

新しい経口セファロスポリン系薬剤 Cefdinir に対する細菌学的検討

井上栄子・井上松久¹⁾・三橋 進
エピソード研究所*
群馬大学医学部薬剤耐性菌実験施設¹⁾

1. Cefdinir (CFDN) はグラム陽性菌に対し cefaclor (CCL), cefixime (CFIX) よりも強い抗菌活性を示した。特にその抗菌力の強さは methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* および *Staphylococcus epidermidis* において顕著であった。しかし methicillin-resistant *S.aureus* に対する抗菌力は対照薬剤同様弱かった。

2. グラム陰性菌に対する CFDN の抗菌力は CCL, cefuroxime (CXM) よりも強く CFIX と同等であった。しかし *Pseudomonas aeruginosa* に対しては CFDN および対照薬剤すべてその抗菌力は弱かった。

3. CFDN は各種 β -lactamase に対して CCL よりも優れた安定性を示した。しかし, *Xanthomonas maltophilia* 産生の oxyiminocephalosporinase (CXase) には加水分解を受けた。この CFDN の β -lactamase に対する優れた安定性が, β -lactamase 産生菌に対する CCL の抗菌力より優れた結果と考えられた。

4. マウス感染治療実験系での ED₅₀(mg/kg) は *S.aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* および *Klebsiella pneumoniae* に対してそれぞれ CFDN で 1.9, 22, 5.1, 5.6, CFIX で 110, 19, 1.6, 0.45, CCL で 0.26, 17, 11, 3.5 であった。

Key words : 経口セファロスポリン, Cefdinir, 細菌学的検討, β -ラクタマーゼ

Cefdinir (CFDN), (-)-(6R, 7R)-7-[(Z)-2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-hydroxyiminoacetamido]-8-oxo-3-vinyl-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic acid は、藤沢薬品工業株式会社において開発されたグラム陽性、陰性菌に広範囲な抗菌スペクトラムを有する経口セフェム剤である。今回、CFDN の *in vitro* および *in vivo* の抗菌作用を細菌学的立場から比較検討した。なお比較薬剤として cefaclor, cefuroxime, cefixime, amoxicillin を用いた。

I. 実験材料と方法

1. 使用薬剤

CFDN, cefixime (CFIX), amoxicillin (AMPC) は藤沢薬品工業株式会社, cefuroxime (CXM) は日本グラクソ株式会社, cefaclor (CCL) は塩野義製薬株式会社, methicillin (DMPPC) は萬有製薬株式会社製を用いた。

2. 使用菌株

薬剤耐性菌実験施設および当研究室保存の臨床分離株(主として1985年~1986年), 各種 β -lactamase 産生株および日本化学療法学会標準株¹⁾を使用した。

3. 使用培地

最小発育阻止濃度 (MIC) 測定用寒天培地には感受性

測定用寒天培地 (STA : Nissui) を用いた。但し, *Streptococcus pyogenes*, *Branhamella catarrhalis* には Brain heart infusion agar (BHIA : Nissui) を, *Haemophilus influenzae* には Fildes enrichment (Difco) 5% 添加 STA を, *Streptococcus pneumoniae* には脱繊維馬血液 5% 添加 STA を, *Bacteroides fragilis* には GAM agar (GAMA : Nissui) をそれぞれ用いた。他に, 感受性測定用 broth (STB : Nissui), GAM broth (GAMB : Nissui) および Brain heart infusion broth (BHIB : Nissui) を用いた。

4. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

化学療法学会標準法²⁾に従い測定した。すなわち, 薬剤の2倍希釈系列を含む寒天平板に被検菌の一夜液体培養菌液を約 4×10^6 cfu/ml となるように buffered saline with gelatin (BSG) にて希釈し, これをマイクロプランター (佐久間製作所) を用い 5 μ l 接種後, 37°C, 18~20 時間培養した後, 肉眼で菌の生育が認められない最小の薬剤濃度をもって MIC とした。

5. 殺菌効果測定

1) 最小殺菌濃度 (MBC)

MBC の測定は, 被検菌を STB に植菌し, 一夜培養

Table 1. Antibacterial spectrum of CFDN against standard strains

Standard strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	CFDN	CCL	CXM	CFIX	AMPC
<i>S. aureus</i> FDA 209P JC-1	0.39	3.13	1.56	25	0.39
<i>S. aureus</i> Terajima	0.025	0.20	0.78	6.25	0.025
<i>S. aureus</i> MS353	0.10	0.78	0.78	6.25	0.10
<i>S. pyogenes</i> Cook	0.05	0.39	0.025	0.10	0.025
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.39	0.20	12.5	>100	0.025
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	0.10	0.05	0.20	6.25	≤ 0.006
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.20	1.56	3.13	0.10	3.13
<i>E. coli</i> K12 C600	0.39	1.56	3.13	0.20	3.13
<i>K. pneumoniae</i> PCI-602	0.025	0.39	0.05	≤ 0.006	25
<i>S. typhimurium</i> IID 971	0.39	3.13	12.5	0.20	1.56
<i>S. typhi</i> 901	0.20	0.39	3.13	0.025	0.39
<i>S. paratyphi</i> 1015	0.10	1.56	0.10	≤ 0.006	1.56
<i>S. schottmuelleri</i> 8006	0.10	0.39	1.56	0.05	0.39
<i>S. enteritidis</i> G14	0.05	3.13	0.10	0.013	0.78
<i>S. marcescens</i> IAM 1184	1.56	>100	50	0.05	50
<i>M. morgani</i> IFO 3848	0.39	50	0.39	≤ 0.006	12.5
<i>P. mirabilis</i> IFO 3849	0.10	6.25	3.13	0.013	1.56
<i>P. vulgaris</i> OX-19	0.20	6.25	1.56	0.013	50
<i>P. vulgaris</i> HX-19	0.20	6.25	0.78	0.013	50
<i>P. rettgeri</i> IFO 3850	≤ 0.006	3.13	0.20	≤ 0.006	0.78
<i>E. aerogenes</i> ATCC 13048	6.25	>100	6.25	0.39	>100
<i>E. cloacae</i> 963	6.25	>100	6.25	0.39	>100
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	>100	>100	>100	50	>100
<i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	>100	>100	>100	6.25	50
<i>P. aeruginosa</i> PAO 1	>100	>100	>100	100	>100

CCL: cefaclor, CXM: cefuroxime, CFIX: cefixime, AMPC: amoxicillin

Agar dilution method

Inoculum size: 10^4 cfu/spot

後、一定菌数になるように各濃度の薬剤を含むSTBに接種し、 37°C 18時間培養後肉眼的に発育の認められなかった濃度をMICとした。さらにこれよりSTAに $100\mu\text{l}$ 接種し、 37°C 18時間培養後生育コロニー数を計数し接種菌量の0.1%以下の生菌数を示す最小薬剤濃度を最小殺菌濃度(MBC)とした。

2) 増殖曲線におよぼす影響

被検菌の *Staphylococcus aureus* FDA 209P JC-1および *Escherichia coli* NIHJ JC-2をSTBで 37°C 一夜培養後、新鮮培地で約 10^4 cfu/mlに希釈したものを 37°C 2時間振とう培養した。この培養液10mlに指定濃度の各薬剤

を添加後振とう培養を続け、薬剤添加後24時間後まで経時的に生菌数を測定した。

6. β -Lactamaseに対する安定性測定

β -Lactamaseは我々が精製し -80°C に保存している酵素標品^{3,4)}を用いた。UV法⁵⁾により 30°C 、pH7.0で加水分解初速度を測定した。基質濃度は $100\mu\text{M}$ とし、penicillinase(PCase)に対してbenzylpenicillin(PCG)の分解速度を100とし、cephalosporinase(CSase)およびoxyimino CSase(CXase)に対してはcephaloridine(CER)の分解速度を100とした相対速度で表現した。

Table 2. *In vitro* antibacterial activity of CFDN against Gram-positive clinical isolates

Test organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
		Range		50%	90%
<i>Staphylococcus aureus</i> (68) DMPPC $\leq 3.13 \mu\text{g/ml}$	CFDN	0.20	25	0.39	0.78
	CCL	0.78	100	3.13	6.25
	CXM	0.78	100	1.56	1.56
	CFIX	6.25	>100	12.5	50
	AMPC	0.10	25	1.56	6.25
<i>Staphylococcus aureus</i> (57) DMPPC $\geq 6.25 \mu\text{g/ml}$	CFDN	3.13	>100	25	>100
	CCL	6.25	>100	>100	>100
	CXM	1.56	>100	>100	>100
	CFIX	50	>100	>100	>100
	AMPC	3.13	100	50	100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (26) DMPPC $\leq 3.13 \mu\text{g/ml}$	CFDN	0.013	3.13	0.10	3.13
	CCL	0.10	6.25	0.78	3.13
	CXM	0.10	3.13	0.39	1.56
	CFIX	3.13	100	3.13	50
	AMPC	0.05	1.56	0.20	1.56
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (43) DMPPC $\geq 6.25 \mu\text{g/ml}$	CFDN	0.10	>100	6.25	>100
	CCL	6.25	>100	12.5	50
	CXM	0.39	>100	6.25	100
	CFIX	12.5	>100	100	>100
	AMPC	0.39	100	3.13	25
<i>Streptococcus pyogenes</i> (97)	CFDN	≤ 0.006	0.20	0.013	0.025
	CCL	0.05	0.78	0.20	0.20
	CXM	≤ 0.006	0.20	0.013	0.025
	CFIX	0.05	3.13	0.10	0.20
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (49)	CFDN	0.013	0.39	0.05	0.10
	CCL	0.20	6.25	0.39	0.78
	CXM	≤ 0.006	0.39	0.025	0.05
	CFIX	0.025	3.13	0.10	0.39
<i>Enterococcus faecalis</i> (96)	CFDN	0.39	100	3.13	25
	CCL	12.5	>100	50	100
	CXM	3.13	>100	100	>100
	CFIX	6.25	>100	>100	>100
	AMPC	0.20	3.13	0.78	0.78

CCL: cefaclor, CXM: cefuroxime, CFIX: cefixime, AMPC: amoxicillin, DMPPC: methicillin

Inoculum size: 10^8 cfu/spot

Table 3-1. *In vitro* antibacterial activity of CFDN against gram-negative clinical isolates

Test organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
		Range		50%	90%
<i>Escherichia coli</i> (100)	CFDN	0.05	6.25	0.20	0.39
	CCL	0.39	100	1.56	6.25
	CXM	0.78	25	3.13	6.25
	CFIX	0.025 -	12.5	0.20	0.39
	AMPC	1.56	>100	6.25	>100
<i>Citrobacter freundii</i> (97)	CFDN	0.39	>100	25	>100
	CCL	1.56	>100	>100	>100
	CXM	3.13	>100	12.5	>100
	CFIX	0.10	>100	3.13	>100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (100)	CFDN	0.05	12.5	0.20	0.39
	CCL	0.39	50	0.78	12.5
	CXM	0.78	100	3.13	12.5
	CFIX	≤ 0.006 -	1.56	0.05	0.10
	AMPC	1.56	>100	50	>100
<i>Klebsiella oxytoca</i> (99)	CFDN	0.025 -	12.5	0.10	0.39
	CCL	0.20	>100	0.78	1.56
	CXM	0.39	>100	1.56	6.25
	CFIX	≤ 0.006 -	3.13	0.025	0.05
<i>Enterobacter aerogenes</i> (10)	CFDN	0.39	100	1.56	12.5
	CCL	50	>100	100	>100
	CXM	3.13	>100	6.25	6.25
	CFIX	0.20	100	0.39	0.78
<i>Enterobacter cloacae</i> (100)	CFDN	0.20	>100	12.5	>100
	CCL	0.78	>100	>100	>100
	CXM	0.78	>100	25	>100
	CFIX	0.025 -	>100	3.13	>100
<i>Serratia marcescens</i> (99)	CFDN	0.78	>100	50	>100
	CCL	100	>100	>100	>100
	CXM	25	>100	>100	>100
	CFIX	0.20	>100	6.25	>100
<i>Proteus vulgaris</i> (66)	CFDN	0.05	12.5	3.13	12.5
	CCL	1.56	>100	>100	>100
	CXM	0.39	>100	>100	>100
	CFIX	≤ 0.006 -	0.20	0.0125	0.025

CCL: cefaclor, CXM: cefuroxime, CFIX: cefixime, AMPC: amoxicillin

Inoculum size: 10^4 cfu/spot

Table 3-2. *In vitro* antibacterial activity of CFDN against Gram-negative clinical isolates

Test organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
		Range		50%	90%
<i>Proteus mirabilis</i> (95)	CFDN	0.025 -	0.39	0.05	0.10
	CCL	0.78	25	3.13	6.25
	CXM	0.78	12.5	1.56	6.25
	CFIX	≤ 0.006 -	0.025	≤ 0.006	0.013
<i>Morganella morganii</i> (71)	CFDN	0.10	50	12.5	25
	CCL	3.13	>100	>100	>100
	CXM	3.13	100	50	100
	CFIX	0.025 -	50	1.56	12.5
<i>Providencia rettgeri</i> (53)	CFDN	≤ 0.006 -	6.25	0.05	1.56
	CCL	0.39	>100	100	>100
	CXM	0.10	50	1.56	12.5
	CFIX	≤ 0.006 -	3.13	≤ 0.006	0.10
<i>Pseudomonas cepacia</i> (30)	CFDN	0.10	>100	6.25	25
	CCL	0.78	>100	>100	>100
	CXM	3.13	>100	12.5	50
	CFIX	0.05	50	1.56	3.13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (92)	CFDN	>100	>100	>100	>100
	CCL	>100	>100	>100	>100
	CXM	100	>100	>100	>100
	CFIX	25	>100	>100	>100
<i>Haemophilus influenzae</i> (53)	CFDN	0.05	0.78	0.20	0.78
	CCL	0.39	25	3.13	6.25
	CXM	0.10	3.13	0.78	3.13
	CFIX	≤ 0.006	0.10	0.025	0.05
	AMPC	0.20	50	0.39	12.5
<i>Branhamella catarrhalis</i> (7)	CFDN	0.20	1.56	0.20	1.56
	CCL	1.56	100	1.56	100
	CXM	0.78	12.5	1.56	12.5
	CFIX	0.05	0.78	0.20	0.78
	AMPC	0.78	12.5	3.13	12.5
<i>Bacteroides fragilis</i> * (27)	CFDN	1.56	>100	25	>100
	CCL	6.25	>100	>100	>100
	CXM	3.13	>100	100	>100
	CFIX	1.56	>100	50	>100

CCL: cefaclor, CXM: cefuroxime, CFIX: cefixime, AMPC: amoxicillin

Inoculum size: 10^4 cfu/spot

* : Anaerobe

7. マウス感染防御効果の測定

Std: ddY系雄性マウス (体重 20 ± 1 g) を1薬剤1濃度あたり1群10匹を用い、被検菌を腹腔内に接種し、1時間後薬剤を1回経口投与した。マウスを5日間観察し生存数を求めED₅₀値を算出した。薬剤は0.5% carboxymethylcellulose に溶解あるいは懸濁して調製した。接種菌液は下記のように調製した。

S. aureus Smith の場合は、STA 平板培養菌体を生理食塩水に懸濁した後、5% ムチン液 (0.05M phosphate buffer, pH8.0) と等量混合した。*E. coli* ML4707 および *Klebsiella pneumoniae* GN6445 の場合は、STA 平板培養菌体を生理食塩水に懸濁した。*S. pneumoniae* 2132 の場合は、BHIB で一夜培養し BHIB にて希釈した。ED₅₀は Probit 法により最小2乗法で算出した。

II. 実験成績

1. 抗菌スペクトラム

標準菌株に対する抗菌スペクトラムの測定結果を Table 1 に示した。

CFDNはグラム陽性菌に対してAMPCと同等、CCL, CXM, CFIX より強い抗菌力を示し、グラム陰性菌に対してはCFIXと同等またはやや劣るものの、CCL, CXM, AMPC より強い抗菌力を示した。*Pseudomonas aeruginosa* に対してCFDNは対照薬剤と同様に弱い抗菌力であった。

2. 臨床分離株に対する抗菌力

薬剤耐性菌実験施設および当研究所保存の臨床分離株を用いて、CFDNの抗菌力をCCL, CXM, CFIX, AMPC, DMPPC を対照薬剤として測定した結果を Table 2, 3 および Fig. 1~17 に示した。

S. aureus と *Staphylococcus epidermidis* は37°CでmethicillinのMICを測定し、methicillinのMIC 3.13 μ g/ml またはそれ以下をmethicillin-susceptible *S. aureus*, methicillin-susceptible *S. epidermidis* とし、methicillinのMIC 6.25 μ g/ml またはそれ以上のものをmethicillin-resistant *S. aureus*, methicillin-resistant *S. epidermidis* とした。

Methicillin-susceptible *S. aureus* に対するCFDNの抗菌力は鋭い立ち上がりを示した (Fig. 1)。

CFDNのMIC₉₀は0.78 μ g/ml と比較薬剤の中で最も優れていた。

Methicillin-resistant *S. aureus* に対しては、CFDNを含む検討薬剤すべての抗菌力が著しく低下したものの、CFDNの抗菌力はAMPCと同程度であった (Fig. 2)。

Methicillin-susceptible *S. epidermidis* に対して、CFDNは対照薬剤に比較し低い濃度から立ち上がり、そ

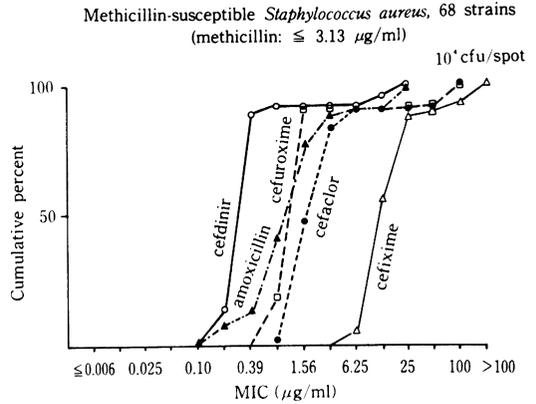


Fig. 1. Antibacterial activity of CFDN.

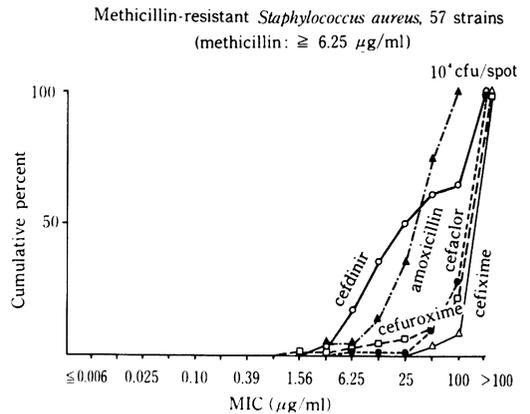


Fig. 2. Antibacterial activity of CFDN.

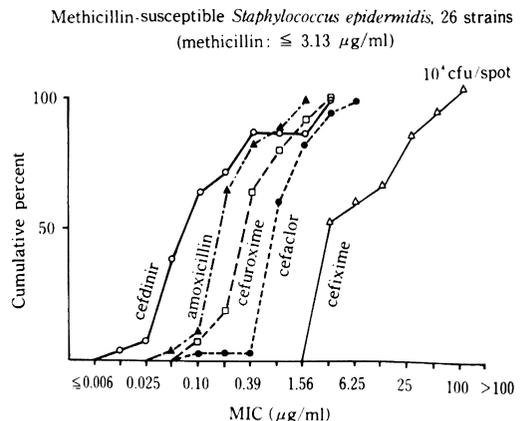


Fig. 3. Antibacterial activity of CFDN.

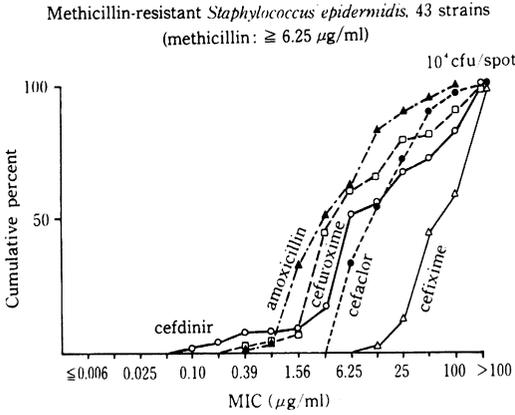


Fig. 4. Antibacterial activity of CFDN.

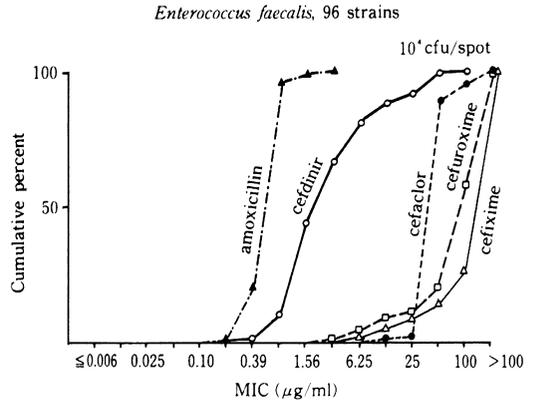


Fig. 7. Antibacterial activity of CFDN.

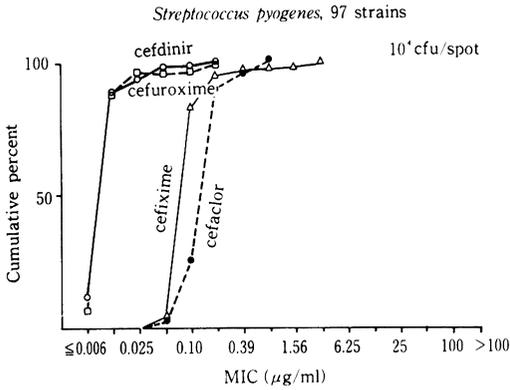


Fig. 5. Antibacterial activity of CFDN.

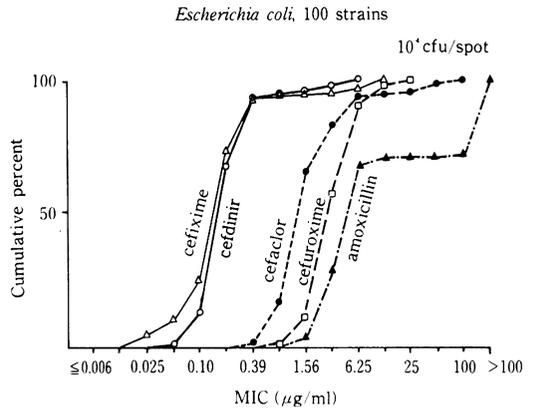


Fig. 8. Antibacterial activity of CFDN.

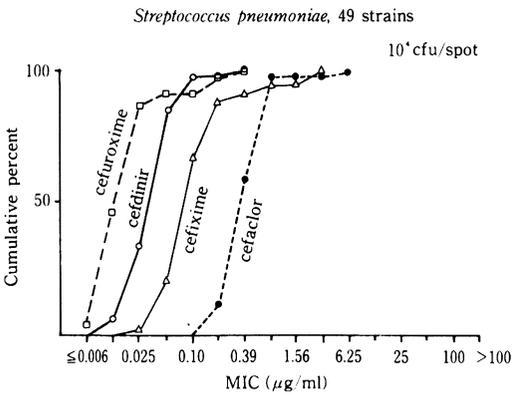


Fig. 6. Antibacterial activity of CFDN.

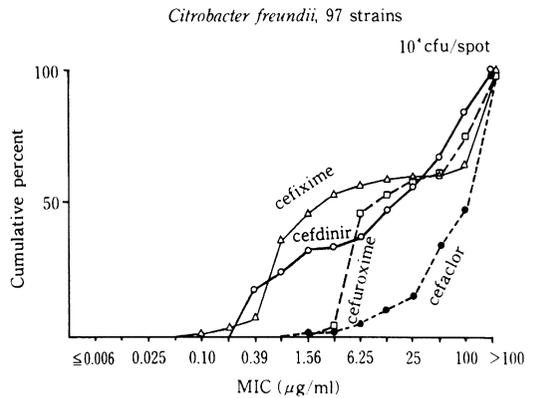


Fig. 9. Antibacterial activity of CFDN.

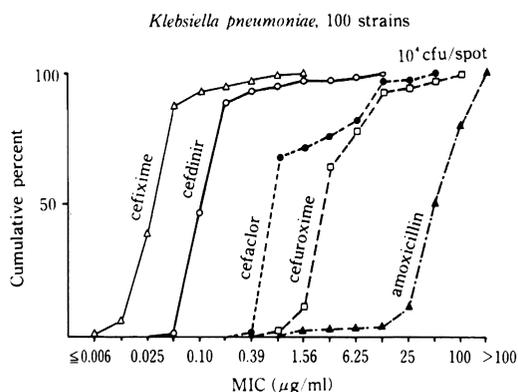


Fig. 10. Antibacterial activity of CFDN.

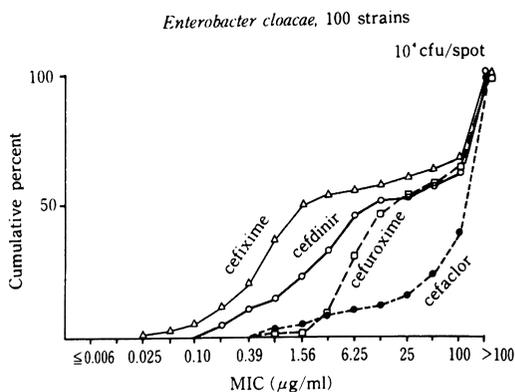


Fig. 12. Antibacterial activity of CFDN.

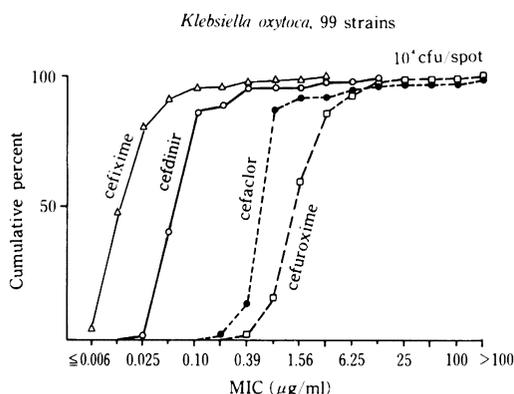


Fig. 11. Antibacterial activity of CFDN.

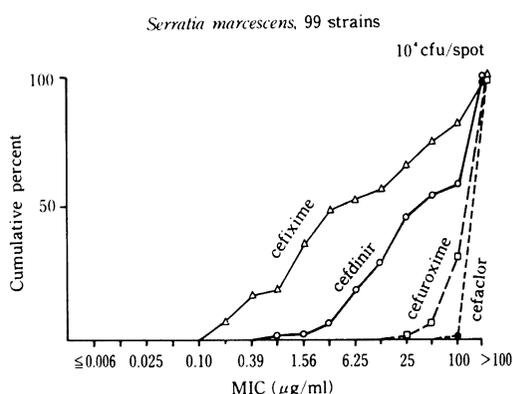


Fig. 13. Antibacterial activity of CFDN.

のMIC₅₀は0.10μg/mlであり比較薬剤の中で最も強い抗菌力であった (Fig.3)。

Methicillin-resistant *S.epidermidis*におけるCFDNのMIC₅₀, MIC₉₀は6.25, >100μg/mlでCXMとほぼ同等であったが, AMPCの3.13, 25μg/mlより抗菌力は弱かった (Fig.4)。

S.pyogenes, *S.pneumoniae*に対するCFDNの抗菌力は強く, 0.2~0.39μg/mlですべての菌の発育を抑えた。この抗菌力はCXMとほぼ同様の強さであった (Fig.5, 6)。

*Enterococcus faecalis*に対するCFDNのMIC₅₀は3.13μg/ml, MIC₉₀は25μg/mlを示し, CCL, CXM, CFIXより優れているもののAMPCより劣る結果であった (Fig.7)。

*E.coli*に対してCFDNのMIC₉₀は0.39μg/mlを示しCFIXと同程度に強い抗菌力であった。しかしAMPC, CCLに高度耐性を示しCFIXに対してもMICが12.5

μg/mlを示した菌に対して, CFDNのMICは6.25μg/mlであった。また, AMPC, CCLに高度耐性であってもCFIXに感受性を示す菌はCFDNにも感受性であった (Fig.8)。

*Citrobacter freundii*に対するCFDNの抗菌力は使用薬剤すべてで見られた傾向であるが, 幅の広いMIC分布を示した (Fig.9)。

K.pneumoniae, *Klebsiella oxytoca*に対するMIC₉₀はCFDNで0.39, 0.39μg/ml, CFIXで0.10, 0.05μg/mlでありCFIXより劣っていたがCCLの12.5, 1.56μg/ml, CXMの12.5, 6.25μg/mlより4~5管有意に優れた抗菌力を示した (Fig.10, 11)。

*Enterobacter aerogenes*に対してCFDNはCFIXに比較しMICで若干劣るものの, CCLに比較すると優れた抗菌力を示した。しかし一部に耐性菌も見られた。また, *Enterobacter cloacae*に対する抗菌力はCFIX>CFDN>CXM>CCLの順であった (Fig.12)。

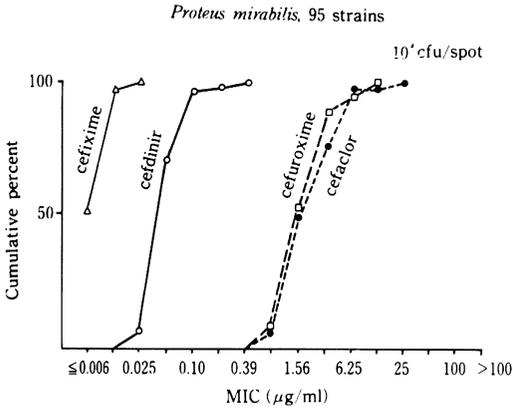


Fig. 14. Antibacterial activity of CFDN.

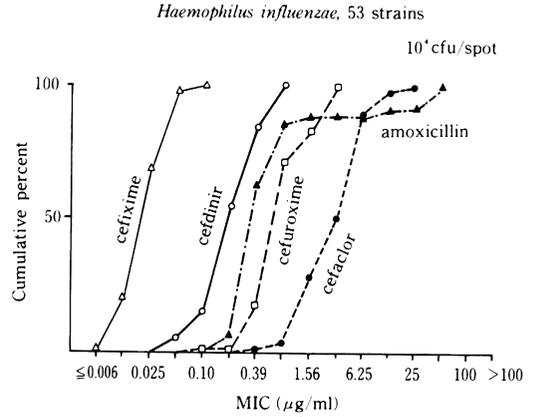


Fig. 16. Antibacterial activity of CFDN.

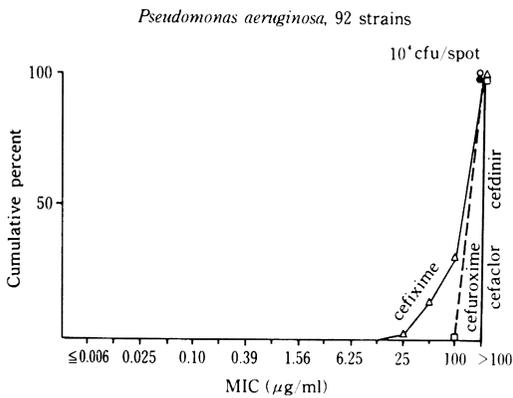


Fig. 15. Antibacterial activity of CFDN.

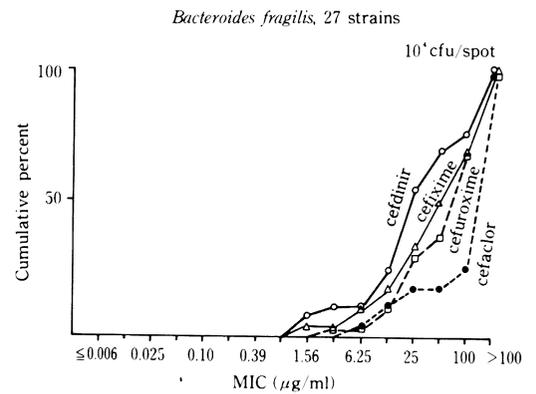


Fig. 17. Antibacterial activity of CFDN.

Serratia marcescens に対し CFDN を含む検討薬剤すべてが幅の広い MIC 分布を示した。CFDN, CFIX の MIC₅₀ はそれぞれ 50, 6.25 μg/ml であった (Fig.13)。

Proteus vulgaris, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri* に対する CFDN の抗菌力は CFIX より劣るが, CCL, CXM より優れ, その値は MIC₉₀ でそれぞれ 12.5, 0.10, 25, 1.56 μg/ml であった (Fig.14)。

Pseudomonas cepacia に対する CFDN の MIC₅₀, MIC₉₀ はそれぞれ 6.25, 25 μg/ml であり, この値は CCL, CXM より優るものの CFIX より劣る結果であった。*P.aeruginosa* に対して CFDN の抗菌力は対照薬剤と同様に弱かった (Fig.15)。

H.influenzae に対して CFDN の抗菌力は CFIX より劣るものの, その感受性分布は鋭い立ち上がりを示し, AMPC が高い MIC を示す菌に対しても抗菌力を示した (Fig.16)。

B.catarrhalis に対しては CFIX と同様に最も強い抗菌力を示した。

嫌気性菌 *B.fragilis* に対する CFDN, CFIX の MIC₅₀ はそれぞれ 25, 50 μg/ml であった (Fig.17)。

3. 殺菌作用

1) MBC

CFDN の MIC と MBC を 4 菌種を用いて対照薬剤の CCL, CXM, CFIX, AMPC と比較検討した結果を Table 4 に示した。

CFDN は *S.aureus* FDA 209P JC-1, *E.coli* NIHJ JC-2, *K.pneumoniae* PCI 602 に対して MIC と MBC はほとんど一致し, 殺菌的に作用したが, *S.marcescens* IAM 1184 に対しては MIC と MBC に 3 管の差があった。

2) 増殖曲線におよぼす影響

CFDN の増殖曲線におよぼす影響を 2 菌種を用い, 対照薬剤に CCL, AMPC または CFIX を用いて比較検討

Table 4. Correlation of bactericidal and bacteriostatic activity of CFDN

Organism	Inoculum size (cfu/ml)	MIC/MBC($\mu\text{g/ml}$)				
		CFDN	CCL	CXM	CFIX	AMPC
<i>S. aureus</i> FDA 209P JC-1	2.2×10^6	0.39/0.78	1.56/6.25	1.56/3.13	50/50	0.20/0.39
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	3.0×10^6	1.56/1.56	12.5/50	12.5/12.5	0.78/0.78	6.25/6.25
<i>K. pneumoniae</i> PCI 602	3.8×10^6	0.10/0.10	3.13/3.13	0.20/0.20	0.05/0.05	100/>100
<i>S. marcescens</i> IAM 1184	3.3×10^6	12.5/100	>100/>100	25/25	0.20/0.39	12.5/25

CCL: cefaclor, CXM: cefuroxime, CFIX: cefixime, AMPC: amoxicillin

Broth dilution method

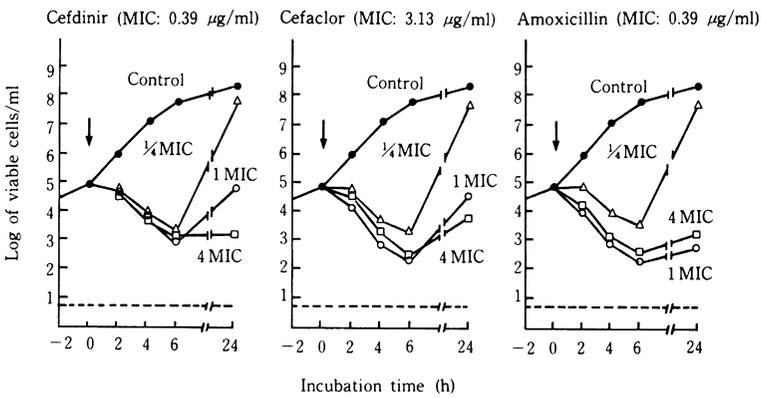


Fig. 18. Bactericidal activity of cefdinir, cefaclor and amoxicillin against *Staphylococcus aureus* FDA 209P JC-1.

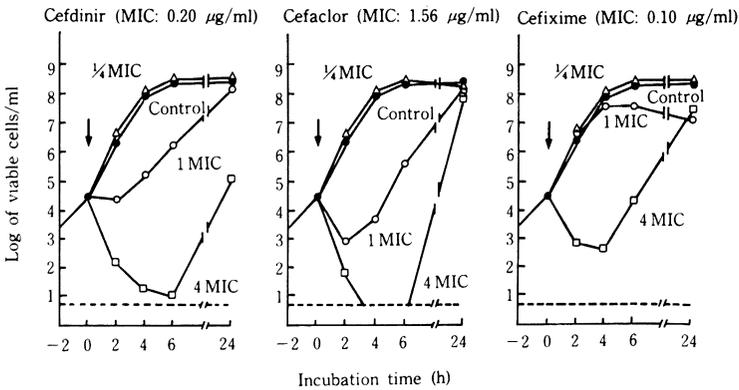


Fig. 19. Bactericidal activity of cefdinir, cefaclor and cefixime against *Escherichia coli* NIHJ JC-2.

Table 5. Antibacterial activity of CFDN against β -lactamase-producing bacteria

β -Lactamase producing bacteria	MIC (μ g/ml)				
	CFDN	CCL	CXM	CFIX	AMPC
<i>E. coli</i> ML4901*	0.39	1.56	6.25	0.39	6.25
<i>E. coli</i> ML4901/Rms212	0.39	1.56	6.25	0.39	>100
<i>E. coli</i> ML4901/Rms213	0.39	1.56	6.25	0.39	>100
<i>E. coli</i> ML4901/Rte16	0.39	1.56	6.25	0.39	100
<i>E. coli</i> ML4901/Rms149	0.39	0.78	3.13	0.20	>100
<i>E. coli</i> ML4901/TEM-1	0.39	1.56	3.13	0.39	>100
<i>E. coli</i> ML4901/TEM-2	0.39	12.5	6.25	0.39	>100
<i>E. coli</i> ML4901/OXA-1	0.39	0.78	6.25	0.39	>100
<i>E. coli</i> ML4901/OXA-2	0.78	12.5	3.13	0.39	>100
<i>E. coli</i> ML4901/PSE-1	0.39	1.56	3.13	0.39	>100
<i>E. coli</i> ML4901/PSE-3	0.39	1.56	3.13	0.39	>100
<i>E. coli</i> ML4901/SHV-1	0.39	6.25	6.25	0.39	>100
<i>S. aureus</i> ML15009*	0.20	0.39	0.39	6.25	0.10
<i>S. aureus</i> ML15009/PI258	0.20	3.13	0.78	12.5	1.56
<i>E. coli</i> GN14929	0.39	3.13	6.25	0.39	>100
<i>E. coli</i> GN14930	6.25	100	12.5	12.5	>100
<i>E. coli</i> GN5482	12.5	>100	25	12.5	>100
<i>E. cloacae</i> GN5797	25	>100	50	12.5	>100
<i>E. cloacae</i> GN7467	50	>100	100	100	>100
<i>E. cloacae</i> GN7471	50	>100	100	50	>100
<i>C. freundii</i> GN346	100	>100	50	>100	>100
<i>C. freundii</i> GN7391	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. rettgeri</i> GN4430	0.013	25	1.56	≤ 0.006	100
<i>P. rettgeri</i> GN5284	0.013	50	1.56	0.013	100
<i>P. rettgeri</i> GN4762	0.39	>100	3.13	0.05	100
<i>M. morgani</i> GN5307	6.25	>100	50	0.39	>100
<i>M. morgani</i> GN5375	6.25	>100	25	0.20	>100
<i>M. morgani</i> GN5407	12.5	>100	100	0.39	>100
<i>S. marcescens</i> GN14931	100	>100	>100	0.78	>100
<i>S. marcescens</i> GN14932	>100	>100	>100	6.25	>100
<i>S. marcescens</i> GN10857	>100	>100	>100	25	>100
<i>P. aeruginosa</i> GN10362	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> GN10367	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> GN918	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. vulgaris</i> GN79	12.5	>100	>100	0.013	>100
<i>P. vulgaris</i> GN4413	100	>100	>100	0.78	>100
<i>P. vulgaris</i> GN7919	12.5	>100	>100	0.39	>100
<i>K. oxytoca</i> GN10560	1.56	100	100	0.05	>100
<i>P. cepacia</i> GN11164	3.13	>100	3.13	0.39	>100
<i>X. maltophilia</i> GN12873	>100	>100	>100	>100	>100
<i>K. pneumoniae</i> GN69	0.10	0.78	1.56	0.025	>100

CCL: cefaclor, CXM: cefuroxime, CFIX: cefixime, AMPC: amoxicillin

Agar dilution method

Inoculum size: 10^4 cfu/spot* : β -lactamase non-producing host strain

Table 6. Stability of CFDN to various β -lactamases

β -Lactamase Type/Origin	Relative rate of hydrolysis				
	CFDN	CCL	CXM	CFIX	AMPC
Penicillinases ¹⁾					
Type I (Rms 212)	<0.1	4.5	<0.1	<0.1	166
Type II (Rms 213)	4.2	21	5.0	0.4	703
Type III (Rte 16)	0.3	31	<0.1	0.1	68
Type IV (Rms 149)	<0.1	0.4	<0.1	<0.1	98
Type V (pI 258)	<0.1	2.8	<0.1	<0.1	210
Cephalosporinases ²⁾					
<i>E. coli</i> GN5482	0.3	320	0.4	0.6	2.6
<i>E. cloacae</i> GN7471	0.2	90	<0.1	<0.1	0.1
<i>C. freundii</i> GN7391	<0.1	84	<0.1	<0.1	0.7
<i>S. marcescens</i> GN10857	1.8	230	0.7	4.1	<0.1
<i>M. morgani</i> GN5407	2.0	190	0.3	1.3	5.5
<i>P. aeruginosa</i> GN10362	1.9	95	0.6	0.8	4.8
Oxyiminocephalosporinases ²⁾					
<i>P. vulgaris</i> GN7919	6.3	420	150	2.1	42
<i>P. cepacia</i> GN11164	2.6	260	86	2.2	170
<i>X. maltophilia</i> GN12873					
L-1	49	210	230	50	710
L-2	2.9	36	22	1.2	95

CCL: cefaclor, CXM: cefuroxime, CFIX: cefixime, AMPC: amoxicillin

Method: Spectrophotometric method

1) Benzylpenicillin hydrolysis rate as 100

2) Cephaloridine hydrolysis rate as 100

した結果を Fig.18, 19に示した。

CFDNは *S.aureus* FDA 209P JC-1に対していずれの濃度 (1/4MIC, 1 MIC, 4 MIC) においても6時間後まで殺菌的に作用し、4 MICにおいては24時間後も菌の再増殖がみられなかった。しかし、CCLでは6時間後まで殺菌的に作用したが、いずれの濃度においても再増殖がみられた (Fig.18)。

また、*E.coli* NIHJ JC-2に対し、CFDNはCCL, CFIXと同様、4MICにおいて6時間後まで殺菌的に作用したが、24時間後には再増殖した (Fig.19)。

4. β -Lactamase に対する安定性

1) 各種 β -lactamase 産生株に対する抗菌力

各種 β -lactamase 産生株に対する抗菌力をCCL, CXM, CFIX, AMPCを対照薬剤として比較検討しその

結果を Table 5に示した。

CFDNはPCase産生プラスミド保有株および非保有株いずれもほぼ同様なMICを示し、CFDNはPCase存在下でもMICに影響は見られなかった。中でもPCase V型産生プラスミド保有株に対してCCL, AMPCは明らかにMICの上昇を認めたがCFDNはそれを認めなかった。

また、CFDNはchromosome支配の β -lactamase産生株の中で*E.coli*, *P.rettgeri*, *K.oxytoca*, *K.pneumoniae*に対しては、CFIXに比較しやや劣るが強い抗菌力を示した。

C.frendii, *S.marcescens*, *P.aeruginosa*, *Xanthomonas maltophilia*に対しては一部の菌種に対するCFIXの抗菌力を除きCFDNは他剤と同様高いMICを

Table 7. Protective effect of CFDN against systemic infection in mice

Organism	Challenge dose (cfu/mouse)	Antibiotic	MIC (μ g/ml)	ED ₅₀ (mg/kg)	95% confidence limit (mg/kg)	
<i>S. aureus</i> Smith	6.0×10 ⁶ (40 LD ₅₀) (with mucin)	CFDN	0.20	1.9	1.2	2.9
		CFIX	12.5	110	71	-170
		CCL	0.78	0.26	0.16-	0.43
<i>S. pneumoniae</i> 2132	8.0×10 ² (16 MLD) (without mucin)	CFDN	0.05	22	16	29
		CFIX	0.10	19	13	25
		CCL	0.39	17	10	33
<i>E. coli</i> ML4707	2.8×10 ⁷ (16 LD ₅₀) (without mucin)	CFDN	0.20	5.1	2.6	8.4
		CFIX	0.20	1.6	0.97-	2.7
		CCL	1.56	11	6.1	19
<i>K. pneumoniae</i> GN6445	2.1×10 ⁷ (4 LD ₅₀) (without mucin)	CFDN	0.10	5.6	3.4	8.9
		CFIX	0.05	0.45	0.28-	0.69
		CCL	0.39	3.5	2.1	5.5

CFIX: cefixime, CCL: cefaclor

Drugs were administered orally 1h after inoculation.

Inoculum size: 10⁴cfu/spot

LD₅₀: lethal dose 50%

MLD: minimum lethal dose

示した。

2) 各種 β -lactamase に対する安定性

CFDNの精製酵素 PCase, CSase, CXase に対する安定性を CCL, CXM, CFIX, AMPC を対照薬剤とし, PCG あるいは CER に対する相対加水分解速度で比較検討した結果を Table 6 に示した。

CFDNは CXM, CFIX と同様 I, III, IV, V型の PCase に対して安定であるが, II型の PCase に対して CXM と同様わずかに加水分解を受けた。CSase に対して CFDN は CFIX と同等に高い安定性を示した。また, *X. maltophilia* 産生の CXase に対して CFDNは CCL, CXM, AMPC より安定であるが CFIX と同程度に加水分解を受けた。

5. マウス感染治療実験

S. aureus Smith, *S. pneumoniae* 2132, *E. coli* ML4707, *K. pneumoniae* GN6445 を用い, CFDNの *in vivo* 抗菌活性をマウス感染症に対する感染防御効果で検討した結果を Table 7 に示した。

CFDNの *S. aureus* Smith に対する ED₅₀は1.9mg/kg を示し, CCL の7.3倍であった。

S. pneumoniae 2132に対して CFDNは ED₅₀22mg/kg

を示し, CFIX, CCL とほぼ同等であった。CFDNは *E. coli* ML4707に対しては CFIX の3倍, *K. pneumoniae* GN6445に対しては CFIX の12倍の ED₅₀を示した。

III. 考 察

CFDNの抗菌力は methicillin-susceptible *S. aureus* に対し AMPC を含むすべての対照薬剤より強く, methicillin-susceptible *S. epidermidis* に対しても抗菌力 (MIC₅₀)は CCL, CXM, AMPC, CFIX よりも強かった。Streptococci に対して CFDNの抗菌力は CCL, CFIX より強く CXM と同等, *E. faecalis* に対しても AMPC よりやや劣るものの CCL, CXM, CFIX より強い抗菌力であった。しかし, methicillin-resistant *S. aureus* に対する抗菌力は CFDNを含む全薬剤で弱かったことからその要因として薬剤自体の penicillin binding protein (PBP2') の誘導能と薬剤の PBP2' に対する親和性の低さが考えられた。

CFDNは methicillin-susceptible *S. aureus*, PCase のみを産生する *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* のうち CCL, AMPC に耐性を示す菌株に対して強い抗菌活性を示した。このことから CFDNは上記菌種の PCase に対

して安定であると考えられた。また、CFDNは *M. morgani*, *P. rettgeri* に高い抗菌活性を示し、*C. freundii*, *E. cloacae*, *S. marcescens* に対して、CFIX よりやや劣るものの CCL, CXM より優れた抗菌力を示した。以上の結果は、CFDNが典型的 PCase に対して全く安定であり、かつ CSase に対しても対照薬 CXM, CFIX と同程度の安定性を示したことから支持される。一方、*C. freundii*, *E. cloacae*, *S. marcescens* では高度耐性菌も認められた。これらの菌株では細胞内に多量の CSase が産生されていること、さらに CFDNが *E. cloacae* の CSase に親和性が高いこと⁹⁾などが高度耐性の理由と考えられる。また II型 PCase によって CFDNをはじめ CFIX を除く調べた薬剤の多くが分解された。しかし *in vitro* 抗菌力にこの結果は反映していなかった。この理由は不明である。臨床材料から分離されたグラム陰性菌の産生する PCase を調べると、その96%以上が典型的な I型 PCase であり、II型 PCase の分離率はわずか全体の1%以下である。このことから CFDNはほとんどの PCase 産生菌に対しても有効に働くものと考えられる。*X. maltophilia* に対し抗菌力が弱かった原因は、CFDNが I型 CXase により加水分解を受けることから十分説明可能であった。

殺菌効果において CFDNは MIC と MBC がほとんど一致し、増殖曲線におよぼす影響からも CFDNの優れた殺菌効果が示された。CFDNは PBP に対し高い親和性を示していることから優れたこの殺菌効果が裏付けられる⁷⁾。

マウス感染治療実験において CFDNの *in vivo* における抗菌活性は *in vitro* の良好な抗菌力を反映しなかった。これはマウスにおける CFDNの血中移行性が CCL, CFIX より劣るためと考える⁸⁾。しかしながら CFDNの体内動態が小動物(マウス)より大動物(ウサギ)⁸⁾の方が良いことから、人において本剤の体内動態はさらに良

好であろうと推測される。このため CFDNの優れた抗菌活性は臨床において有効を増すものと考えられる。

従来の経口剤に比べ CFDNはグラム陽性菌からグラム陰性菌まで抗菌スペクトラムが拡大されかつ強い抗菌活性を示し、特にグラム陽性菌にその特徴が見られた。

従って経口セファロsporin剤 CFDNは臨床においてもその効果が期待されよう。

文 献

- 1) 三橋 進, 井上松久: MIC 測定用標準菌株. *Chemotherapy* 27: 561, 1979
- 2) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について. *Chemotherapy* 29: 76~79, 1981
- 3) 三橋 進編: 薬剤耐性機構の生化学, β -ラクタム抗生物質の耐性機構 (三橋 進, 井上松久). 131~164, 学会出版センター, 1981
- 4) MITSUHASHI S, INOUE M: Mechanism of resistance to beta-lactam antibiotics. In *beta-lactam antibiotics* (MITSUHASHI S ed). 41~55, Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 1981
- 5) WALEY S G: A spectrophotometric assay of beta-lactamase action on penicillins. *Biochem. J.* 139: 780~789, 1974
- 6) YOKOTA T, SUZUKI E, ARAI K: A novel orally active cephem antibiotic, FK482: Its *in vitro* activity, affinity to bacterial PBPs, stability to β -lactamases, and synergy with the complement and macrophages. 28th ICAAC, Los Angeles, Abstract No. 517, 1988
- 7) 第36回日本化学療法学会西日本支部総会, 新薬シンポジウム. FK482, 高知, p54, 1988
- 8) 第36回日本化学療法学会西日本支部総会, 新薬シンポジウム. FK482, 高知, p65, 1988

IN VITRO AND *IN VIVO* ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CEFDINIR

EIKO INOUE, MATSUHISA INOUE* and SUSUMU MITSUHASHI

Episome Institute

2220 Kogure, Fujimimura, Setagun, Gunma 371-01, Japan

* Laboratory of Drug Resistance in Bacteria,
School of Medicine, Gunma University

Cefdinir (CFDN) is a new oral active cephalosporin. This study was performed to compare the *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of CFDN with those of cefaclor (CCL), cefuroxime (CXM), cefixime (CFIX) and amoxicillin (AMPC).

The following results were obtained.

1. CFDN had higher activity than did CCL and CFIX against Gram-positive clinical isolates, especially against methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*.
2. Against Gram-negative clinical isolates, the activity of CFDN was higher than that of CCL and similar to or slightly less than that of CFIX. But CFDN showed poor activity against *Pseudomonas aeruginosa*, as did the comparison compounds.
3. CFDN was more stable to various β -lactamases than CCL. CFDN, however, was hydrolyzed by the enzyme of *Xanthomonas maltophilia*. Stability to the β -lactamases is presumably why CFDN had higher activity than that of CCL against β -lactamase-producing strains.
4. CFDN showed therapeutic effect on systemic infections in mice.