

## BMY-28100の試験管内抗菌力、PBP<sub>s</sub>に対する結合親和性、および血清補体、マウス培養M $\phi$ との協力的殺菌作用

横田 健・神智恵子・鈴木映子・新井京子

順天堂大学医学部細菌学教室\*

BMY-28100の試験管内抗菌力は、*Staphylococcus aureus*, methicillin resistant *S. aureus*, coagulase-negative staphylococci, *Streptococcus pyogenes*, それ以外の $\beta$ -streptococci, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, ampicillin 耐性 *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Proteus inconstans*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Xanthomonas maltophilia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, および *Bacteroides fragilis* の25~51臨床分離株に対するMIC<sub>70</sub>として、それぞれ0.78, >100, 0.78, 0.025, 0.2, 0.2, 12.5, >100, 3.13, 1.56, 3.13, 1.56, >100, >100, 25, 25, >100, 25, >100, >100, >100, >100, >100, および25 $\mu$ g/mlで、グラム陽性菌ではcefalor(CCL), cefixime(CFIX)およびcefteram pivoxil(CFTM-PI)に優る場合が多く、グラム陰性菌にはCCL同様、CFIXとCFTM-PIに劣った。BMY-28100は*S. aureus*のPBP 1と2, *Staphylococcus epidermidis*のPBP 1と3に、CCLより強い結合親和性を示した。 $\beta$ -lactamase非産生株では抗菌力とPBPに対する結合親和性の強弱の間に高い相関性が認められた。*E. coli* NIHJ JC-2の菌細胞は、1/2MIC以上のBMY-28100存在下でマウス培養M $\phi$ に良く食菌・消化されたが、補体との協力作用は中等度であった。

**Key words** : BMY-28100, PBP, 補体との協力, M $\phi$ との協力, *Staphylococcus aureus*

BMY-28100は、7 $\beta$ 側鎖にアミノ基を持つ在来型の経口用cephem系抗生物質であるが、グラム陽性菌に対する抗菌力が既存のものより強く、経口吸収も良いといわれる。本研究の目的は、BMY-28100の評価の一助として、各種細菌臨床分離株に対する試験管内抗菌力、作用点であるペニシリン結合蛋白質(PBP<sub>s</sub>)に対する結合親和性、および補体・マクロファージ(M $\phi$ )との協力的殺菌作用を検討したものである。

### I. 材料と方法

#### 1. 薬剤

BMY-28100は、ブリストル・マイヤーズ研究所株式会社から供与された。対照薬としてcefalor(CCL:塩野義製薬), cefixime(CFIX:藤沢薬品工業)およびcefteram pivoxil(CFTM-PI:富山化学)の純末を使用した。

#### 2. 被検菌株

順天堂大学附属順天堂医院・中央検査室および東京都老人研究所附属病院・臨床検査室から分与された20~51臨床分離株の*Staphylococcus aureus*, methicillin resistant *S. aureus* (MRSA), coagulase-negative staphylococci (CNS), *Streptococcus pyogenes*, A群以外の $\beta$ -streptococci, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, ampicillin

(ABPC)-resistant *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Proteus inconstans*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Xanthomonas maltophilia*, *Acinetobacter calcoaceticus* および *Bacteroides fragilis* を被検菌として使用した。

#### 3. 最小発育阻止濃度(MIC)の測定法

日本化学療法学会法<sup>1)</sup>による平板希釈法で測定した。被検菌を良好な発育を得るためL-broth中で一夜振盪培養し、グラム陽性菌は滅菌生理食塩水で100倍に、グラム陰性菌は1,000倍に希釈し接種菌液とした。ただし*S. pyogenes*と $\beta$ -streptococciはHI-brothで、*H. influenzae*はHI-brothにFildes extractを5%になるように加えたもので前培養し、又*B. fragilis*はGAM-brothで嫌気培養した。*S. pneumoniae*の接種菌液は一夜培養した血液寒天上の集落をかき取り、HI-brothに吸光度約0.8 OD(600nm)になるように懸濁し、100倍に希釈して作製した。

2倍段階希釈濃度の薬剤を含有するMueller-Hinton(DIFCO)寒天に、接種菌液をマイクロプランター(佐久間製作所)でspot接種し、37 $^{\circ}$ Cで一夜培養して菌の増殖の有無からMICを求めた。ただし*Streptococcus*属の菌はす

\* 東京都文京区本郷2-1-1

べて血液寒天を, *H. influenzae*にはFildes extract加HI寒天を使用して37℃一夜培養し, *B. fragilis*にはGAM寒天を使用してガスバック法(BBL)で37℃一夜嫌気培養した。

#### 4. PBP<sub>s</sub>に対する結合親和性の検討法

SPRATTの法<sup>2)</sup>を改良した方法<sup>3)</sup>で行なった。すなわち*S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *S. pneumoniae*および*E. coli*の対数増殖期後期の菌細胞を集め, BRANSON sonifierで菌体を破碎した。3,000g 20分間冷却遠心上清を, 100,000g 30分間超遠心して膜画分を集めた。10~15mg protein/mlの膜画分浮遊液30 $\mu$ lに終末濃度が0.1~12.5 $\mu$ g/mlになるように非放射性BMY-28100又はCCLを加え, 30℃10分間反応させた後, 3 $\mu$ lの<sup>14</sup>C-PCG溶液(0.1 $\mu$ Ci: 373 $\mu$ g/50 $\mu$ Ci/ml AMERSHAM)を加えてさらに30℃10分間反応させた。Sarkocylと非放射性PCGの添加で反応を止め, 10,000g 30分の遠心で不溶画分を除き, 上清全量にbromophenol blue-glycerol加SDS buffer(pH 6.8) 15 $\mu$ lと5 $\mu$ lの $\beta$ -mercaptoethanolを加え100℃で2分間加熱した後, 全量を10% acrylamide, 0.06% bis-acrylamideの平板gelで電気泳動した。ただし*S. aureus*には8% acrylamide, 0.06% bis-acrylamide gelを使用した。泳動後methanolと酢酸で蛋白を固定し, 増感剤, 2,5-diphenyloxazole(PPO)を浸み込ませた後減圧下でgelを乾燥した。KODAK RP Royal X-O mat filmと乾燥したgelを密着し-80℃で20日間感光させ, fluoro radio autographyを行なった。

#### 5. 血清・補体およびマウス培養M $\phi$ との協力的殺菌作用の検討法

*E. coli* NIHJ JC-2を10mlのL-brothで37℃一夜振盪培養した。新鮮L-brothで10,000倍に希釈し, 5mlずつ中試験管に分注した。3本一組とし, 1本に20%ヒト非働化血清とこの菌の増殖に影響を与えない最高濃度のモルモット補体(0.75 units/ml)を加え, 他の1本にBMY-28100を, 5時間後に生菌数が50%になる濃度(50%殺菌濃度: ID<sub>50</sub>)を加えた。37℃で振盪培養を続けながら, 培養開始後1.5, 3, 5および24時間目にそれぞれの一部を採取し, 平板法で生菌数を計算して薬剤と補体の協力作用を検討した。

M $\phi$ は6週齢のICR $\delta$ マウスの腹腔を10mlの10% fetal calf serum加F12培地(日水)で洗い採取した。これを20% L-CM<sup>4)</sup>で活性化し, 著者らの方法<sup>5)</sup>でM $\phi$ の50倍量の*E. coli* NIHJ JC-2のL-broth一夜振盪培養菌液を加えた時の食菌像を, 光学顕微鏡, 走査電顕, および超薄切片透過電顕で検討し, 薬剤とマウス培養M $\phi$ との協力的食菌殺菌作用をみた。

## II. 成 績

### 1. BMY-28100の試験管内抗菌力

メチシリン感受性*S. aureus* (MSSA) 36株に対するBMY-28100のMIC<sub>70</sub>はFig. 1のとおり0.78 $\mu$ g/mlであり, CCLおよびCFTM-PIの4倍, CFIXの32倍強い抗菌力を示した。しかしMRSA45株に対してはFig. 2のとおり他剤よりは抗菌力が強いものの, そのMIC<sub>70</sub>は100 $\mu$ g/mlであった。CNS42株に対しては, Fig. 3のとおりMIC<sub>70</sub>は0.78 $\mu$ g/mlでCCLおよびCFTM-PIより4倍, CFIXの100倍以上強い抗菌力を示したが, 20~30%の臨床分離株はBMY-28100にも25 $\mu$ g/ml以上の耐性を示した。*S. pyogenes* 26株に対するBMY-28100の抗菌力はFig. 4のとおり, CFTM-PIには劣ったが, CCLやCFIXより4倍以上強く, そのMIC<sub>70</sub>は0.025 $\mu$ g/mlであった。A群以外の $\beta$ -streptococci 15株に対する抗菌力は, Fig. 5のとおりCFTM-PIの1/8, CCLやCFIXの2~8倍の抗菌力で, そのMIC<sub>70</sub>は0.2 $\mu$ g/mlであった。*S. pneumoniae* 25株に対するBMY-28100の抗菌力はFig. 6のとおりCFTM-PIよりかなり弱かったが, CCLやCFIXより2~4倍強く, そのMIC<sub>70</sub>は0.2 $\mu$ g/ml以下であった。Fig. 7のとおり, BMY-28100は36株の*E. faecalis*に対し対照薬剤3剤よりかなり強い抗菌力を示したが, そのMIC<sub>70</sub>は12.5 $\mu$ g/mlにとどまった。*E. faecium* 44株には, BMY-28100を含め使用した経口cephemはFig. 8のとおり抗菌力を示さなかった。

グラム陰性菌に対するBMY-28100の抗菌力はCFTM-PIおよびCFIXよりかなり弱く, CCL程度である。すなわちFig. 9に示すとおり45株の*E. coli*に対しては, そのMIC<sub>70</sub>は3.13 $\mu$ g/mlでCCLよりわずかに弱かった。*Klebsiella* sp. 46株に対するBMY-28100のMIC<sub>70</sub>は1.56 $\mu$ g/mlで, CFIXおよびCFTM-PIよりかなり弱かったが, Fig. 10のとおりCCLに近い抗菌力を示した。ABPC耐性*H. influenzae* 26株に対してもBMY-28100の抗菌力はFig. 11のとおりCCLと同程度で, そのMIC<sub>70</sub>は3.13 $\mu$ g/mlであった。*P. mirabilis*に対してもFig. 12のとおりBMY-28100のMIC<sub>70</sub>は1.56 $\mu$ g/mlでCCLに近く, CFIXやCFTM-PIよりかなり弱かった。*P. vulgaris* 41株に対しては, Fig. 13のとおり, 又*M. morgani* 51株に対してはFig. 14のとおり, *P. rettgeri* 27株に対してはFig. 15のとおり, および*P. inconspicua* 36株に対してはFig. 16のとおり, BMY-28100のMIC<sub>70</sub>はそれぞれ100 $\mu$ g/ml以上, 100 $\mu$ g/ml以上, 50 $\mu$ g/ml, 25 $\mu$ g/mlでCCL同様CFIXおよびCFTM-PIにかなり劣った。その他の弱毒グラム陰性桿菌, *S. marcescens* 47株(Fig. 17), *E. cloacae* 41株(Fig. 18), *C. freundii* 47株(Fig. 19)に対しても, BMY-28100のMIC<sub>70</sub>は100 $\mu$ g/ml以上, 100 $\mu$ g/ml以上, 100

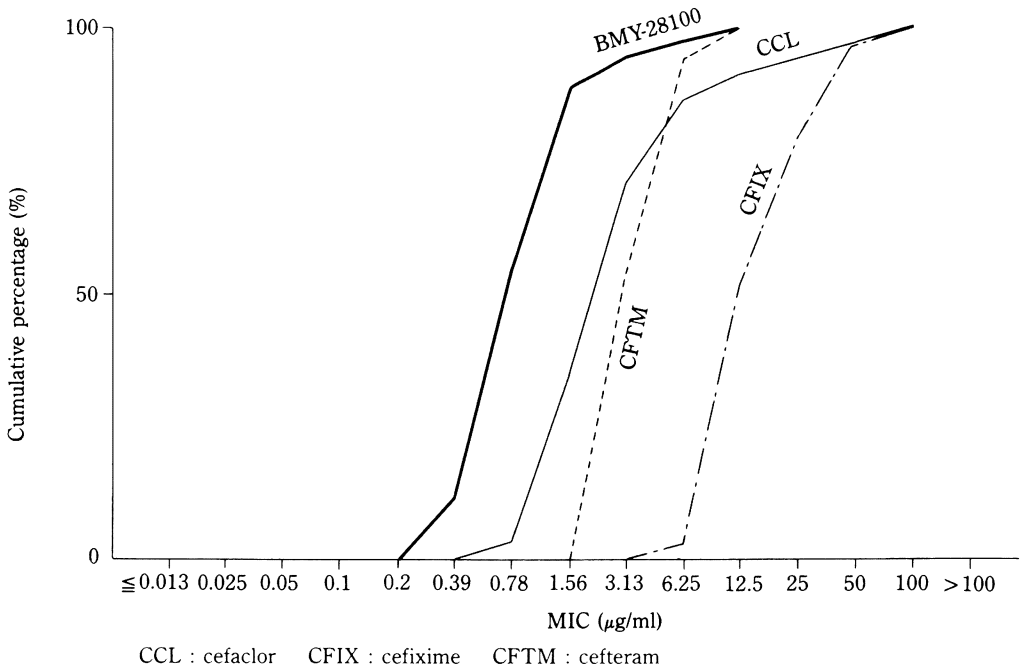


Fig. 1. Cumulative sensitivities of 36 clinical isolates of methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/\text{ml}$ ).

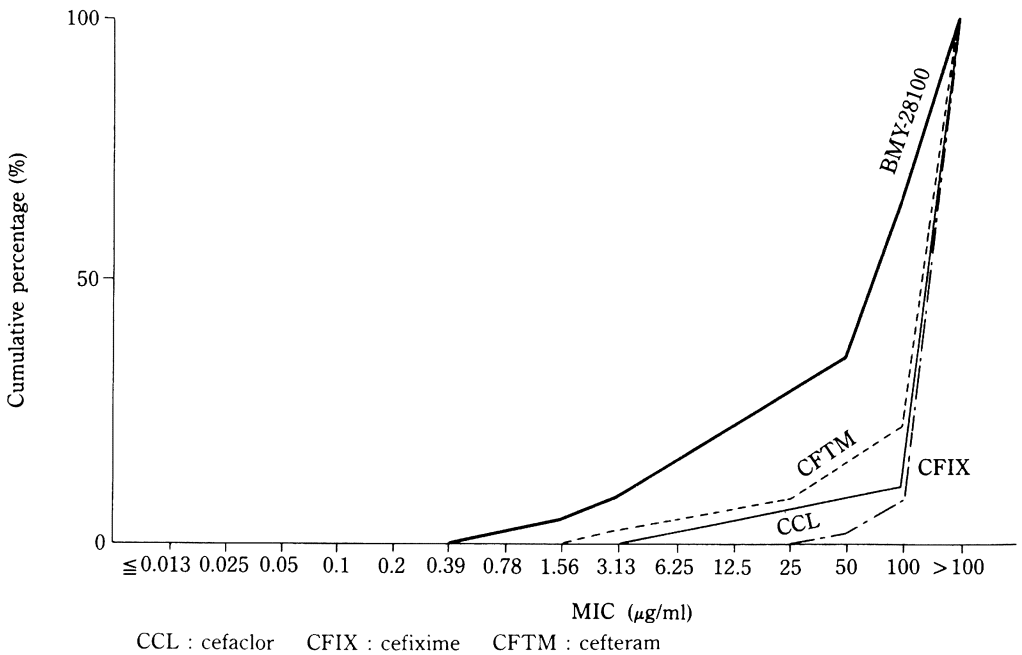


Fig. 2. Cumulative sensitivities of 45 clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/\text{ml}$ ).

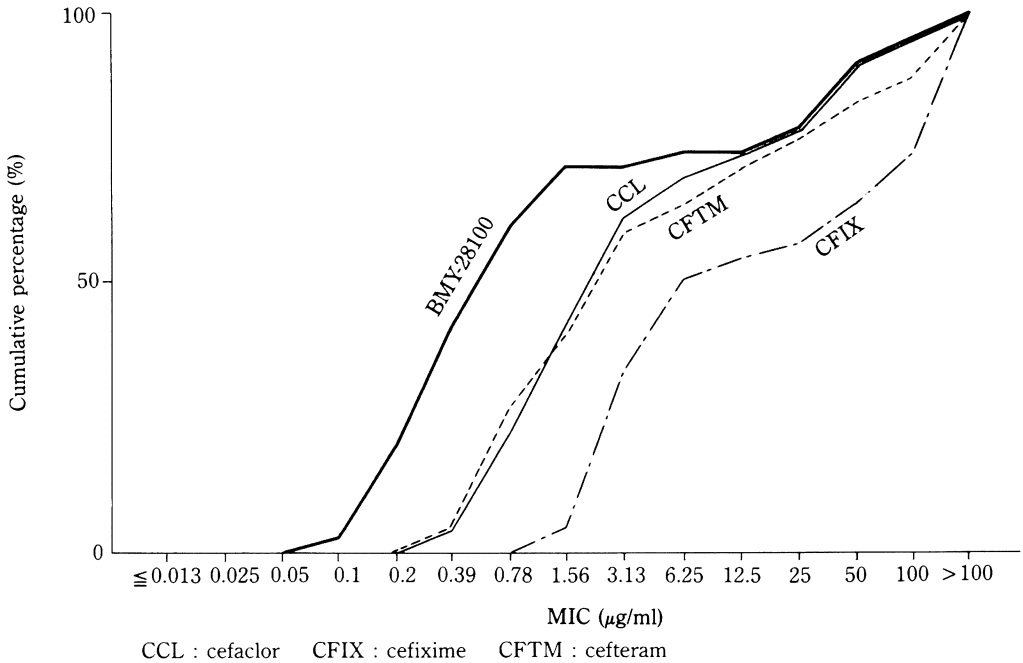


Fig. 3. Cumulative sensitivities of 42 clinical isolates of coagulase-negative staphylococci to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/\text{ml}$ ).

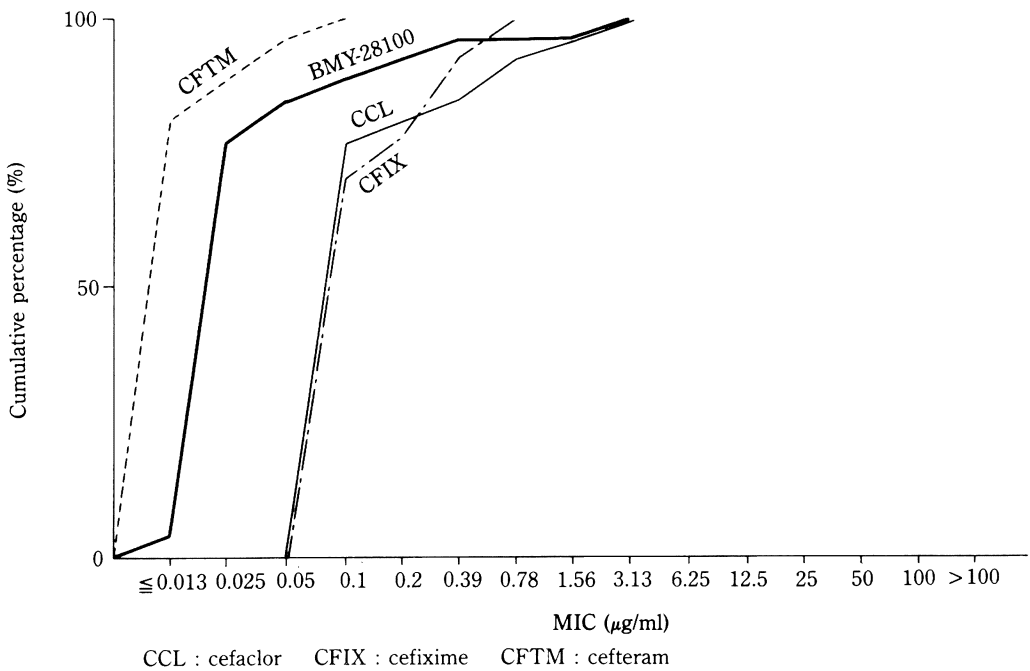


Fig. 4. Cumulative sensitivities of 26 clinical isolates of *Streptococcus pyogenes* to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/\text{ml}$ ).

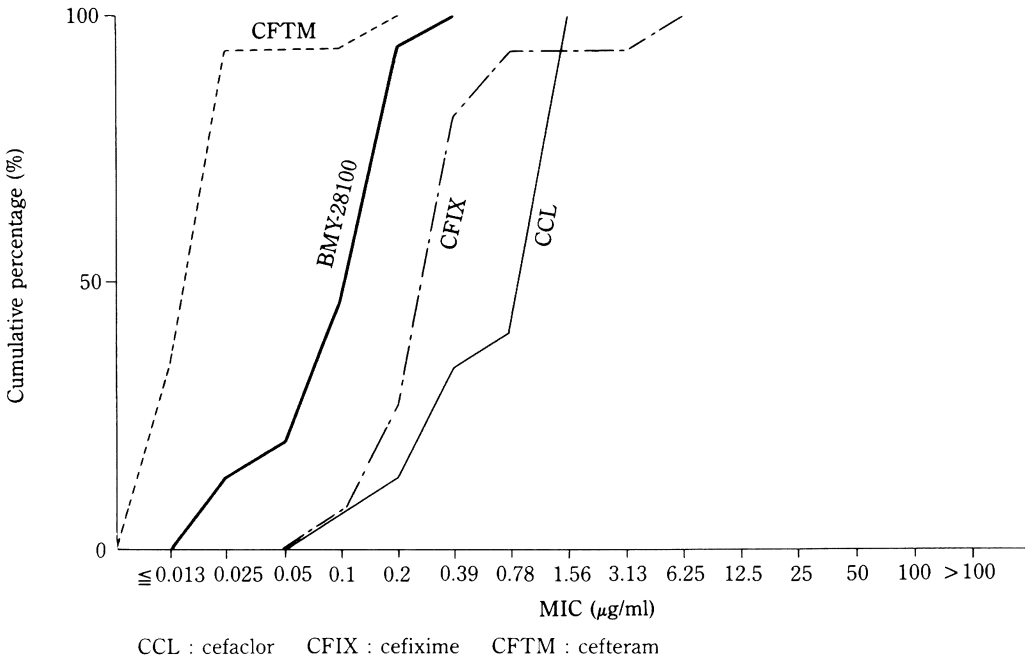


Fig. 5. Cumulative sensitivities of 15 clinical isolates of  $\beta$ -streptococci to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/ml$ ).

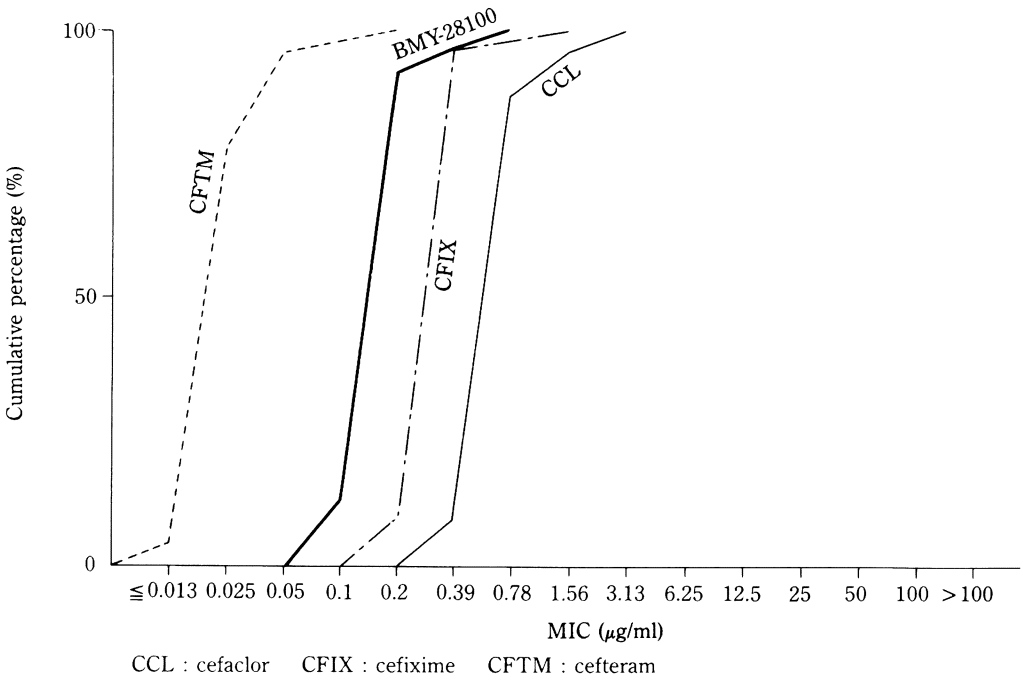


Fig. 6. Cumulative sensitivities of 25 clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/ml$ ).

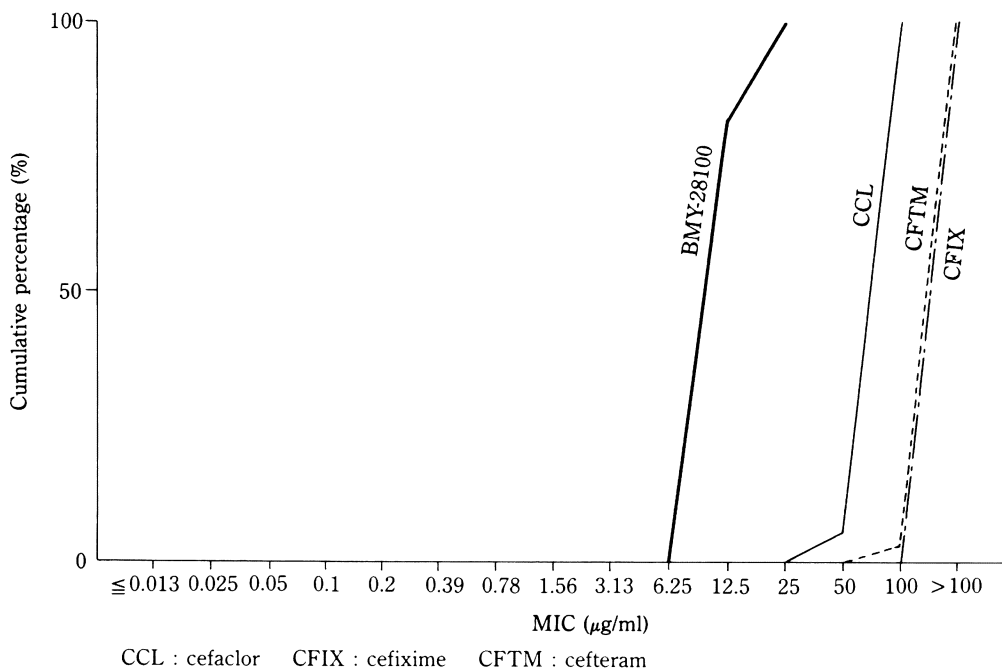


Fig. 7. Cumulative sensitivities of 36 clinical isolates of *Enterococcus faecalis* to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/\text{ml}$ ).

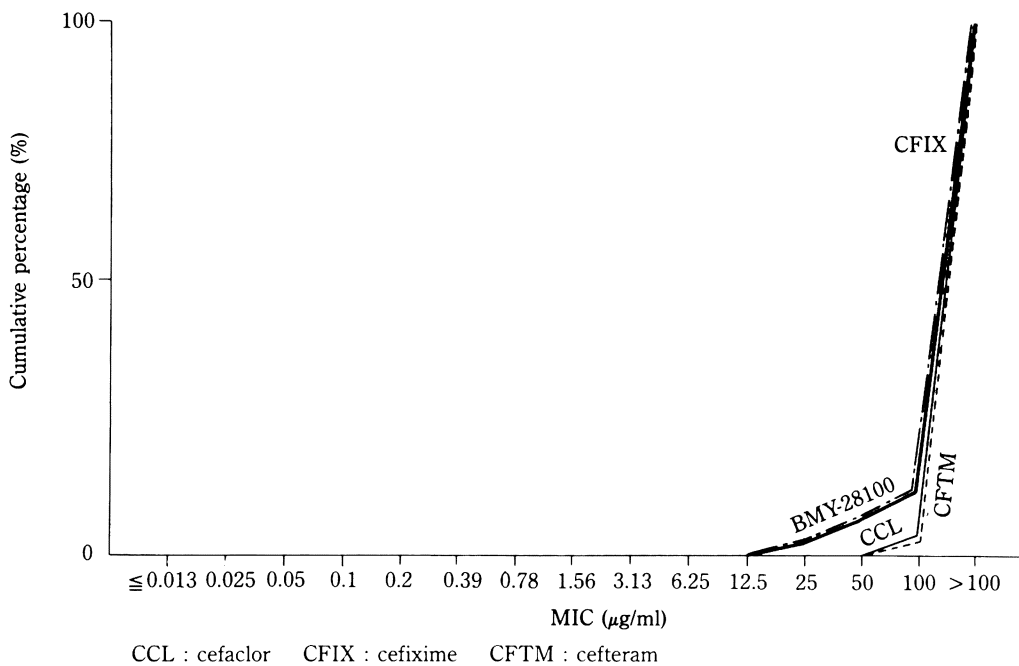


Fig. 8. Cumulative sensitivities of 44 clinical isolates of *Enterococcus faecium* to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/\text{ml}$ ).

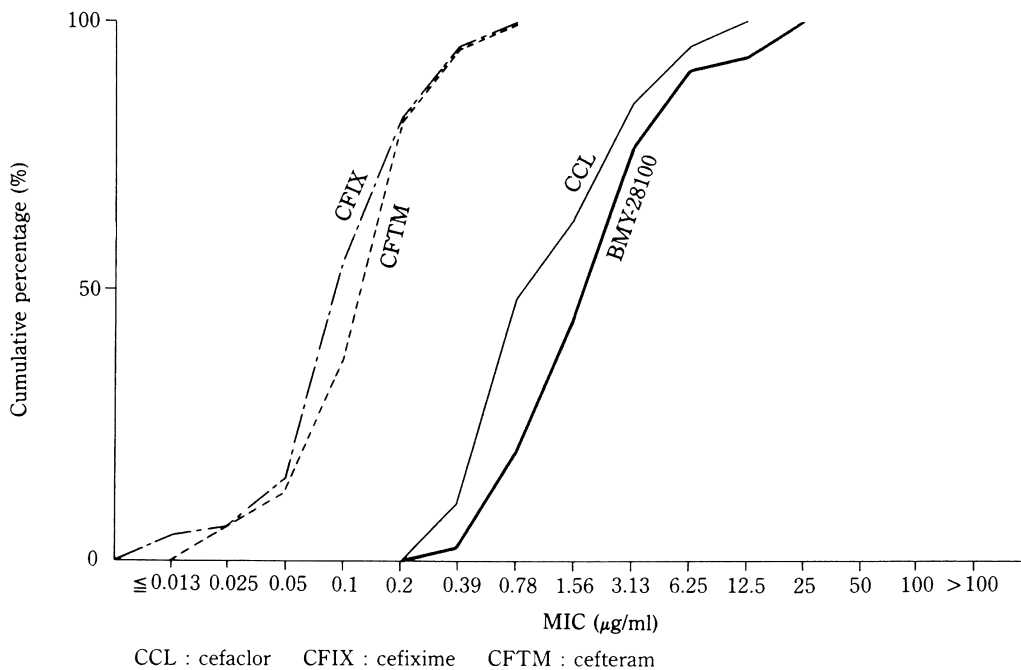


Fig. 9. Cumulative sensitivities of 45 clinical isolates of *Escherichia coli* to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/\text{ml}$ ).

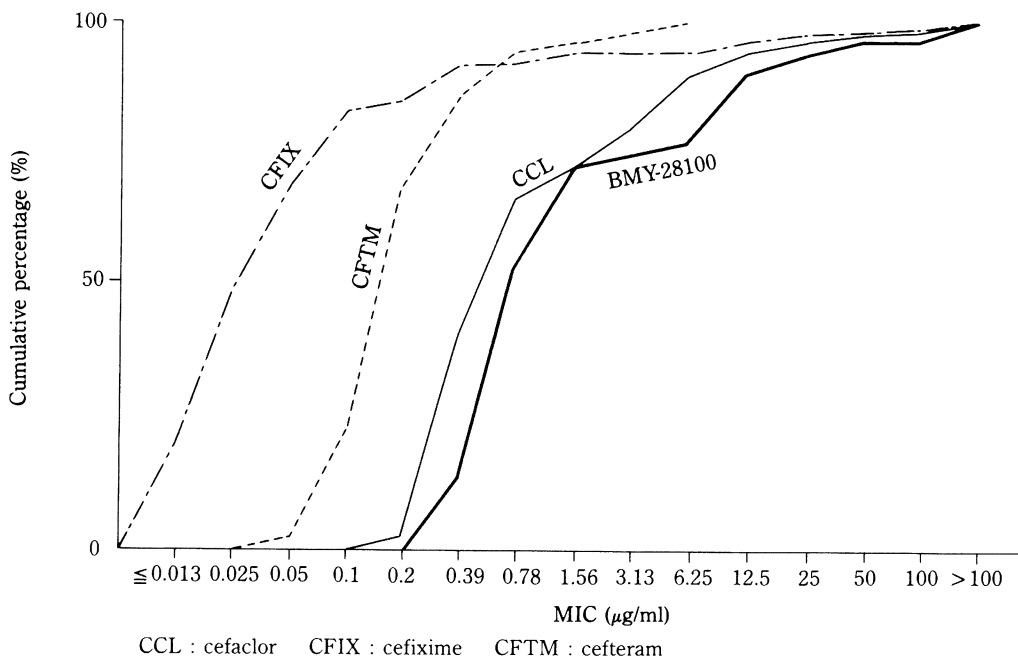


Fig. 10. Cumulative sensitivities of 46 clinical isolates of *Klebsiella* sp. to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/\text{ml}$ ).

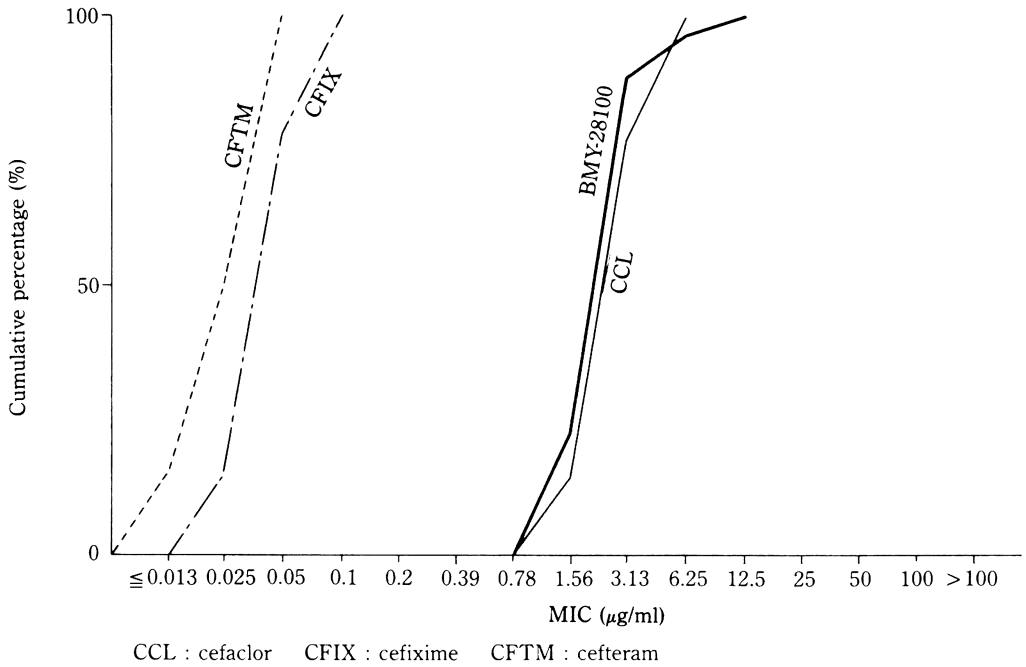


Fig. 11. Cumulative sensitivities of 26 clinical isolates of ampicillin resistant *Haemophilus influenzae* to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/ml$ ).

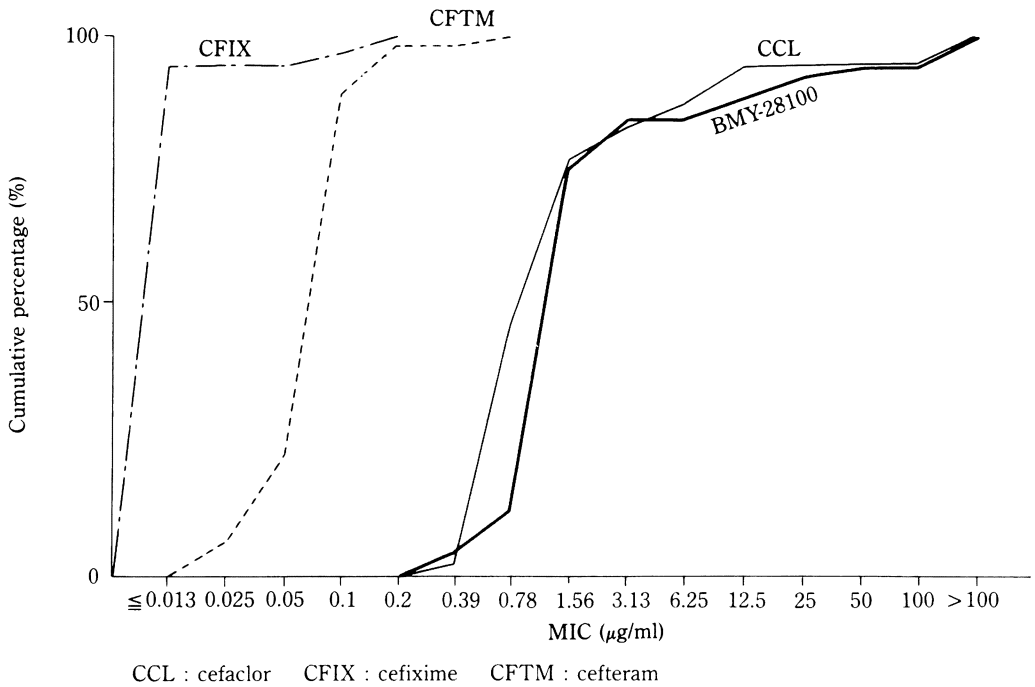


Fig. 12. Cumulative sensitivities of 50 clinical isolates of *Proteus mirabilis* to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/ml$ ).



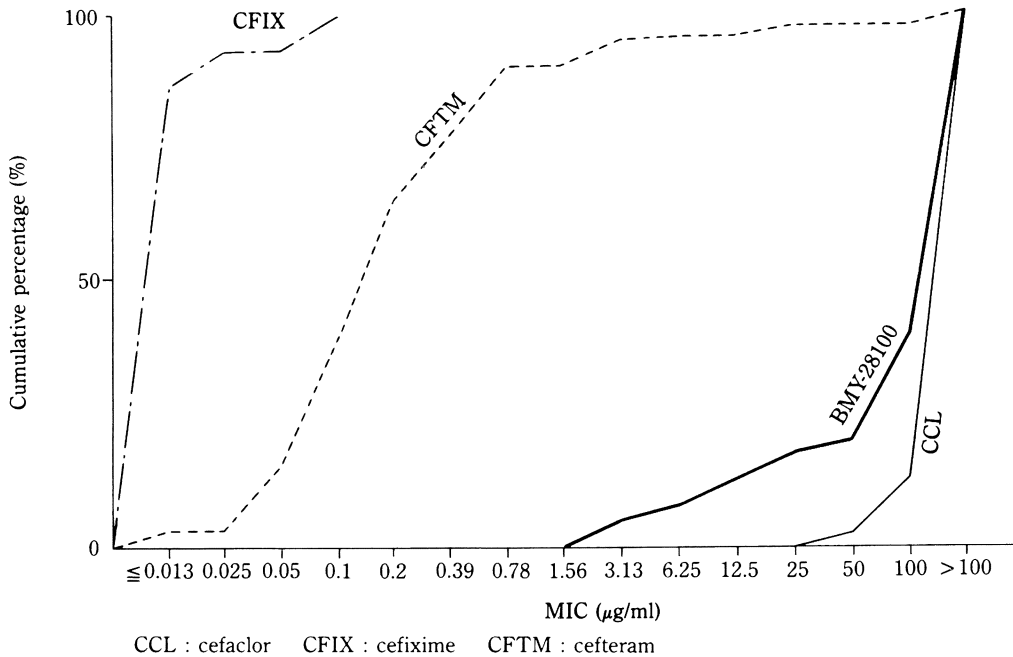


Fig. 13. Cumulative sensitivities of 41 clinical isolates of *Proteus vulgaris* to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/\text{ml}$ ).

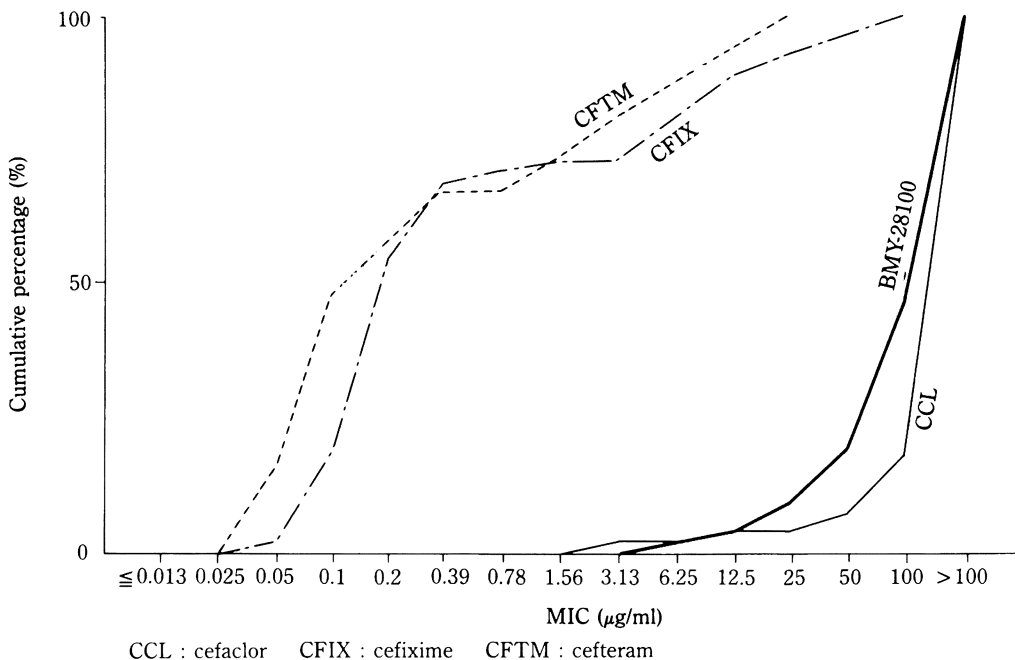


Fig. 14. Cumulative sensitivities of 51 clinical isolates of *Morganella morganii* to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/\text{ml}$ ).

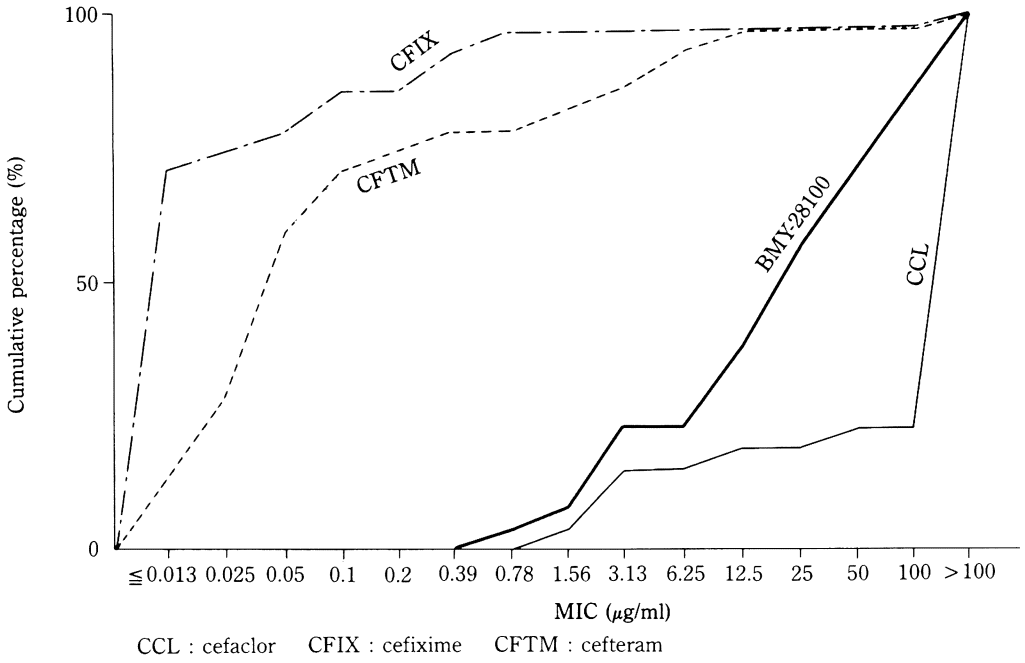


Fig. 15. Cumulative sensitivities of 27 clinical isolates of *Providencia rettgeri* to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^9/\text{ml}$ ).

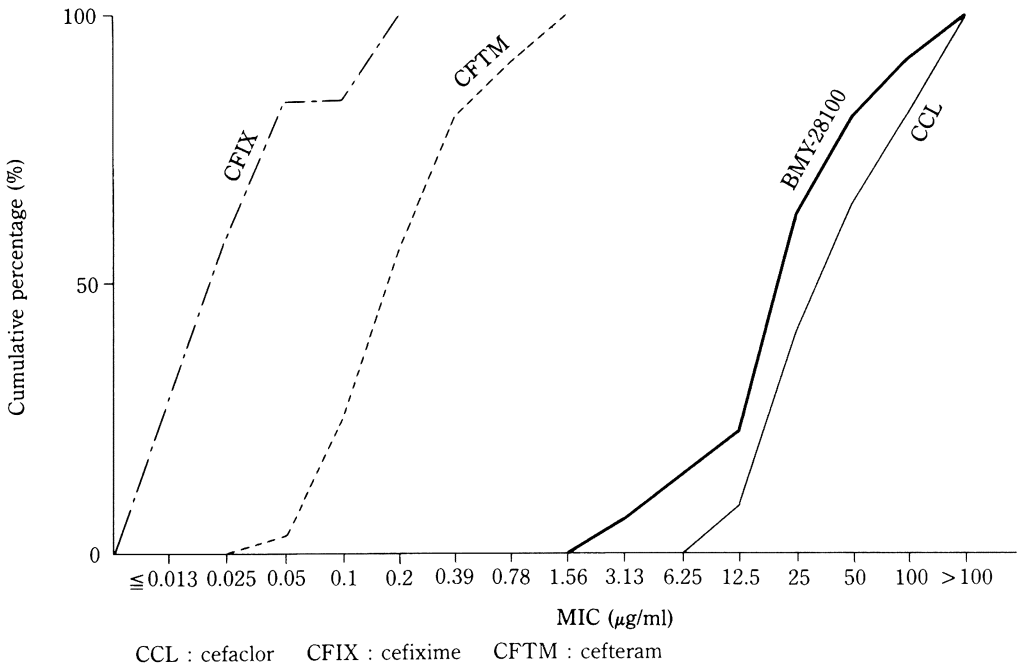


Fig. 16. Cumulative sensitivities of 36 clinical isolates of *Proteus inconstans* to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/\text{ml}$ ).

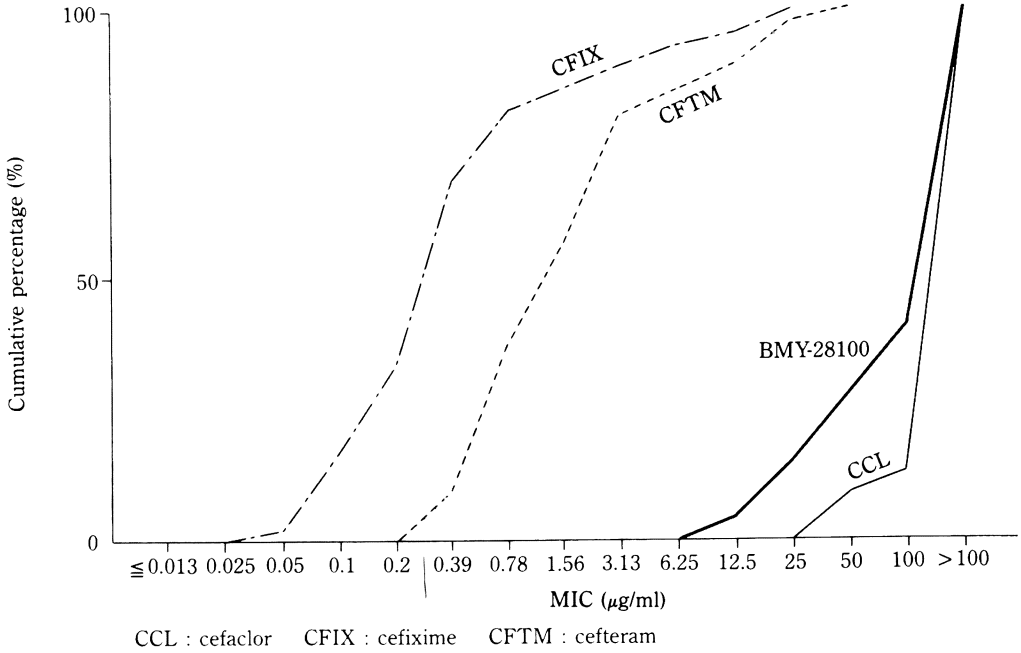


Fig. 17. Cumulative sensitivities of 47 clinical isolates of *Serratia marcescens* to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/\text{ml}$ ).

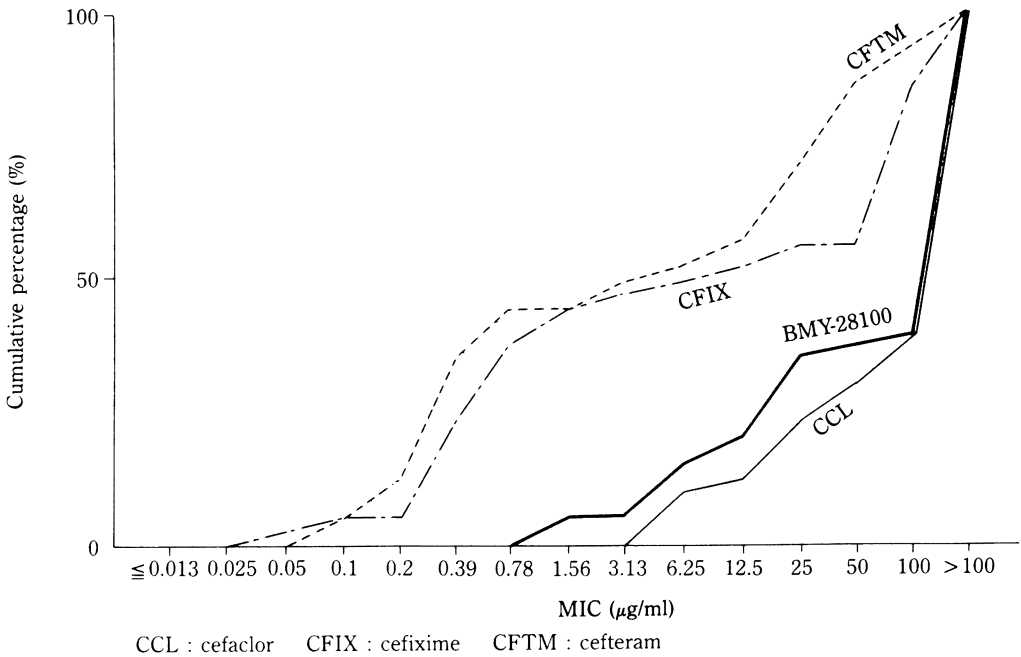


Fig. 18. Cumulative sensitivities of 41 clinical isolates of *Enterobacter cloacae* to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/\text{ml}$ ).

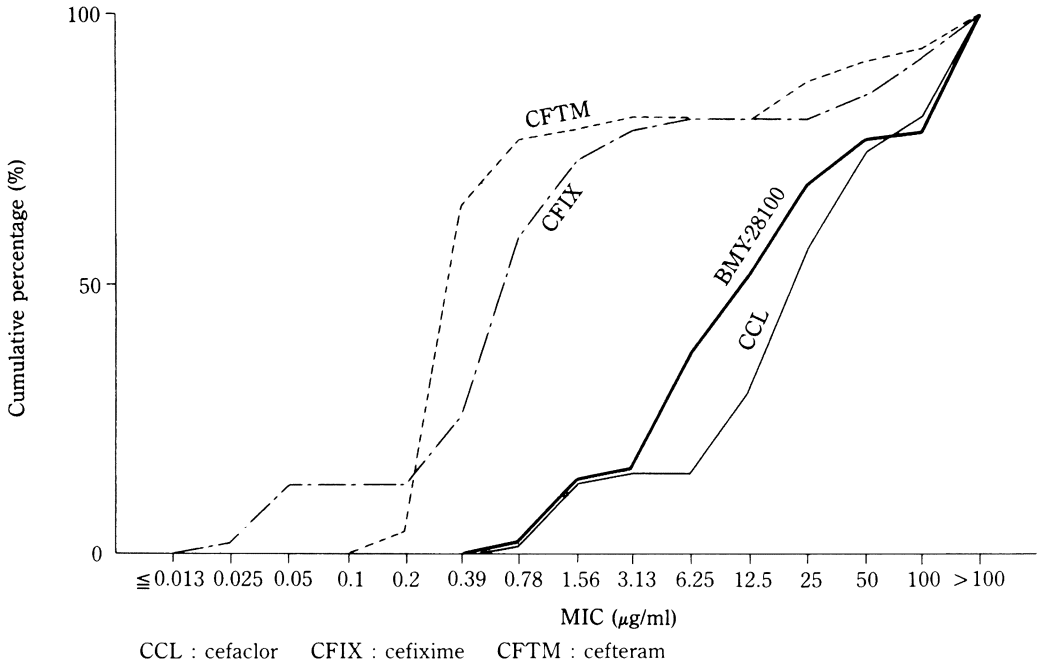


Fig. 19. Cumulative sensitivities of 47 clinical isolates of *Citrobacter freundii* to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6$ /ml).

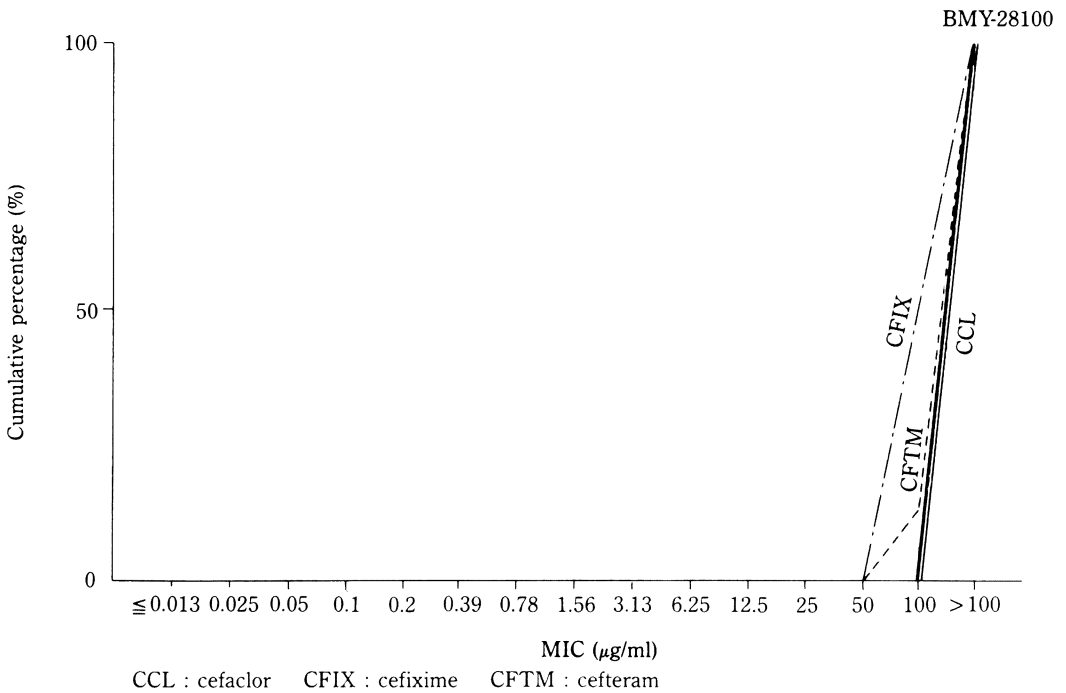


Fig. 20. Cumulative sensitivities of 40 clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6$ /ml).

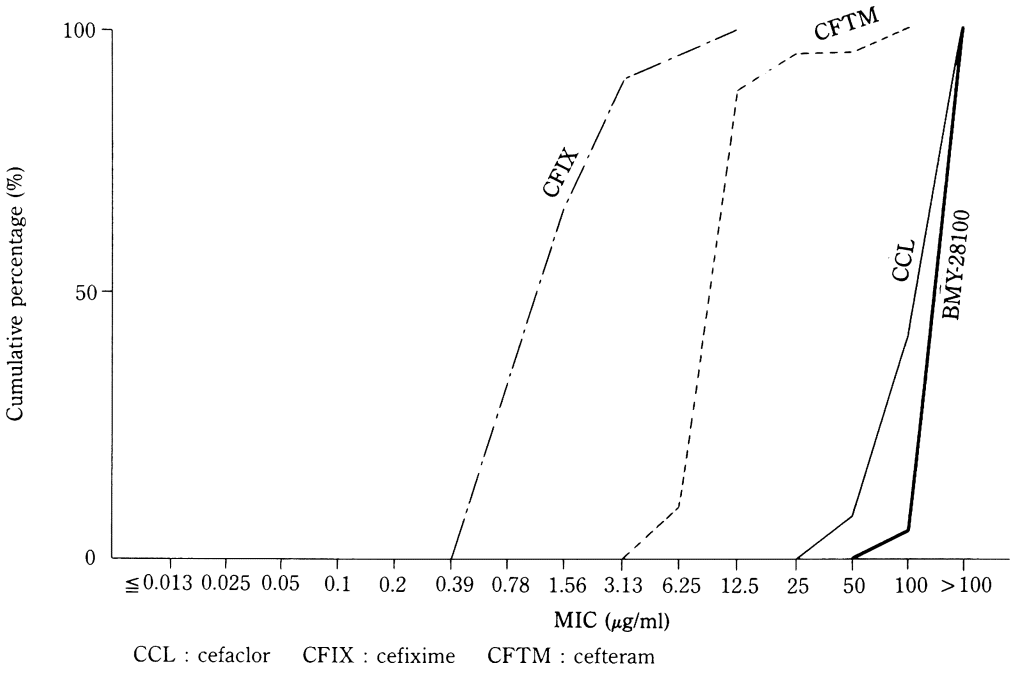


Fig. 21. Cumulative sensitivities of 40 clinical isolates of *Pseudomonas cepacia* to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/ml$ ).

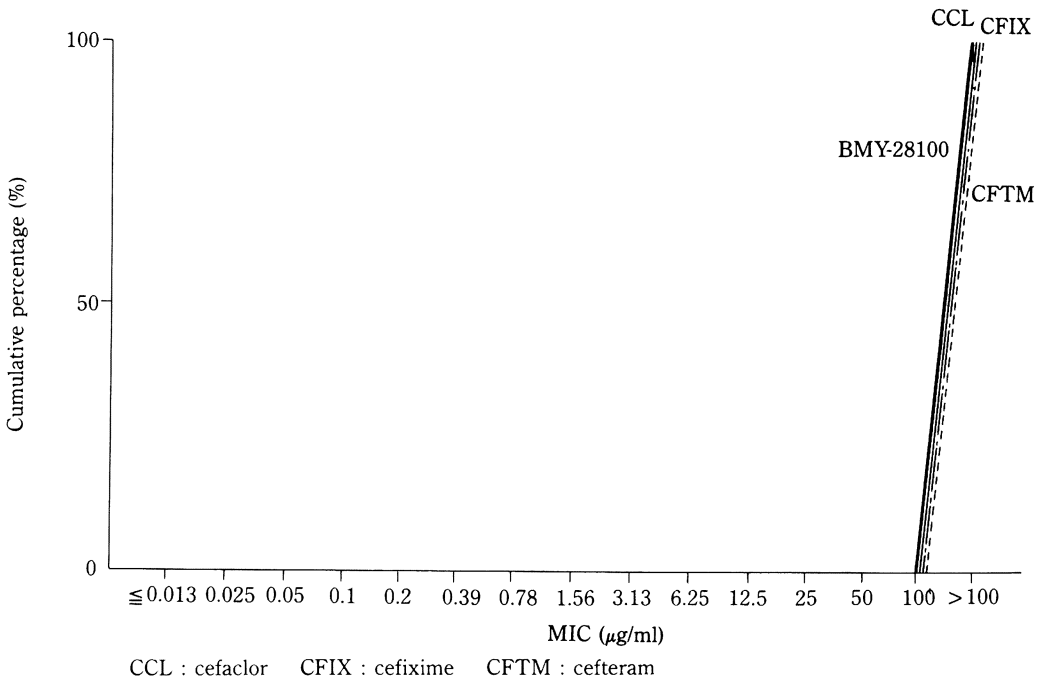


Fig. 22. Cumulative sensitivities of 39 clinical isolates of *Xanthomonas maltophilia* to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/ml$ ).

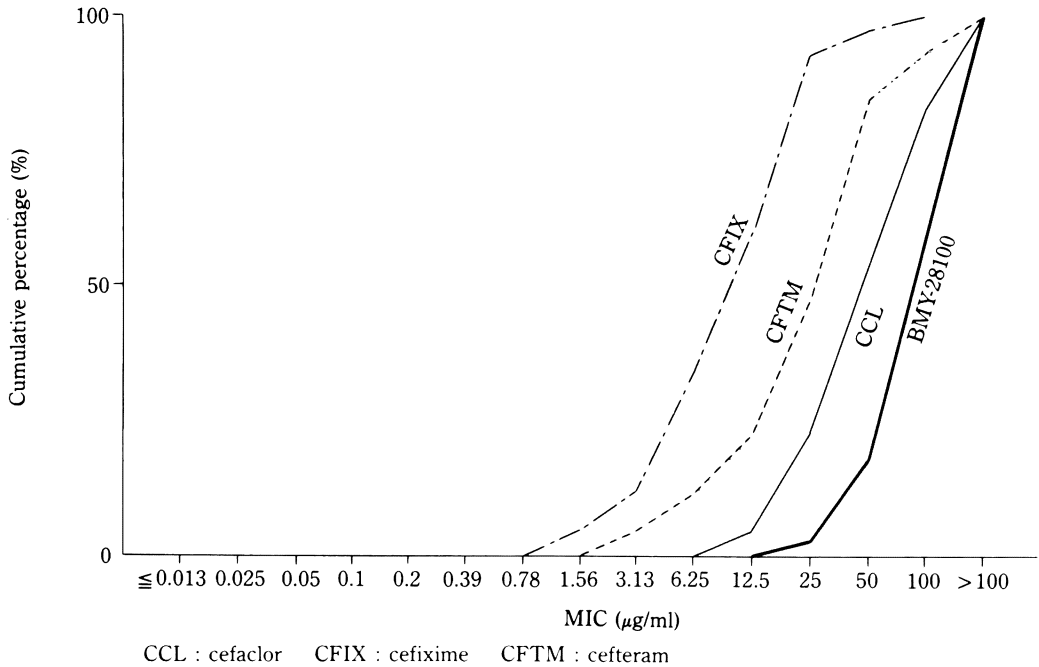


Fig. 23. Cumulative sensitivities of 45 clinical isolates of *Acinetobacter calcoaceticus* to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/\text{ml}$ ).

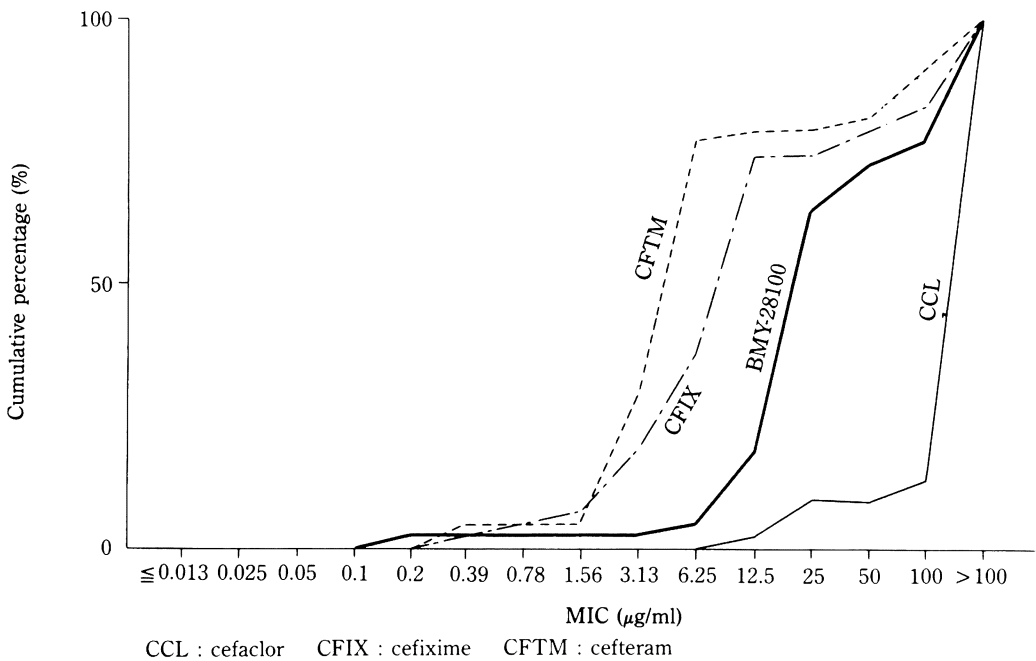


Fig. 24. Cumulative sensitivities of 44 clinical isolates of *Bacteroides fragilis* to BMY-28100 and other oral antibiotics ( $10^6/\text{ml}$ ).

$\mu\text{g/ml}$ および $25\mu\text{g/ml}$ でCCLと共にCFIXとCFTM-PIよりかなり弱かった。*P. aeruginosa* 40株(Fig. 20), *P. cepacia* 40株(Fig. 21), *X. maltophilia* 39株(Fig. 22)および*A. calcoaceticus* 45株(Fig. 23)には、使用した経口cephemはすべて弱い抗菌力しか示さなかったが、例外的に*P. cepacia*にはCFIXが相当程度の抗菌力を示した。嫌気性菌である*B. fragilis*に対するBYM-28100のMIC<sub>70</sub>は $25\mu\text{g/ml}$ でCCLよりかなり強かったが、CFTM-PI, CFIXにはFig. 24のとおり及ばなかった。

## 2. BYM-28100のPBPに対する結合親和性

感受性*S. aureus* 209PのPBPに対しては、BYM-28100の結合親和性は、Fig. 25のとおりPBP 2および3に対してCCLより強く、作用点における強さがCCLより

優れた抗菌力を示す理由と結論づけられた。*S. epidermidis* ATCC 1228のPBPに対しても各画分に対するBYM-28100の結合親和性はCCLより高い。特にPBP 1および2に対する結合親和性がCCLより優れていた(Fig. 26)。*S. pneumoniae* 19nのPBPsに対してもFig. 27のとおりBYM-28100の結合親和性はCCLよりかなり高かった。すなわちPBP 1As, 1B, 2sおよび3のすべての画分に対し $12.5\mu\text{g/ml}$ 添加のとき、CCLより高い結合親和性を示した。しかしFig. 28のとおり*E. coli* NIHJ JC-2のPBPに対してはすべての画分に対してCCLより親和性が低かった。しかしこの菌に対するMICは両者等しいので、BYM-28100はCCLより作用点への結合性は低いものの、外膜透過性が良いものと考えられる。

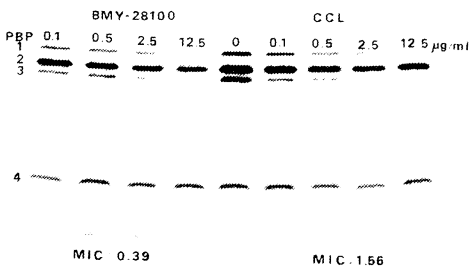


Fig. 25. Competition of BYM-28100 and cefaclor (CCL) for penicillin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* 209P.

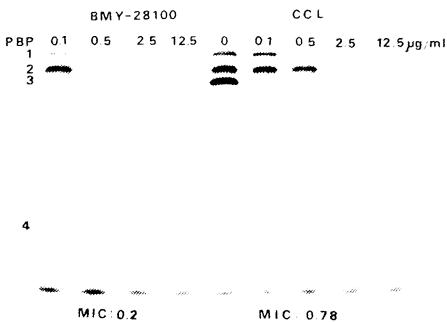


Fig. 26. Competition of BYM-28100 and cefaclor (CCL) for penicillin-binding proteins of *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228.

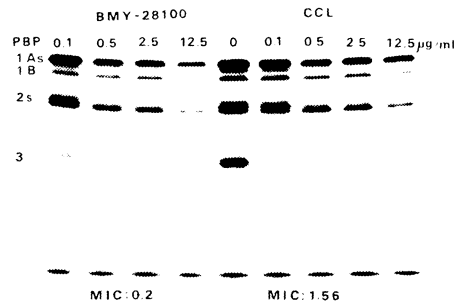


Fig. 27. Competition of BYM-28100 and cefaclor (CCL) for penicillin-binding proteins of *Streptococcus pneumoniae* 19n.

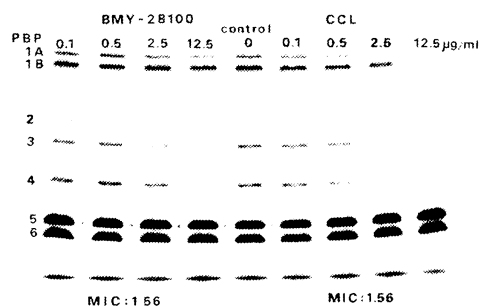


Fig. 28. Competition of BYM-28100 and cefaclor (CCL) for penicillin-binding proteins of *Escherichia coli* NIHJ JC-2.

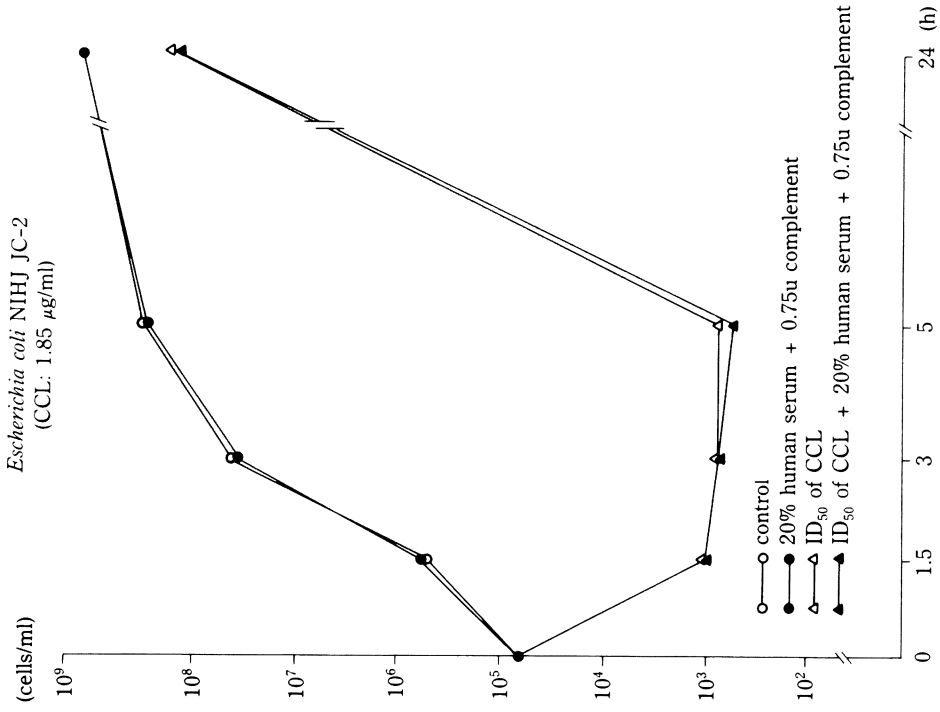


Fig. 30. Influence of ID<sub>50</sub> cefaclor (CCL) (1.85 µg/ml) on the bactericidal effect of the serum complement on *Escherichia coli* NIHJ JC-2.

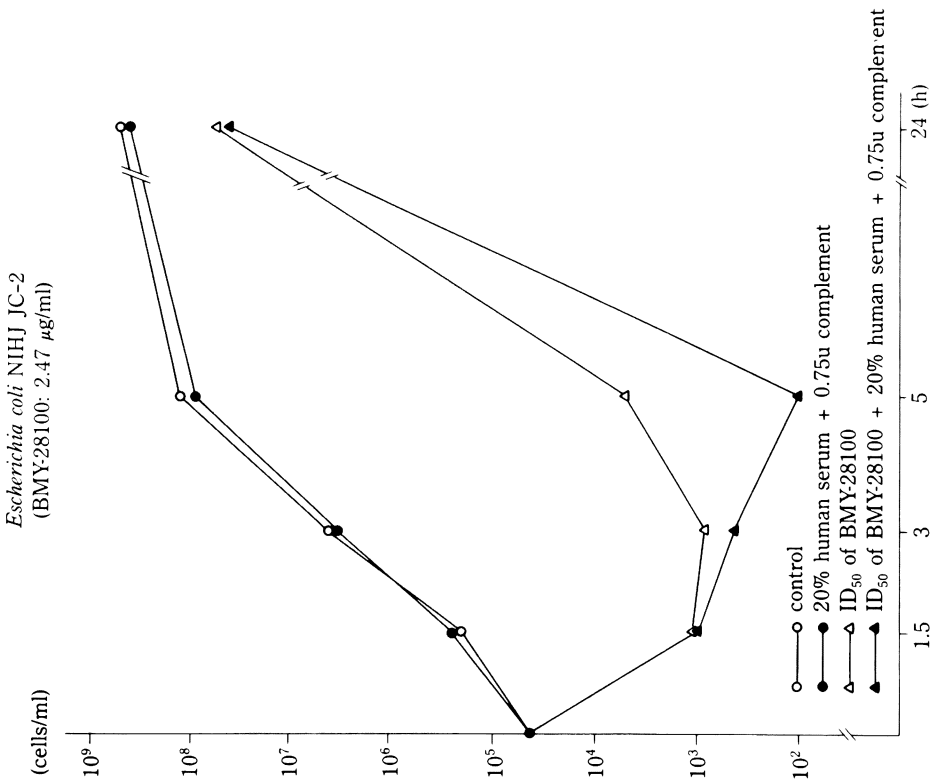


Fig. 29. Influence of ID<sub>50</sub> BMY-28100 (2.47 µg/ml) on the bactericidal effect of the serum complement on *Escherichia coli* NIHJ JC-2.



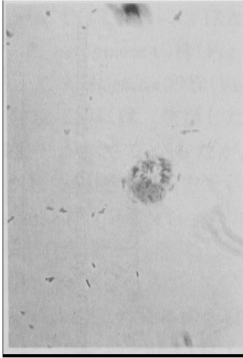


Fig. 31. Death of mouse macrophage phagocytizing normal cells of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 grown without drugs, at 5 h after infection.

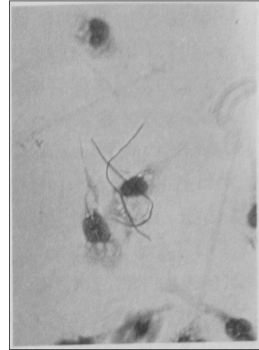


Fig. 34. Digestion of long filamentous cells of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 grown with 1/2MIC of BMY-28100 by cultured mouse macrophages, at 5 h after infection.

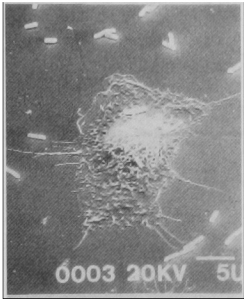


Fig. 32. Scanning electromicrograph of death of cultured mouse macrophage phagocytizing normal cells of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 grown without drugs, at 5 h after infection.

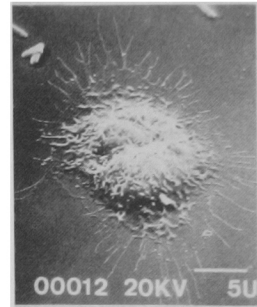


Fig. 35. Scanning electromicrograph of cultured mouse macrophage phagocytizing cells of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 grown with 1/2MIC of BMY-28100, at 5 h after infection.

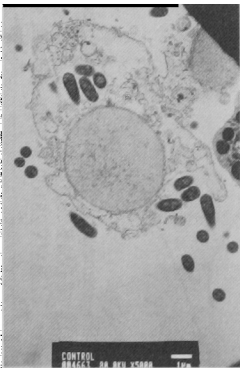


Fig. 33. Ultrathin section of mouse macrophage phagocytizing normal cells of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 grown without drugs, at 5 h infection.

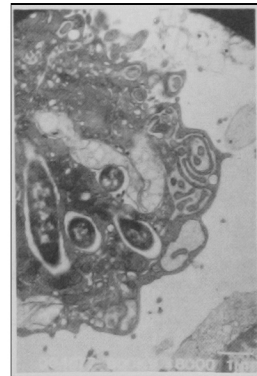


Fig. 36. Ultrathin section of mouse macrophage phagocytizing cells of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 grown with 1/2MIC of BMY-28100, at 5 h infection.

### 3. BMY-28100と血清補体およびマウス培養M $\phi$ との協力的食菌殺菌作用

BMY-28100のID<sub>50</sub>(50%殺菌濃度)が共存するとFig. 29のとおり殺菌性が増加される。すなわち0.75 units/mlの補体は*E. coli* NIHJ JC-2の増殖に影響しない最高量であるが、それとID<sub>50</sub>のBMY-28100の共存により、生菌数は培養5時間目にはほぼ1/1,000になる。薬剤単独では生菌数は3時間後に1/100になるにすぎないので、両者の協力作用は明らかに認められる。これに対してCCLでは補体との協力的殺菌作用がFig. 30のとおりほとんど認められなかった。

20% L-CM(conditioned medium of L-929)で活性化されたM $\phi$ は、*E. coli* NIHJ JC-2をよく食菌するが、感染後5時間目にはFig. 31のとおり細胞内で増殖しM $\phi$ を破壊して遊出する。この状況はFig. 32に示す走査電顕でも明らかに認められる。それを超薄切片とし透過電顕で観察するとFig. 33のとおり、食菌された菌は正常な形を保ち一部M $\phi$ を破壊して遊出している。

1/2 MICのBMY-28100が共存すると、Fig. 34のとおり薬剤の影響でフィラメント化した細胞は良く食菌される上、消化されてM $\phi$ は健常にとどまる。消化が終了したことを示す食空胞も明らかに認められる。これを走査電顕でみるとFig. 35のとおり、M $\phi$ は健常で多くの細胞突起を示す。超薄切片像ではフィラメント化した菌細胞が消化され、空胞化していることがわかる(Fig. 36)。

### Ⅲ. 考 察

BMY-28100は在来型の経口cephemであるが、内服用第三世代cephemであるCFIXやCFTM-PIよりはもちろんのこと、CCLよりも抗ブドウ球菌作用が強い。又*S. pyogenes*その他の $\beta$ -streptococci、*S. pneumoniae*に対してもCCLやCFIXよりも強い抗菌力を示す。グラム陰性菌では*E. coli*等の強毒菌にCCLと同程度の抗菌力を示すが、CFIXやCFTM-PIよりは弱い。免疫正常者の呼吸器感染

症のおもな起因菌は、グラム陽性球菌が多く、*H. influenzae*がそれに加わる。BMY-28100がこれらの菌に良好な抗菌力を示すことが確認されたので、この薬剤の良好な体内動態が立証されれば免疫正常者の多くの感染症、特に基礎疾患を持たない中年以下の急性呼吸器感染症の治療に有用性が高いと考えられる。又cephem系抗生物質がほとんど抗菌力を示し得ない*E. faecalis*に対し中等度の抗菌力を持つことは、単純性尿路感染症でcephem剤で治療中、*E. faecalis*に菌交代した例でも有用性が期待されよう。

### 文 献

- 1) 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 : 76~79, 1981
- 2) SPRATT R G : Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation and shape of *Escherichia coli* K12. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 72 : 2999~3003, 1975
- 3) 横田 健, 関口玲子, 東 映子 : Cefmenoxime (SCE-1365)の各種 $\beta$ -lactamaseおよびペニシリン結合蛋白質に対する親和性とその抗菌力との関係。Chemotherapy 29(S-1) : 32~41, 1981
- 4) NOZAWA R T, YOKOTA T : Inhibition by glucocorticoids and cholera toxin of the conditional growth of poorly adherent mononuclear phagocytes of new-born hamster liver and lung (hormonal control of macrophage growth). Cell. Physiol. 100 : 351~364, 1979
- 5) 横田 健, 新井京子, 鈴木映子 : Cefotiam hexetilのペニシリン結合蛋白質に対する結合親和性、およびマウス培養マクロファージとの協力的食菌・殺菌作用について。Chemotherapy 36(S-6) : 37~45, 1988

BMY-28100, ITS *IN VITRO* ANTIBACTERIAL ACTIVITY, BINDING AFFINITY TO BACTERIAL PBPs, AND SYNERGY OF BACTERICIDAL EFFECT WITH SERUM COMPLEMENT AND MOUSE CULTURED MACROPHAGES (M $\phi$ )

TAKESHI YOKOTA, CHIEKO JIN, EIKO SUZUKI and KYOKO ARAI

Department of Bacteriology, School of Medicine, Juntendo University,

2-1-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

Minimal growth inhibitory concentrations (MICs) of BMY-28100 were determined by the plate dilution method with one-spot inocula of  $10^6$ cfu/ml bacterial suspension. The MIC<sub>70</sub> of this drug against 25 to 51 clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, methicillin resistant *S. aureus* (MRSA), coagulase-negative staphylococci (CNS), *Streptococcus pyogenes*, other  $\beta$ -streptococci, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, ampicillin resistant *Haemophilus influenzae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Proteus inconstans*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Xanthomonas maltophilia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, and *Bacteroides fragilis* were 0.78, >100, 0.78, 0.025, 0.2, 0.2, 12.5, >100, 3.13, 1.56, 3.13, 1.56, >100, >100, 25, 25, >100, 25, >100, >100, >100, >100, >100, >100, and 25 $\mu$ g/ml, respectively. In many cases, BMY-28100 was superior to cefaclor (CCL), cefixime (CFIX), and ceftem pivoxil (CFTM-PI) against Gram-positive bacteria, but inferior to CFIX and CFTM-PI and equal to CCL against Gram-negative bacilli.

BMY-28100 manifested stronger binding affinity than did CCL to PBP 1 and PBP 2 of *S. aureus*, and PBP 1 and PBP 3 of *Staphylococcus epidermidis*. A good correlation was seen between antibacterial activity and binding affinity to PBPs in the  $\beta$ -lactamase non-producing strains.

*E. coli* NIHJ JC-2 cells were well engulfed and digested by mouse cultured macrophages in the presence of BMY-28100 concentrations higher than 1/2MIC, although the bactericidal synergy of the drug with serum complement was only moderate.