

## 新しい経口セファロスポリン剤, Cefdinir の腸球菌に対する抗菌作用

峯 靖弘・渡辺裕二・上村利明<sup>1)</sup>坂本 博・波多野和男・松本佳巳<sup>1)</sup>

横田好子・若井芳美

藤沢薬品工業株式会社\*：開発研究所，新薬研究所<sup>1)</sup>

桑原章吾

東邦大学医学部微生物学教室

新しい経口セファロスポリン剤, cefdinir (CFDN) の腸球菌に対する *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用について検討し，以下の成績を得た。

1) CFDNの臨床分離 *Enterococcus faecalis* (45株) に対する MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>80</sub>は共に12.5μg/mlで，また，*Enterococcus avium* (46株) に対する MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>80</sub>は，それぞれ6.25μg/ml, >100μg/mlと中等度の抗菌力を示し，amoxicillin (AMPC) より劣るものの既存経口セフェム剤より明らかに優れた。しかし，*Enterococcus faecium* にはほとんど抗菌力を示さなかった。

2) CFDNの *E. faecalis* に対する抗菌力は，感受性測定培地の種類によって大きく影響を受け，通常の Mueller Hinton agar (Difco) での MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>80</sub>は共に12.5μg/mlであるのに対し，Sensitivity test agar (栄研) ではそれぞれ0.78, 1.56μg/mlと，AMPC とほぼ同等の抗菌力を示した。

3) CFDNによる *E. faecalis* の増殖曲線に及ぼす影響において，CFDNは1 MIC以上の濃度から dose-dependent に殺菌力の増強が認められたが，AMPCでは1 MIC以上で殺菌作用を示したものの，16MIC以上から濃度の上昇と共に逆に殺菌作用の低下がみられた (Eagle 効果)。また，液体培地で *E. faecalis* を各種濃度の CFDNあるいは AMPC と20時間接触させた後，MIC以上での残存生菌数からみた殺菌活性においても，AMPCは2～16MICで最大の殺菌活性を示し，32MIC以上の濃度では殺菌活性の低下がみられた (Eagle 効果)。しかし，CFDNは4～8 MICから強い殺菌活性を示し，高濃度で殺菌活性の反転現象は認められなかった。さらに，ヒトにCFDN (200mg) 1回服用後の尿中濃度に simulate した *in vitro* 濃度変化系においても，CFDNは *E. faecalis* に対し強い殺菌作用を示し，AMPC (250mg) 1回投与時に比べその尿中殺菌活性は優れていた。

4) CFDNは *E. faecalis* の PBP 2 と 3 に対する親和性が極めて高く，cefaclor (CCL) に比べ PBP 2 に対し同等，PBP 3 に対し30倍以上高かったが，PBP 1 に対しては逆に10倍低かった。一方，AMPCはPBP 3, 4, 5に対する親和性が極めて高く，PBP 4, 5 に対しCFDNより高かった。

5) CFDNの1 MICで2時間作用させた *E. faecalis* の形態変化を透過型電子顕微鏡で観察したところ，分裂阻止による数個の cross wall の肥厚像および溶菌像が多数みられた。

6) CFDNの経口投与は *E. faecalis* によるウサギ上行性尿路感染モデルにおいて，AMPC と同等の治療効果を，CFIX および CCL よりも有意に優れた治療効果をもたらした。

**Key words** : Cefdinir, 腸球菌, Eagle 効果, MIC, PBP

Cefdinir (CFDN) は第3世代経口セフェム剤と称される cefixime<sup>1)</sup>, ceftoram pivoxil<sup>2)</sup> および cefpodoxime proxetil<sup>3)</sup> のグラム陰性菌群に対する広域スペクトルと強い抗菌力を保持しながら，これらの弱点であるブドウ球菌などのグラム陽性球菌群にも強い抗菌力を有する新しい経口セフェム剤である<sup>4)</sup>。更に，CFDNは，既存経口セフェム剤に感受性を示さな

い腸球菌に対しては抗菌活性を示す特徴を有する。

そこで腸球菌，特に *Enterococcus faecalis* を中心にCFDNの *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用について検討を加えたので報告する (実験期間：1985年11月～1988年11月)。

## I. 実験材料および方法

### 1. 使用薬剤

CFDN, cefixime (CFIX), cephalexin (CEX) および amoxicillin (AMPC) は藤沢薬品研究所で合成された標準品を, cefaclor (CCL) は市販製剤 (塩野義製薬製) から抽出精製して使用した。

### 2. 使用菌株

臨床分離の *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus avium* および *Enterococcus faecium* は, 全国の大学病院および三菱油化ビーシーエル (バイオス) 細菌検査室にて分離, 同定されたものを当研究所の細菌検査室にて再同定したものを使用した。

### 3. 抗菌力の測定

最小発育阻止濃度 (MIC) は, Mueller Hinton agar (MHA, Difco) または Sensitivity test agar (STA, 栄研) を用い, 日本化学療法学会標準法<sup>5)</sup> に準じて測定した。また, 必要に応じて上記の液体培地を用いて, 前培養菌の10倍希釈菌液を1%接種し, 液体希釈法で MIC を測定した。

### 4. 殺菌作用の測定

増殖曲線に及ぼす影響を検討するため, 被検菌 *E. faecalis* 0112の前培養菌液を10倍希釈し, その1%を Sensitivity test broth (STB, 栄研) に接種し, 37°C, 1時間培養後, 所定濃度 (1, 4, 16, 64, 256 MIC) の被検薬 (CFDN, AMPC) を加え, さらに培養を続け経時的にサンプリングし, Brain heart infusion agar (BHIA, Difco) を用いて, 通常の混釈法により生菌数を測定した。また, MIC 以上の濃度で20時間接触後の残存生菌数を指標に殺菌活性を検討するため, *E. faecalis* 0112あるいは7016の前培養菌液の10倍希釈液を STB に1%接種し, この4.5ml ずつを2倍希釈系列の被検薬 (CFDN, AMPC) 希釈液0.5ml に加え, 37°C, 20時間培養後 MIC を判定した。さらに濁りの見られなかった反応液中の残存生菌数を混釈法で測定した。また, ヒトに CFDN<sup>6)</sup> を200mg, AMPC<sup>7)</sup> を250mg 経口投与して得られた尿中濃度に simulate した *in vitro* kinetic model<sup>4)</sup> で健康人尿を試験培地として, 経時的に試験菌の *E. faecalis* 3061の残存生菌数を測定した。

### 5. ペニシリン結合蛋白 (BPB) に対する結合親和性の測定

*E. faecalis* FP183より調製した膜画分を用いて, Spratt の原法を改良した競合結合実験で測定した<sup>8)</sup>。親和性は <sup>14</sup>C-penicillin G の結合量を50%阻止させる被検薬の濃度 (ID<sub>50</sub>) で表示した。

### 6. 透過型電子顕微鏡による形態観察

採取した菌を1.5%グルタルアルデヒドで30分間前固定した後, Ryter-Kellenberger による緩衝液 (RK 緩衝液)<sup>9)</sup> に溶解した1%四酸化オスミウムで16~18時間, 後固定した。RK 緩衝液で洗浄後, 菌を2%溶解寒天と混和し, 固化後約1mm<sup>3</sup>の大きさのブロックに切出し, RK 緩衝液に溶解した0.5%酢酸ウラニウムで2時間染色した。エタノール系列で脱水し, プロピレンオキサライドで置換した試料は SPURR Low-viscosity embedding media (Ladd) に包埋した。超薄切片はガラスナイフを装着した超ミクロトーム (Ultratome III, LKB) で作製し, これに酢酸ウラニル-クエン酸鉛の二重染色を施し, 透過型電子顕微鏡 (JEM-1200EX) を用い, 加速電圧80.0 KV で観察し撮影した。

### 7. ウサギ実験的尿路感染症

1群6羽の日本白色在来種雄ウサギ (1.8~2.2kg) を用いて, ペントバルビタールの静脈内注射により麻酔した。開腹し, 左輸尿管より26G 針を用いて *E. faecalis* 0112株菌液0.2ml (3.2~4.0×10<sup>4</sup>cfu/head) を接種し, 26G 針と共に3号絹糸で輸尿管を結紮した後, 針を抜いて切開部を縫合した。菌接種24時間後より1日2回, 2日間薬剤を20mg/kg 経口投与し, 最終投与の翌日に無菌的に左腎を摘出した。腎の重量測定および割面の膿瘍形成を肉眼で観察後, ホモジネートし, g 当りの生菌数を通常の混釈法で測定した。なお, 同時に右腎, 膀胱組織, 肝臓, 血液, 膀胱尿および腎盂尿を採取し, 同様に生菌数を測定した。無治療対照群は薬剤投与群と同量の生理食塩水を投与した。膿瘍形成の肉眼判定は以下の基準に従った。

- +++ : 全体に散発的に膿瘍形成
- ++ : 部分的に膿瘍形成
- ++ : 極く一部分に膿瘍形成
- ± : わずかな膿瘍形成痕
- : 膿瘍形成が認められない

## II. 実験結果

### 1. 臨床分離株に対する抗菌力

試験培地として, MHA を用いた時の CFDN に対する *E. faecalis* 45株, *E. avium* 46株および *E. faecium* 48株の感受性分布をそれぞれ Fig.1, 2 および Fig.3 に示す。*E. faecalis* に対し, CFDN の MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>80</sub> は共に12.5μg/ml で AMPC (MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>80</sub>とも0.78μg/ml) には及ばないが, 既存セフェム剤 (CFIX, CCL, CEX とも MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>80</sub>が≥100μg/ml) より明らかに優れた。*E. avium* に対し, CFDN の MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>80</sub> はそれぞれ 6.25, >100μg/ml で約20%の株が本剤に高度耐性を示し, AMPC には及ばないが, 半数の株に対し, 0.39~6.25

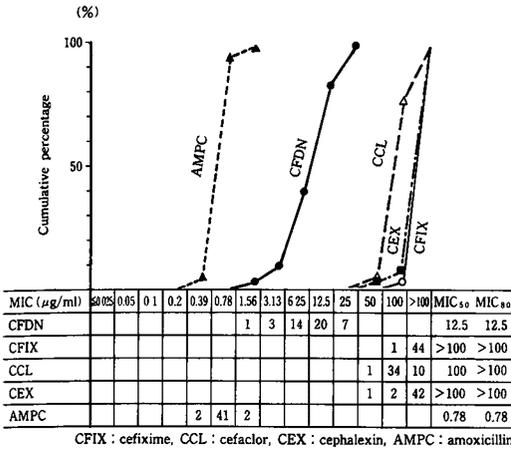


Fig. 1. Susceptibility distribution of clinical isolates of *Enterococcus faecalis*. (45 strains, one spot of 10<sup>6</sup> cells/ml)

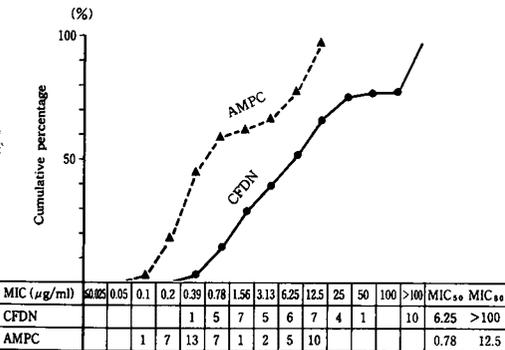


Fig. 2. Susceptibility distribution of clinical isolates of *Enterococcus avium*. (46 strains, one spot of 10<sup>6</sup> cells/ml)

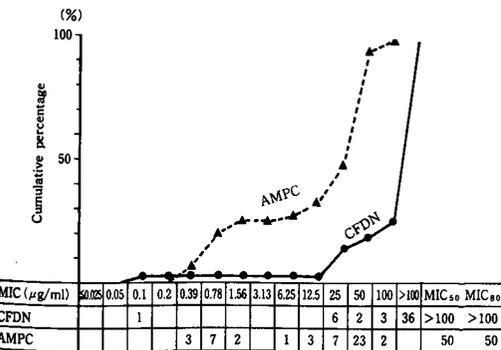


Fig. 3. Susceptibility distribution of clinical isolates of *Enterococcus faecium*. (48 strains, one spot of 10<sup>6</sup> cells/ml)

μg/ml の抗菌力を示した。しかし、*E. faecium* に対し CFDN はほとんど抗菌活性を示さず、AMPC もほんの一部の株に抗菌活性を示したにすぎなかった。

2. 抗菌力に及ぼす感受性測定培地の影響

*E. faecalis* に対する oxyimino 系セファロsporin 剤の抗菌力は、感受性測定培地の種類あるいは血液添加により大きく影響を受けることが知られている<sup>10-12)</sup>。そこで、先に報告<sup>11)</sup>したように、MHA と STA を用いて CFDN および AMPC の抗菌力を比較した (Fig. 4)。

*E. faecalis* の45株に対するCFDNの抗菌力は両培地間で著明な差異がみられ、MHAではMIC<sub>50</sub>、MIC<sub>90</sub>が共に12.5μg/mlであるのに対し、STAではそれぞれ0.78、1.56μg/mlとAMPCとほぼ同等の強い活性を示した。一方、AMPCの抗菌力(MIC<sub>50</sub>、MIC<sub>90</sub>)は両培地間で大きな差異がなく、MHAで共に0.78μg/ml、STAで共に0.39μg/mlであった。

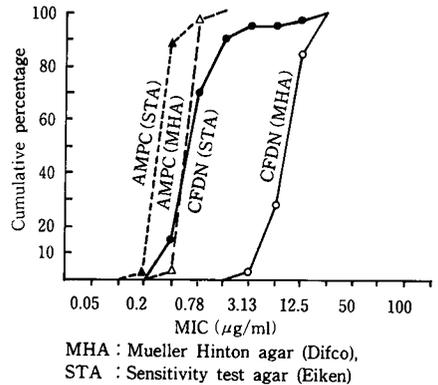


Fig. 4. Effect of test medium on antibacterial activity of CFDN and amoxicillin (AMPC) against *Enterococcus faecalis*. (45 strains, one spot of 10<sup>6</sup> cells/ml)

3. 殺菌作用

1) 増殖曲線に及ぼす作用

Fig.5に示すように *E. faecalis* 0112 の増殖に対し、CFDNは1 MIC以上の濃度から殺菌的に作用し、dose-dependentに殺菌活性の増強がみられた。一方、AMPCは1 MIC~4 MICの濃度でCFDNと同等の殺菌作用を示したが、16 MIC以上の濃度から逆に殺菌活性の低下がみられ、いわゆるEagle効果が観察された。

2) 液体希釈法による感受性測定時の残存生菌数に及ぼす作用

*E. faecalis* 0112および7016をSTB中で各種濃度のCFDNあるいはAMPC共存下で37°C、20時間接触後の残存生菌数を測定し、殺菌活性の指標とした(Fig.6)。

*E. faecalis* 0112, 7016に対するCFDNおよびAMPCのMICは、両株ともそれぞれ3.13, 0.39 $\mu\text{g/ml}$ であった。両株の残存生菌数において、AMPCは2~16 MICで最も生菌数の減少がみられ、32 MIC以上から逆に生菌数の上昇がみられた。しかし、CFDNは4あるいは8 MIC以上の濃度から生菌数の著明な減少がみられ、測定

した512 MICまでAMPCのような生菌数の上昇は認められなかった。従って両剤の12.5~25 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度での殺菌活性はCFDNがAMPCより優れた。

3) ヒト尿中濃度に simulate した *in vitro* kinetic model での殺菌作用

ヒトにCFDNを200mg, AMPCを250mg服用時の尿

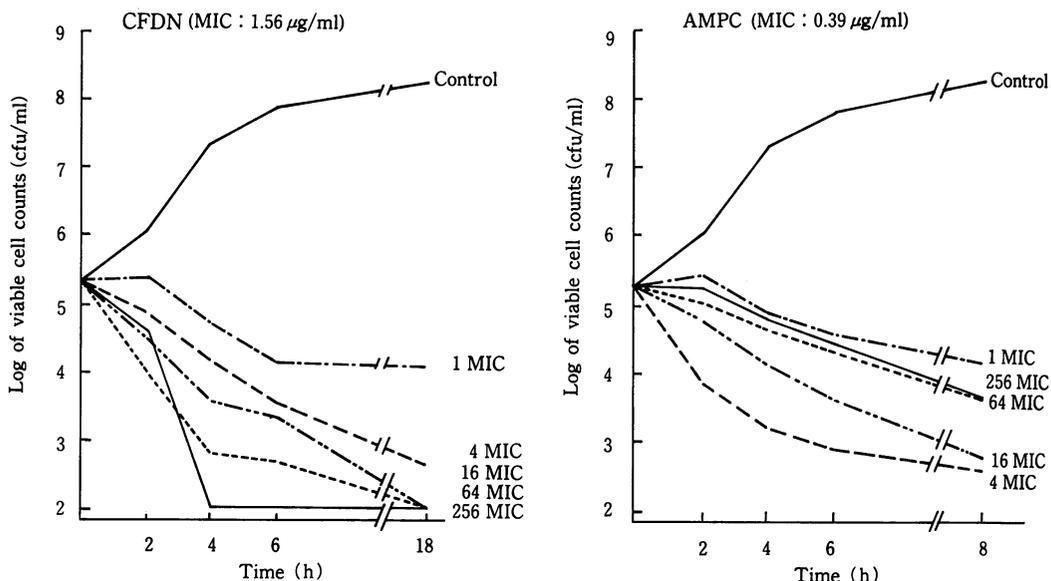


Fig. 5. Comparative bactericidal activity of CFDN and amoxicillin (AMPC) against *Enterococcus faecalis* 0112.

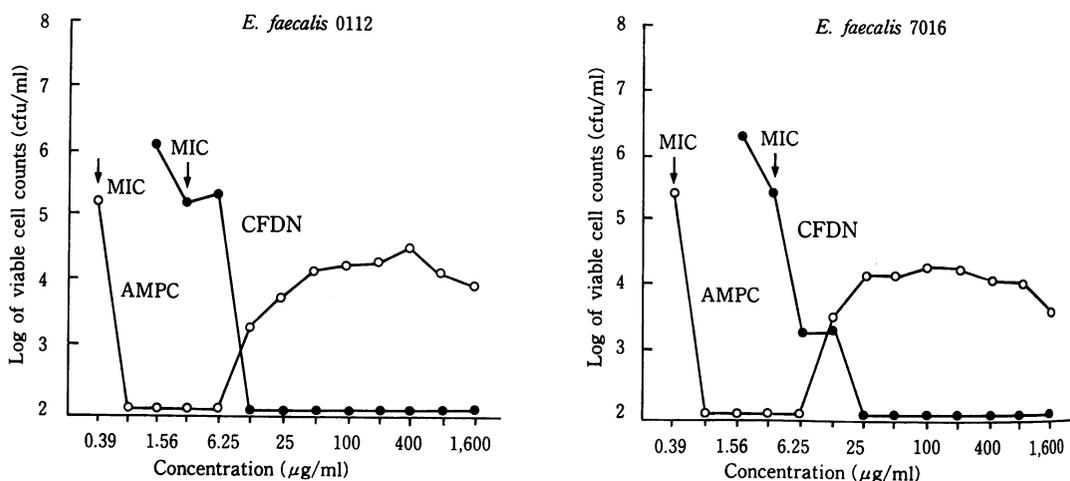


Fig. 6. Comparative viable cell counts of *Enterococcus faecalis* exposed to CFDN and amoxicillin (AMPC) at various concentrations for 20 hours.

中濃度に simulate した *in vitro* 濃度変化系での殺菌作用を検討した (Fig.7)。

試験菌の *E. faecalis* 3061 に対する CFDN の MIC は  $6.25\mu\text{g/ml}$ , AMPC の MIC は  $0.78\mu\text{g/ml}$  であった。ヒト尿中濃度推移は, CFDN の方が AMPC に比べ低かった。しかし, この濃度変化系での CFDN のヒト尿中殺菌活性は AMPC に比べ明らかに優れていた。

#### 6. ペニシリン結合蛋白 (PBP) 親和性

*E. faecalis* FP183 の PBP に対する CFDN, CCL およ

び AMPC の親和性を比較した (Table 1)。CFDN は PBP 2, 3 に高い親和性を示したが, PBP 1, 6 には親和性がやや低く, PBP 4, 5 にはほとんど結合しなかった。また, CCL は PBP 1, 2 に高い親和性を示したが, PBP 3 にはやや低く, PBP 4, 5, 6 には親和性は低かった。一方, AMPC は PBP 3, 4, 5 に親和性が高く, PBP 1, 2, 6 にはやや低かった。従って, CFDN は CCL に比し PBP 3 に, AMPC に比し PBP 2 に高い親和性を示した。

#### 7. 形態変化

*E. faecalis* 0112 を CFDN の  $6.25\mu\text{g/ml}$  (1 MIC) および  $100\mu\text{g/ml}$  (16 MIC), または AMPC の  $100\mu\text{g/ml}$  (256 MIC) で 2 時間反応させた時の透過型電顕像を Fig. 8~Fig.11 に示す。正常像 (Fig.8) に比べ, CFDN の  $6.25\mu\text{g/ml}$  作用時では 3 箇所の cross wall 形成と cross

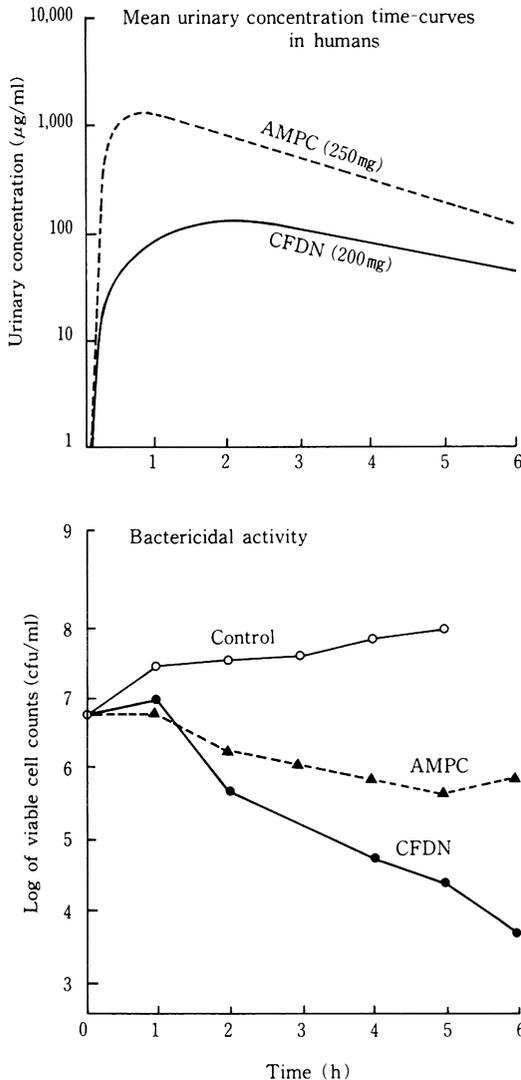


Fig. 7. Bactericidal activity against *Enterococcus faecalis* 3061 *in vitro* kinetic model for simulating human urinary concentrations of CFDN and amoxicillin (AMPC) after oral dosing.

Table 1. Affinity of CFDN and reference antibiotics for the penicillin-binding proteins of *Enterococcus faecalis* FP183

P B P	ID <sub>50</sub> (μg/ml) <sup>a</sup>		
	C F D N	C C L	A M P C
1	7.9	0.66	3.0
2	<0.2	<0.2	13.5
3	<0.2	6.1	0.26
4	>125	26	0.48
5	74	97	0.70
6	3.6	12	6.2
MIC (μg/ml)	12.5	100	0.78

<sup>a</sup>Antibiotic concentration required to reduce

<sup>14</sup>C-PCG binding by 50%.

CCL : cefaclor, AMPC : amoxicillin

wall の肥厚化 (Fig.9-1A), 部分的な溶菌像 (Fig.9-B) および完全溶菌像 (Fig.9-C) が観察され,  $100\mu\text{g/ml}$  作用では多数の溶菌像を認めた (Fig.10)。一方, AMPC の  $100\mu\text{g/ml}$  を作用させるとほとんど溶菌像がなく一見正常細胞にみえる像が多く観察された (Fig.11)。

#### 8. 実験の上行性尿路感染モデルにおける治療効果

試験菌の *E. faecalis* 0112 に対する CFDN の抗菌力は, MHA および STA でそれぞれ  $6.25\mu\text{g/ml}$ ,  $0.78\mu\text{g/ml}$ , AMPC はそれぞれ  $0.78\mu\text{g/ml}$ ,  $0.39\mu\text{g/ml}$  であったが,

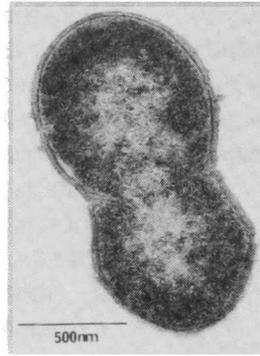


Fig. 8. Transmission electron micrograph of normal *Enterococcus faecalis* 0112 cell.

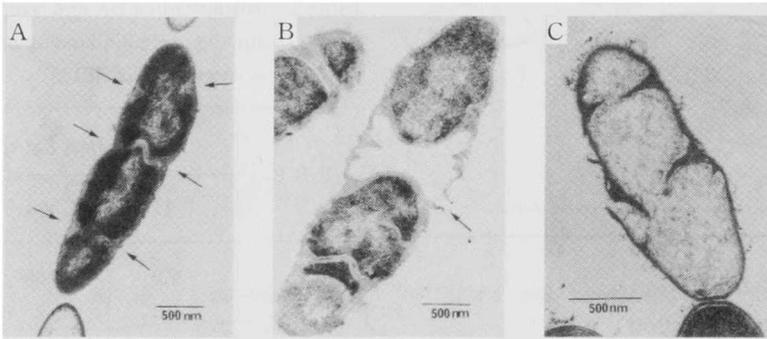


Fig. 9. Transmission electron micrograph of *Enterococcus faecalis* 0112 exposed to 6.25  $\mu\text{g/ml}$  (1 MIC) of CFDN for 2 h.

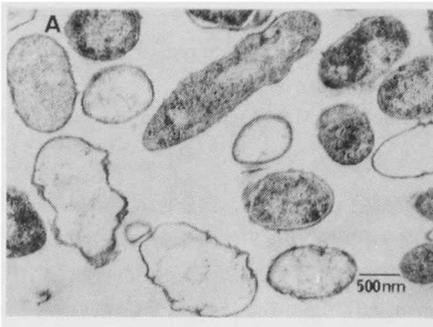


Fig. 10. Transmission electron micrograph of *Enterococcus faecalis* 0112 exposed to 100  $\mu\text{g/ml}$  of CFDN for 2 h.

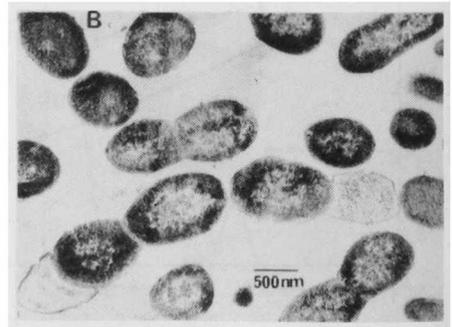


Fig. 11. Transmission electron micrograph of *Enterococcus faecalis* 0112 exposed to 100  $\mu\text{g/ml}$  of amoxicillin for 2 h.

CFIX, CCL は、共にいずれの培地でも  $>100\mu\text{g/ml}$  であった。Table 2 に示すように、CFDN 治療群において、左腎に 4.46 (log cfu/g)、腎盂尿に 5.60 (log cfu/ml) の生菌数が認められたが、右腎、膀胱尿、膀胱組織、肝および血液中の生菌数は測定限界以下であった。また、腎の膿瘍形成の程度は  $+$ ~ $++$  であった。CFDN の治療効果は AMPC の治療群と同程度で、CFIX および CCL 治療群より有意に優れた。

### III. 考 察

近年、特に尿路感染症の臨床材料からの腸球菌の分離頻度が増加し、臨床的に注目されている。しかし、腸球菌の分離と病原性との因果関係については、現在のところ必ずしも十分に解明されていないが、複数菌感染あるいは単独感染例が多数報告されている<sup>13)</sup>。腸球菌はペニシリン系薬剤には感受性を示すが、一般にセフェム系薬剤には感受性が低いか、もしくは耐性を示す。しかし、特定のセフェム剤、すなわち 7 位アシル側鎖の  $\alpha$  位に oxyimino 基をもつ薬剤は、感受性測定用培地の種類、あ

るいは培地への血液添加により、*E. faecalis* に対する抗菌力が大きく影響を受けることが知られている<sup>10-12)</sup>。CFDN は oxyimino 基を有する経口セフェム剤であるが、他の oxyimino 系セフェム剤が抗菌力を示さない MHA においても、*E. faecalis* の 45 株に対する MIC<sub>50</sub> および MIC<sub>80</sub> が  $12.5\mu\text{g/ml}$  の中等度の抗菌力を示した。さらに、STA での CFDN の抗菌力は、AMPC と同程度 (MIC<sub>50</sub>:  $0.78\mu\text{g/ml}$ , MIC<sub>80</sub>:  $1.56\mu\text{g/ml}$ ) の強い抗菌力を示すことが明らかとなった。しかし、*E. faecium* および *E. avium* では CFDN の抗菌力は培地の影響を受けなかった (未報告)。CFDN は *E. faecalis* の増殖に対し 1 MIC 以上の濃度から殺菌活性を示した。また、CFDN を 200mg 服用時のヒト尿中濃度に simulate した *in vitro* kinetic model においても殺菌的に作用し、しかも AMPC 250mg 服用時よりも優れた尿中殺菌活性を示したことは、*E. faecalis* によるヒト尿路感染症に対する CFDN の有効性を示唆するものである。CFDN の *E. faecalis* に対する殺菌作用の面で特徴的な点は、AMPC が 16~32 MIC 以上の高濃度で殺菌力が低下する、いわゆる Eagle 効果が認められ

Table 2. Therapeutic efficacy of CFDN and reference antibiotics after oral dosing against experimental urinary tract infection induced by *Enterococcus faecalis* 0112 in rabbits

	Organ	CFDN	CFIX	CCL	AMPC	Control
Log of viable cell count/g or ml	infected left kidney	4.46 ± 0.23	5.95 ± 0.24*	5.78 ± 0.29*	4.05 ± 0.36	8.25 ± 0.24
	right kidney	< 1.3	< 1.16	1.74 ± 0.36	< 0.8	2.00 ± 0.74
	urine in pelvis	5.60 ± 0.58	7.60 ± 0.16*	6.55 ± 0.51	4.94 ± 0.42	9.18 ± 0.09
	urine in bladder	< 1.0	< 1.0	< 1.5	< 1.0	< 1.0
	bladder tissue	< 1.2	2.35 ± 0.72	4.03 ± 1.02*	< 1.3	< 1.8
	liver	< 1.5	< 1.87	2.39 ± 0.22	< 1.1	2.96 ± 0.24
	blood	< 1.0	< 1.0	< 1.0	< 1.0	< 1.0
Grade of abscess	cortex	+	±~++	+~++	±~++	++~+++
	medulla	+	+	++	+	+++
	pelvis	++	+~++	++~+++	+~++	+++
MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	Mueller Hinton agar (Difco)	6.25	> 100	> 100	0.78	
	Sensitivity test agar (Eiken)	0.78	> 100	> 100	0.39	

Challenge :  $3.2\sim 4.0 \times 10^4$  cfu, into left ureter

Therapy : 20 mg/kg, po, twice a day for 2 days from 24 h after challenge

Observation : 3 days after challenge

M I C : Stamp method, one spot of  $10^6$  cells/ml

\* Significant difference from CFDN (  $p < 0.05$  )

CFIX : cefixime, CCL : cefaclor, AMPC : amoxicillin

たのに反し、CFDNは512 MIC 濃度においても殺菌作用の低下が認められなかったことである。Eagle 効果の臨床的意義については不明であるが、ヒト尿中濃度に simulate した *in vitro* kinetic model で、CFDNの尿中濃度が AMPC より低いにもかかわらず、尿中殺菌活性は逆に CFDNの方が優れた結果は、この Eagle 効果を反映したものと考えられる。Williamson<sup>14)</sup>らは、*E. faecalis* に対する  $\beta$ -ラクタム剤の抗菌力は、PBP に対する親和性によって決定されることを報告している。また、Georgopapadakou<sup>15)</sup>は *E. faecalis* には6種類の PBP が存在し、そのうち PBP 1 と 3 に対する親和性が  $\beta$ -ラクタム剤の抗菌力と相関することを報告し、Fontana<sup>16)</sup>は *E. faecalis* の PBP 3 が重要な作用点であることを報告している。一方、生方<sup>17)</sup>は PBP 3, 4, 5 が重要でないかと推測している。本実験において、CFDNは PBP 2, 3 に高い親和性を、次いで PBP 6, 1 にやや低い親和性を示したが、PBP 4, 5 に対してはほとんど親和性を示さなかった。CFDNの PBP 親和性と MIC との関係を CCL と比較すると、CFDNは PBP3に対する親和性のみが CCL より優れていた。従って、PBP 3 に対する高い親和性が CFDNの抗菌力の発現に役かかっていると考えられるが、PBP 3 に対する CFDNの ID<sub>50</sub>値と MIC 値には乖離がみられ、PBP 3 だけの阻害作用では説明できない。一方、AMPC と比較すると、AMPCは PBP 3, 4, 5 に高い親和性を示し、PBP 3 では CFDNと同等、PBP 4, 5 には CFDNより高い親和性を示した。この結果は、*E. faecalis* の PBP のうち PBP 3, 4, 5 が重要な作用点とする生方らの報告と一致し、このうち CFDNの親和性は PBP 3のみ高く、PBP 4, 5 に低いため、CFDNの抗菌力が CCL より優れ、AMPC より劣る結果になったと考える。しかし、CFDNの抗菌力が MHA と STA で異なる原因が PBP と何らかの関係があるかについては今後に残された問題である。*E. faecalis* の PBP のそれぞれの役割は明らかになっていないが、透過型電顕による形態変化の観察によると、CFDNとの接触により *E. faecalis* は正常な分裂が阻害され、その結果数個の cross wall の形成、cross wall 肥厚像および溶菌像が観察された。また、高濃度 (100 $\mu$ g/ml) の CFDN あるいは AMPC との接触により、CFDNでは多数の溶菌像がみられるのに反し、AMPC では一見正常細胞像が多数観察され、先の Eagle 効果と一致した現象が観察された。CFDNの *E. faecalis* に対する *in vivo* 活性を検討するため、本剤の経口吸収性が比較的良好なウサギを用いて、上行性尿路感染モデル系で AMPC, CFIX, CCL との治療効果を比較した。その結果、腎、腎盂尿中の生菌数および腎膿瘍形成の程度等のいずれにおいても、

CFDNの治療効果は、CFIX および CCL より有意に優れ AMPC と同程度であった。このことは、*E. faecalis* によるヒト尿路感染症に対し、CFDNは AMPC と同程度の有効性が期待できるものと思われる。しかし、この CFDNの治療効果が MHA での MIC (6.25 $\mu$ g/ml) あるいは STA での MIC (0.78 $\mu$ g/ml) のいずれと相関するのにかについては、AMPCの MIC (それぞれ0.78, 0.39  $\mu$ g/ml) および治療効果との比較においても、これだけの成績からは結論付けられない。この問題については、既に著者<sup>18)</sup>が第34回日本化学療法学会のパネルディスカッションにおいて、oxymino 系セフェム剤の cefotaxime (CTX), ceftizoxime (CZX) のマウス急性感染モデルでの治療効果は MH 培地 (Difco) での MIC を反映しているが、ラットおよびウサギでの上行性尿路感染モデルでは ST 培地 (栄研) での MIC を反映した治療効果が得られることを報告している。CTX, CZX の場合、それらの MIC 値が MH 培地で400 $\mu$ g/ml, ST 培地では0.39~0.78 $\mu$ g/ml と極端に異なるため、容易に相関性が論じられたが、CFDNの MIC は両培地でわずか3管のずれで、しかも、いずれの MIC でも十分尿中濃度として得られるため、解析はより複雑である。これを明確にするためには、CFDNと AMPC についてウサギでの感染部位の薬剤濃度および投与量と感染部位での生菌数の減少効果との相関性等の検討が必要であろう。

いずれにしても、CFDNはセフェム系経口剤としては初めての、*E. faecalis* に有効性を期待できる経口剤として、今後臨床評価を進める価値があると考えられる。

## 文 献

- 1) CEFIXIME 論文特集号, Chemotherapy 33 (S-6), 1985
- 2) T-2588論文特集号, Chemotherapy 34 (S-2), 1986
- 3) CS-807 (CEFPODOXIME PROXETIL) 論文特集号, Chemotherapy 36 (S-6), 1988
- 4) 峯 靖弘, 上村利明, 坂本 博, 俵 修一, 波多野和男, 渡辺裕二, 桑原章吾: 新しい経口セファロsporin 剤, Cefdinir の *in vitro* 抗菌作用. Chemotherapy 37 (S-2): 100~121, 1989
- 5) MIC 測定法改訂委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について. Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 6) 島田 馨, 宍戸 亮, 角尾道夫: Cefdinir の第 I 相臨床試験. Chemotherapy 37 (S-2): 208~245, 1989
- 7) 中川圭一, 渡辺健太郎, 服部信之, 横田栄作: BRL25000 (Clavulanic acid-Amoxicillin) 臨床第一相試験. Chemotherapy 30 (S-2): 98~110, 1982

- 8) SHIGI Y, KOJO H, WAKASUGI M, NISHIDA M : Difference between ceftizoxime and its stereoisomer in antibacterial activity and affinity for penicillin-binding proteins. *Antimicrob. Agents Chemother.* 19 : 393~396, 1981
- 9) KELLENBERGER E, RYTER A, SECHAUD J : Electron microscope study of DNA-containing plasms II. Vegetative and mature phase DNA as compared with normal bacterial nucleotide in different physiological states. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 4 : 671~678, 1958
- 10) SAHM D F, BAKER C N, JONES R N, THORNSBERRY C : Influence of growth medium on the *in vitro* activities of second- and third-generation cephalosporins against *Streptococcus faecalis*. *J. Clin. Microbiology*, 20 (3) : 561~567, 1984
- 11) MINE Y, OHASHI K, YOKOTA Y, WATANABE Y, SHIMIZU K, OHI S : Medium-associated discrepancies in cephalosporin susceptibility of *Streptococcus faecalis*. *RECENT ADVANCES IN CHEMOTHERAPY* (Antimicrobial Section, Edited by JOJI ISHIGAMI, University of Tokyo Press) : 486~487, 1985
- 12) 小林 寅, 池田文昭, 西田 実, 五島璣智子 : 7位 Oxyimino-cephem 誘導体の *Streptococcus faecalis* 及び *faecium* に対する抗菌活性の培地による変動と *in vivo* 効果。 *Chemotherapy* 30 (12) : 1047~1053, 1985
- 13) 金子裕憲, 北原 研, 富永登志, 岸 洋一, 新島端夫, 岩本幸子 : *Streptococcus faecalis* の分離された尿路感染症の臨床的検討。 *Chemotherapy* 32 (10) : 685~691, 1984
- 14) WILLIAMSON R, CALDERWOOD S B, MOELLERING Jr R C, TOMASZ A : Studies on the mechanism of intrinsic resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics on group D streptococci. *J. Gen. Microb.* 129 : 813~822, 1983
- 15) GEORGOPAPADAKOU N H, LIN F Y : Binding of  $\beta$ -lactam antibiotics to penicillin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus faecalis* relation to antibacterial activity. *Antimicrob. Agents Chemother.* 18 : 834~836, 1980
- 16) FONTANA R, CANEPARI P, SATTI G, COYETTE J : Identification of the lethal target of benzylpenicillin in *Streptococcus faecalis* by *in vivo* penicillin binding studies. *Nature* 287 : 70~72, 1980
- 17) 生方公子, 山下直子, 松下真理, 紺野昌俊, 増田真理子, 野々口律子 : 腸球菌及びメチシリン耐性のブドウ球菌に対する imipenem の抗菌作用。 *Chemotherapy* 34 (3) : 219~226, 1986
- 18) 峯 靖弘, 渡辺裕二, 横田好子, 大橋一文, 清水喜八郎 : 腸球菌に対するセフェムの抗菌活性。第34回日本化学療法学会総会(パネルディスカッション)にて発表。1986

## ANTI-ENTEROCOCCAL ACTIVITY OF CEFDINIR, A NEW ORALLY ACTIVE CEPHALOSPORIN

YASUHIRO MINE, YUJI WATANABE, TOSHIAKI KAMIMURA\*  
HIROSHI SAKAMOTO, KAZUO HATANO, YOSHIMI MATSUMOTO\*  
YOSHIKO YOKOTA and YOSHIMI WAKAI  
New Drug Research Laboratories\*and  
Product Development Laboratories, Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.  
2-1-6 Kashima, Yodogawa-ku, Osaka 532, Japan

SHOGO KUWAHARA

Department of Microbiology, School of Medicine, Toho University, Tokyo

The *in vitro* and *in vivo* activity of cefdinir (CFDN) against enterococci was investigated.

1. Against clinical isolates of *Enterococcus faecalis* (45 strains), the *in vitro* activity was moderate (MIC<sub>90</sub>: 12.5 µg/ml), and weaker than that of amoxicillin (AMPC) and clearly stronger than that of commercially available oral cepheps. However, against *Enterococcus faecium* and *Enterococcus avium* CFDN was weak or inactive.

2. The *in vitro* activity of CFDN against *E. faecalis* was markedly affected by the test medium. CFDN had moderate antibacterial activity (MIC<sub>90</sub>: 12.5 µg/ml), against clinical isolates of *E. faecalis* (n=45) in Mueller Hinton agar (Difco), but its activity was almost the same as that of AMPC when sensitivity test agar (Eiken) was used as the medium (MIC<sub>90</sub>: 1.56 µg/ml).

3. In the killing curves of *E. faecalis*, CFDN was dose-dependently bactericidal at the MIC and higher, like AMPC. However, AMPC concentrations higher than 16 times the MIC decreased the bactericidal activity (Eagle effect). The Eagle effect was also observed in residual viable *E. faecalis* counts after exposure to various concentrations of AMPC, but CFDN did not exhibit this effect. In the *in vitro* kinetic model simulating human urinary concentrations after a single oral dose of CFDN (200mg) and AMPC (250mg), the bactericidal activity of CFDN was superior to that of AMPC.

4. CFDN had very high affinity for PBPs 2 (ID<sub>50</sub>: <0.2 µg/ml) and 3 (<0.2 µg/ml) of *E. faecalis*.

5. In a transmission electron microscopy investigation of *E. faecalis* after exposure to the MIC (6.25 µg/ml) of CFDN for 2 hours, non-separating cells with a multiple thick cross-wall and a thickened cross-wall were noted and approx. 10% of these cells were lysed.

6. In ascending pyelonephritis induced by *E. faecalis* in rabbits, CFDN, given orally, was as effective as AMPC, and more effective than cefixime and cefaclor in reducing the number of viable bacteria in the kidneys.