

新しい経口用cephem系抗生物質BMY-28100の *in vitro*および*in vivo*抗菌力について

西野武志・松田早人・大槻雅子

京都薬科大学微生物学教室*

BMY-28100の*in vitro*および*in vivo*抗菌力について、cefixime(CFIX), cefaclor(CCL)と比較検討し以下の結果を得た。

BMY-28100はグラム陽性菌やグラム陰性菌に対して幅広い抗菌スペクトルを有し、特にグラム陽性の*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp.や*Enterococcus faecalis*に対してCCLやCFIXよりも優れた抗菌力を示した。一方、*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis*などのグラム陰性菌に対する抗菌力はCCLとほぼ同様であり、CFIXよりも劣っていた。また*Clostridium* spp.の嫌気性菌に対してはCCL同様、感受性を有していたが、*Bacteroides*に対しては抗菌力を示さなかった。

BMY-28100の*S. aureus*および*E. coli*に対する抗菌作用型式について検討したところ、その作用は殺菌的であり、しかもCCL同様菌量の影響を受けにくいことがわかった。しかし*E. faecalis*に対する殺菌力はいずれの薬剤もあまり強いものではなかった。

位相差顕微鏡により形態観察を行ったところ、*E. coli*ではいずれの薬剤の場合にもfilamentの形成や、spheroplast様構造が観察された。また*S. aureus*ではparadoxical effectが観察された。*E. faecalis*ではBMY-28100の作用により膨化像や溶菌像を認めた。

*S. aureus*および*E. coli*を用いたマウス実験的腹腔内感染症に対する治療効果では、BMY-28100は優れた治療効果を示し、そのED₅₀値はCCLやCFIXとほぼ同様であった。またその治療効果はCCL同様菌量の影響を受けにくいことがわかった。

Key words : BMY-28100, 抗菌スペクトル, 殺菌作用, 形態変化, 治療効果

BMY-28100は1983年にブリストル・マイヤーズ研究所株式会社東京研究所において合成された経口用cephem系抗生物質である。化学名は(6R, 7R)-7-[(R)-2-amino-2-(p-hydroxyphenyl) acetamido]-8-oxo-3-(1-propenyl)-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic acid monohydrateで、分子式C₁₈H₁₉N₃O₅・H₂O、分子量407.45の白色ないし淡黄白色の粉末であり、その構造式をFig. 1に示した。

本物質はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して幅広い抗菌スペクトルを有する非エステル型の経口用cephem系抗生物質で、β-lactamaseに対する安定性はcephalexin (CEX)とほぼ同様の傾向を示し、cefaclor (CCL)よりも安定であると報告されている¹⁾。

今回、私どもはBMY-28100の*in vitro*と*in vivo*抗菌力について、CCL²⁾およびcefixime(CFIX)³⁾と比較したので報告する。

I. 実験材料および実験方法

1. 使用菌株

教室保存の標準株および臨床材料より分離された*Staphylococcus aureus* 30株, *Staphylococcus epidermidis* 25

株, *Enterococcus faecalis* 29株, *Enterococcus faecium* 30株, *Enterococcus avium* 14株および*Branhamella catarrhalis* 19株を用いた。

2. 使用薬物

BMY-28100(ブリストル・マイヤーズ研究所株式会社), CCL(塩野義製薬)およびCFIX(藤沢薬品工業)のいずれも力価の明らかな標準品を使用した。

3. 感受性測定法

前培養培地にtrypto-soya broth(TSB; Nissui), 感受性測定用培地にheart infusion agar(HIA; Nissui)を用い、日本化学療法学会最小発育阻止濃度(MIC)測定法⁴⁾に準

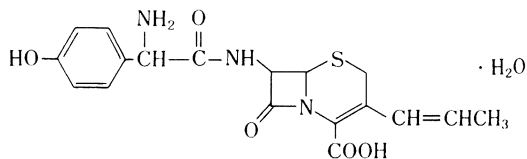


Fig. 1. Chemical structure of BMY-28100.

* 京都市山科区御陵中内町 5

じて行った。尚, *Streptococcus* spp., *Corynebacterium diphtheriae*には10%馬脱繊維血液加HIAを, *Haemophilus influenzae*には3% bacto-fildes enrichment (Difco)加HIAを, *B. catarrhalis*には10%馬脱繊維血液チョコレートHIAを用いた。*Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*には1%サプリメント加Gonococcus medium (栄研)を用い37℃ 48時間ローソク培養後にMICを求めた。そして嫌気性菌はGAM寒天培地 (Nissui)を用い, 嫌気性菌の最小発育阻止濃度(MIC)測定法⁵⁾に準じて, anaerobic system (N₂:80%, CO₂:10%, H₂:10%)内で24時間嫌気培養後にMICを求めた。

4. 増殖曲線に及ぼす影響

TSBで37℃ 18時間培養後の*S. aureus* 209-P JC, *E. faecalis* 7および*E. coli* K-12をheart infusion broth (HIB; Nissui)に接種し, 菌量が10⁷および10⁸cells/mlの時に各薬剤を添加した。以後経時的に生菌数を測定することにより, 殺菌作用に及ぼす菌量の影響について検討した。

5. マウス実験的腹腔内感染症に対する治療効果

被検菌は寒天斜面で18時間培養後, 10%非働化牛血清加HIBに約10⁹cells/mlとなるように懸濁させ-80℃で保存した。実験に際してはこれを速やかに融解後毒力に応じてHIBで適宜希釈し, 6% hog gastric mucin (半井化学薬品)と等量混合した。

上のごとく調整した*S. aureus* Smithおよび*E. coli* KC-14の菌液のそれぞれ0.5mlを1群10匹のddy系雄性マウス(体重19±1g)腹腔内に接種し, 感染を惹起した。治療は感染2時間後, 各薬物の0.5% sodium carboxymethyl cellulose (半井化学薬品)懸濁液0.2mlを1回経口投与することにより行った。感染7日後の生存率より, LITCHFIELD-WILCOXON法⁶⁾によりED₅₀値を求めた。

II. 実験結果

1. 抗菌スペクトル

教室保存の各種グラム陽性菌, グラム陰性菌および嫌気性菌に対するBMY-28100の抗菌力をCCLおよびCFIXと比較検討し, その結果をTable 1~6に示した。

BMY-28100はグラム陽性菌やグラム陰性菌に対して幅広い抗菌スペクトルを有し, 特に*S. aureus*, *S. epidermidis*あるいは*Streptococcus* spp.に対して良好な抗菌力を示した。BMY-28100の*S. aureus*や*Streptococcus* spp.などのグラム陽性菌に対する抗菌力はCCLやCFIXよりも優れていたが, *E. coli*や*Klebsiella*などのグラム陰性菌に対する抗菌力はCCLとほぼ同様であり, CFIXが最も優れた抗菌力を示した。また嫌気性の*Clostridium* spp.に対してはCCLやCFIXよりも優れた良好な抗菌力を有していたが, *Bacteroides* spp.に対してはCCLやCFIXと同様殆ど抗菌力を示さなかった。

2. 臨床分離株に対する感受性分布

臨床分離株に対する感受性分布および累積分布をFig. 2~7に示した。

a) *S. aureus*

S. aureus 30株に対するBMY-28100の抗菌力はFig. 2に示すように0.39 μg/mlにピークを有する分布を示し, CCLやCFIXに比べて優れた抗菌力を示した。

b) *S. epidermidis*

S. epidermidis 25株のBMY-28100に対する感受性分布は2相性を示し, 0.1~12.5 μg/mlと広範囲な分布を示したが, ピークは0.2 μg/mlに有り, CCLやCFIXに比べて優れた抗菌力を示した。

c) *E. faecalis*

E. faecalis 29株に対するBMY-28100の抗菌力は6.25 μg/mlにピークを有する分布を示し, 対照薬のCCLやCFIXよりも優れていたが, その抗菌力は*S. aureus*などの他のグラム陽性菌ほど良好ではなかった。

d) *E. faecium*

E. faecium 30株に対するBMY-28100の抗菌力は3.13~>100 μg/mlに分布し, CCLやCFIXより優れていた。

e) *E. avium*

E. avium 14株に対するBMY-28100の抗菌力は1.56 μg/mlにピークを有する分布を示し, CCLよりも約2倍優れており, CFIXよりも明らかに優れていた。

f) *B. catarrhalis*

B. catarrhalis 19株のBMY-28100に対する感受性分布は3.13 μg/mlにピークを有していたが, その抗菌力はCCLやCFIXより劣っていた。

3. 殺菌作用

BMY-28100, CCLおよびCFIXの*S. aureus* 209-P JC, *E. faecalis* 7および*E. coli* K-12に対する殺菌作用について検討した結果をFig. 8~13に示した。

a) *S. aureus*

10⁷および10⁸cells/mlの時点でBMY-28100およびCCLを作用させた時の結果をFig. 8, 9に示したが, 両薬剤ともほぼ同様な殺菌作用を示し, いずれの菌量に於いても低濃度よりも高濃度になるに従って溶菌, 殺菌されにくくなる, いわゆるparadoxical effect (反転現象)が観察された。

b) *E. faecalis*

*E. faecalis*に対するBMY-28100およびCCLの殺菌力を接種菌量を変え検討した結果をFig. 10, 11に示したが, 両薬剤の殺菌力は強いものでなかった。

c) *E. coli*

*E. coli*に対するBMY-28100, CFIXおよびCCLの殺菌力を接種菌量を変えて検討した結果をFig. 12, 13に示

Table 1. Antibacterial spectrum (Gram-positive bacteria)

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
	BMV-28100	CFIX	CCL
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P JC	0.78	25	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	0.78	25	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	6.25	25	12.5
<i>Staphylococcus aureus</i> Neumann	1.56	12.5	3.13
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	0.78	12.5	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 80	1.56	12.5	12.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.56	>100	3.13
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23	0.025	0.2	0.2
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	0.1	0.2	0.78
<i>Streptococcus pyogenes</i> C-203	0.05	0.1	0.39
Viridans group <i>Streptococcus</i>	100	>100	>100
<i>Enterococcus faecalis</i>	50	>100	>100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type I	0.1	0.39	0.78
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type II	0.2	0.39	0.78
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type III	0.2	0.39	0.78
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	0.2	50	0.39
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.013	1.56	0.025
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.2	50	0.2
<i>Bacillus anthracis</i>	0.2	>100	0.78

CFIX : cefixime CCL : cefaclor

(10⁸ cells/ml)

Table 2. Antibacterial spectrum (Gram-positive bacteria)

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
	BMV-28100	CFIX	CCL
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P JC	0.39	25	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	0.39	25	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	3.13	25	6.25
<i>Staphylococcus aureus</i> Neumann	0.78	12.5	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	0.39	12.5	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 80	0.39	12.5	1.56
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.56	100	1.56
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23	0.025	0.1	0.2
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	0.1	0.1	0.39
<i>Streptococcus pyogenes</i> C-203	0.05	0.1	0.39
Viridans group <i>Streptococcus</i>	12.5	>100	50
<i>Enterococcus faecalis</i>	12.5	>100	50
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type I	0.1	0.2	0.39
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type II	0.1	0.39	0.78
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type III	0.1	0.2	0.39
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	0.2	25	0.39
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	≤ 0.013	1.56	0.013
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.1	1.56	0.05
<i>Bacillus anthracis</i>	0.1	100	0.39

CFIX : cefixime CCL : cefaclor

(10⁶ cells/ml)

したが、3 薬剤とも薬剤濃度に対応した殺菌力が見られ、その殺菌力はいずれも菌量の影響を受けにくいものであった。

4. 形態変化

S. aureus 209-P JC, *E. faecalis* 7および*E. coli* K-12の形態変化を観察した結果をFig. 14～17に示した。

a) *S. aureus*

*S. aureus*にBMY-28100を作用させた時の形態変化をFig. 14に示した。0.39 $\mu\text{g/ml}$ や1.56 $\mu\text{g/ml}$ 作用では溶菌像や膨化像が観察されたが、6.25 $\mu\text{g/ml}$ や25 $\mu\text{g/ml}$ 作用では溶菌像を殆ど観察することができなかった。

b) *E. faecalis*

*E. faecalis*の形態変化をFig. 15に示したが、BMY-28100の0.39 $\mu\text{g/ml}$ および1.56 $\mu\text{g/ml}$ の作用ではcontrolとほぼ同様に増殖していく様子が観察され、6.25 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度では膨化像や多くの溶菌像を認めた。

c) *E. coli*

*E. coli*での形態変化をFig. 16に示した。0.1 $\mu\text{g/ml}$ 作用ではcontrolとほぼ同様に増殖していく様子が観察され、0.39 $\mu\text{g/ml}$ 作用では菌体の伸長化が、1.56 $\mu\text{g/ml}$ および6.25 $\mu\text{g/ml}$ 作用では顕著な伸長化や溶菌像を認めた。また25 $\mu\text{g/ml}$ 作用ではあまり伸長化せずに溶菌していく

Table 3. Antibacterial spectrum (Gram-negative bacteria)

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
	BMY-28100	CFIX	CCL
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0.78	≤ 0.006	0.2
<i>Neisseria meningitidis</i>	0.78	≤ 0.006	1.56
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211	1.56	0.05	1.56
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	6.25	0.39	6.25
<i>Escherichia coli</i> NIH	3.13	0.78	3.13
<i>Escherichia coli</i> K-12	3.13	0.39	6.25
<i>Escherichia coli</i> KC-14	1.56	0.2	1.56
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	>100	100	>100
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.39	0.05	0.39
<i>Salmonella typhi</i> O-901	0.39	0.05	0.78
<i>Salmonella paratyphi</i> A	1.56	0.05	1.56
<i>Salmonella paratyphi</i> B	0.78	0.025	0.78
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.78	0.05	0.78
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	1.56	0.39	3.13
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	1.56	0.39	1.56
<i>Shigella boydii</i> EW-28	3.13	0.78	3.13
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.78	0.39	6.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	0.78	0.025	0.78
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	>100	3.13	>100
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	>100	3.13	>100
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	>100	6.25	>100
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	>100	0.2	>100
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	3.13	0.013	6.25
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	>100	0.013	>100
<i>Morganella morganii</i> Kono	>100	50	>100
<i>Providencia rettgeri</i> NIH 96	3.13	≤ 0.006	12.5
<i>Providencia alcalifaciens</i> NIH 118	50	≤ 0.006	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No.12	>100	100	>100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> Ac-54	100	12.5	50
<i>Alcaligenes faecalis</i> IFO 1311	3.13	6.25	1.56

CFIX cefixime CCL cefaclor

(10^8 cells/ml)

像が観察された。これらの*E. coli*での位相差顕微鏡による観察結果をまとめたのがFig. 17でBMY-28100はCCLと同様フィラメント形成濃度域は狭く0.39 μ g/mlの濃度からフィラメントの形成が、また1.56 μ g/mlの濃度から溶菌像が観察された。

5. マウス実験の腹腔内感染症に対する治療効果
BMY-28100の*S. aureus*および*E. coli*を用いたマウス実験の腹腔内感染症に対する治療効果をTable 7, 8に示した。
S. aureus Smithによる感染症に対するBMY-28100の

ED₅₀ 値は、接種菌量が 5×10^5 cells/mouseの場合0.0013mg/mouseであり、 5×10^7 cells/mouseの場合0.0058mg/mouseで、CCLと殆ど同様の治療効果を示した。また*E. coli* KC-14に対するBMY-28100のED₅₀値は、 1.9×10^5 および 1.9×10^7 cells/mouseの接種菌量の場合それぞれ0.022および0.043mg/mouseであり、比較薬のCFIXおよびCCLとほぼ同様の治療効果であった。いずれの菌株に於いてもBMY-28100の治療効果は比較薬よりも若干菌量の影響を受けにくいことが判った。

Table 4. Antibacterial spectrum (Gram-negative bacteria)

Organism	MIC (μ g/ml)		
	BMY-28100	CFIX	CCL
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0.78	≤ 0.006	0.1
<i>Neisseria meningitidis</i>	0.39	≤ 0.006	0.39
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211	1.56	0.025	1.56
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	3.13	0.39	1.56
<i>Escherichia coli</i> NIH	1.56	0.2	0.78
<i>Escherichia coli</i> K-12	1.56	0.2	1.56
<i>Escherichia coli</i> KC-14	0.78	0.2	0.78
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	12.5	1.56	50
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.39	0.025	0.2
<i>Salmonella typhi</i> O-901	0.2	0.05	0.39
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.78	0.013	0.78
<i>Salmonella paratyphi</i> B	0.39	0.013	0.39
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.78	0.013	0.39
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	1.56	0.2	1.56
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.78	0.39	0.78
<i>Shigella boydii</i> EW-28	3.13	0.39	1.56
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.78	0.2	0.78
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	0.78	0.025	0.39
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	50	1.56	>100
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	100	1.56	>100
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	100	1.56	>100
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	50	0.1	>100
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	1.56	≤ 0.006	1.56
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	12.5	0.013	12.5
<i>Morganella morganii</i> Kono	100	0.2	>100
<i>Providencia rettgeri</i> NIH 96	0.39	≤ 0.006	0.39
<i>Providencia alcalifaciens</i> NIH 118	6.25	≤ 0.006	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No.12	>100	50	>100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> Ac-54	50	12.5	25
<i>Alcaligenes faecalis</i> IFO 1311	1.56	3.13	0.78

CFIX : cefixime CCL : cefaclor (10⁶ cells/ml)

Ⅲ. 総括および考察

BMY-28100はグラム陽性菌やグラム陰性菌に対して幅広い抗菌スペクトルを有し、特に*S. aureus*などのグラム陽性菌に対して対照薬として用いたCCLやCFIXよりも優れた抗菌力を示した。一般的にグラム陽性菌に対する β -lactam抗生物質の抗菌力は1) β -lactamaseに対する安定性、2) ペニシリン結合蛋白質(PBPs)に対する親和性により影響を受けることが知られている。BMY-

28100の β -lactamaseに対する安定性はCCLよりも安定であることが報告されており¹⁾、 β -lactamase産生菌に対してBMY-28100の方がCCLよりも良好な抗菌力を示すのは、この性質に基づくものと思われる。また β -lactamaseを産生しないグラム陽性菌に対しても強い抗菌力を示すことより、PBPsに対してもBMY-28100の方がCCLやCFIXよりも優れた親和性を示すことが推察される。

Table 5. Antibacterial spectrum (anaerobic bacteria)

Organism	MIC (μ g/ml)		
	BMY-28100	CFIX	CCL
<i>Clostridium tetani</i>	0.2	6.25	1.56
<i>Clostridium perfringens</i>	1.56	12.5	3.13
<i>Clostridium sporogenes</i> GAI 0005	1.56	25	3.13
<i>Bacteroides fragilis</i> GM 7000	100	50	>100
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	>100	100	>100
<i>Bacteroides fragilis</i> V-240-2	>100	>100	>100
<i>Bacteroides fragilis</i> V-283	>100	>100	>100
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> 5600	>100	>100	>100
<i>Bacteroides distasonis</i> clin-99-3	100	50	>100
<i>Bacteroides vulgatus</i> ES-14	100	50	100
<i>Bacteroides ovatus</i> Ju-6-1	>100	50	>100

CFIX cefixime CCL : cefaclor

(10⁸ cells/ml)

Table 6. Antibacterial spectrum (anaerobic bacteria)

Organism	MIC (μ g/ml)		
	BMY-28100	CFIX	CCL
<i>Clostridium tetani</i>	0.1	1.56	0.78
<i>Clostridium perfringens</i>	0.78	6.25	1.56
<i>Clostridium sporogenes</i> GAI 0005	0.39	25	1.56
<i>Bacteroides fragilis</i> GM 7000	25	6.25	100
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	25	25	>100
<i>Bacteroides fragilis</i> V-240-2	>100	>100	>100
<i>Bacteroides fragilis</i> V-283	>100	>100	>100
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> 5600	>100	>100	>100
<i>Bacteroides distasonis</i> clin-99-3	25	25	>100
<i>Bacteroides vulgatus</i> ES-14	12.5	3.13	50
<i>Bacteroides ovatus</i> Ju-6-1	50	50	>100

CFIX cefixime CCL : cefaclor

(10⁶ cells/ml)

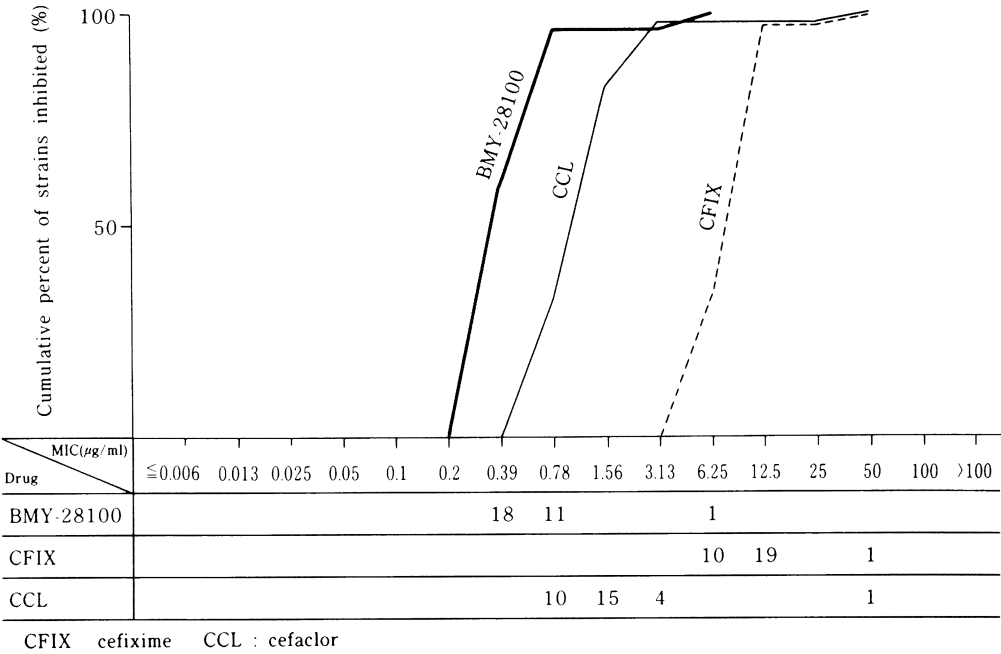


Fig. 2. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Staphylococcus aureus* (10^6 cells/ml).

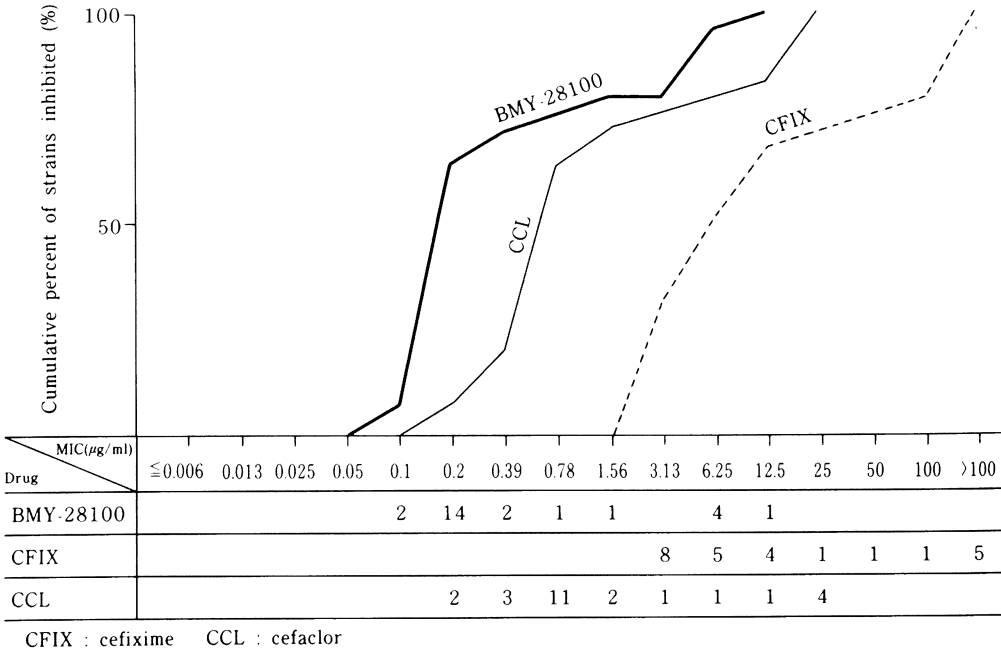


Fig. 3. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis* (10^6 cells/ml).

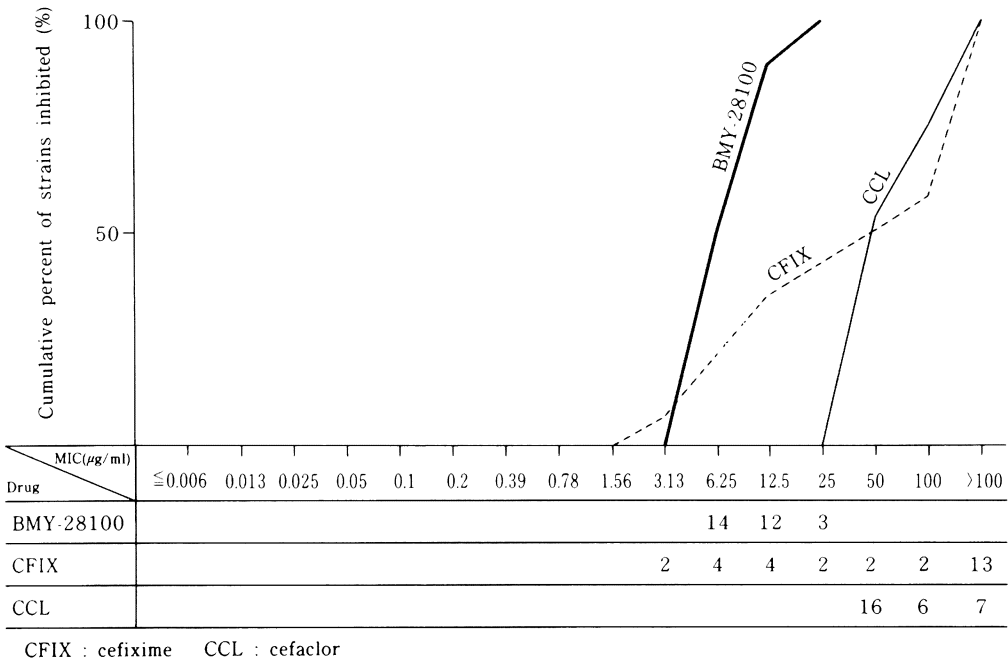


Fig. 4. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Enterococcus faecalis* (10^6 cells/ml).

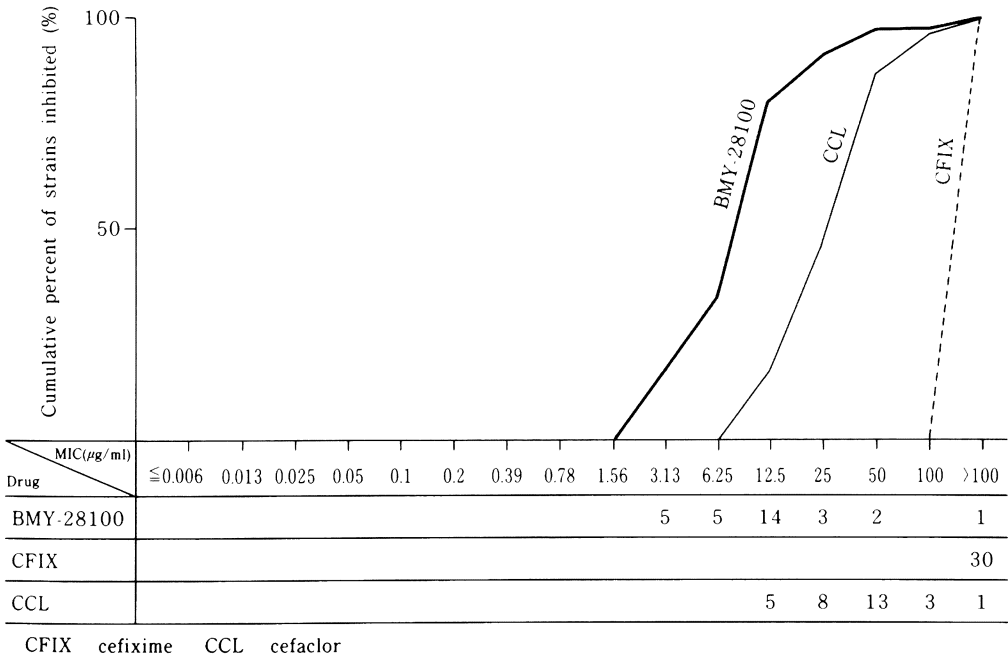


Fig. 5. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Enterococcus faecium* (10^6 cells/ml).

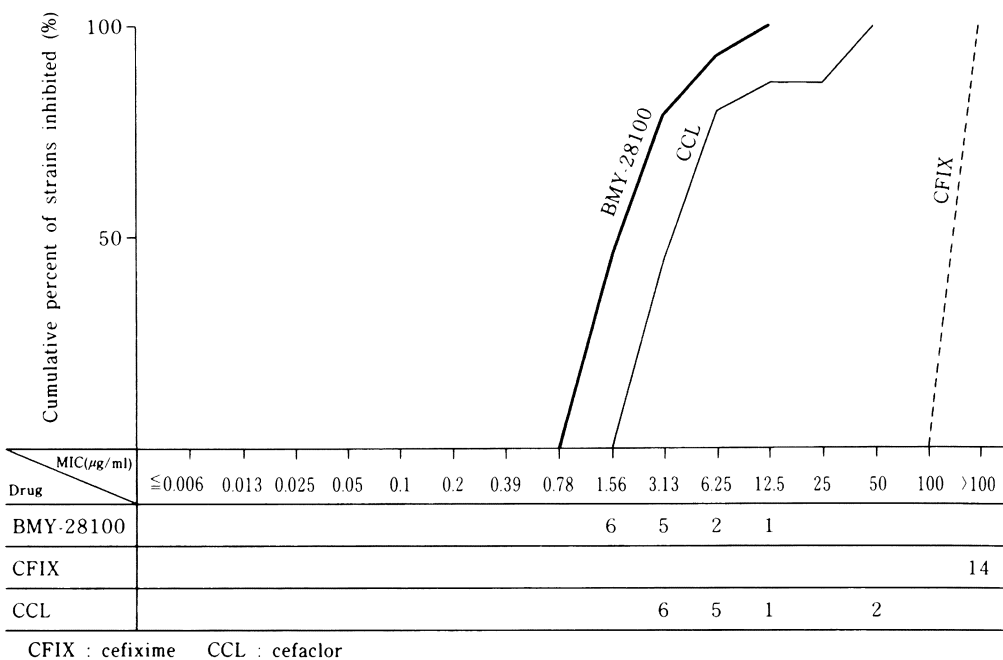


Fig. 6. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Enterococcus avium* (10⁶cells/ml).

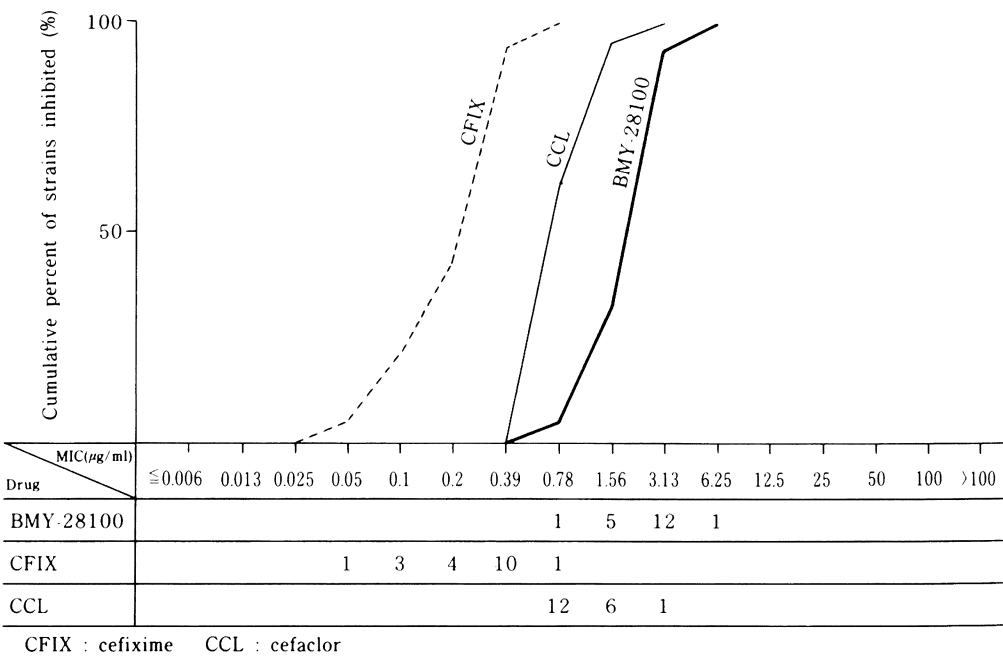


Fig. 7. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Branhamella catarrhalis* (10⁶cells/ml).

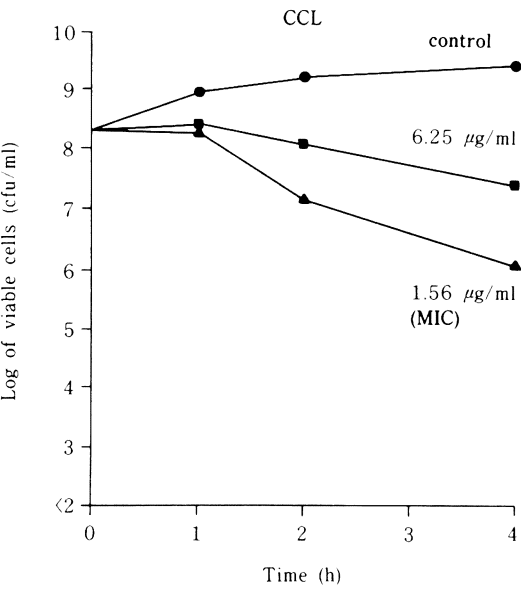
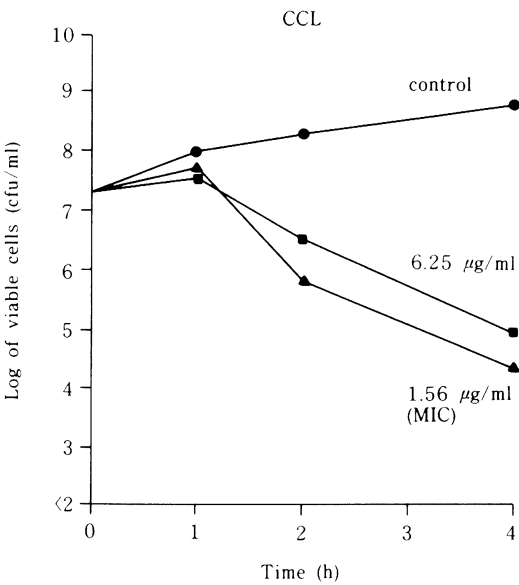
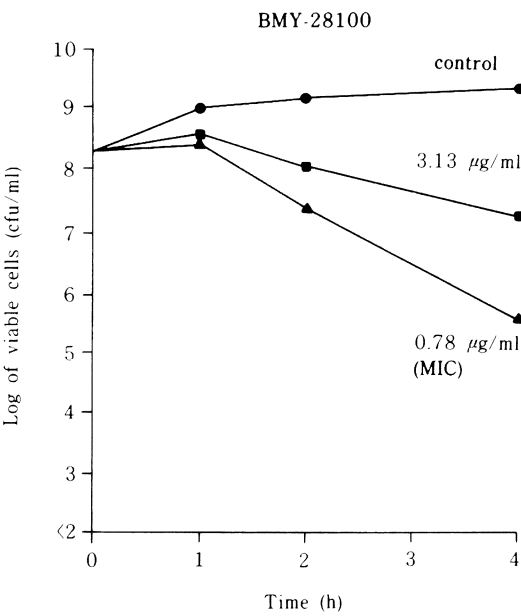
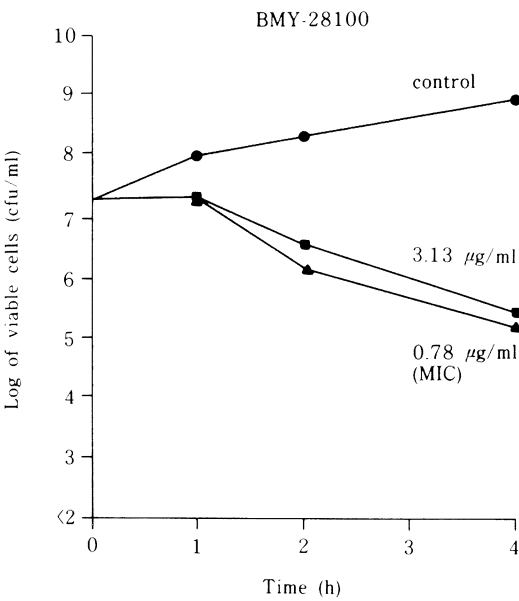


Fig. 8. Effect of BMY-28100 and cefaclor (CCL) on the viability of *Staphylococcus aureus* 209P JC.

Fig. 9. Effect of BMY-28100 and cefaclor (CCL) on the viability of *Staphylococcus aureus* 209P JC.

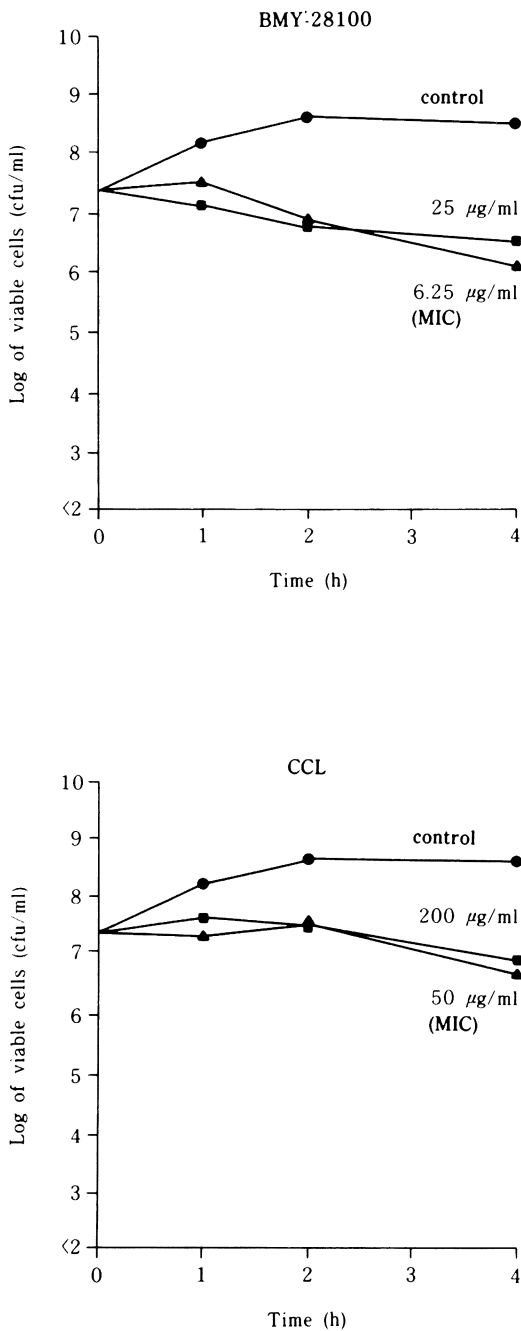


Fig. 10. Effect of BMY-28100 and cefaclor (CCL) on the viability of *Enterococcus faecalis* 7.

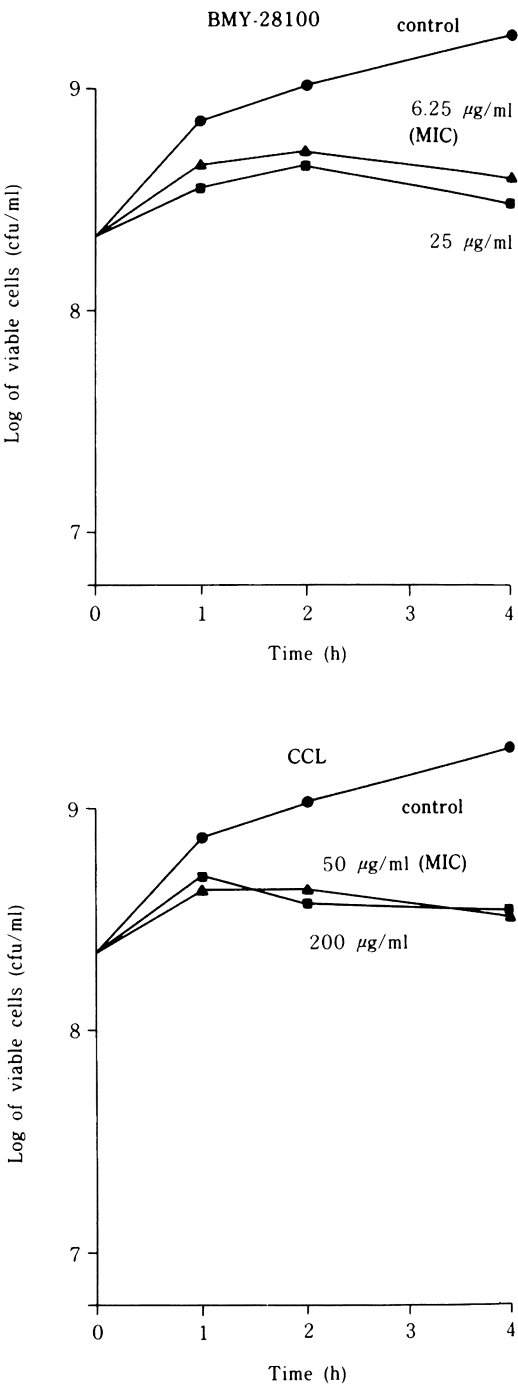


Fig. 11. Effect of BMY-28100 and cefaclor (CCL) on the viability of *Enterococcus faecalis* 7.

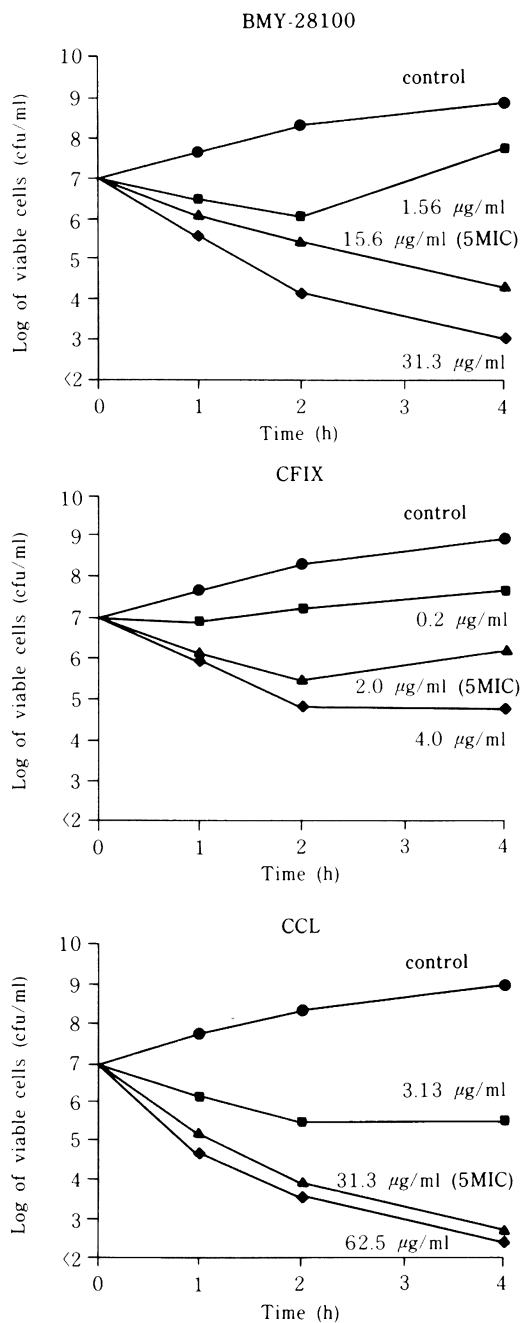


Fig. 12. Effect of BMY-28100, cefixime (CFIX) and cefaclor (CCL) on the viability of *Escherichia coli* K-12.

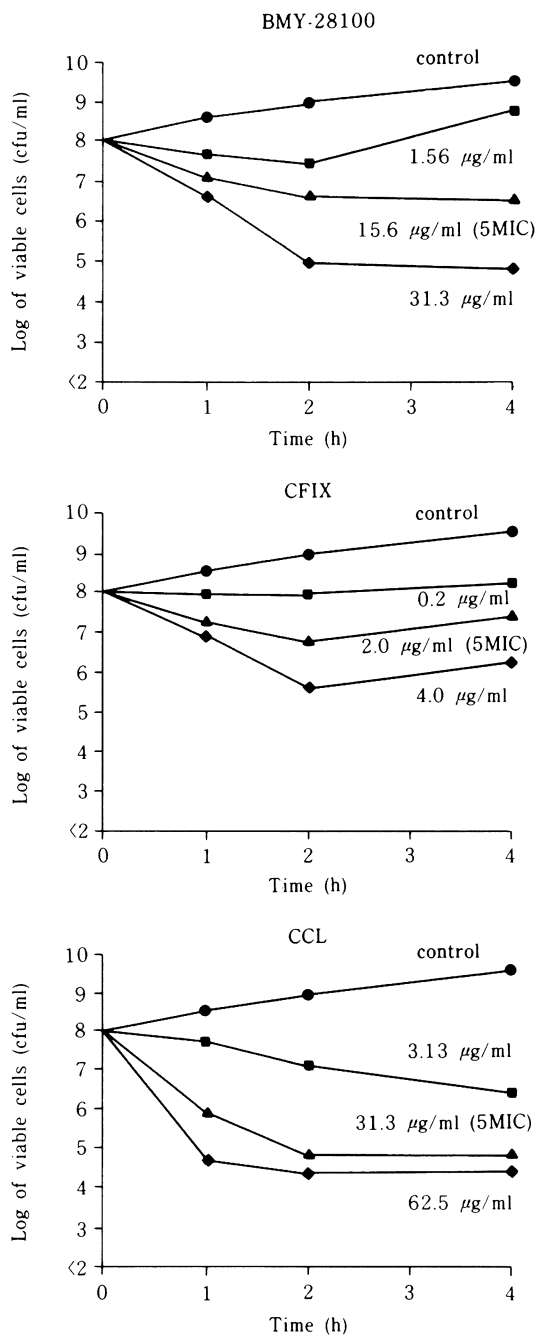


Fig. 13. Effect of BMY-28100, cefixime (CFIX) and cefaclor (CCL) on the viability of *Escherichia coli* K-12.

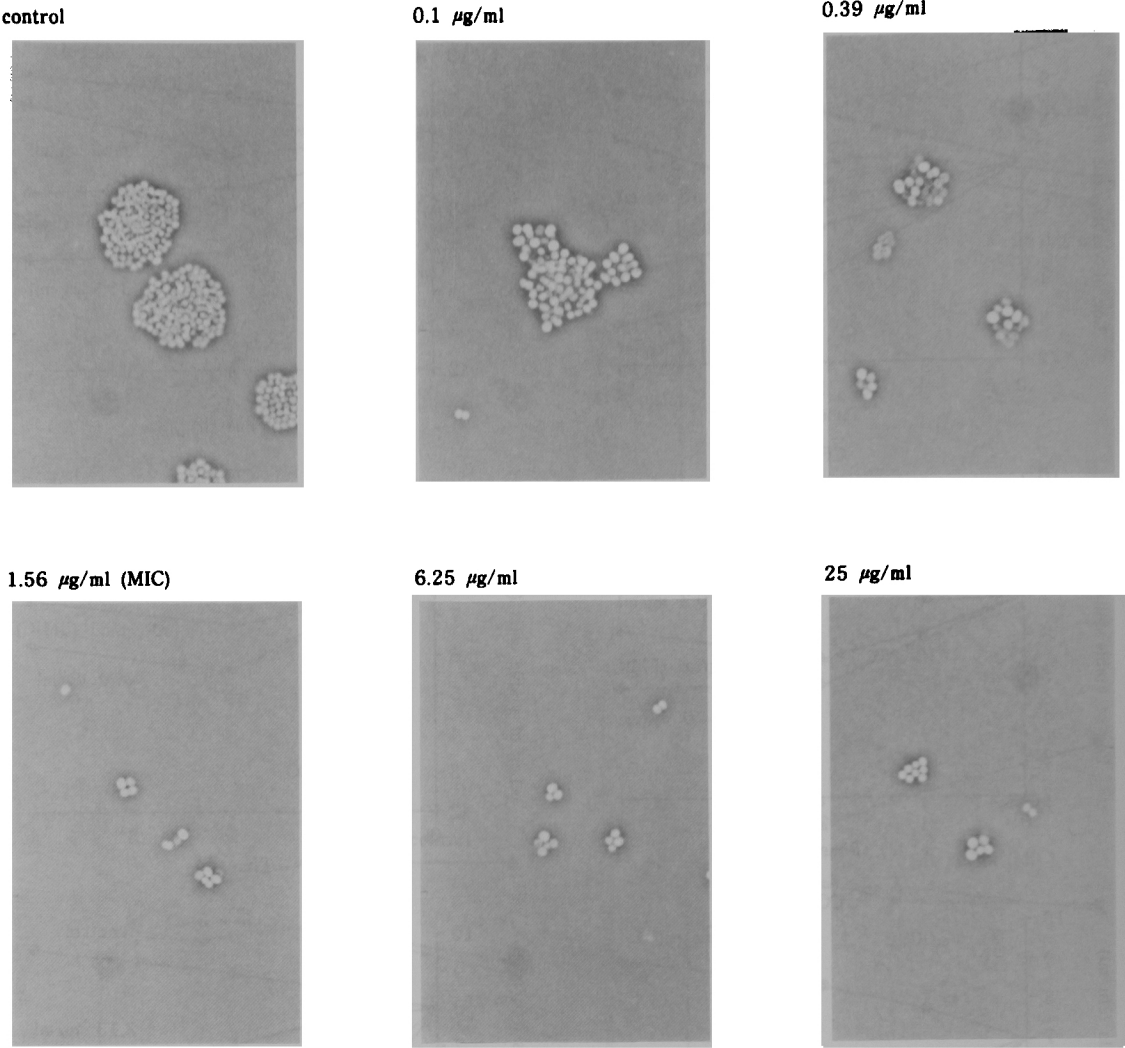


Fig. 14. Phase-contrast micrographs of *Staphylococcus aureus* 209P JC exposed to BMY-28100 for 4 hours.

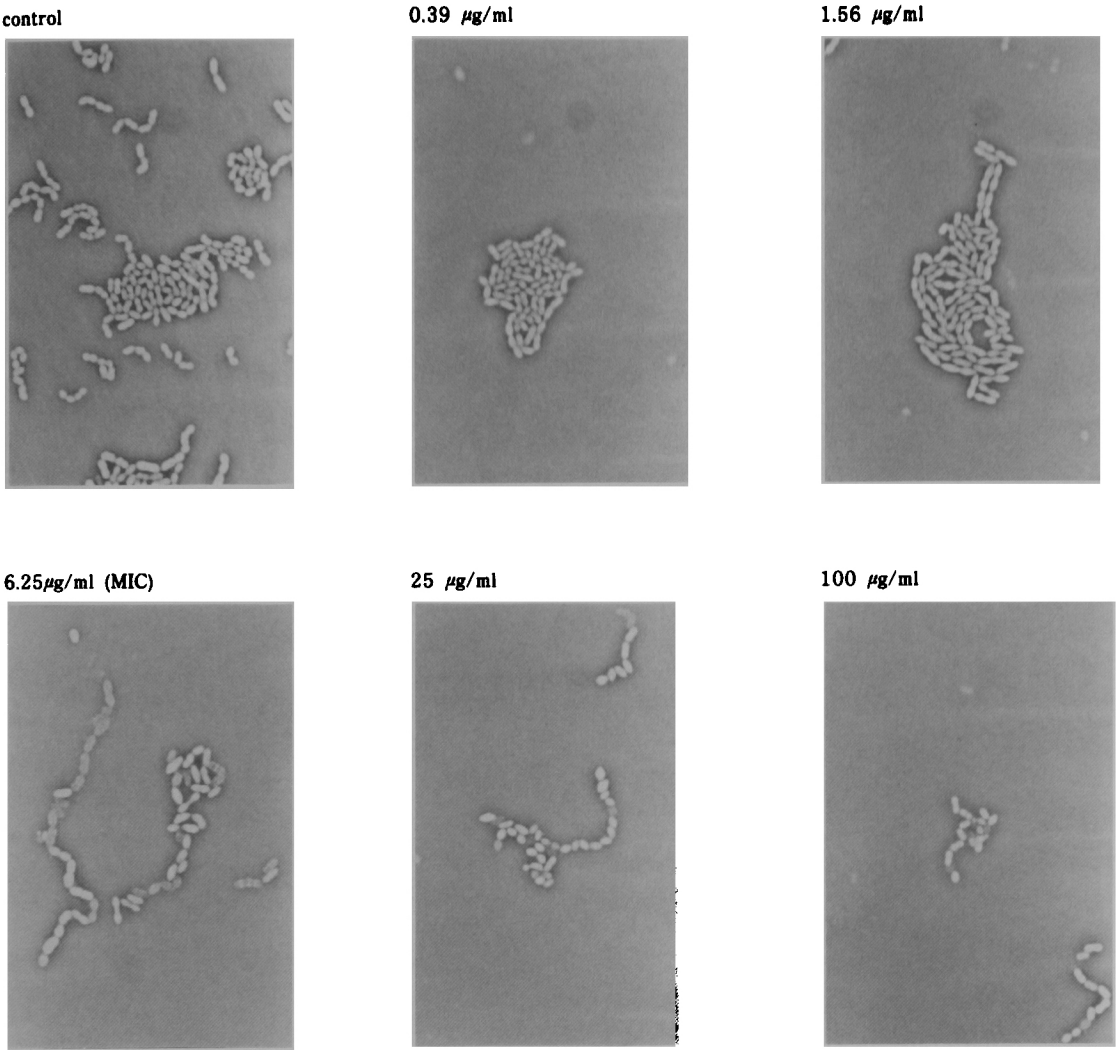
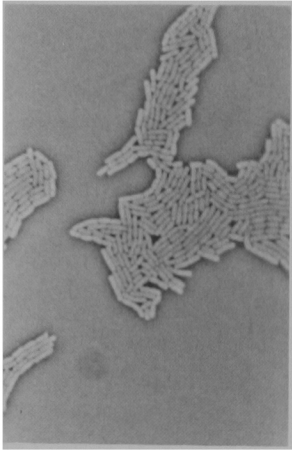
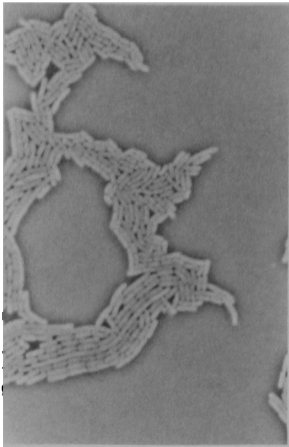


Fig. 15. Phase-contrast micrographs of *Enterococcus faecalis* 7 exposed to BMY-28100 for 3 hours.

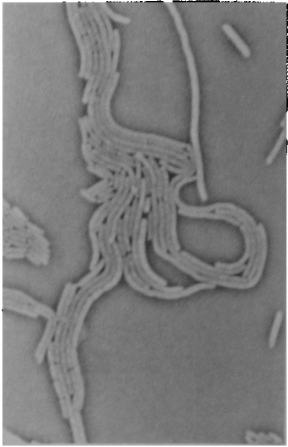
control



0.1 $\mu\text{g/ml}$



0.39 $\mu\text{g/ml}$



1.56 $\mu\text{g/ml}$ (MIC)



6.25 $\mu\text{g/ml}$



25 $\mu\text{g/ml}$



Fig. 16. Phase-contrast micrographs of *Escherichia coli* K-12 exposed to BMY-28100 for 3 hours.

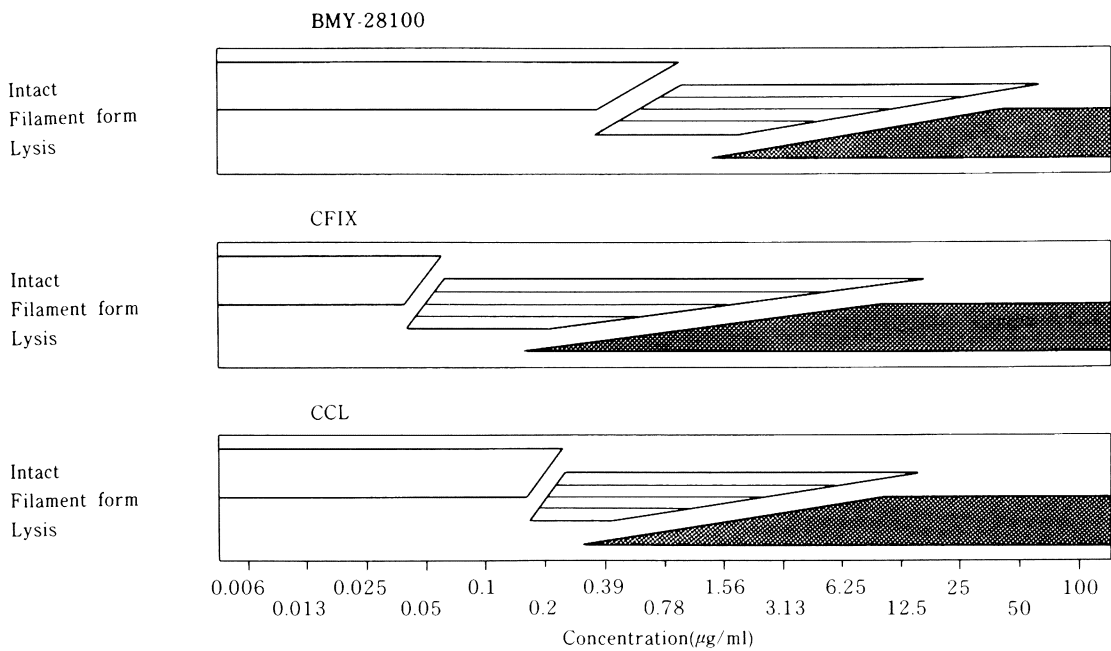


Fig. 17. Morphological effect of BMY-28100, cefixime (CFIX) and cefaclor (CCL) on *Escherichia coli* K-12 after 3 hours exposure.

Table 7. Protective effect of BMY-28100 and cefaclor (CCL) in experimental *Staphylococcus aureus* Smith infection in mice

Drug	Inoculum size (cells/mouse)	MIC (μg/ml)	ED ₅₀ (mg/mouse)
BMY-28100	5.0 × 10 ⁵	0.39	0.0013 (0.00098-0.0018)
CCL	(14 LD ₅₀)	0.78	0.0011 (0.00081-0.0015)
BMY-28100	5.0 × 10 ⁷	0.39	0.0058 (0.0043-0.0077)
CCL	(1400 LD ₅₀)	0.78	0.0072 (0.0051-0.010)

() : 95% confidence limits

Table 8. Protective effect of BMY-28100, cefixime (CFIX) and cefaclor (CCL) in experimental *Escherichia coli* KC-14 infection in mice

Drug	Inoculum size (cells/mouse)	MIC (μ g/ml)	ED ₅₀ (mg/mouse)
BMY-28100		0.78	0.022 (0.016-0.031)
CFIX	1.9×10^5 (136 LD ₅₀)	0.2	0.020 (0.015-0.026)
CCL		0.78	0.030 (0.022-0.041)
BMY-28100		0.78	0.043 (0.032-0.058)
CFIX	1.9×10^7 (13600 LD ₅₀)	0.2	0.070 (0.050-0.10)
CCL		0.78	0.050 (0.036-0.067)

() : 95% confidence limits

一方グラム陰性菌に対するBMY-28100の抗菌力はCCLとほぼ同様であり、CFIXよりも劣っていた。

これはCFIXの方がBMY-28100やCCLよりも β -lactamaseに安定であり、PBPsに対しても優れた親和性を示すためと考えられる。

*S. aureus*に対する殺菌作用および位相差顕微鏡による形態観察によりBMY-28100のparadoxical effectが観察されたが、 β -lactam抗生物質によるこのような現象は昔より知られており、BMY-28100も濃度が高くなるに従って自己融解酵素に対して何らかの影響を及ぼすものと思われる。

増殖曲線に及ぼす影響およびマウス実験的腹腔内感染症に対する治療効果より、*E. coli*などでBMY-28100はCCL同様CEXで報告^{7,8)}されているより菌量の影響を受けにくいことが確認された。この原因の一つとしてBMY-28100は位相差顕微鏡で観察されたように、フィラメント形成濃度域の幅が狭くCEXで報告されているより、より低濃度で溶菌が誘導されることが考えられる。

文 献

1) 第37回日本化学療法学会総会, 新薬シンポジウム。BMY-28100, 東京, 1989
2) 西野武志, 久保田満寿代: 新しい経口用セファ

ロスポリン系抗生物質cefaclorに関する細菌学的評価。Chemotherapy 27(S-7): 38~58, 1979
3) 西野武志, 尾花芳樹, 後藤季美, 国安朋子, 谷野輝雄: Cefixime(CFIX)に関する細菌学的評価。Chemotherapy 33(S-6): 75~96, 1985
4) 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
5) 日本化学療法学会嫌気性菌MIC測定法検討委員会: 嫌気性菌の最小発育阻止濃度(MIC)測定法。Chemotherapy 27: 559~560, 1979
6) LITCHFIELD J T, WILCOXON F: A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharmacol. Exp. Ther. 96: 99~113, 1949
7) 中沢昭三, 小野尚子, 西野武志, 川辺晴英, 大久保幸子, 辻千寿子: 経口合成Cephalosporin "Cephalexin" に関する細菌学的研究。Jap. J. Antibiotics 22: 269~275, 1969
8) 西野武志, 中野一行, 谷野輝雄: Cefadroxilに関する細菌学的評価。Chemotherapy 28(S-2): 1~21, 1980

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF BMY-28100, A NEW ORAL CEPHEM ANTIBIOTIC

TAKESHI NISHINO, HAYATO MATSUDA and MASAKO OTSUKI

Department of Microbiology, Kyoto Pharmaceutical University

5 Nakauchi-cho, Misasagi, Yamashina-ku, Kyoto 607, Japan

We compared the *in vitro* and *in vivo* activity of BMY-28100 with those of cefixime (CFIX) and cefaclor (CCL). The following results were obtained.

BMY-28100 had a broad antibacterial spectrum against Gram-positive and -negative bacteria and it was more potent than CCL or CFIX against *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. and *Enterococcus faecalis* of Gram-positive bacteria. On the other hand, its activity against Gram-negative bacteria, such as *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. and *Proteus mirabilis* was almost equal to that of CCL and inferior to that of CFIX. BMY-28100 also showed activity against *Clostridium* spp. of anaerobic bacteria, but had no activity against *Bacteroides* spp.

As for its effect on the growth of *S. aureus* and *E. coli*, BMY-28100 showed strong bactericidal activity. Its bactericidal activity, like that of CCL, was not affected by inoculum size. Bactericidal activity against *E. faecalis*, however, was weak in all the drugs used in this study.

In a morphological examination of *E. coli* by phase-contrast microscope, all the drugs tested induced the formation of filamentous cells and spheroplast-like structures. In *S. aureus*, paradoxical effect of BMY-28100 was observed. BMY-28100 also produced swelling and lysis of *E. faecalis* cells.

BMY-28100 showed excellent efficacy in experimental *S. aureus* and *E. coli* intraperitoneal infections in mice, and its ED₅₀ was similar to those of CCL and CFIX. Its therapeutic effect, like that of CCL, was not affected by the inoculum size of either strain.