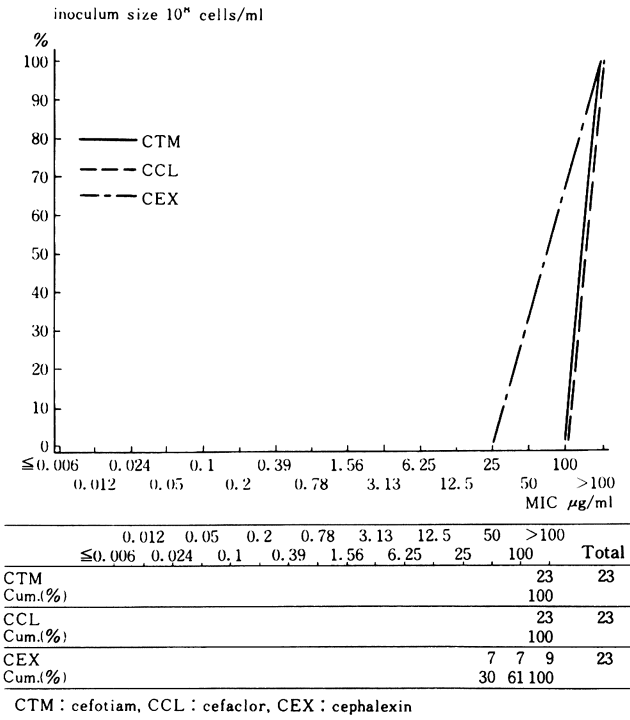


Fig. 21 Sensitivity distribution of clinical isolates *B. fragilis* 23 strains

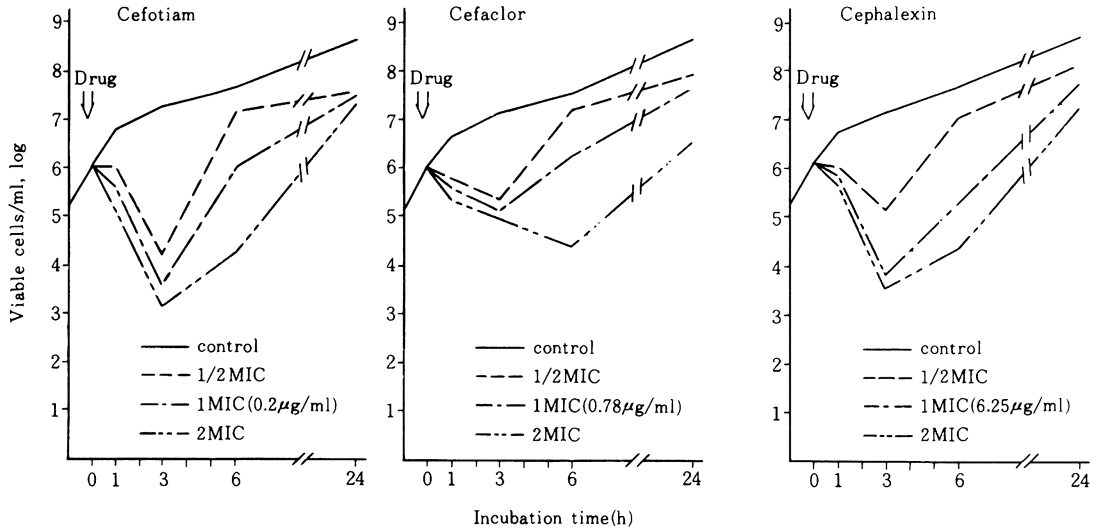


Fig. 22 Bactericidal activity of cefotiam, cefaclor and cephalixin against *K. pneumoniae* GN 69

Table 7 Protecting effect of cefotiam hexetil and other antibiotics on experimental infections in mice

Organisms	Drugs	MIC** ( $\mu\text{g/ml}$ )		ED <sub>50</sub> (mg/mouse) (95% confidence)
		10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	
<i>S. aureus</i> Smith 1.2 × 10 <sup>6</sup> * (12MLD)	CTM-HE	0.78	0.39	0.124 (0.081~0.189)
	CCL	3.13	1.56	0.393 (0.294~0.527)
	CEX	6.25	3.13	0.496 (0.332~0.740)
<i>S. aureus</i> TMS 288 (MRSA) 6.0 × 10 <sup>8</sup> * (1.2MLD)	CTM-HE	100	3.13	7.93 (6.3~10.0)
	CCL	>100	>100	>20
	CEX	>100	100	20
<i>S. aureus</i> TMS 6 (MRSA) 1.2 × 10 <sup>9</sup> * (1.0MLD)	CTM-HE	100	3.13	7.93 (6.3~10.0)
	CCL	>100	>100	>20
	CEX	>100	100	>20
<i>E. coli</i> 94 1.0 × 10 <sup>6</sup> * (1000MLD)	CTM-HE	>100	≤0.2	0.062 (0.046~0.083)
	CCL	6.25	0.78	0.124 (0.098~0.156)
	CEX	>100	3.13	0.625 (0.413~0.944)
<i>K. pneumoniae</i> 3K25 1.0 × 10 <sup>6</sup> * (1000MLD)	CTM-HE	>100	≤0.2	0.248 (0.153~0.402)
	CCL	>100	0.78	0.393 (0.267~0.579)
	CEX	>100	6.25	1.574 (1.136~2.183)

\* 5% mucin added.

ED<sub>50</sub>: Van der Waerden method

\*\* MIC of CTM

Administration: P.O. 1 h after infection

Mouse: ICR, 4 week-old, male, 19 ± 1g, 6 animals/group

CTM: cefotiam, CCL: cefaclor, CEX: cephalixin

Table 8 Protecting effect of cefotiam hexetil and other antibiotics on experimental infections in mice

Organisms	Richmond type	Drugs	MIC** ( $\mu\text{g/ml}$ )		ED <sub>50</sub> (mg/mouse) (95% confidence limit)
			10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	
<i>M. morgani</i> GN 125 1.0×10 <sup>8*</sup> (1.25MLD)	Ia	CTM-HE	>100	0.78	25.2
		CCL	>100	>100	>40
		CEX	>100	>100	>40
<i>E. coli</i> 35 5.0×10 <sup>7*</sup> (2.5MLD)	Ib	CTM-HE	50	0.78	20
		CCL	>100	>100	>40
		CEX	>100	>100	>40
<i>P. vulgaris</i> GN76 1.0×10 <sup>8*</sup> (5.0MLD)	Ic	CTM-HE	>100	>100	>40
		CCL	>100	>100	>40
		CEX	>100	>100	>40
<i>E. coli</i> ML1410RGN823 6.0×10 <sup>7*</sup> (1.0MLD)	III	CTM-HE	6.25	0.2	15.8
		CCL	>100	1.56	>40
		CEX	>100	6.25	>40
<i>K. pneumoniae</i> GN69 3.0×10 <sup>9*</sup> (1.0MLD)	IV	CTM-HE	6.25	0.2	20
		CCL	>100	0.78	>40
		CEX	>100	6.25	>40
<i>P. vulgaris</i> 9 8.0×10 <sup>7*</sup> (2.0MLD)	V	CTM-HE	>100	>100	>40
		CCL	>100	>100	>40
		CEX	>100	>100	>40

\* 5% mucin added.

ED<sub>50</sub>: Van der Waerden method

\*\* MIC of CTM

Administration: P.O. 1 h after infection

Mouse: ICR, 4week-old, male, 19±1g, 6 animals/group

CTM: cefotiam, CCL: cefaclor, CEX: cephalixin

*B. pertussis* に対する CTM の抗菌力は CCL および CEX より強いことが認められた。

*B. fragilis* に対しいずれの薬剤も抗菌力はそれ程強くなく、CTM は CCL, CEX と同程度の抗菌力であった。

### 3. 殺菌作用

*K. pneumoniae* GN69 株に対する CTM, CCL および CEX の殺菌作用を検討した成績を Fig. 22 に示した。

CTM は 2 MIC, 1 MIC, 1/2 MIC 濃度添加後 3 時間目までは著明な殺菌作用が認められ、それは CCL, CEX より強い殺菌作用であった。しかしその後には 3 剤ともいずれの濃度においても再増殖が認められた。

### 4. マウス実験感染における防御効果

*S. aureus*, *E. coli* および *K. pneumoniae* を感染菌とした場合の成績を Table 7 に示した。

*S. aureus* Smith 株に対する CTM-HE の ED<sub>50</sub>

は 0.124 mg/mouse であり、95% 信頼限界値からも明らかに CCL, CEX より小さい ED<sub>50</sub> 値を示した。

Methicillin 耐性 *S. aureus* TMS 288 株および TMS 6 株の場合、CCL, CEX の治療効果が無効であるにもかかわらず、CTM-HE の ED<sub>50</sub> は 7.93 mg/mouse であった。

*E. coli* 94 株に対し、CTM-HE の ED<sub>50</sub> は 0.062 mg/mouse であり、CCL の 1/2, CEX の 1/10 の値であった。

*K. pneumoniae* 3 K 25 株に対し、CTM-HE の ED<sub>50</sub> は 0.248 mg/mouse となり、CCL (0.393 mg/mouse), CEX (1.574 mg/mouse) より小さい値であった。

$\beta$ -lactamase 産生菌を感染菌とした場合の成績を Table 8 に示した。

*M. morgani* GN 125 株に対する CTM-HE の ED<sub>50</sub> は 25.2 mg/mouse, CCL と CEX は治療効果が無効であった。

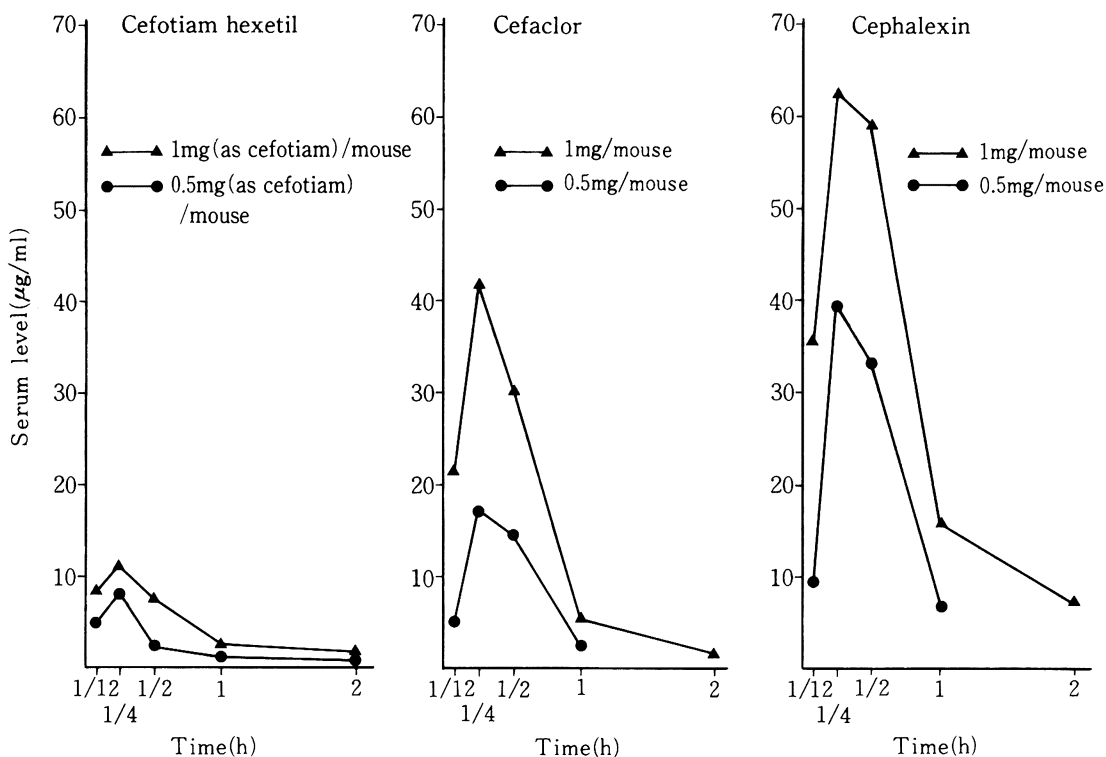


Fig. 23 Serum levels of cefotiam, cefaclor and cephalixin in mice after administration of cefotiam hexetil, cefaclor and cephalixin  
Administration: P.O. 1 h after infection  
Mouse: ICR, 4 week-old, male,  $19 \pm 1g$ , 8 animals/group

Richmond type 1b の *E. coli* 35 の場合、CTM-HE の  $ED_{50}$  は 20 mg/mouse であったが、CCL および CEX は無効であった。

Richmond type 1c の *P. vulgaris* GN 76 では 3 剤とも治療効果が無効であった。

*E. coli* ML 1410 RGN 823 (Richmond type III) 株を感染菌とした場合には CCL および CEX が治療効果が無効であるにもかかわらず、CTM は 15.8 mg/mouse の  $ED_{50}$  値を示した。

*K. pneumoniae* GN 69 (Richmond type IV) 株には CTM-HE の  $ED_{50}$  は 20 mg/mouse, CCL および CEX が 40 mg/mouse 以上の値を示し、治療効果が無効であった。

Richmond type V の *P. vulgaris* 9 に対し、3 剤とも治療効果が無効であった。

##### 5. マウス血清中濃度

CTM-HE をマウスに 1mg/mouse および 0.5

mg/mouse を経口投与したときの血清中濃度を CCL, CEX と比較した成績を Fig. 23 に示した。

CTM-HE を 1mg (CTM 換算量)/mouse 投与における血清中濃度のピークは投与後 15 分で  $11 \mu\text{g/ml}$  を示し、CCL ( $42 \mu\text{g/ml}$ )、CEX ( $64 \mu\text{g/ml}$ ) より低かった。

## 考 察

新経口 cephem 剤である cefotiam hexetil (CTM-HE) は cefotiam (CTM) のエステル型 prodrug で体内で代謝をうけ、CTM に転換するため、*in vitro* 抗菌力は CTM をもちいて測定した。その抗菌力は CCL や CEX より強く、*S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *M. morgani*, *P. rettgeri*, *P. stuartii*, *E. cloacae*, *S. marcescens*, *H. influenzae*, *B. pertussis* において特に強い抗菌力が認められた。しかし *E. faecalis*, *E. faecium*, *E.*

*avium* に対しては、CCL や CEX と同様に抗菌力は無効であった。

また CTM は *Streptococcus*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *M. morgani*, *P. rettgeri*, *P. stuartii*, *E. cloacae*, *S. marcescens* において他剤より接種菌量の影響を強く受けた。

マウス実験感染での成績は *in vitro* での CTM の MIC を反映し、CTM-HE は CCL や CEX に比べ高い治療効果を示した。特に  $\beta$ -lactamase 産生株を感染菌とした例では、CCL, CEX が治療効果が無効であるにも拘らず、CTM-HE は感受性菌の ED<sub>50</sub> に比べその値は小さいものの治療効果が認められた。また methicillin 耐性 *S. aureus* は、他の多くの常用抗菌薬に耐性の株であるが、この菌株による感染に対する CTM-HE の ED<sub>50</sub> は小さくはないが、他剤にくらべれば、治療効果が高いことが注目された。この理由としては、CTM のマウス血清中濃度が他

剤より低い、MIC 値が小さく、短時間殺菌作用も強いために治療効果が良好な結果となると考えられる。

以上の基礎実験の成績から、本剤は経口セフェム抗菌剤として、臨床的応用の可能性が示唆される。

#### 文 献

- 1) 五島瑳智子, 小川正俊, 辻 明良, 金子康子, 吉田 勇, 桑原章吾: 新経口 cephalosporin 剤 cefaclor (CCL) と cephalexin の抗菌作用の比較。Chemotherapy, 27 (S-7) : 1~13, 1979
- 2) 五島瑳智子, 小川正俊, 辻 明良, 金子康子, 桑原章吾: 新しい cephalosporin, cefotiam (CTM) の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用と細菌学的評価。Chemotherapy, 27 (S-3) : 1~14, 1979
- 3) 日本化学療法学会 MIC 測定法改訂委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改訂について。Chemotherapy, 29 (1) : 76-79, 1981

## IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF CEFOTIAM HEXETIL, A NEW ORAL CEPHALOSPORIN

SACHIKO GOTO, MASATOSHI OGAWA,

YASUKO KANEKO and SHOGO KUWAHARA

Department of Microbiology, School of Medicine, Toho University

5-21-16 Omori-nishi, Ota-ku, Tokyo 143, Japan

We determined the *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities of cefotiam hexetil (CTM-HE) (active form; cefotiam) and compared them with those of cefaclor and cephalexin as reference drugs.

The *in vitro* antibacterial activity of CTM against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morgani*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae*, and *Bordetella pertussis* was more potent than those of CCL and CEX.

In a study on mice, the therapeutic effect of oral CTM-HE against infections due to *S. aureus*, *E. coli* and *K. pneumoniae* was superior to that of CCL and CEX. CTM-HE was also effective against infections due to methicillin-resistant *S. aureus* and  $\beta$ -lactamase-producing bacteria against which CCL and CEX were ineffective.