

## 新経口セファロスポリンBMY-28100の細菌学的評価

神 智恵子・小川正俊・宮崎修一・金子康子・辻 明良・五島瑳智子

東邦大学医学部微生物学教室\*

新経口セファロスポリンBMY-28100の*in vitro*抗菌力をcefaclor(CCL), cefixime(CFIX)及びcefteram(CFTM)と、さらに*in vivo*抗菌力にはCFTMの代わりにcefteram pivoxil(CFTM-PI)を加え、これらの薬剤と比較検討し次の結果を得た。

*Staphylococcus aureus* (methicillin sensitive *S. aureus*; MSSA)及びcoagulase陰性staphylococciに対するBMY-28100の*in vitro*抗菌力はCCL, CFIX及びCFTMよりも強く、*Streptococcus pyogenes*及び*Streptococcus pneumoniae*に対してはCCL及びCFIXより強い抗菌力を示した。

腸内細菌科の菌種、*Acinetobacter calcoaceticus*, *Haemophilus influenzae*及び*Bordetella pertussis*に対し、BMY-28100はCCLよりやや強いほぼ同等、CFIX及びCFTMより弱い抗菌力を示した。*Neisseria gonorrhoeae* (non-penicillinase producing *N. gonorrhoeae*; non-PPNG), *N. gonorrhoeae* (PPNG)及び*Clostridium difficile*に対しBMY-28100はCCL, CFIX及びCFTMより強い抗菌力を示した。

マウス全身感染モデルに対してBMY-28100は感染菌としてグラム陽性球菌の*S. aureus*, *S. pneumoniae*及び*Enterococcus faecalis*を用いた場合、CCL, CFIX及びCFTM-PIより優れた治療効果を示した。グラム陰性桿菌の*Escherichia coli*又は*Klebsiella pneumoniae*を用いた場合BMY-28100は比較対照薬と同等かやや劣る治療効果であった。

局所感染モデルとして*K. pneumoniae*のマウス経鼻感染及び*E. coli*をマウス上行性尿路感染させた場合BMY-28100はCCLとほぼ同等の治療効果が得られた。

**Key words**: BMY-28100, *in vitro*抗菌力, *in vivo*抗菌力

BMY-28100は1983年にプリストル・マイヤーズ研究所株式会社、東京研究所において新しく創製された3位にpropenyl基を有する非エステル型の経口セフェム剤である<sup>1)</sup>(Fig. 1)。本抗菌薬はグラム陽性及びグラム陰性菌に対して広い抗菌スペクトルを有することが報告されている<sup>2-5)</sup>。

本報告はBMY-28100の*in vitro*及び*in vivo*の抗菌作用をcefaclor(CCL)<sup>6)</sup>, cefixime(CFIX)<sup>7)</sup>, cefteram pivoxil(CFTM-PI)<sup>8)</sup>と比較したものである。

### I. 実験材料および方法

#### 1. 使用菌株

当教室保存の標準菌株及び1982~1987年に臨床材料から分離したグラム陽性菌及びグラム陰性菌の多数株を使用した。

#### 2. 使用抗菌薬

BMY-28100(969.8 $\mu$ g/mg, プリストル・マイヤーズ研究所)

cefaclor(CCL, 1000 $\mu$ g/mg, 塩野義製薬)

cefixime(CFIX, 881 $\mu$ g/mg, 藤沢薬品)

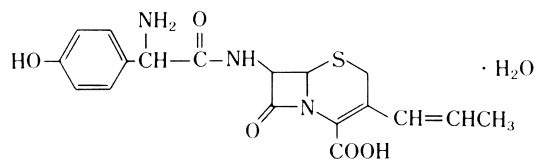
cefteram(CFTM, 962 $\mu$ g/mg, 富山化学)

cefteram pivoxil(CFTM-PI, 766 $\mu$ g/mg, 富山化学)

#### 3. 感受性測定

日本化学療法学会最小発育阻止濃度(MIC)測定法に準じ<sup>9)</sup>, 前培養にはMueller Hinton broth(MHB; Difco), 感受性測定にはMueller Hinton medium(MHM; Difco)を用いた。

*Streptococcus*属に対するMIC測定には5%馬脱繊維血を添加したMHM, *Enterococcus*属の場合はBrain heart infusion agar(BHIA; Difco), *Haemophilus influenzae*ではFildes enrichment(Difco)を5%添加したMHMを使用した。*Bordetella pertussis*の場合には20%馬脱繊維血添加のBor-



(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

Fig. 1. Chemical structure of BMY-28100.

\* 東京都大田区大森西5-21-16

detet-Gengou medium (Difco)にて48時間培養した菌を1% casamino acid (和光純薬)を含む0.35%塩化ナトリウム (和光純薬)液に懸濁し、1%グリセリン (和光純薬)及び5%馬脱繊維血を含むBordet-Gengou mediumに接種した後48時間培養した。*Neisseria gonorrhoeae*の場合、GC medium (Difco)にsupplementとして別に調製した溶液 [cocarboxylase (和光純薬)0.001g, glucose (和光純薬)20g, glutamine (和光純薬)0.5gを蒸留水100mlに溶解する。]を最終濃度2%となるように加え、37℃, 18時間ろうそく培養した。

嫌気性菌のMIC測定は化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC)測定法に準じ、前培養にはGAM broth (日水)、測定用培地にはGAM agar (日水)を使用して37℃, 18時間嫌気培養装置内で培養した。

#### 4. マウスの各種の感染モデルにおける感染防御効果

マウスは特記しないかぎりICR系, 雄, 体重19±1gを

一群6匹用いた。

##### 1) 単独菌感染モデル

*Staphylococcus aureus* Smith, *Streptococcus pneumoniae* TMS3, *Enterococcus faecalis* TMS3, *Escherichia coli* C-11, *Klebsiella pneumoniae* 3K-25を感染菌として用いた。

増菌培地として*S. aureus*, *E. coli*及び*K. pneumoniae*の場合は普通寒天培地 (栄研) 平板, *S. pneumoniae*の場合は5%馬脱繊維血加Heart infusion agar (HIA; Difco) 平板, *E. faecalis*の場合はHIA平板を用い37℃, 18時間培養後、菌体を集菌し、生理食塩液に懸濁後所定の菌量となるように調製し、最終濃度5%となるようにmucin (Difco)液を加え、腹腔内に接種した。感染1時間後にBMY-28100, CCL, CFIX及びCFTM-PIをそれぞれ経口投与した。観察は感染後5日間行い、マウスの生死によりED<sub>50</sub>をVan der Waerden法により算出した。

##### 2) 混合感染モデル

*S. aureus* Smith株と*E. faecalis* TMS3株及び*E. coli* C-

Table 1. Antibacterial spectrum of BMY-28100, cefaclor (CCL), cefixime (CFIX) and ceftam (CFTM)

Organism	MIC (µg/ml)			
	BMY-28100	CCL	CFIX	CFTM
<i>S. aureus</i> 209P	1.56	3.13	25	6.25
<i>S. pneumoniae</i> Type 1	≤0.025	1.56	0.1	≤0.025
<i>S. pneumoniae</i> Type 2	≤0.025	6.25	0.05	≤0.025
<i>S. pneumoniae</i> Type 3	≤0.025	6.25	0.05	≤0.025
<i>E. faecalis</i> 216	12.5	50	>100	>100
<i>B. subtilis</i> ATCC6633	0.1	0.1	3.13	0.39
<i>M. luteus</i> ATCC9341	0.1	0.39	6.25	0.1
<i>S. typhi</i> S60	1.56	1.56	0.39	0.2
<i>S. paratyphi</i> B	0.78	3.13	0.05	0.39
<i>S. typhimurium</i> No.11	1.56	3.13	0.1	0.2
<i>S. sonnei</i> 4	1.56	3.13	0.39	0.1
<i>E. coli</i> NIHJ JC2	3.13	3.13	0.20	0.39
<i>K. pneumoniae</i> IFO3512	0.78	1.56	0.025	0.2
<i>K. oxytoca</i> 1	1.56	3.13	0.025	0.10
<i>P. mirabilis</i> ATCC21100	1.56	3.13	0.025	0.025
<i>P. vulgaris</i> IFO3851	6.25	12.5	0.025	0.025
<i>M. morgani</i> IFO3848	1.56	25	0.025	0.025
<i>P. rettgeri</i> IFO13501	6.25	12.5	0.025	0.025
<i>P. stuartii</i> IFO12930	1.56	12.5	0.025	0.025
<i>C. freundii</i> No.2	12.5	50	3.13	0.39
<i>E. cloacae</i> 1	100	>100	3.13	0.39
<i>S. marcescens</i> IFO12648	100	>100	0.1	0.2
<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	>100	>100	>100	>100
<i>P. cepacia</i> ATCC17759	>100	>100	6.25	6.25
<i>X. maltophilia</i> TMS228	>100	>100	>100	>100
<i>A. calcoaceticus</i> NCTC7844	>100	>100	100	100
<i>A. faecalis</i> NCTC655	3.13	12.5	6.25	12.5
<i>A. xylosoxidans</i> TMS73	>100	>100	>100	>100

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

11株と*Bacteroides fragilis* GM-7004株の2種類の組合せを用いた。

*S. aureus*及び*E. coli*の場合、普通寒天平板、*E. faecalis*の場合はHIA平板で37℃、18時間、また*B. fragilis*の場合はGAM寒天平板で37℃、18時間嫌気培養装置内で増菌した菌を集菌し、生理食塩液に懸濁後、所定の菌量となるように調製し、最終濃度5%となるようにmucin液を加えて腹腔内に接種した。感染1時間後、BMY-28100、CCL、CFIX及びCFTM-PIをそれぞれ経口投与した。観察は感染後5日間行いマウスの生死によりED<sub>50</sub>をVan der Waerden法により算出した。

### 3) 白血球減少症マウスの単独菌感染モデル

感染4日前にcyclophosphamide(sigma)250mg/kgをマウスの腹腔内に投与し、白血球減少症マウスを作製した<sup>10)</sup>。感染菌として*E. coli* C-11株を用いた。普通寒天平板で37℃、18時間培養した菌を集菌し、生理食塩液に懸濁後所定の菌量となるように調製し、最終濃度5%

となるようにmucin液を加えて腹腔内に接種した。感染1時間後BMY-28100、CCL、CFIX及びCFTM-PIをそれぞれ経口投与した。観察は感染後5日間行い、ED<sub>50</sub>はマウスの生残率からVan der Waerden法により算出した。

### 4) 呼吸器感染モデル

感染菌の*K. pneumoniae* 3K-25を普通寒天平板で37℃、18時間増菌させ生理食塩液に懸濁後所定の菌液を調製し、その菌液の0.02mlをエーテル麻酔下のマウスに経鼻接種した。薬剤は感染6時間後より1日1回、5mg/mouseを4日間経口投与した。治療効果の判定は肺内生菌数の測定により行い、感染直後、感染後6時間、1日、2日、3日、5日及び7日後に放血させたマウスの肺を無菌的に摘出した後、生理食塩液2mlを加えてホモジナイズし、これを原液として10倍希釈した液0.1mlを普通寒天平板に滴下後コンラージ棒により塗布し、37℃、18時間培養を行い肺1g当たりの生菌数を算出した。生菌数は一群6匹の対数平均値であらわした。

Table 2. Antibacterial spectrum of BMY-28100, cefaclor (CCL), cefixime (CFIX) and ceftam (CFTM)

Organism	MIC (µg/ml)			
	BMY-28100	CCL	CFIX	CFTM
<i>S. aureus</i> 209P	1.56	12.5	25	12.5
<i>S. pneumoniae</i> Type 1	0.78	12.5	1.56	0.1
<i>S. pneumoniae</i> Type 2	0.78	6.25	0.05	≤0.025
<i>S. pneumoniae</i> Type 3	0.78	6.25	0.1	≤0.025
<i>E. faecalis</i> 216	25	100	>100	>100
<i>B. subtilis</i> ATCC6633	0.2	0.2	100	0.39
<i>M. luteus</i> ATCC9341	0.39	0.39	50	12.5
<i>S. typhi</i> S60	50	12.5	0.78	25
<i>S. paratyphi</i> B	>100	12.5	0.78	25
<i>S. typhimurium</i> No.11	>100	50	6.25	25
<i>S. sonnei</i> 4	3.13	12.5	0.78	25
<i>E. coli</i> NIHJ JC2	6.25	25	0.39	0.78
<i>K. pneumoniae</i> IFO3512	1.56	1.56	0.025	0.39
<i>K. oxytoca</i> 1	3.13	3.13	0.05	0.39
<i>P. mirabilis</i> ATCC21100	>100	>100	0.2	50
<i>P. vulgaris</i> IFO3851	>100	>100	0.2	25
<i>M. organii</i> IFO3848	>100	>100	0.39	25
<i>P. rettgeri</i> IFO13501	>100	>100	0.39	25
<i>P. stuartii</i> IFO12930	>100	>100	1.56	25
<i>C. freundii</i> No.2	>100	>100	3.13	25
<i>E. cloacae</i> 1	>100	>100	6.25	12.5
<i>S. marcescens</i> IFO12648	>100	>100	6.25	12.5
<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	>100	>100	>100	>100
<i>P. cepacia</i> ATCC17759	>100	>100	25	50
<i>X. maltophilia</i> TMS228	>100	>100	>100	>100
<i>A. calcoaceticus</i> NCTC784+	>100	>100	>100	>100
<i>A. faecalis</i> NCTC655	>100	>100	6.25	>100
<i>A. xylooxidans</i> TMS73	>100	>100	>100	>100

Inoculum size : 10<sup>8</sup> cells/ml

## 5) 上行性尿路感染モデル

感染菌の*E. coli* KU-3を普通寒天平板で、37℃、18時間増菌させ生理食塩液に懸濁後所定の菌液を調製した。

感染前20時間給水を止めたICR系雌マウス(4週齢、体重19±1g、1群6匹)をエーテル麻酔下で下腹部を強く圧迫排尿させ、下腹部をエタノール消毒後、調製菌液0.05mlをポリエチレンカテーテルを用いて経尿道的に膀胱内に接種した。外尿道口を小型クリップで直ちに閉塞し、1時間後に解除した。マウスへの給水は感染2時間後より行った。薬剤は感染24時間後より5mg/mouseを1日2回、3日間、計6回経口投与した。

腎内生菌数の測定は感染後1日、2日、3日及び5日後に放血死させたマウスの腎臓を無菌的に摘出し、生理食塩水2mlを加えてホモジナイズした後これを原液として10倍希釈した液0.1mlを普通寒天平板に滴下後、コンラージ棒により塗布し、37℃、18時間培養を行い、腎1g当たりの生菌数を算出した。生菌数は一群6匹の対数平均値であらわした。

## 5. マウス血清中濃度測定

感染実験に用いた同条件のマウスを一群5匹としBYM-28100, CCL, CFIX及びCFTM-PIを0.5mg/mouse又

は1mg/mouseそれぞれ経口投与した。5分、15分、30分、1時間、2時間、3時間後に断頭採血した血液の一定量を一群5匹ずつプールし、遠心分離した後の血清中濃度をBYM-28100, CCLは*Bacillus subtilis* ATCC 6633, CFIX, CFTM-PIは*Micrococcus luteus* ATCC 9341を検定菌とする薄層ディスク法にて測定した。

## 6. マウス腎及び肺内濃度測定

感染実験に用いた同条件のマウスを一群5匹とし、BYM-28100, CCL, CFIX及びCFTM-PIをそれぞれ1mg/mouse経口投与した。30分、1時間、2時間、3時間後に摘出した腎及び肺に生理食塩液2mlを加えた後、ホモジナイズし、遠心分離後の上清の濃度を測定した。測定法はマウス血清中濃度測定と同様に行った。

## II. 実験成績

## 1. 抗菌スペクトル

グラム陽性菌、グラム陰性菌に対する抗菌力を測定した結果をTable 1, 2に示した。10<sup>6</sup>cells/ml接種においてBYM-28100のグラム陽性菌に対する抗菌力はCCLより強いが、グラム陰性菌に対しては、わずかに強いが、ほぼ同等であった(Table 1)。本剤は他の対照抗菌薬と同様接種菌量の影響を受け10<sup>8</sup>cells/ml接種時のMIC値は大

Table 3. Antibacterial activity against anaerobic bacteria

Organism	MIC (μg/ml)			
	BYM-28100	CCL	CFIX	CFTM
<i>B. fragilis</i> GM7004	>100	>100	>100	>100
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL3304	12.5	50	12.5	12.5
<i>B. distasonis</i> TMS58	12.5	50	12.5	12.5
<i>B. vulgatus</i> ATCC29327	50	50	12.5	1.56
<i>F. necrophorum</i> TMS82	≦0.025	≦0.025	≦0.025	≦0.025
<i>F. varium</i> TMS112	≦0.025	≦0.025	≦0.025	≦0.025
<i>F. nucleatum</i> TMS110	≦0.025	≦0.025	≦0.025	≦0.025
<i>P. prevotii</i> GM1001	25	50	12.5	12.5
<i>P. variabilis</i> GM1002	≦0.025	≦0.025	≦0.025	≦0.025
<i>P. asaccharolyticus</i> TMS83	0.78	0.39	1.56	0.39
<i>P. magnus</i> ATCC14956	≦0.025	≦0.025	≦0.025	≦0.025
<i>C. sporogenes</i> TMS118	≦0.025	0.39	≦0.025	≦0.025
<i>C. botulinum</i> Type A	1.56	6.25	50	25
<i>C. botulinum</i> Type B	50	25	12.5	1.56
<i>C. botulinum</i> Type C	0.78	1.56	1.56	0.05
<i>C. botulinum</i> Type D	1.56	1.56	12.5	6.25
<i>C. botulinum</i> Type E	0.39	0.78	1.56	≦0.025
<i>C. botulinum</i> Type F	1.56	1.56	12.5	12.5
<i>C. perfringens</i> ATCC13123	0.1	12.5	12.5	0.39
<i>C. difficile</i> No.11011	6.25	50	>100	100
<i>C. difficile</i> TMS29	1.56	6.25	12.5	12.5
<i>C. tetani</i> TMS89	1.56	≦0.025	12.5	12.5

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

CCL : cefaclor    CFIX : cefixime    CFTM : ceftoram

きかった(Table 2)。

嫌気性菌に対する成績をTable 3, 4に示した。10<sup>6</sup> cells/ml接種の場合, BMY-28100は*Bacteroides*属を除く各菌種に対して対照抗菌薬と同等かやや強い抗菌力を示した。10<sup>8</sup> cells/ml接種ではBMY-28100の抗菌力の低下は他剤に比べ軽度であった。しかし, *Peptostreptococcus prevotii* GM1001, *Clostridium botulinum* Type Aの菌数によるMICの差は大であった。

## 2. 臨床分離株の感受性分布

### 1) 各菌種の感受性分布

臨床材料から分離された*S. aureus* (methicillin sensitive *S. aureus*; MSSA) 25株, *S. aureus* (methicillin resistant *S. aureus*; MRSA) 35株, coagulase(-)staphylococci 34株, *Streptococcus pyogenes* 23株, *S. pneumoniae* 34株, *Enterococcus avium* 16株, *E. faecalis* 46株, *Enterococcus faecium* 28株, *E. coli* 32株, *K. pneumoniae* 29株, *Klebsiella oxytoca* 17株, *Proteus mirabilis* 20株, *Proteus vulgaris* 20株, *Morganella morganii* 20株, *Providencia rettgeni* 20株, *Providencia stuartii* 24株, *Enterobacter cloacae* 22株, *Serratia marcescens* 27株, *Pseudomonas aeruginosa* 18株, *Acinetobacter calcoaceticus* 21株, *H. influenzae* 33株, *B. pertussis* 21

株, *N. gonorrhoeae* (non-penicillinase producing *N. gonorrhoeae*; non-PPNG) 40株, *N. gonorrhoeae* (PPNG) 33株, *Clostridium difficile* 25株及び*B. fragilis* 23株に対するBMY-28100, CCL, CFIX及びCFTMの*in vitro*抗菌力をFig. 2~32に示した。

*S. aureus* (MSSA)に対するMIC<sub>90</sub>は10<sup>8</sup> cells/ml接種時BMY-28100; 6.25 µg/ml, CCL; 50 µg/ml, CFIX; >100 µg/ml, CFTM; >100 µg/mlであり, 10<sup>6</sup> cells/ml接種の場合, BMY-28100; 3.13 µg/ml, CCL; 6.25 µg/ml, CFIX; 100 µg/ml, CFTM; 100 µg/mlであり, BMY-28100はCCLに比べ接種菌量の影響を受けなかった(Fig. 2)。

上記のMSSA 25株中11株はβ-lactamaseを産生したがこれらの菌株に対する10<sup>6</sup> cells/ml接種のMIC<sub>90</sub>はBMY-28100; 12.5 µg/ml, CCL; 100 µg/ml, CFIX; 100 µg/ml, CFTM; 100 µg/mlで, BMY-28100が最も活性が強かった(Fig. 3)。

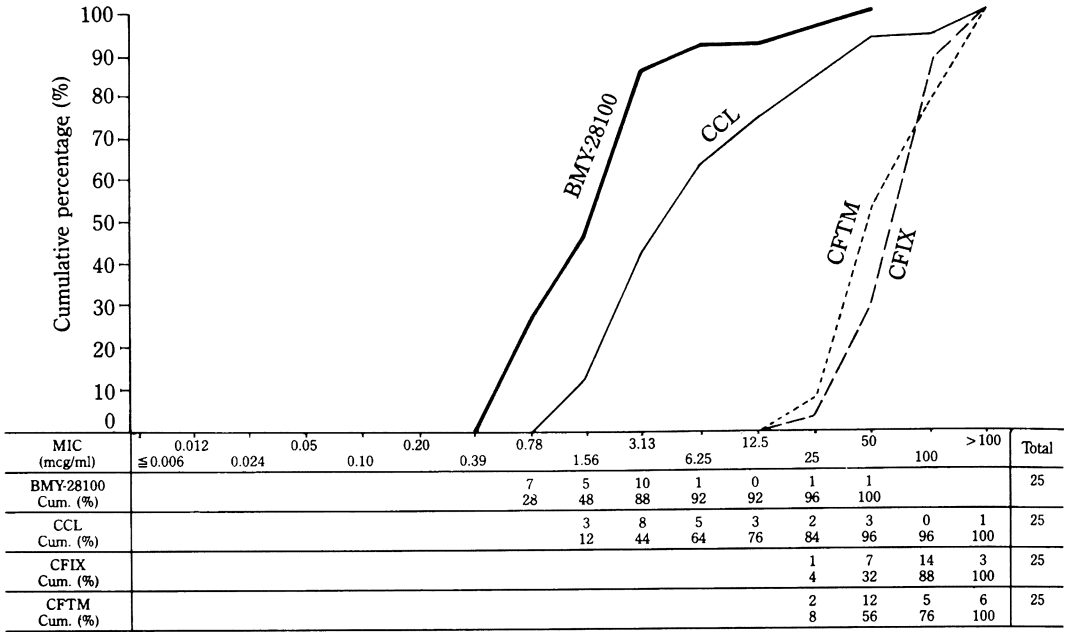
一方*S. aureus* (MRSA) (methicillinに対するMIC 12.5 µg/ml以上)の菌株に対し, BMY-28100, CCL, CFIX及びCFTMいずれの抗菌薬も抗菌力を示さなかった(Fig. 4)。

Table 4. Antibacterial activity against anaerobic bacteria

Organism	MIC (µg/ml)			
	BMY-28100	CCL	CFIX	CFTM
<i>B. fragilis</i> GM7004	>100	>100	>100	>100
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL3304	25	100	50	12.5
<i>B. distasonis</i> TMS58	50	100	50	12.5
<i>B. vulgatus</i> ATCC29327	>100	50	50	3.12
<i>F. necrophorum</i> TMS82	0.39	25	1.56	0.78
<i>F. varium</i> TMS112	0.39	25	1.56	0.78
<i>F. nucleatum</i> TMS110	0.39	25	0.78	0.78
<i>P. prevotii</i> GM1001	100	100	100	25
<i>P. variabilis</i> GM1002	0.78	25	100	≤0.025
<i>P. asaccharolyticus</i> TMS83	6.25	>100	>100	1.56
<i>P. magnus</i> ATCC14956	≤0.025	0.78	0.19	0.39
<i>C. sporogenes</i> TMS118	0.78	25	0.78	0.39
<i>C. botulinum</i> Type A	3.12	25	>100	50
<i>C. botulinum</i> Type B	>100	>100	>100	1.56
<i>C. botulinum</i> Type C	0.78	1.56	3.12	0.39
<i>C. botulinum</i> Type D	3.12	6.25	100	50
<i>C. botulinum</i> Type E	0.78	3.13	1.56	0.39
<i>C. botulinum</i> Type F	3.12	12.5	50	100
<i>C. perfringens</i> ATCC13123	6.25	50	>100	50
<i>C. difficile</i> No.11011	25	>100	>100	>100
<i>C. difficile</i> TMS29	3.12	50	>100	>100
<i>C. tetani</i> TMS89	3.12	25	100	50

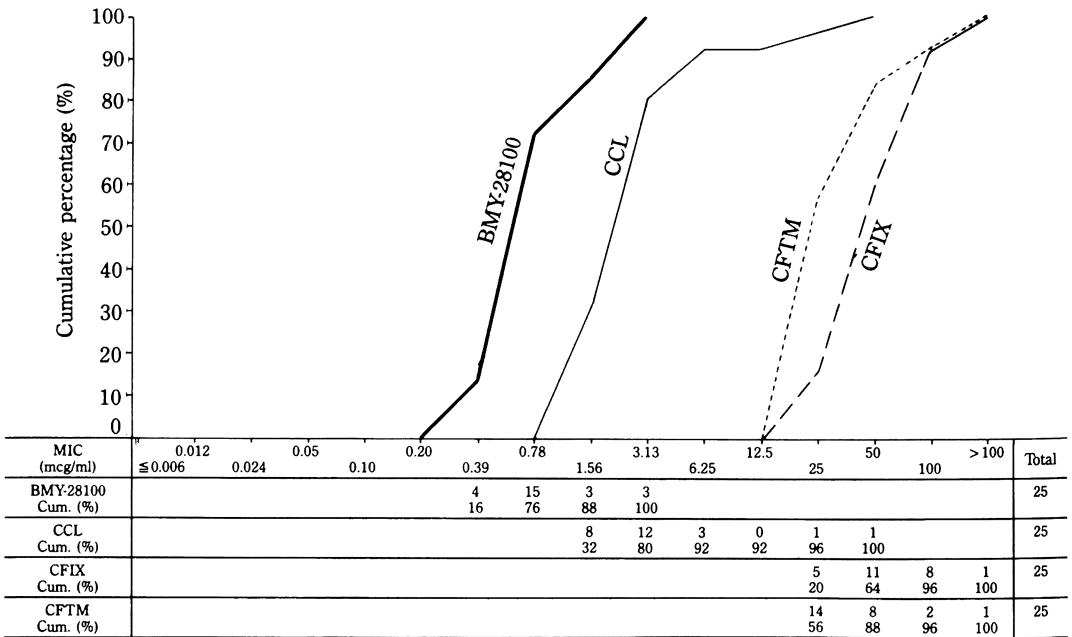
Inoculum size : 10<sup>8</sup> cells/ml

CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftoram



CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : cefteram

Fig. 2a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Staphylococcus aureus* (MSSA), (25 strains, inoculum size :  $10^8$  cells/ml).



CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : cefteram

Fig. 2b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Staphylococcus aureus* (MSSA), (25 strains, inoculum size :  $10^6$  cells/ml).

coagulase(-) staphylococciの場合、 $10^8$ cells/ml接種では、 $1.56\mu\text{g/ml}$ で発育が阻止された菌株の累積百分率はBMY-28100；85%，CCL；56%，CFIX及びCFTM；0%， $10^6$ cells/ml接種ではBMY-28100；100%，CCL；88%，CFIX；0%，CFTM；6%であり、BMY-28100が最も強い抗菌力を示した(Fig. 5)。

*S. pyogenes*に対するMIC<sub>90</sub>値は、 $10^8$ cells/ml接種ではBMY-28100； $0.1\mu\text{g/ml}$ ，CCL； $3.13\mu\text{g/ml}$ ，CFIX； $0.2\mu\text{g/ml}$ ，CFTM； $0.012\mu\text{g/ml}$ ， $10^6$ cells/ml接種ではBMY-28100； $0.05\mu\text{g/ml}$ ，CCL； $1.56\mu\text{g/ml}$ ，CFIX； $0.1\mu\text{g/ml}$ ，CFTM； $\leq 0.006\mu\text{g/ml}$ を示した(Fig. 6)。

*S. pneumoniae*の場合、 $10^8$ cells/ml接種のMIC<sub>90</sub>はBMY-28100； $0.39\mu\text{g/ml}$ ，CCL； $3.13\mu\text{g/ml}$ ，CFIX； $0.39\mu\text{g/ml}$ ，CFTM； $0.024\mu\text{g/ml}$ ， $10^6$ cells/ml接種ではBMY-28100； $0.2\mu\text{g/ml}$ ，CCL； $1.56\mu\text{g/ml}$ ，CFIX； $0.2\mu\text{g/ml}$ ，CFTM； $0.012\mu\text{g/ml}$ であった。BMY-28100の抗菌力はCCLより強く、CFIX及びCFTMより弱かった(Fig. 7)。

*E. avium*に対する $10^8$ cells/ml接種でのMIC<sub>90</sub>はBMY-28100，CCL，CFIX及びCFTMいずれも $>100\mu\text{g/ml}$ ， $10^6$ cells/ml接種ではBMY-28100； $25\mu\text{g/ml}$ ，CCL，CFIX及びCFTM； $>100\mu\text{g/ml}$ を示し、BMY-28100はCCL、

CFIX及びCFTMより強い抗菌力を示した(Fig. 8)。

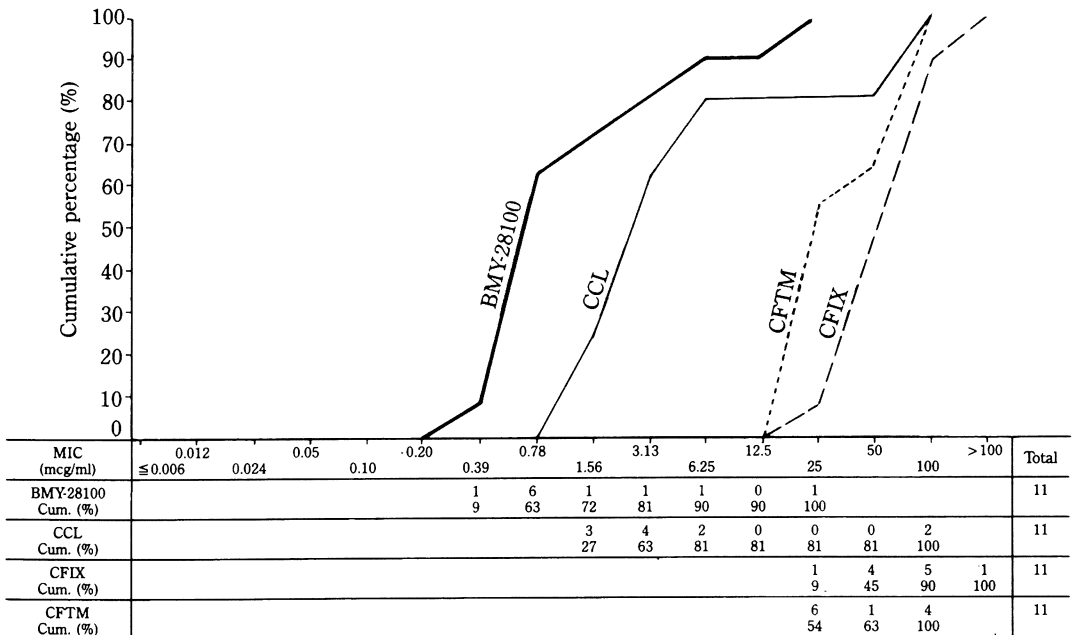
*E. faecalis*の場合、 $10^8$ cells/ml接種時、薬剤濃度 $50\mu\text{g/ml}$ で発育が阻止された菌株の累積百分率はBMY-28100；70%，CCL，CFIX及びCFTM；0%， $10^6$ cells/ml接種ではBMY-28100；89%，CCL；0%，CFIX；9%，CFTM；11%を示し、BMY-28100は他の3剤(CCL，CFIX及びCFTM)より強い抗菌力を示した(Fig. 9)。中には一部の菌で菌数によりCCL，CFIX，CFTMのMICが変動した。

*E. faecium*に対してはBMY-28100，CCL，CFIX及びCFTMいずれの抗菌薬とも弱かった(Fig. 10)。

*E. coli*，*K. pneumoniae*，*K. oxytoca*，*P. mirabilis*の各菌株に対してBMY-28100はCCLとほぼ同等の抗菌力を示したがCFIX及びCFTMよりは弱かった(Fig. 11~14)。

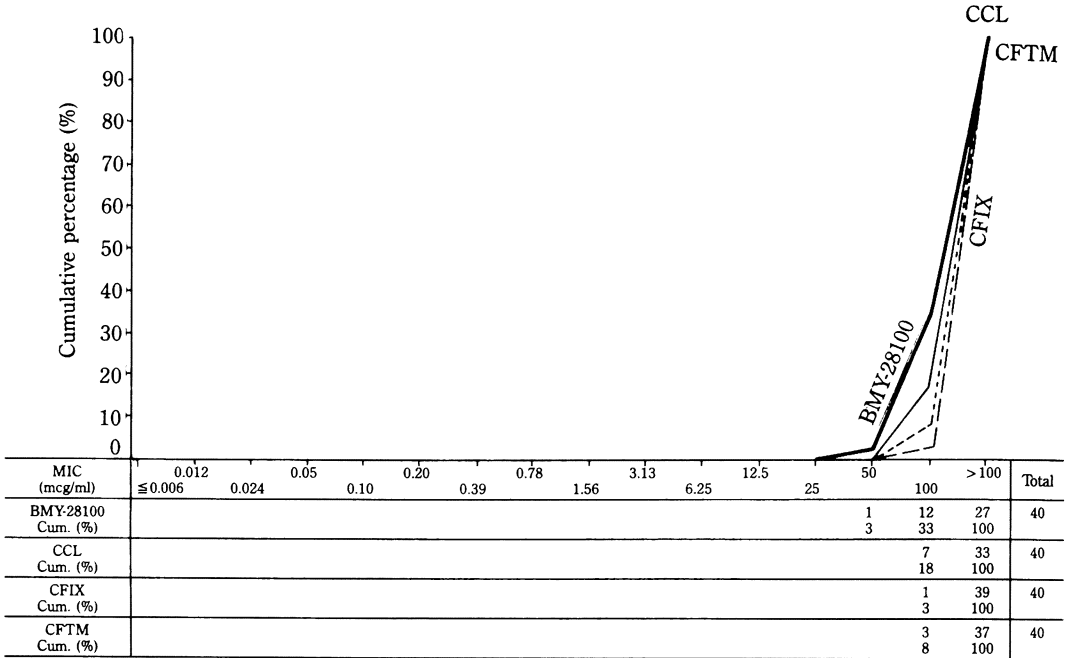
*P. vulgaris*，*M. morgani*，*P. rettgeri*，*P. stuartii*，*E. cloacae*，に対してBMY-28100は広いMIC分布を示し、CCLとほぼ同様に耐性菌が多くみられた。しかしCFIX，CFTMはBMY-28100，CCLより強い抗菌力を示した(Fig. 15~19)。

*S. marcescens*に対し、BMY-28100及びCCLは弱い抗菌力を示した。しかしCFIX及びCFTMは $10^6$ cells/ml接



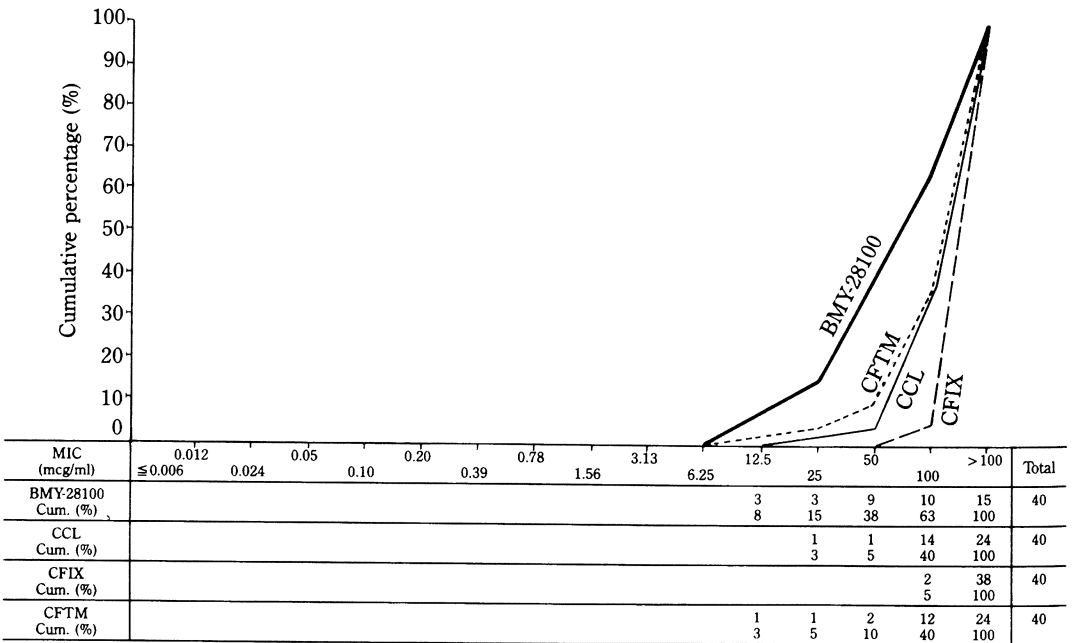
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftemam

Fig. 3. Sensitivity distribution of clinical isolates  $\beta$ -lactamase-producing of *Staphylococcus aureus* (MSSA), (11 strains, inoculum size :  $10^6$  cells/ml).



CCL : cefaclor    CFIX : cefixime    CFTM : cefteram

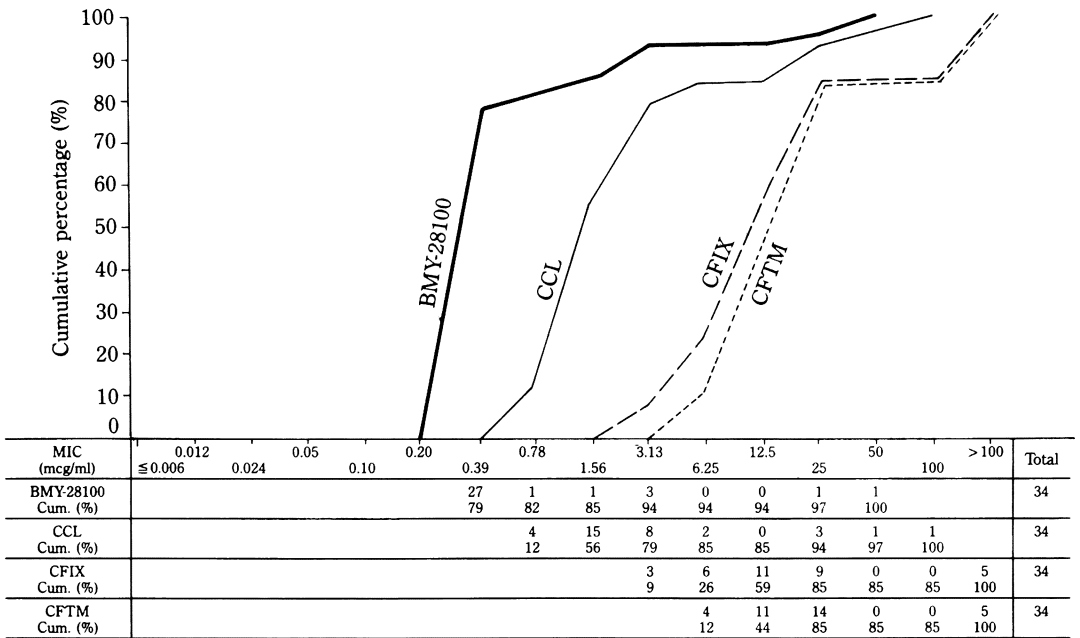
Fig. 4a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Staphylococcus aureus* (MRSA), (40 strains, inoculum size :  $10^8$  cells/ml).



CCL : cefaclor    CFIX : cefixime    CFTM : cefteram

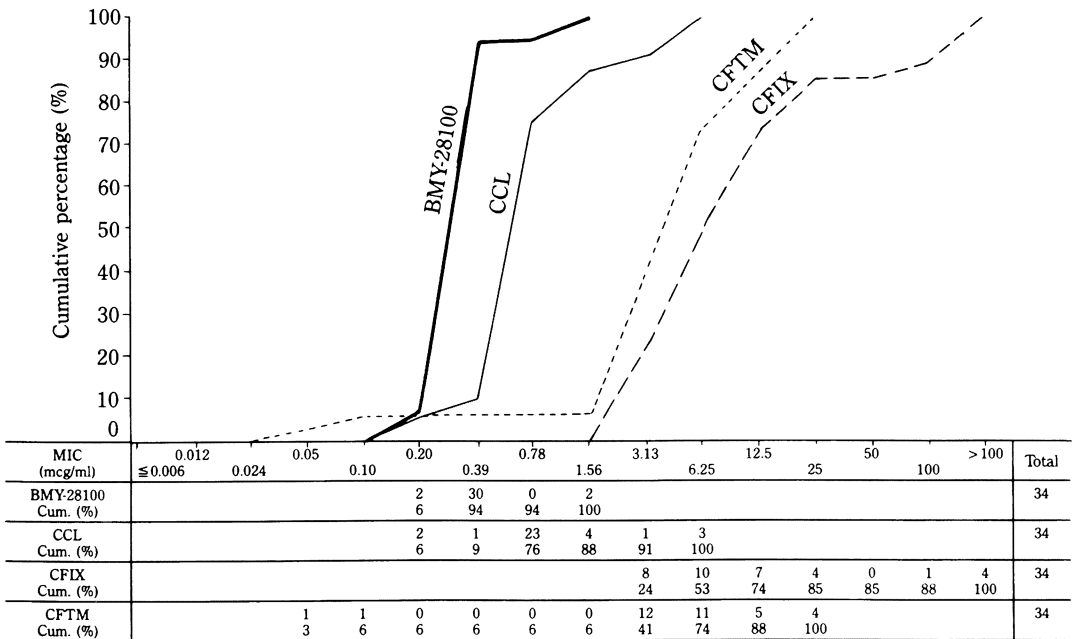
Fig. 4b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Staphylococcus aureus* (MRSA), (40 strains, inoculum size :  $10^6$  cells/ml).





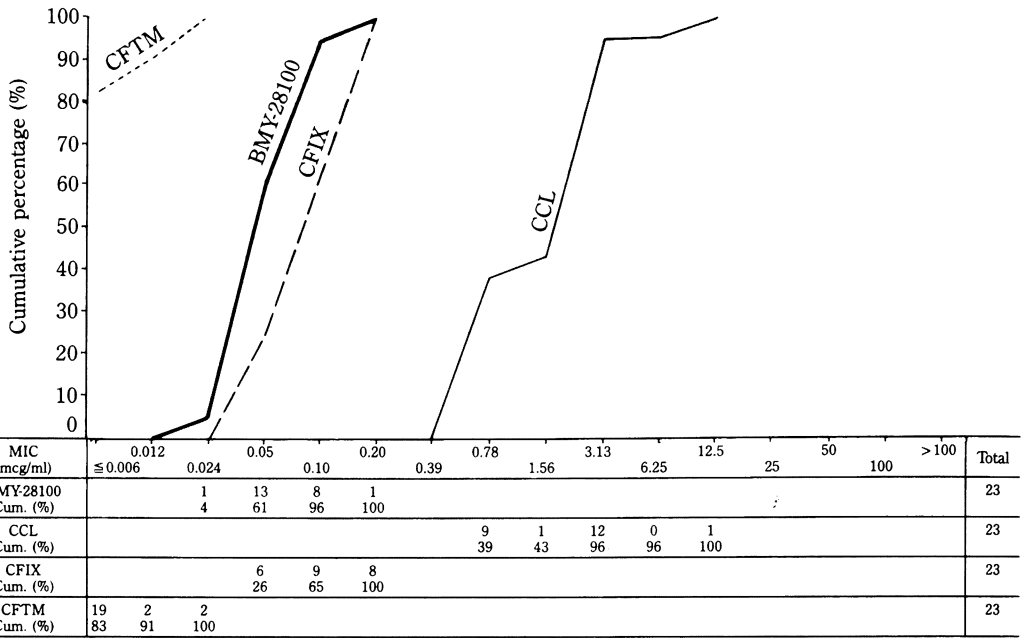
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftemam

Fig. 5a). Sensitivity distribution of clinical isolates of coagulase (-) staphylococci (34 strains, inoculum size :  $10^8$  cells/ml).



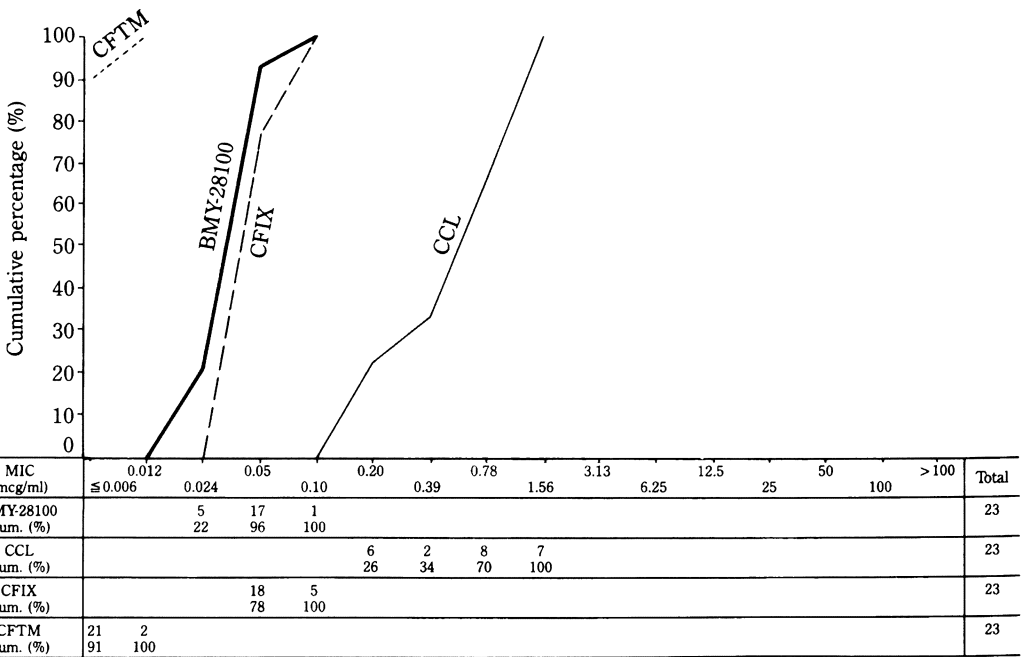
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftemam

Fig. 5b). Sensitivity distribution of clinical isolates of coagulase (-) staphylococci (34 strains, inoculum size :  $10^6$  cells/ml).



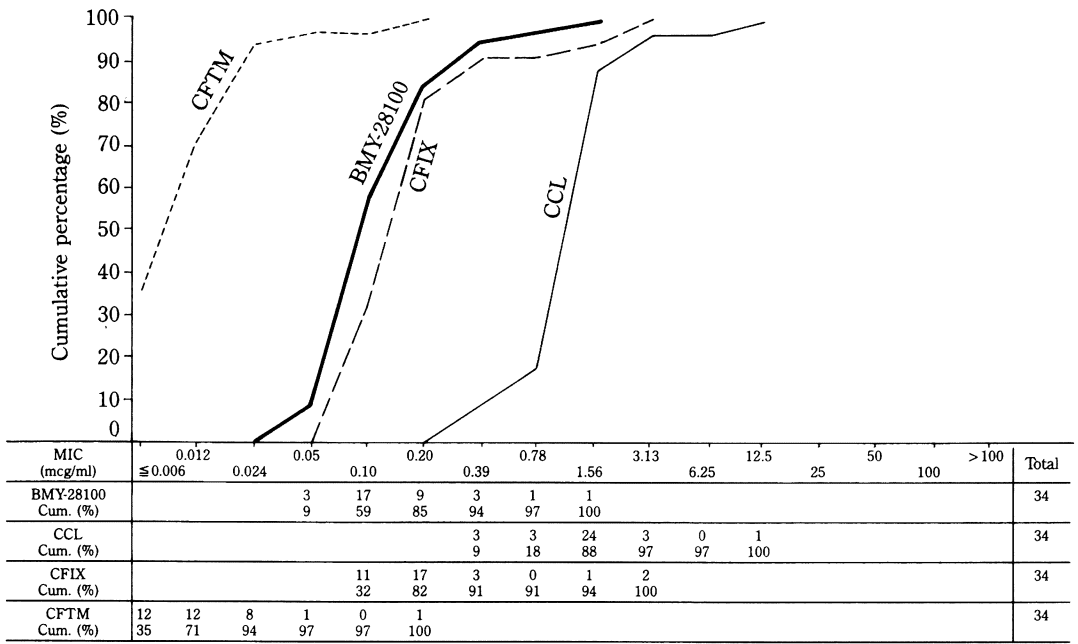
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftemam

Fig. 6a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Streptococcus pyogenes* (23 strains, inoculum size : 10<sup>8</sup> cells/ml).



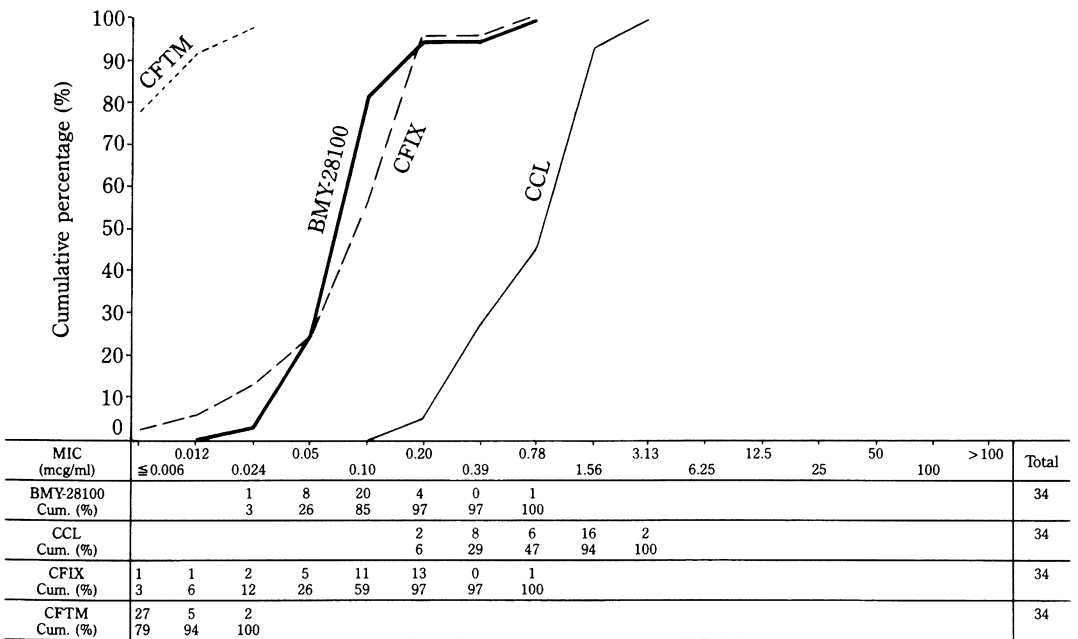
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftemam

Fig. 6b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Streptococcus pyogenes* (23 strains, inoculum size : 10<sup>6</sup> cells/ml).



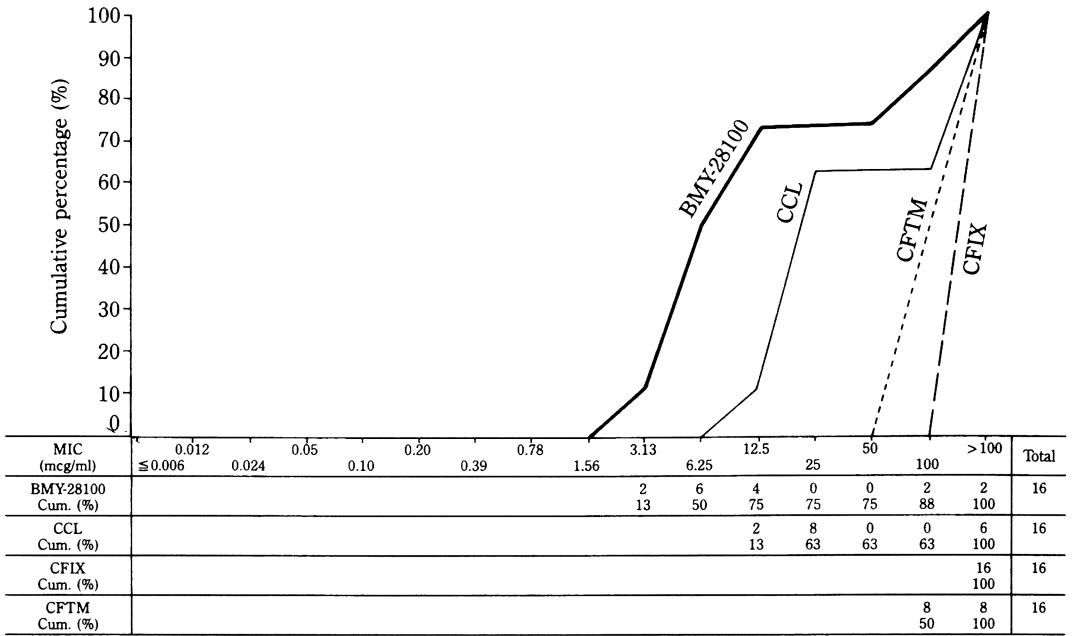
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : cefteram

Fig. 7a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* (34 strains, inoculum size : 10<sup>8</sup> cells/ml).



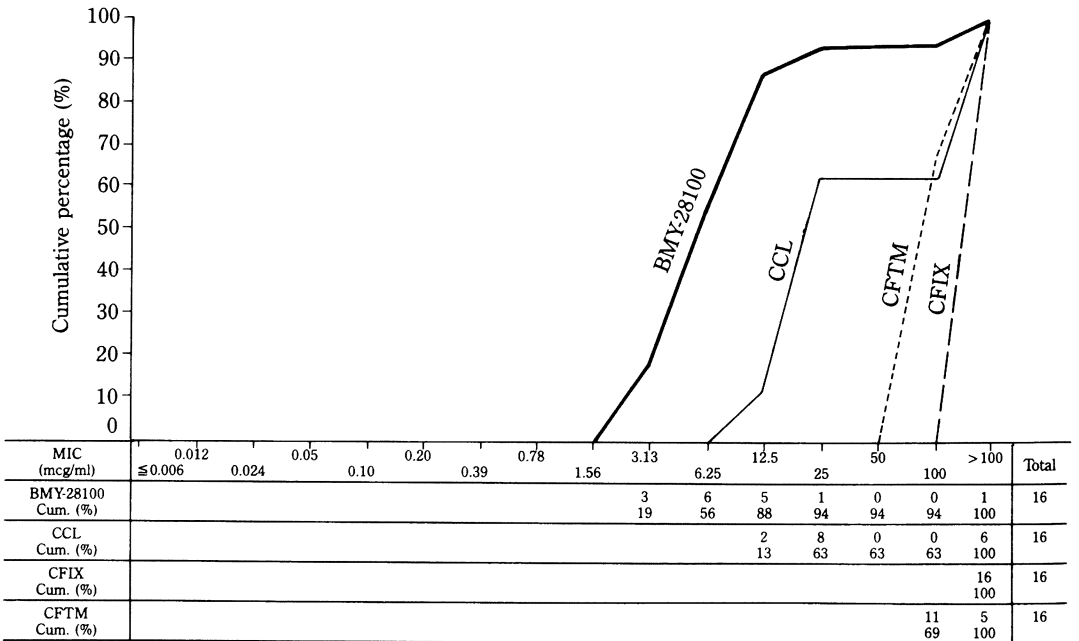
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : cefteram

Fig. 7b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* (34 strains, inoculum size : 10<sup>6</sup> cells/ml).



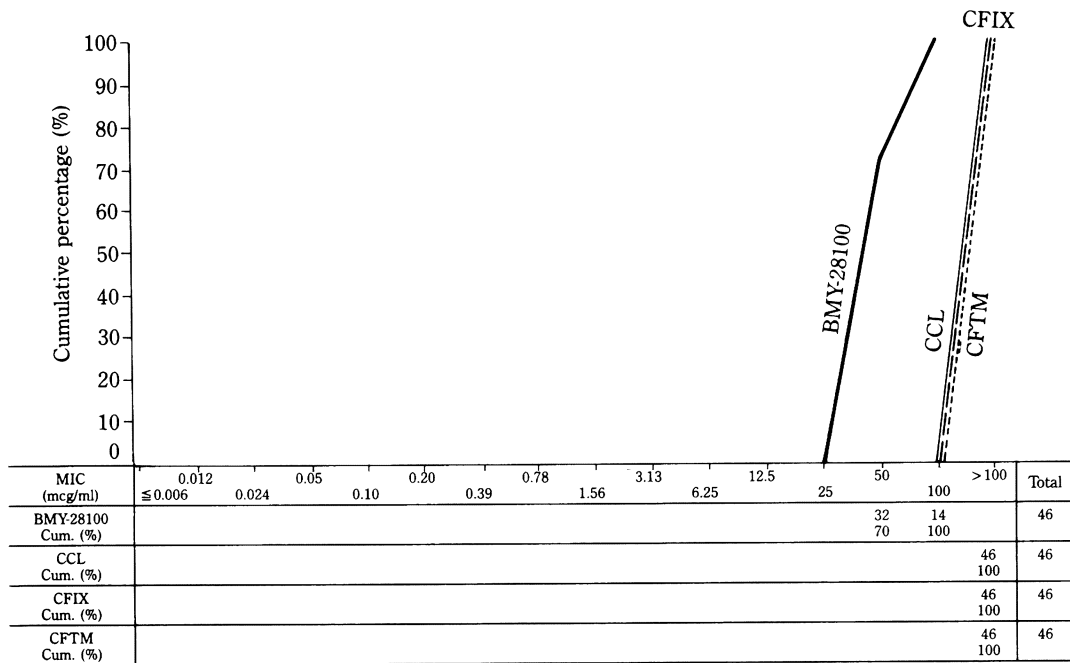
CCL : cefaclor    CFIX : cefixime    CFTM : ceftoram

Fig. 8a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Enterococcus avium* (16 strains, inoculum size : 10<sup>8</sup> cells/ml).



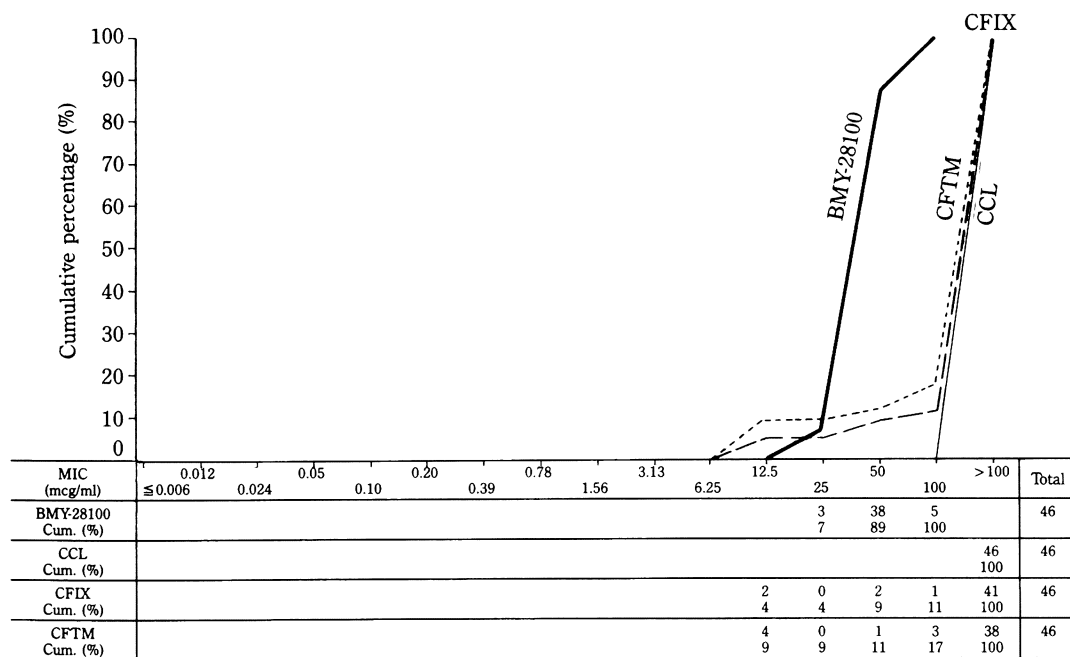
CCL : cefaclor    CFIX : cefixime    CFTM : ceftoram

Fig. 8b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Enterococcus avium* (16 strains, inoculum size : 10<sup>6</sup> cells/ml).



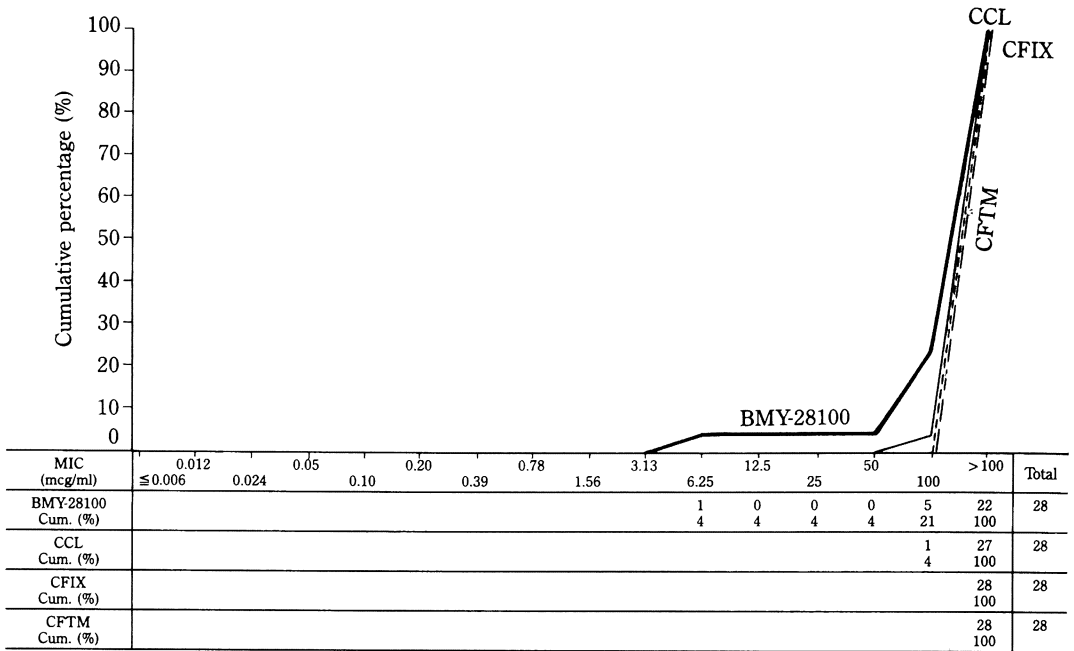
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftemam

Fig. 9a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Enterococcus faecalis* (46 strains, inoculum size :  $10^8$  cells/ml).



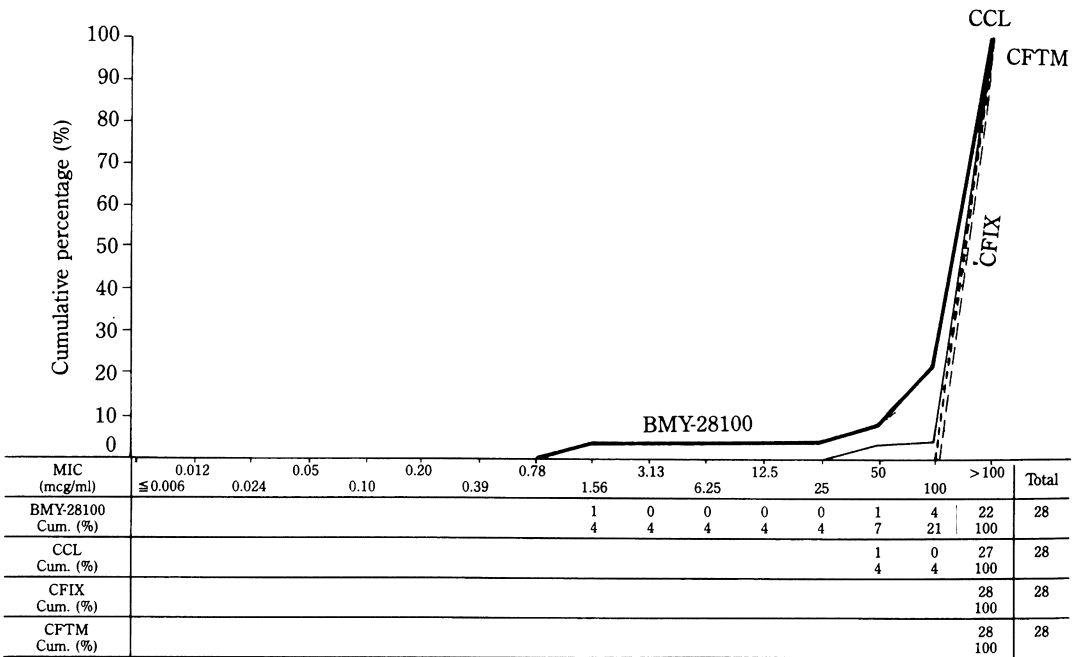
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftemam

Fig. 9b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Enterococcus faecalis* (46 strains, inoculum size :  $10^6$  cells/ml).



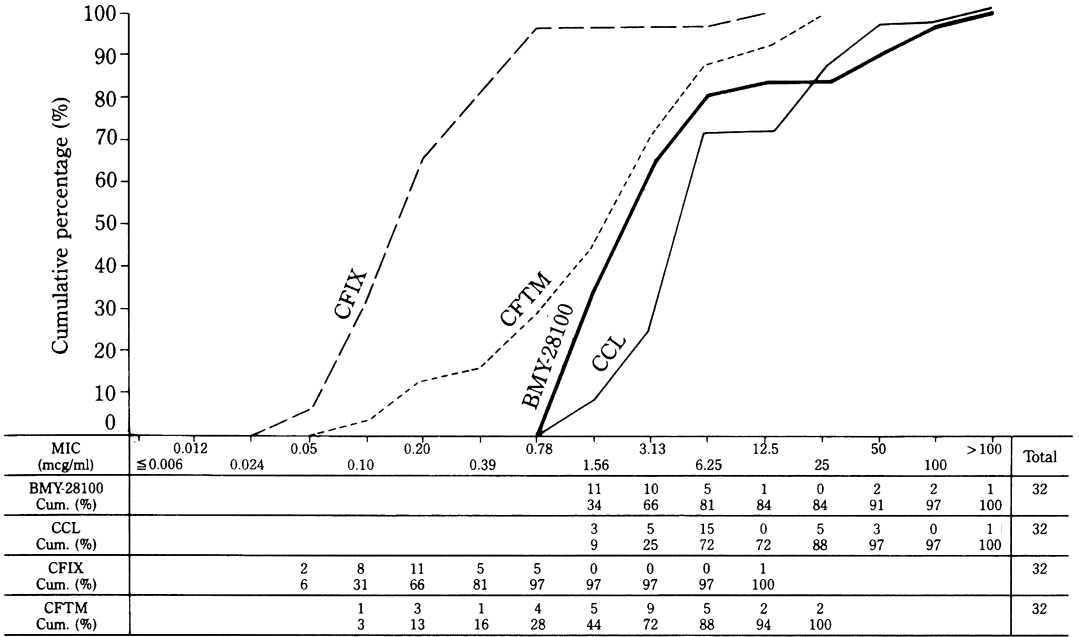
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftamandole

Fig. 10a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Enterococcus faecium* (28 strains, inoculum size : 10<sup>8</sup> cells/ml).



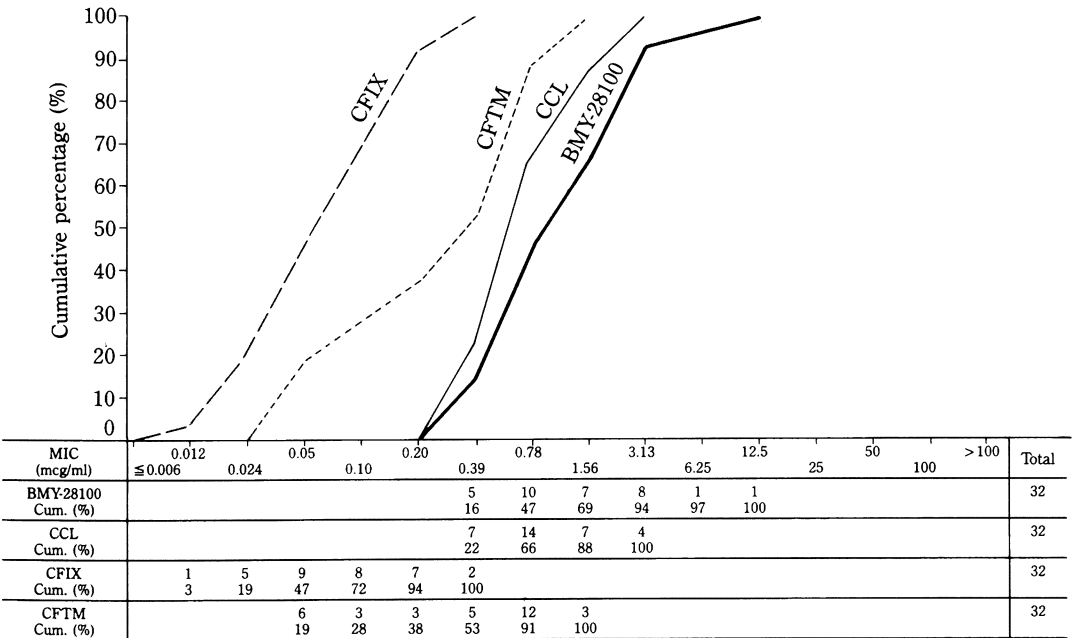
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftamandole

Fig. 10b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Enterococcus faecium* (28 strains, inoculum size : 10<sup>6</sup> cells/ml).



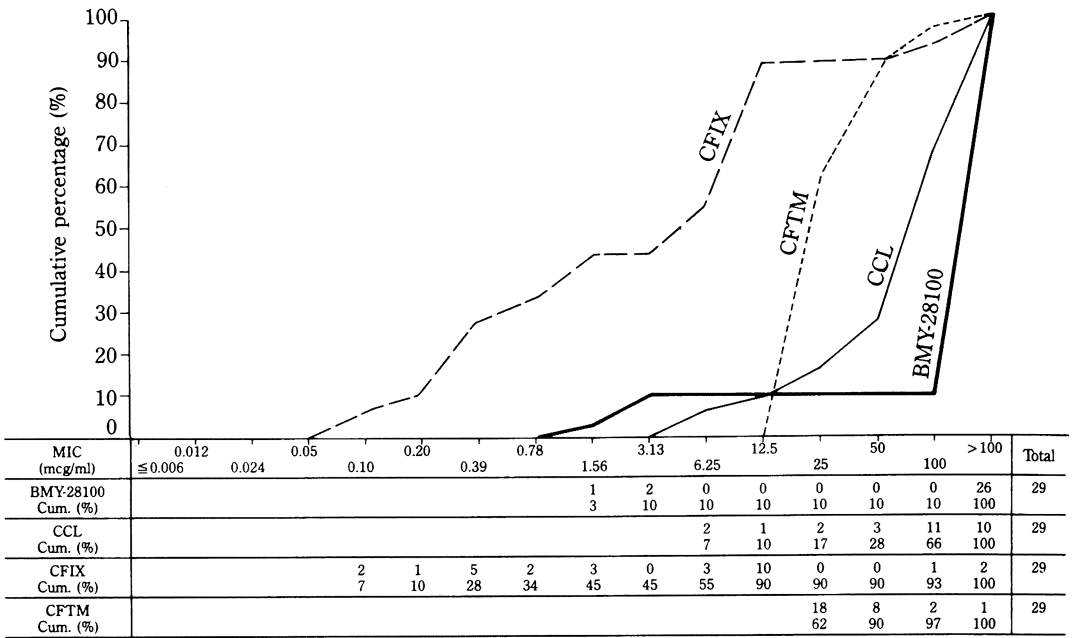
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftam

Fig. 11a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Escherichia coli* (32 strains, inoculum size :  $10^8$  cells/ml).



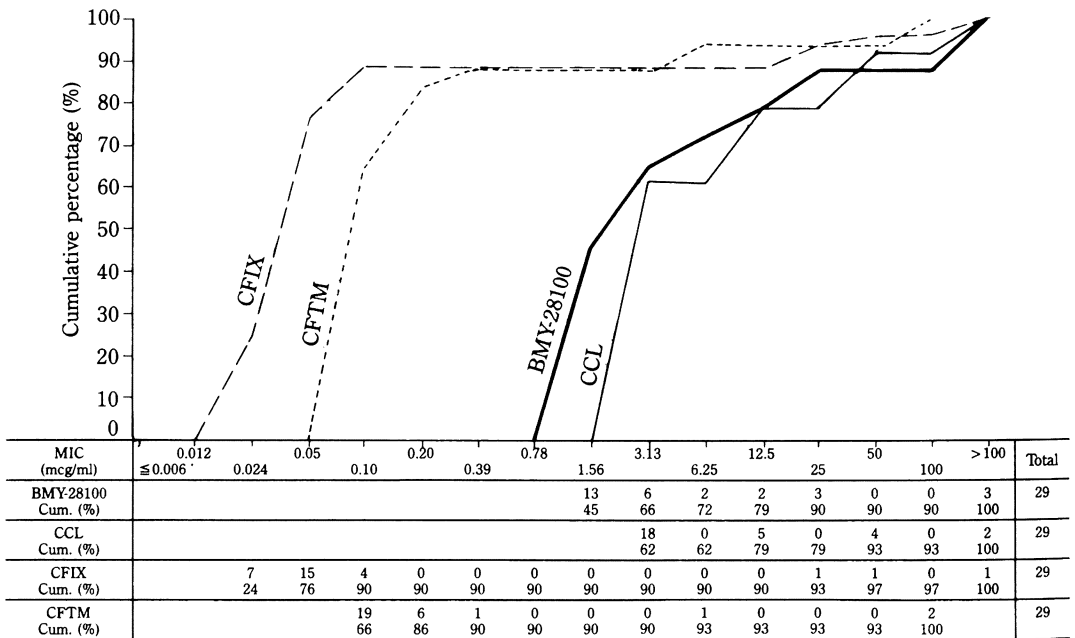
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftam

Fig. 11b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Escherichia coli* (32 strains, inoculum size :  $10^6$  cells/ml).



CCL : cefaclor    CFIX : cefixime    CFTM : ceftoram

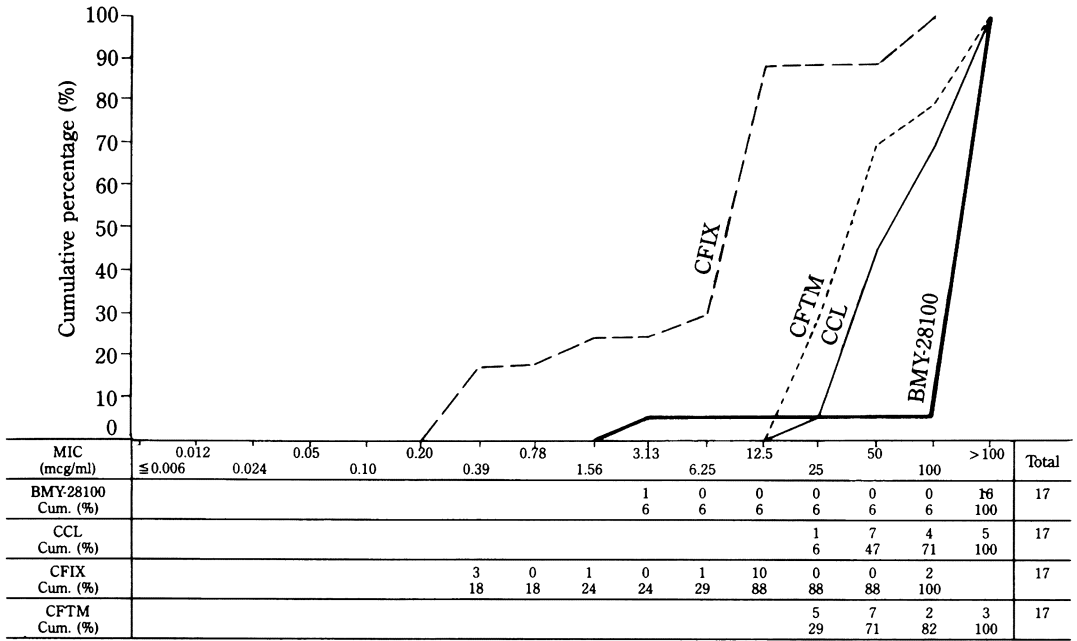
Fig. 12a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* (29 strains, inoculum size : 10<sup>8</sup> cells/ml).



CCL : cefaclor    CFIX : cefixime    CFTM : ceftoram

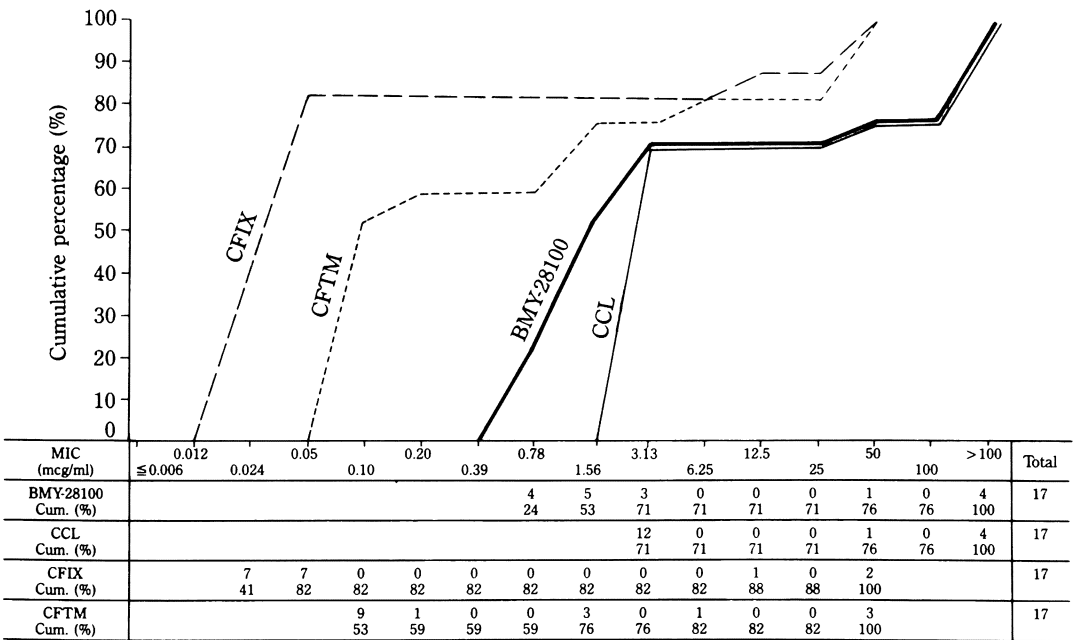
Fig. 12b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* (29 strains, inoculum size : 10<sup>6</sup> cells/ml).





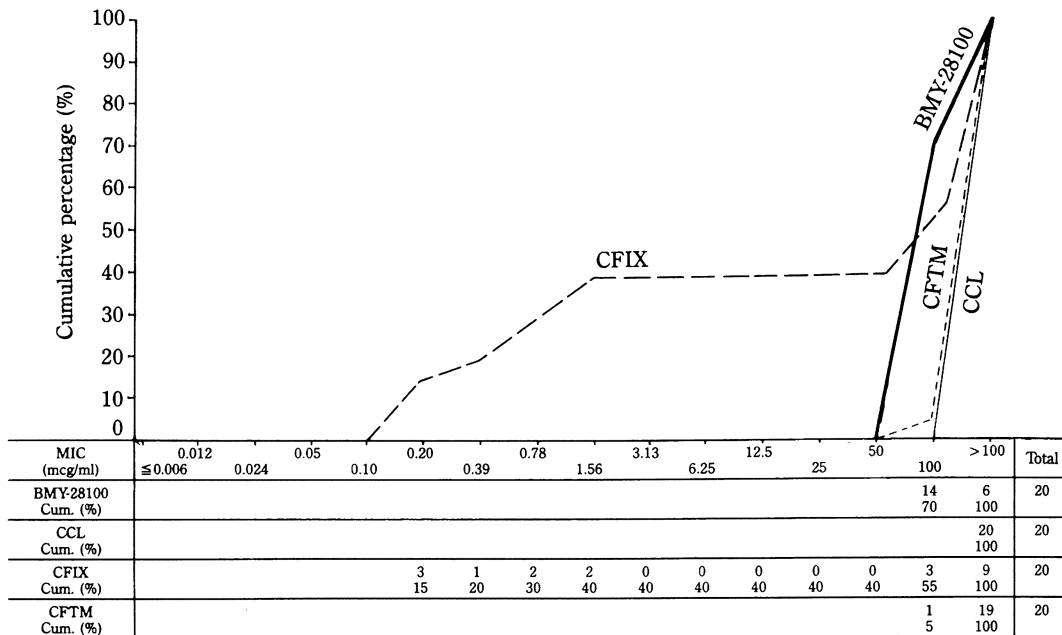
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : cefteram

Fig. 13a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Klebsiella oxytoca* (17 strains, inoculum size :  $10^8$  cells/ml).



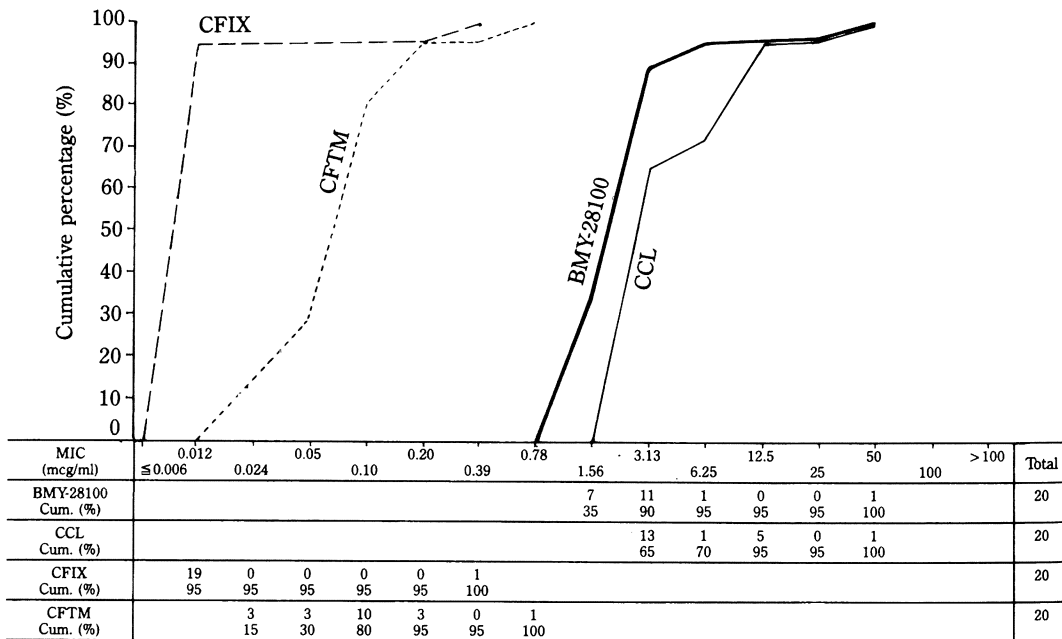
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : cefteram

Fig. 13b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Klebsiella oxytoca* (17 strains, inoculum size :  $10^6$  cells/ml).



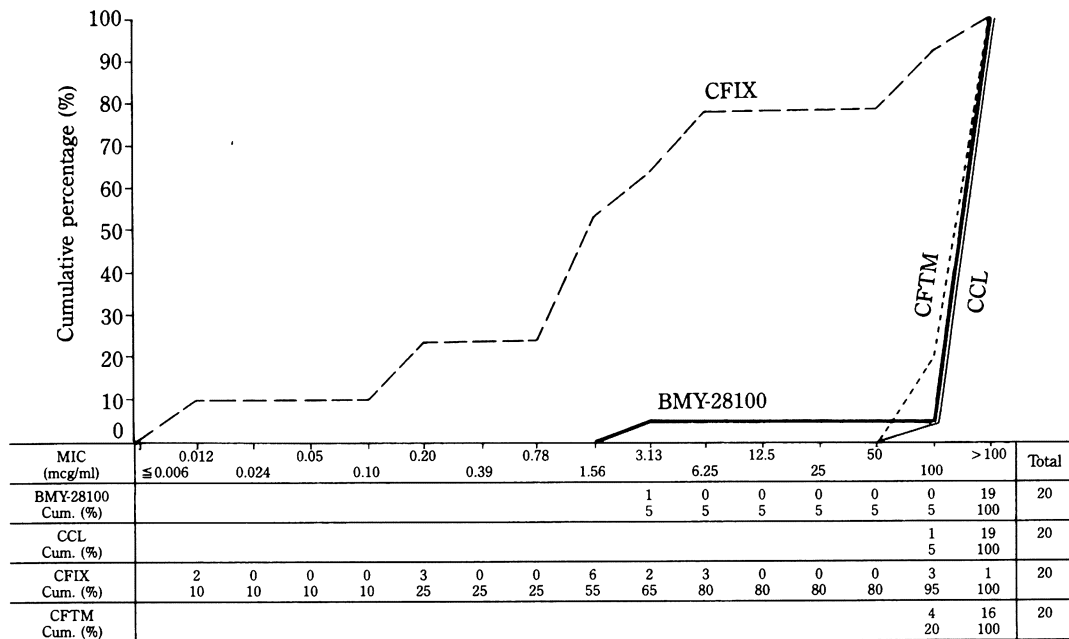
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftemam

Fig. 14a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Proteus mirabilis* (20 strains, inoculum size :  $10^8$  cells/ml).



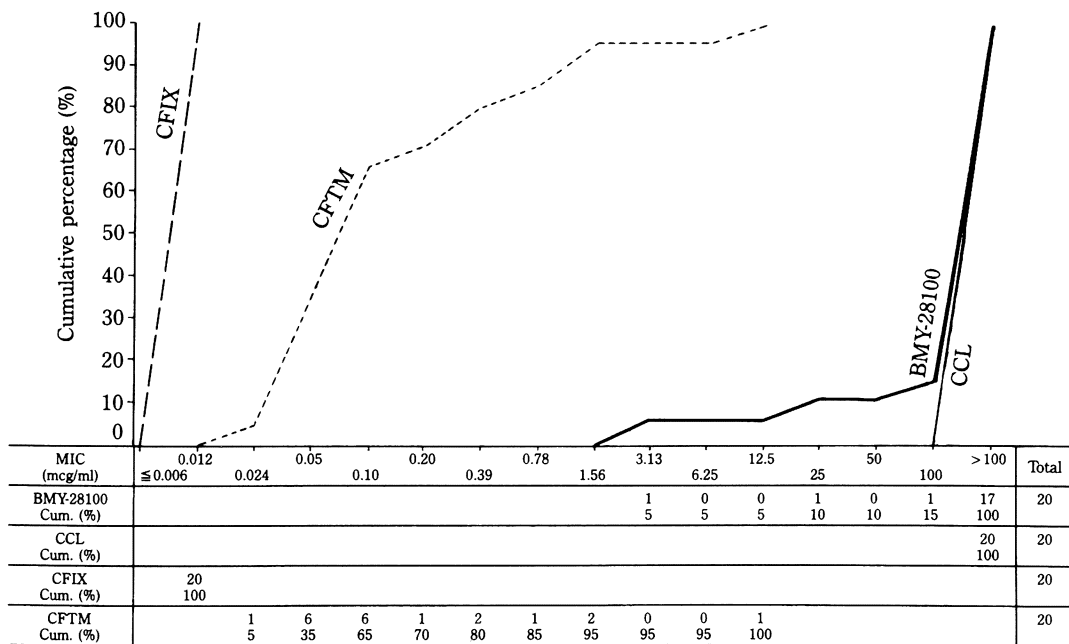
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftemam

Fig. 14b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Proteus mirabilis* (20 strains, inoculum size :  $10^6$  cells/ml).



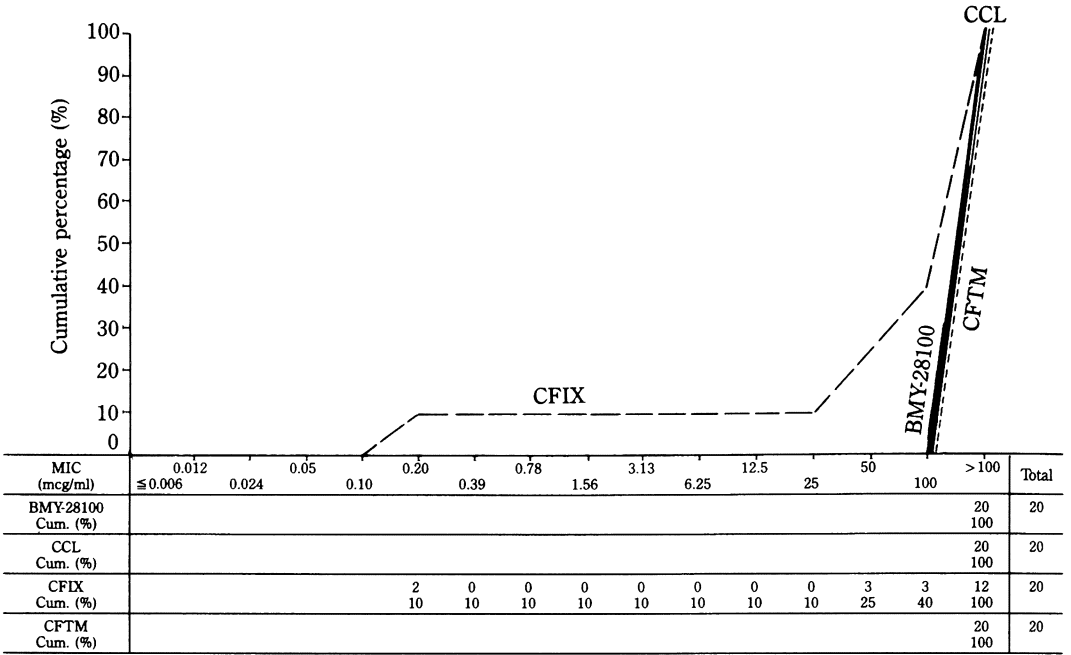
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftoram

Fig. 15a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Proteus vulgaris* (20 strains, inoculum size : 10<sup>8</sup> cells/ml).



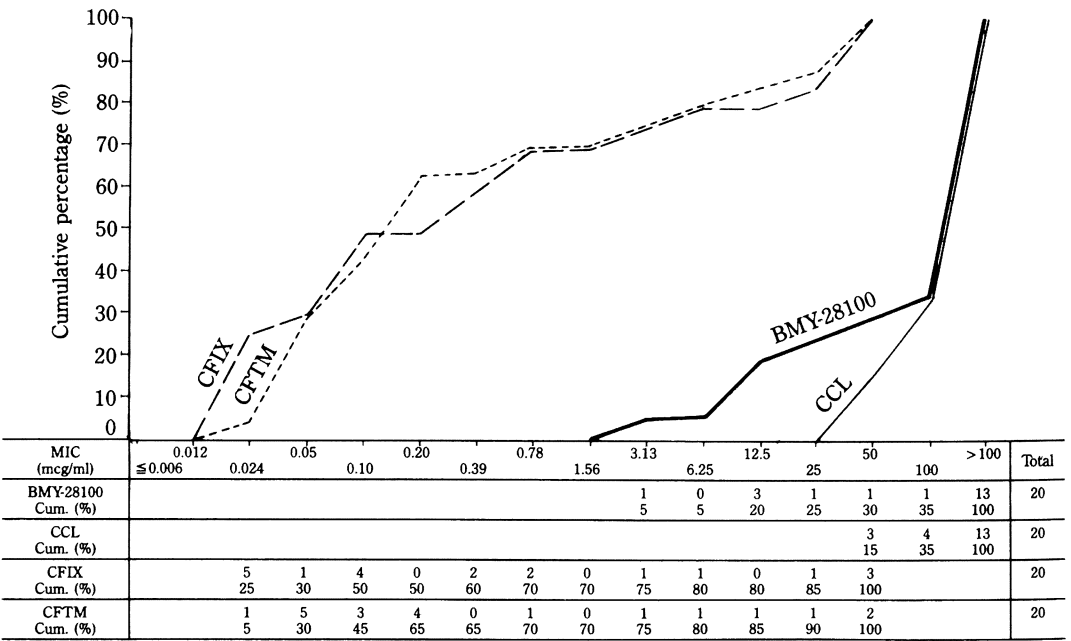
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftoram

Fig. 15b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Proteus vulgaris* (20 strains, inoculum size : 10<sup>6</sup> cells/ml).



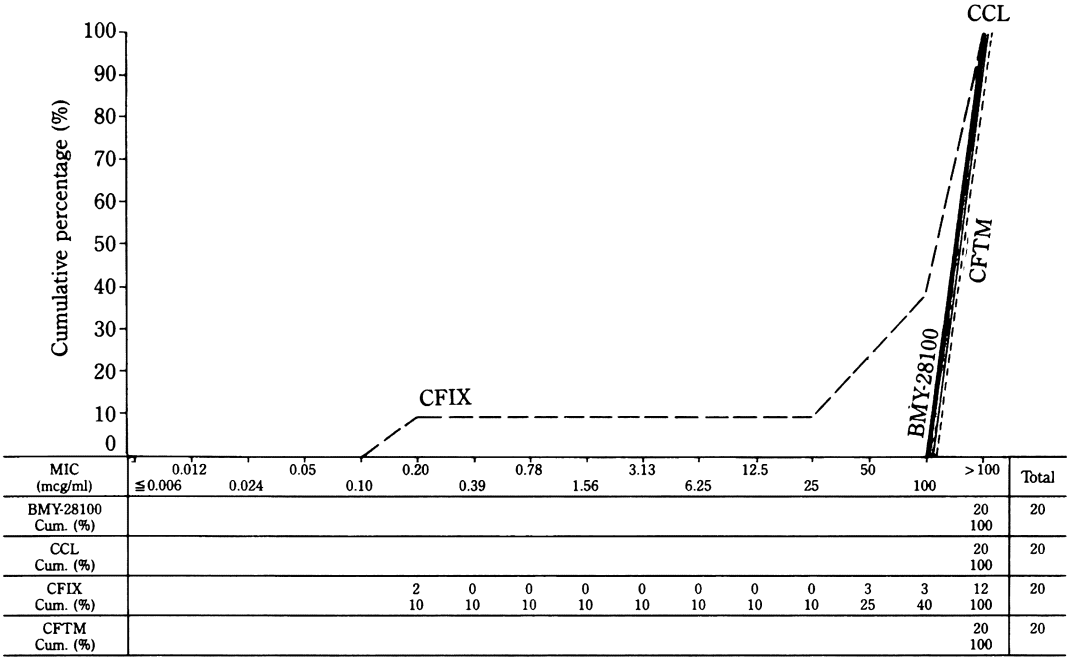
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftoram

Fig. 16a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Morganella morganii* (20 strains, inoculum size : 10<sup>8</sup> cells/ml).



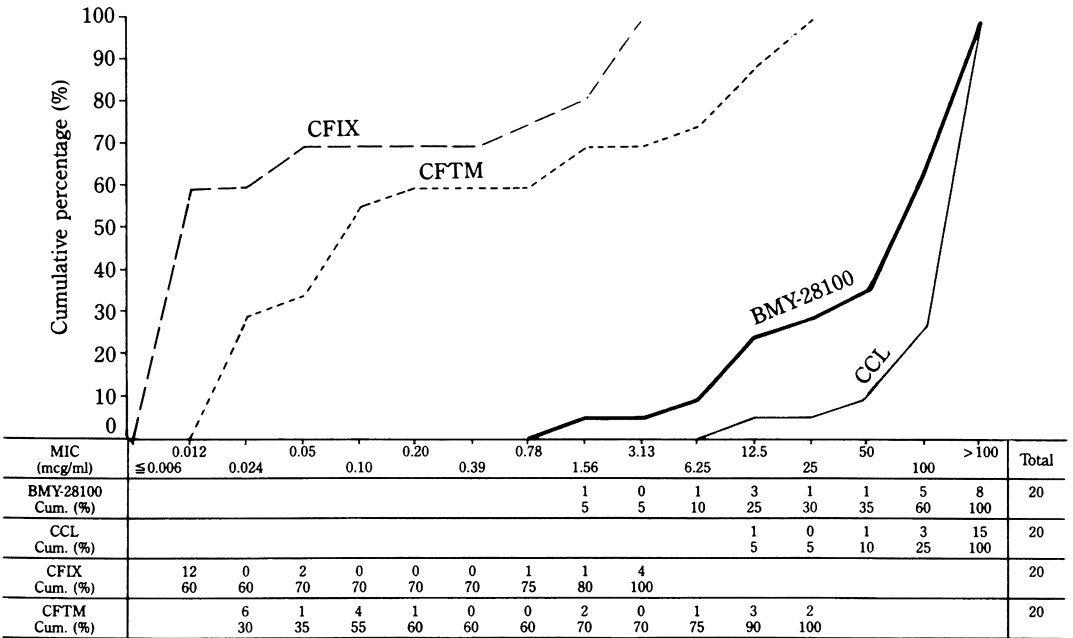
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftoram

Fig. 16b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Morganella morganii* (20 strains, inoculum size : 10<sup>6</sup> cells/ml).



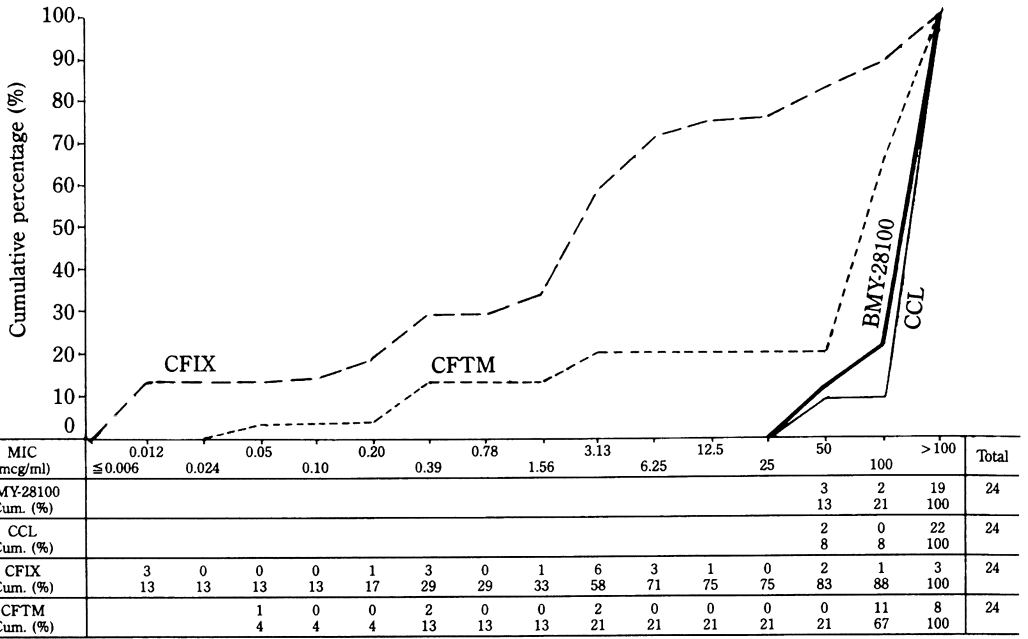
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : cefteram

Fig. 17a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Providencia rettgeri* (20 strains, inoculum size : 10<sup>8</sup> cells/ml).



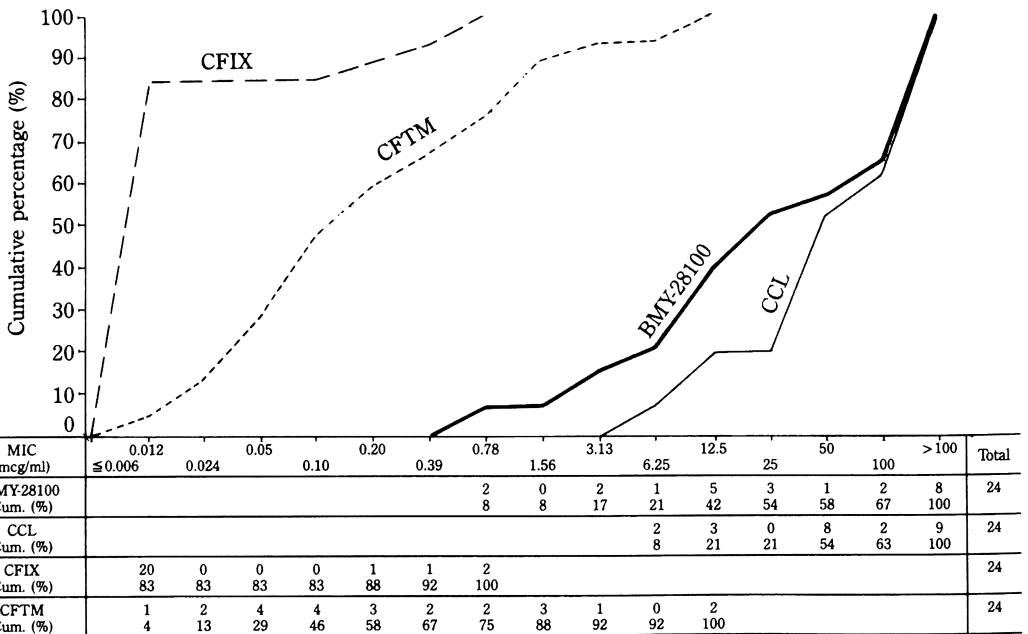
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : cefteram

Fig. 17b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Providencia rettgeri* (20 strains, inoculum size : 10<sup>6</sup> cells/ml).



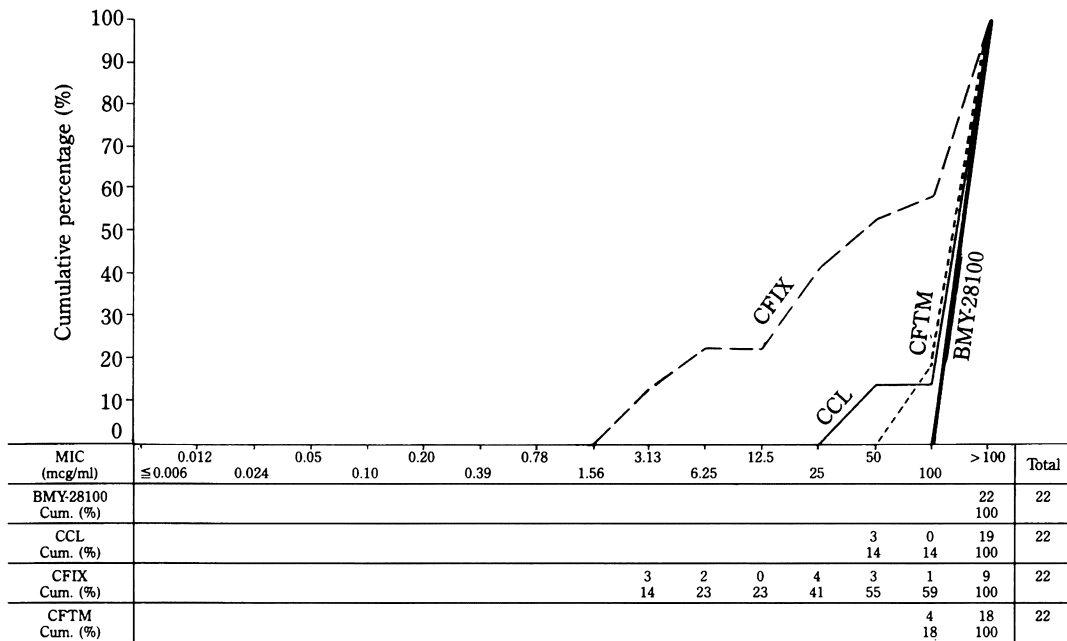
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftoram

Fig. 18a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Providencia stuartii* (24 strains, inoculum size :  $10^8$  cells/ml).



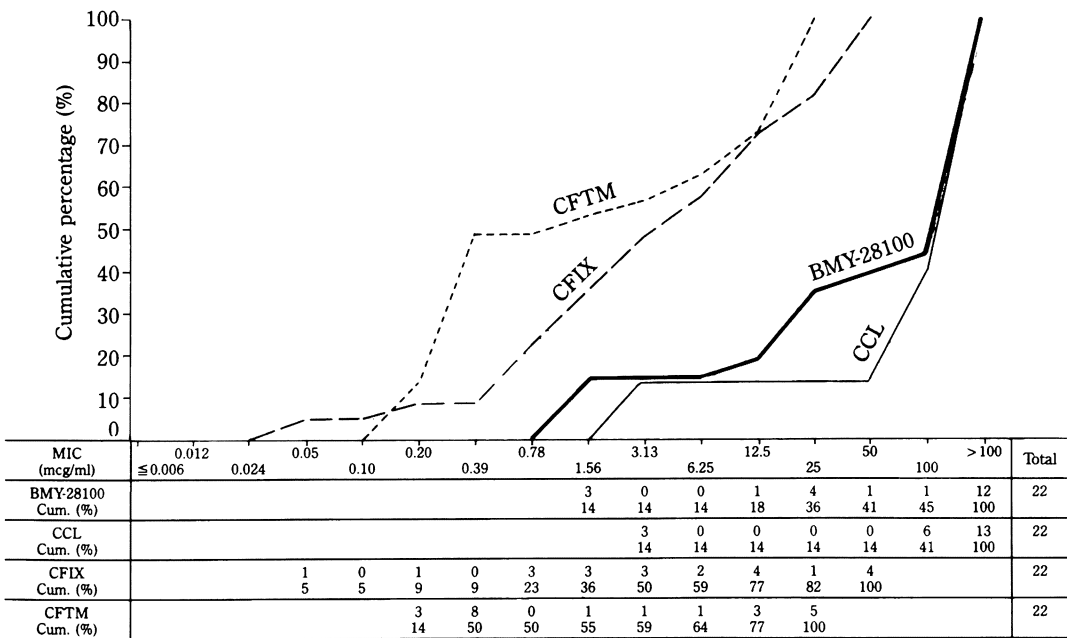
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftoram

Fig. 18b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Providencia stuartii* (24 strains, inoculum size :  $10^6$  cells/ml).



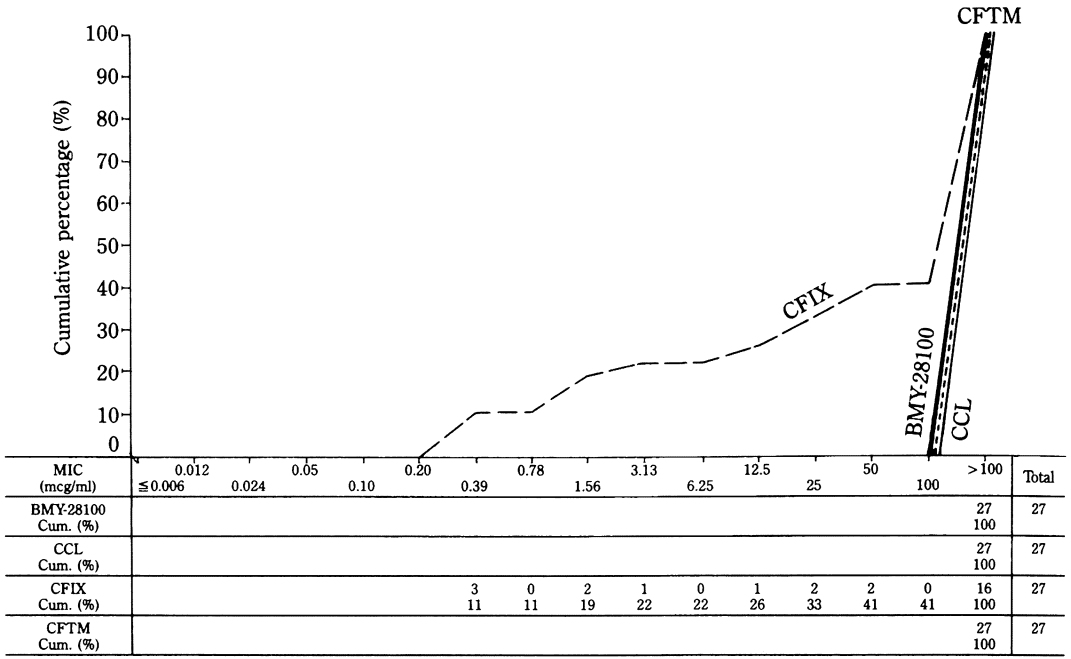
CCL : cefaclor    CFIX : cefixime    CFTM : cefteram

Fig. 19a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Enterobacter cloacae* (22 strains, inoculum size :  $10^8$  cells/ml).



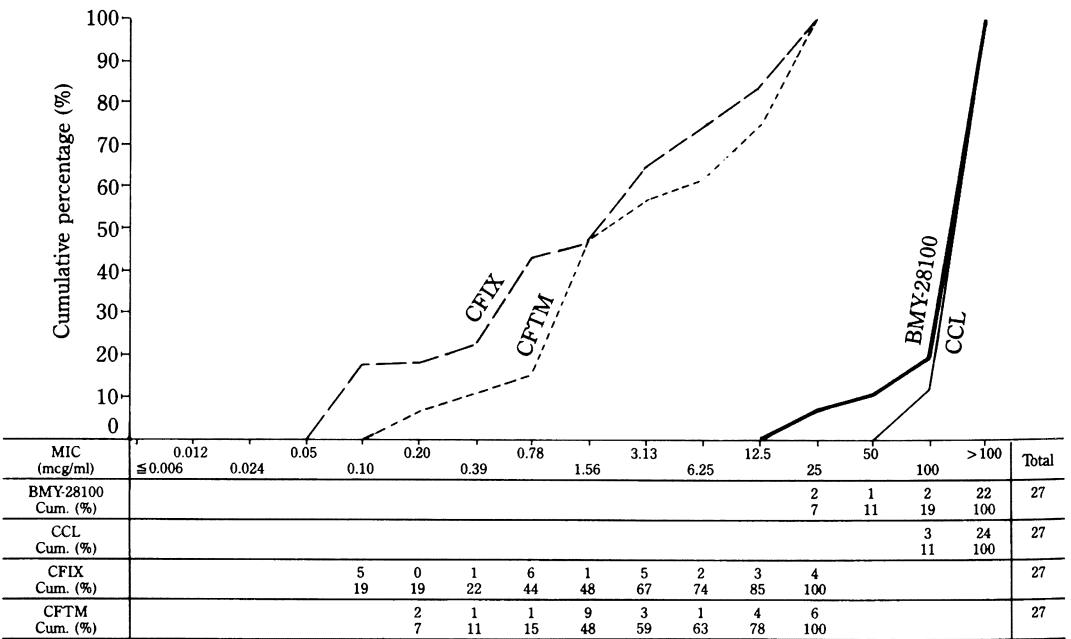
CCL : cefaclor    CFIX : cefixime    CFTM : cefteram

Fig. 19b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Enterobacter cloacae* (22 strains, inoculum size :  $10^6$  cells/ml).



CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : cefteram

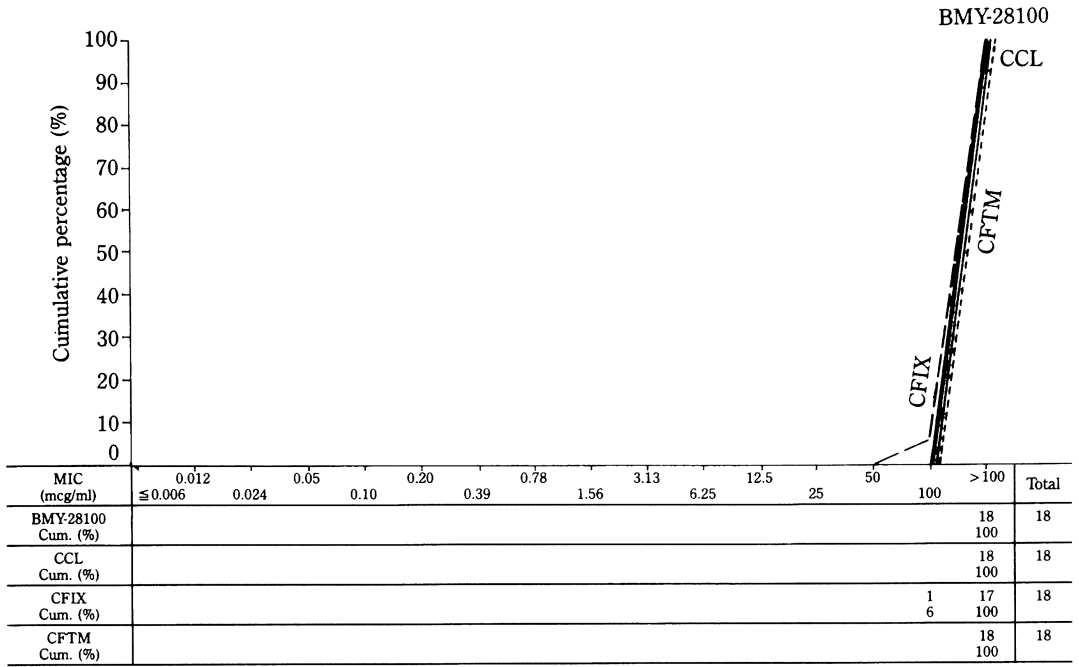
Fig. 20a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Serratia marcescens* (27 strains, inoculum size :  $10^8$  cells/ml).



CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : cefteram

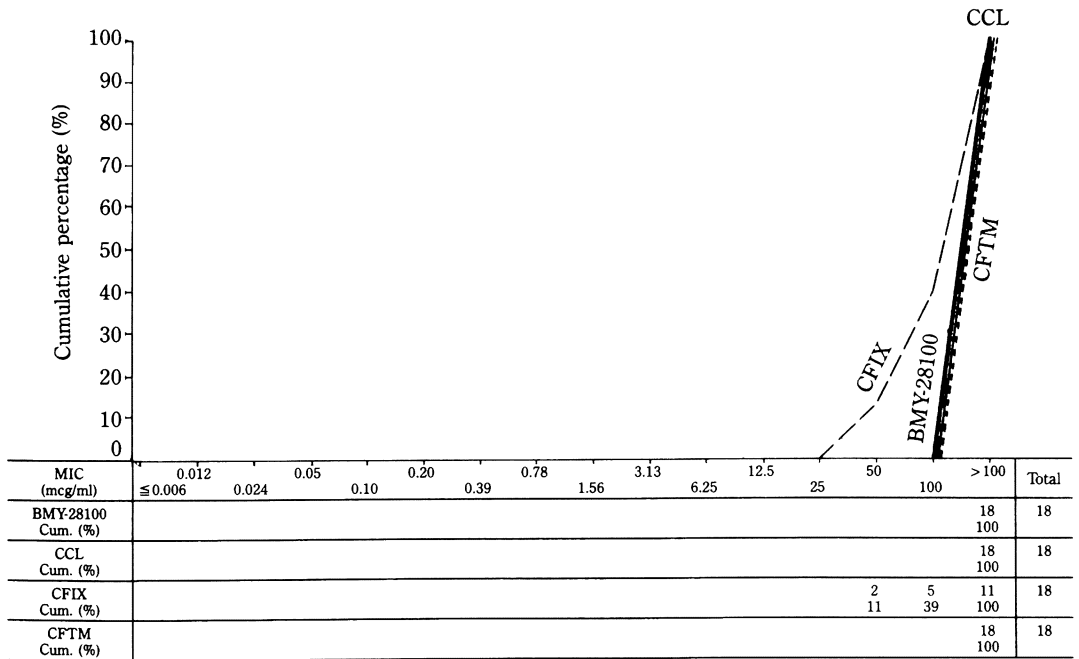
Fig. 20b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Serratia marcescens* (27 strains, inoculum size :  $10^6$  cells/ml).





CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : cefteram

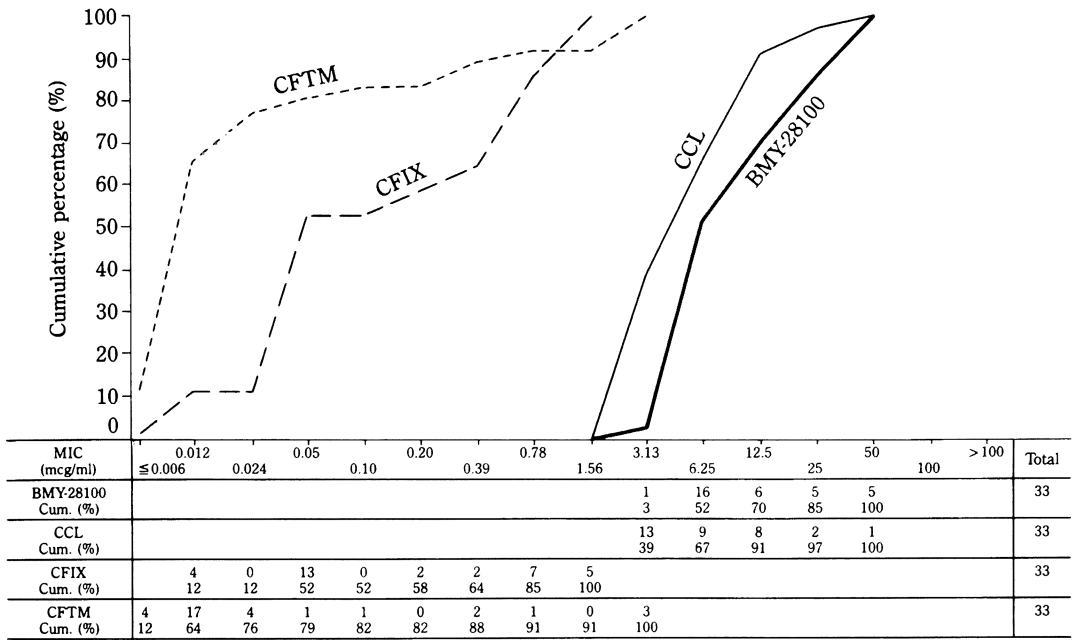
Fig. 21a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* (18 strains, inoculum size :  $10^8$  cells/ml).



CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : cefteram

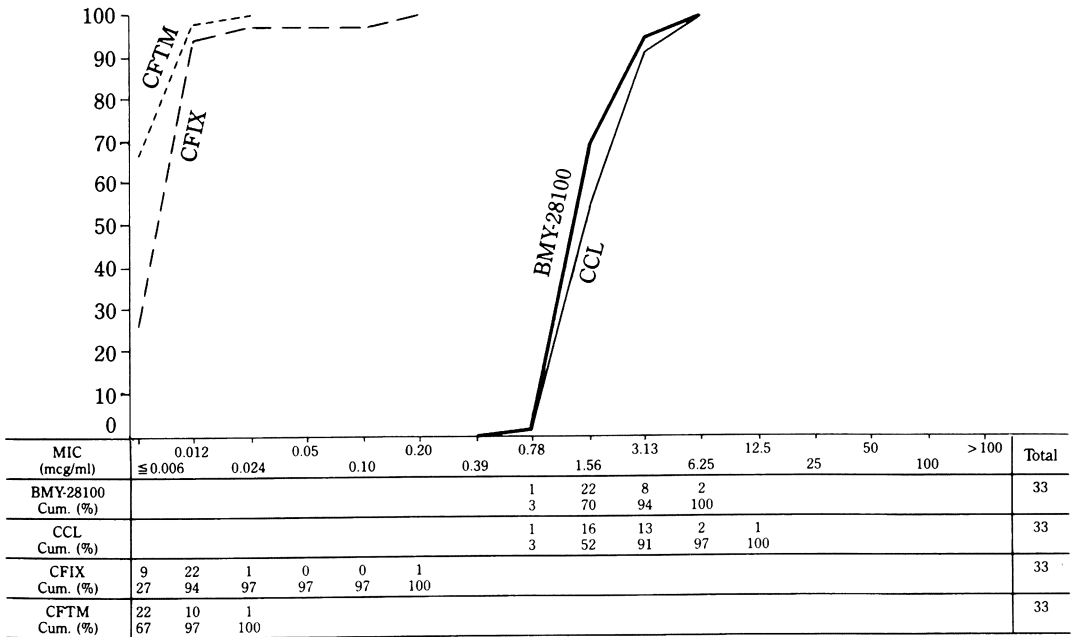
Fig. 21b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* (18 strains, inoculum size :  $10^5$  cells/ml).





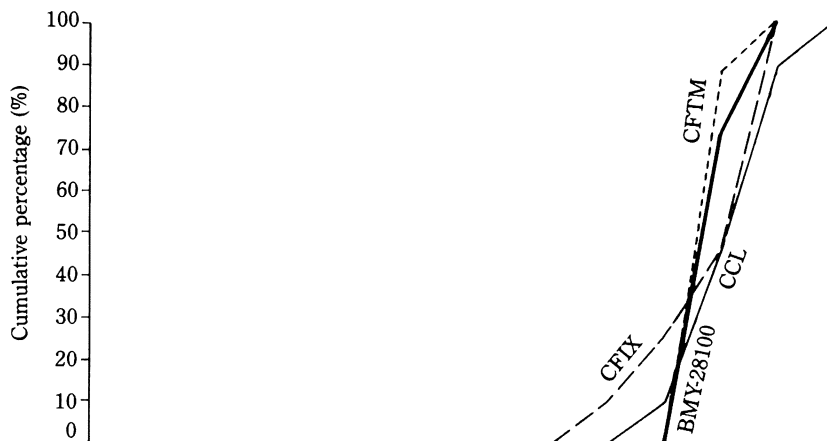
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftoram

Fig. 23a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Haemophilus influenzae* (33 strains, inoculum size :  $10^8$  cells/ml).



CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftoram

Fig. 23b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Haemophilus influenzae* (33 strains, inoculum size :  $10^6$  cells/ml).



MIC (mcg/ml)	≤0.006	0.012	0.024	0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	Total
BMV-28100 Cum. (%)												15	6				21
CCL Cum. (%)										2	8	9	2				21
CFIX Cum. (%)							2	3	5	10	24	48	100				21
CFTM Cum. (%)												19	2				21

CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : cefteram

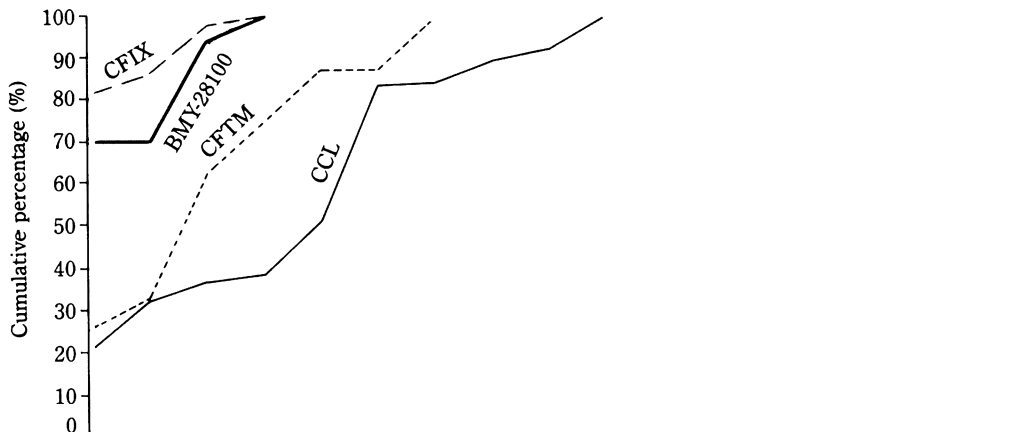
Fig. 24a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Bordetella pertussis* (21 strains, inoculum size : 10<sup>8</sup> cells/ml).



MIC (mcg/ml)	≤0.006	0.012	0.024	0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	Total
BMV-28100 Cum. (%)										18	3						21
CCL Cum. (%)										19	2						21
CFIX Cum. (%)							10	11		48	100						21
CFTM Cum. (%)							11	0	9	1							21

CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : cefteram

Fig. 24b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Bordetella pertussis* (21 strains, inoculum size : 10<sup>6</sup> cells/ml).



MIC (mcg/ml)	$\le 0.006$	0.012	0.024	0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	25	50	100	>100	Total
BMY-28100 Cum. (%)	28 70	0 70	10 95	2 100												40
CCL Cum. (%)	9 23	4 33	2 38	1 40	5 53	13 85	0 85	2 90	1 93	3 100						40
CFIX Cum. (%)	33 83	2 88	4 98	1 100												40
CFTM Cum. (%)	11 28	2 33	12 63	5 75	5 88	0 88	5 100									40

CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : cefteram

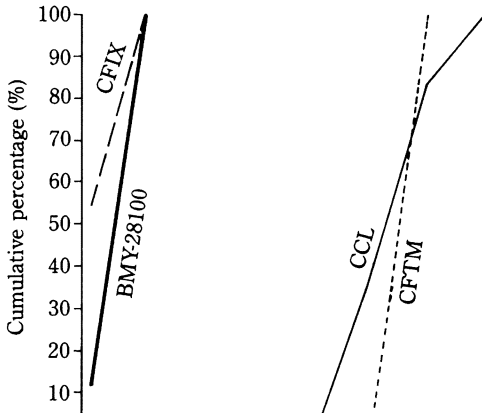
Fig. 25a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Neisseria gonorrhoeae* (non-PPNG), (40 strains, inoculum size :  $10^8$  cells/ml).



MIC (mcg/ml)	$\le 0.006$	0.012	0.024	0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	25	50	100	>100	Total
BMY-28100 Cum. (%)	40 100															40
CCL Cum. (%)	37 93	1 95	0 95	0 95	0 95	2 100										40
CFIX Cum. (%)	39 98	0 98	1 100													40
CFTM Cum. (%)	38 95	2 100														40

CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : cefteram

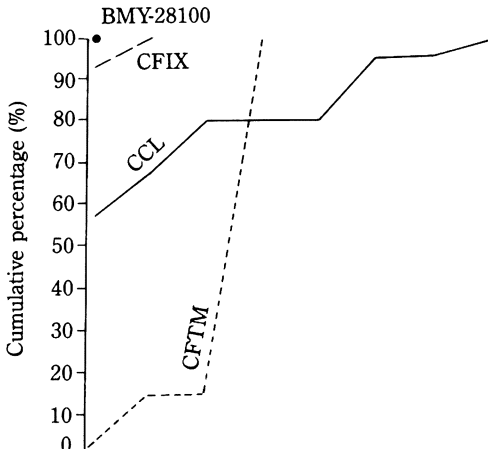
Fig. 25b).- Sensitivity distribution of clinical isolates of *Neisseria gonorrhoeae* (non-PPNG), (40 strains, inoculum size :  $10^6$  cells/ml).



MIC (mcg/ml)	$\le 0.006$	0.012	0.024	0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	Total
BMY-28100	4	29															33
Cum. (%)	12	100															
CCL						11	17	5									33
Cum. (%)						33	85	100									
CFIX	18	15															33
Cum. (%)	55	100															
CFTM							33										33
Cum. (%)							100										

CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : cefteram

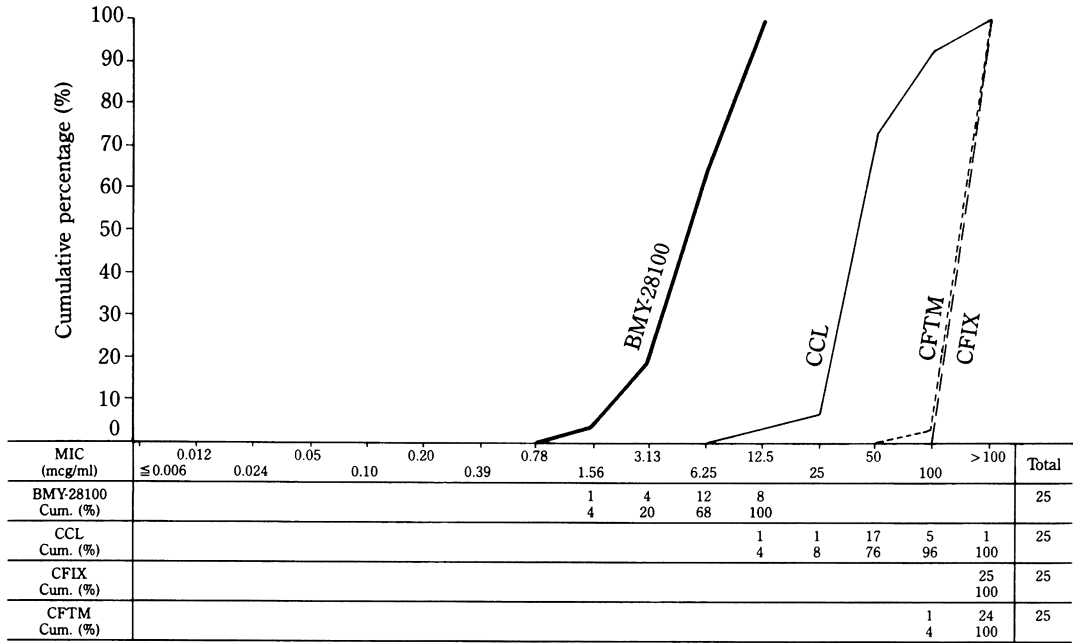
Fig. 26a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Neisseria gonorrhoeae* (PPNG), (33 strains, inoculum size :  $10^8$  cells/ml).



MIC (mcg/ml)	$\le 0.006$	0.012	0.024	0.05	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	Total
BMY-28100	33																33
Cum. (%)	100																
CCL	19	4	4	0	0	5	0	1									33
Cum. (%)	58	70	82	82	82	97	97	100									
CFIX	31	2															33
Cum. (%)	94	100															
CFTM	1	4	0	28													33
Cum. (%)	3	15	15	100													

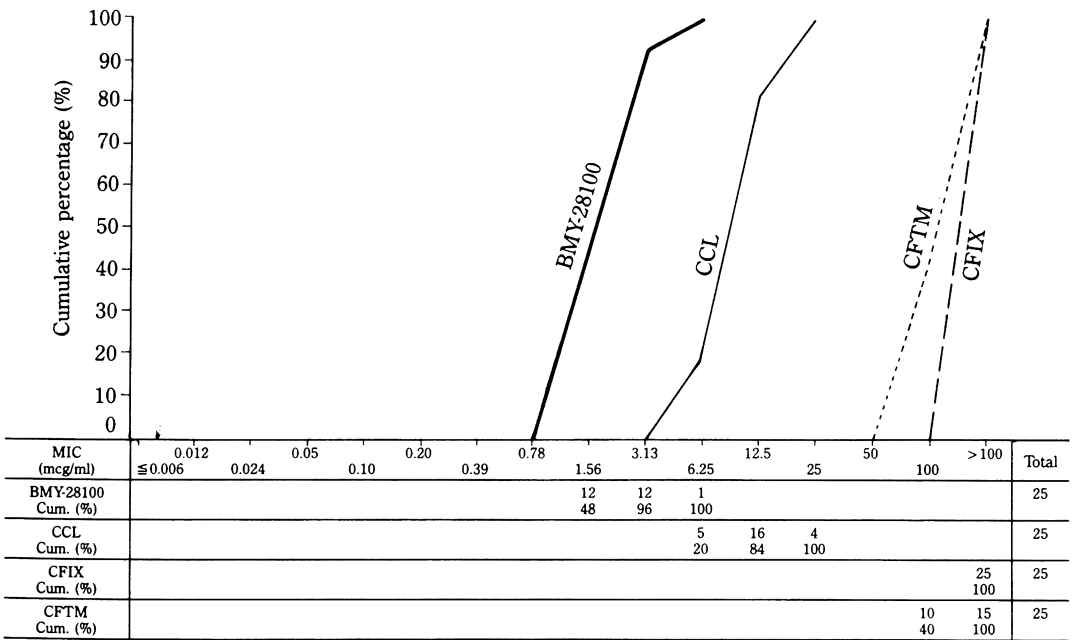
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : cefteram

Fig. 26b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Neisseria gonorrhoeae* (PPNG), (33 strains, inoculum size :  $10^6$  cells/ml).



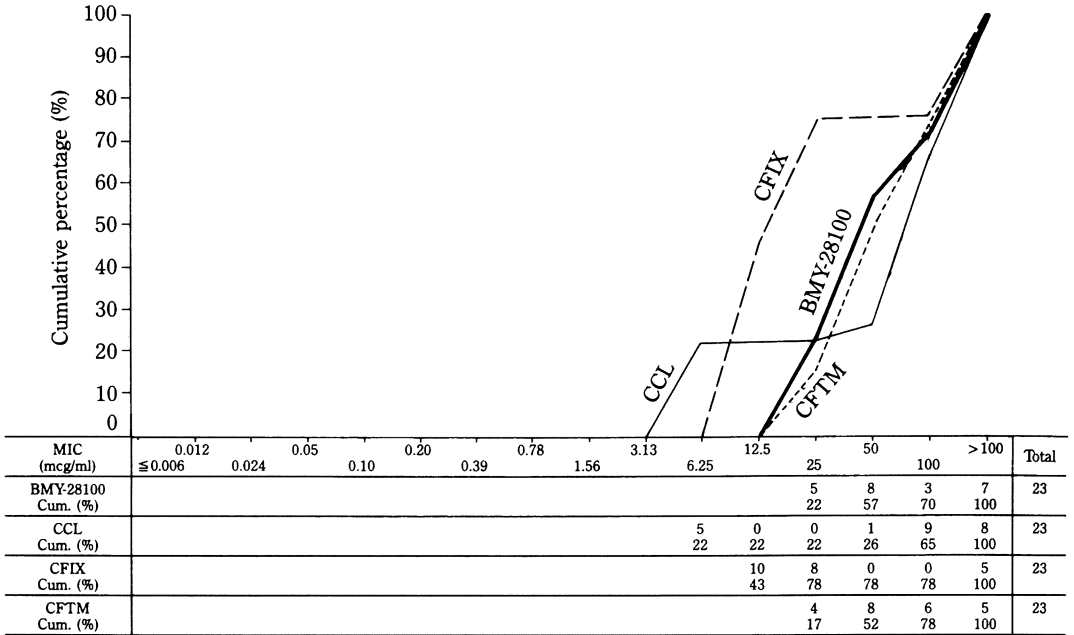
CCL : cefaclor    CFIX : cefixime    CFTM : ceftam

Fig. 27a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Clostridium difficile* (25 strains, inoculum size : 10<sup>8</sup> cells/ml).



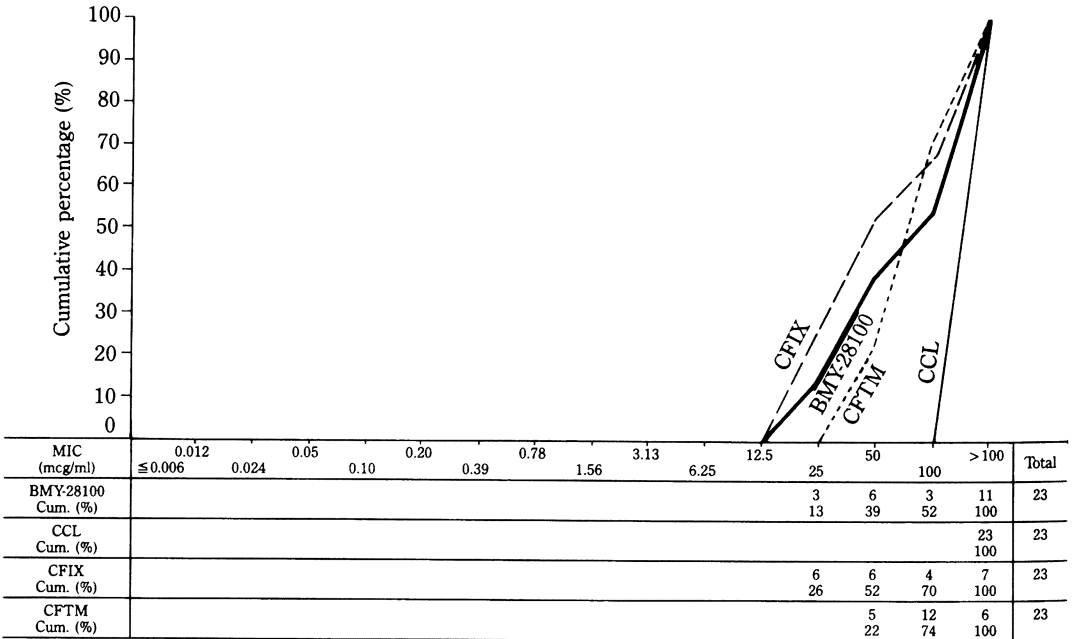
CCL : cefaclor    CFIX : cefixime    CFTM : ceftam

Fig. 27b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Clostridium difficile* (25 strains, inoculum size : 10<sup>6</sup> cells/ml).



CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftoram

Fig. 28a). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Bacteroides fragilis* (23 strains, inoculum size :  $10^8$  cells/ml).



CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM : ceftoram

Fig. 28b). Sensitivity distribution of clinical isolates of *Bacteroides fragilis* (23 strains, inoculum size :  $10^6$  cells/ml).



種では3.13 $\mu$ g/ml濃度でそれぞれ67%及び59%の菌株の発育を阻止した(Fig. 20)。

*P. aeruginosa*に対してはBMY-28100, CCL, CFIX及びCFTMとも抗菌力は弱かった(Fig. 21)。

*A. calcoaceticus*に対してはBMY-28100及びCCLは弱い抗菌力を示した。それに対しCFIX, CFTMは10<sup>6</sup>cells/ml接種では12.5 $\mu$ g/ml濃度でそれぞれCFIX ; 76%及びCFTM ; 24%の菌株の発育を阻止した(Fig. 22)。

*H. influenzae*に対する10<sup>8</sup>cells/ml接種でのMIC<sub>90</sub>はBMY-28100 ; 50 $\mu$ g/ml, CCL ; 12.5 $\mu$ g/ml, CFIX ; 1.56 $\mu$ g/ml, CFTM ; 0.78 $\mu$ g/ml, 10<sup>6</sup>cells/ml接種ではBMY-28100及びCCL ; 3.13 $\mu$ g/ml, CFIX及びCFTM ; 0.012 $\mu$ g/mlを示し, BMY-28100の抗菌力はCCLとほぼ同等, CFIX及びCFTMより弱かった(Fig. 23)。

*B. pertussis*に対しては10<sup>8</sup>cells/ml接種での12.5 $\mu$ g/ml濃度で発育が阻止された菌株数はBMY-28100 ; 71%, CCL及びCFIX ; 48%, CFTM ; 90%であった。10<sup>6</sup>cells/ml接種では3.13 $\mu$ g/ml濃度においてBMY-28100 ; 86%, CCL ; 90%, CFIX ; 100%, CFTM ; 95%を示しBMY-28100はCCLと同等, CFIX及びCFTMよりやや弱い抗菌力を示した(Fig. 24)。

*N. gonorrhoeae* (non-PPNG)に対しては10<sup>8</sup>cells/ml接種では0.05 $\mu$ g/ml濃度で発育が阻止された菌株数はBMY-28100 ; 100%, CCL ; 40%, CFIX ; 100%, CFTM ; 75%, 10<sup>6</sup>cells/ml接種では0.012 $\mu$ g/mlでBMY-28100 ; 100%, CCL ; 95%, CFIX ; 98%, CFTM ; 100%を示し, いずれの抗菌薬とも強い抗菌力を示した(Fig. 25)。

PPNGに対する10<sup>6</sup>, 10<sup>8</sup>cells/ml接種におけるMIC<sub>90</sub>値はBMY-28100 ;  $\leq$ 0.006 $\mu$ g/mlと0.012 $\mu$ g/ml, CFIX ;  $\leq$ 0.006 $\mu$ g/mlと0.012 $\mu$ g/ml, CFTM ; 0.05 $\mu$ g/mlと0.39 $\mu$ g/ml及びCCL ; 0.2と0.78 $\mu$ g/mlでありBMY-28100はCFIXと同等でCCL及びCFTMより強い抗菌力を示した(Fig. 26)。

*C. difficile*に対しては10<sup>8</sup>cells/ml接種では6.25 $\mu$ g/mlで発育が阻止された菌株数はBMY-28100 ; 68%, CCL, CFIX及びCFTM ; 0%, 10<sup>6</sup>cells/ml接種では3.13 $\mu$ g/mlで発育が阻止された株はBMY-28100 ; 96%, CCL, CFIX及びCFTM ; 0%を示し, BMY-28100はCCL, CFIX及びCFTMより強い抗菌力を示した(Fig. 27)。

*B. fragilis* の場合はBMY-28100, CCL, CFIX及びCFTMとも弱い抗菌力を示した(Fig. 28)。

2) 臨床分離株に対するBMY-28100のMIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub>及びMIC分布

Fig. 29及びFig. 30に接種菌量10<sup>6</sup>cells/mlにおける各菌種の試験菌株の50%及び90%の発育を阻止する薬剤濃度(MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub>)を, またFig. 31及びFig. 32はBMY-

28100の10<sup>6</sup>cells/ml接種時のMIC分布を示した。

BMY-28100のMIC値3.13 $\mu$ g/ml以下で各試験菌株の90%を発育阻止された菌種は*S. aureus*, coagulase(-) staphylococci, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* (non-PPNG及びPPNG)及び*C. difficile*であった。

3. マウスの各種の感染モデルにおける感染防御効果

#### 1) 単独菌感染モデル

*S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*を感染菌とした場合の成績をTable 5に示した。

*S. aureus* Smith株を用いた場合BMY-28100のED<sub>50</sub>値は0.01mg/mouseであり, 95%信頼限界からも明らかにCCL, CFIX, CFTM-PIより優れた治療効果を示した。

*S. pneumoniae* TMS3株の全身感染マウスに対するBMY-28100のED<sub>50</sub>値は0.79mg/mouseであり, CCLの約1/12, CFIXの1/3, CFTM-PIのED<sub>50</sub>値1.25mg/mouseよりも小さい値であった。この治療効果は各抗菌薬のMIC値を反映していた。

*E. faecalis* TMS3株を用いた場合, BMY-28100のED<sub>50</sub>値は0.20mg/mlとなり, CCL(0.25mg/mouse), CFIX(>20mg/mouse)及びCFTM-PI(20mg/mouse)より小さい値であった。

*E. coli* C-11株を用いた場合, BMY-28100, CCL, CFIX及びCFTM-PI 4剤とも小さいED<sub>50</sub>値であり有意差が認められず, 優れた治療効果を示した。

*K. pneumoniae* 3K-25を用いた場合ED<sub>50</sub>値はBMY-28100, CCLはともに1.98mg/mouse, CFIXは0.49mg/mouse, CFTM-PIは0.74mg/mouseとなり, それぞれのMIC値を良く反映した結果が得られた。

#### 2) 混合感染モデル

*S. aureus* Smith株10 MLD菌量と*E. faecalis* TMS3株0.0002 MLDの菌量を混合感染させた場合の治療効果をTable 6に示した。

BMY-28100のED<sub>50</sub>値は0.02mg/mouseであり, CCLの1/2, CFIXの1/125, CFTM-PIの1/500と小さい値を示した。本実験における各抗菌薬のED<sub>50</sub>値は, Table 5に示した*S. aureus* Smith株による単独感染時の治療効果とほぼ同一であった。

*E. coli* C-11株100 MLDと*B. fragilis* GM-7004株0.006 MLDを混合感染させた場合の成績をTable 7に示した。

BMY-28100のED<sub>50</sub>値は0.50mg/mouseで, CFIX及びCFTMとほぼ同等の治療効果を示した。しかしCCLのED<sub>50</sub>値0.16mg/mouseより大きい値を示した。

#### 3) 白血球減少症マウスにおける感染

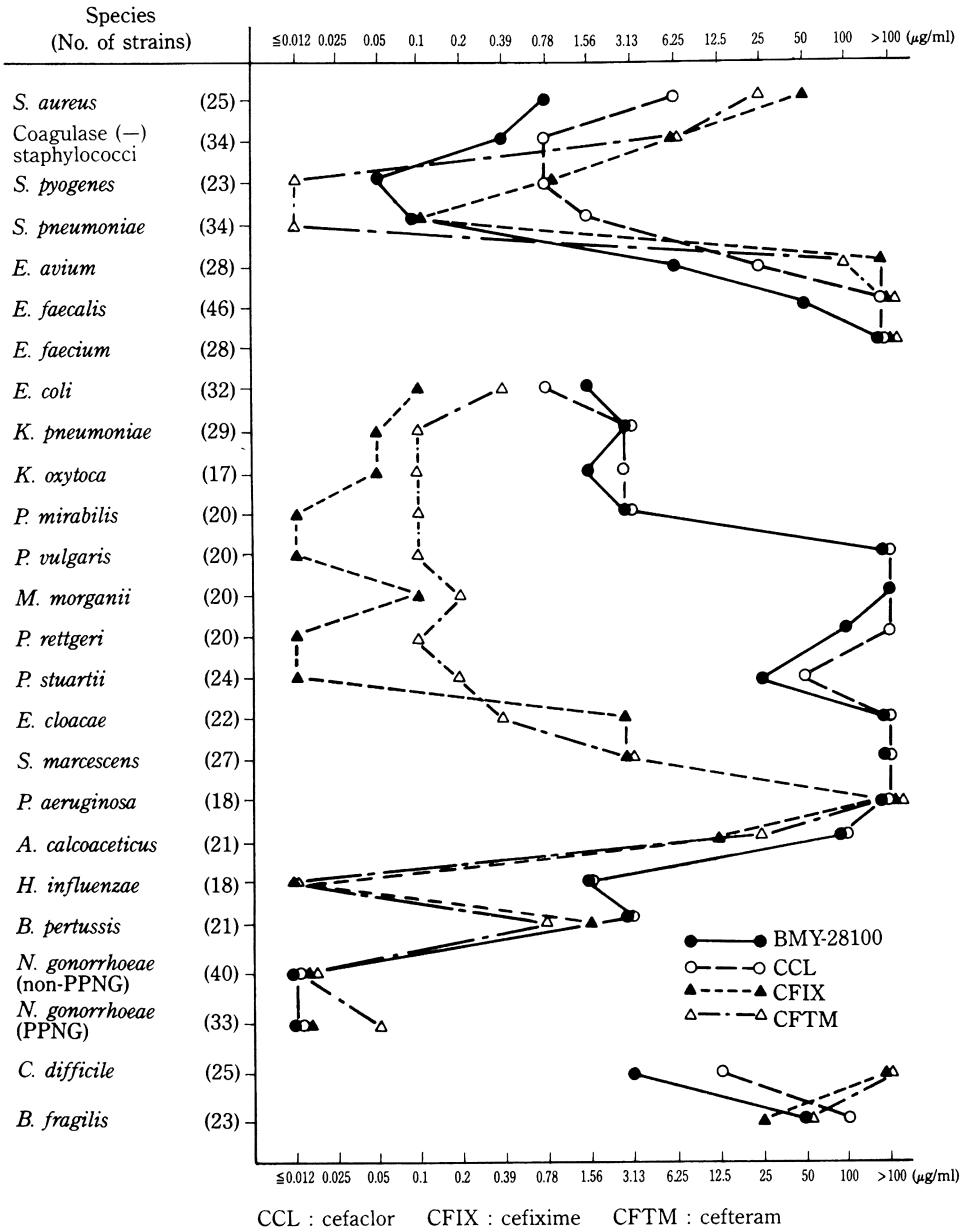


Fig. 29. MIC<sub>50</sub> of BMY-28100 and other cepheams against clinical isolates (inoculum size : 10<sup>6</sup> cells/ml).

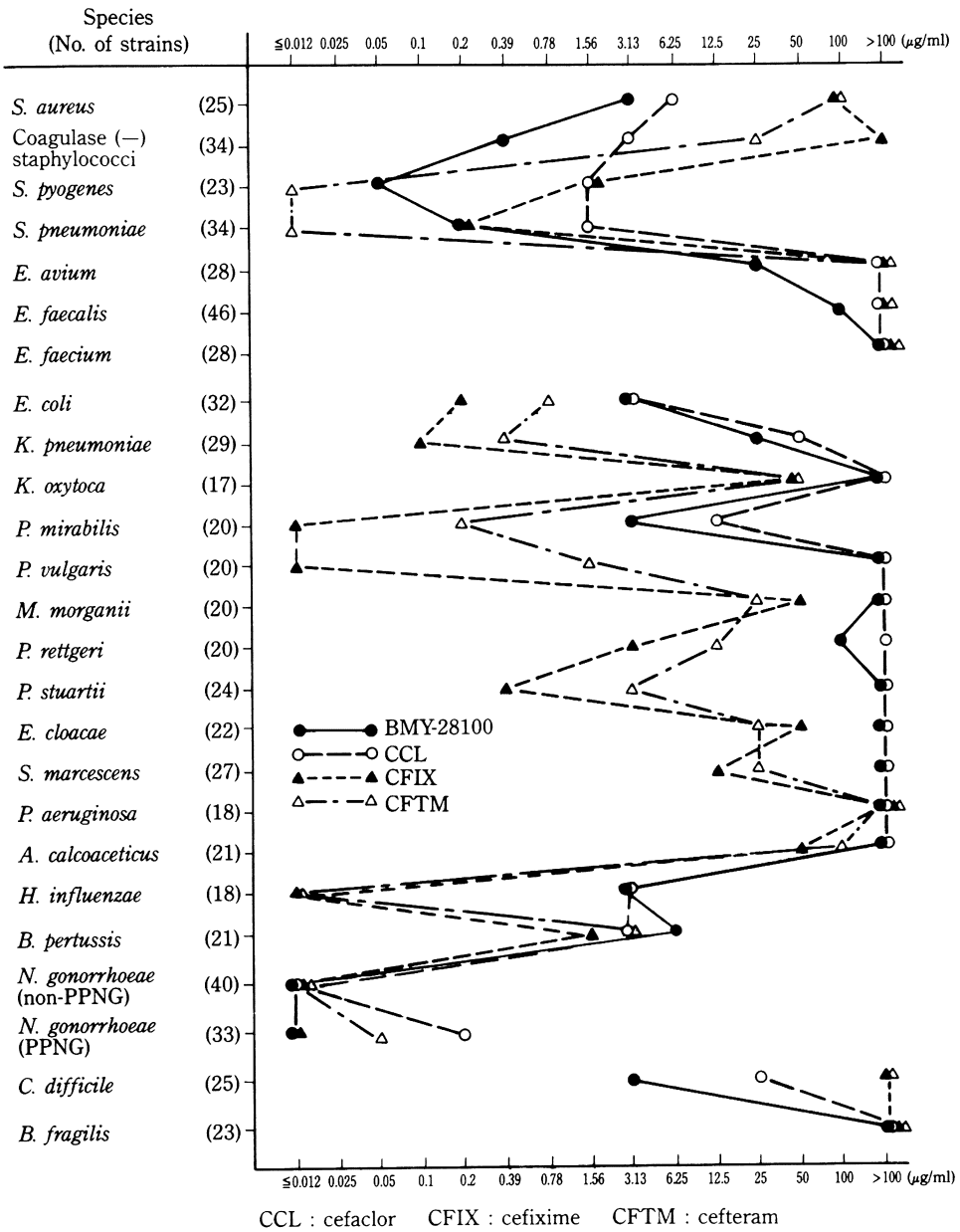


Fig. 30. MIC<sub>90</sub> of BMY-28100 and other cepems against clinical isolates (inoculum size : 10<sup>6</sup> cells/ml).

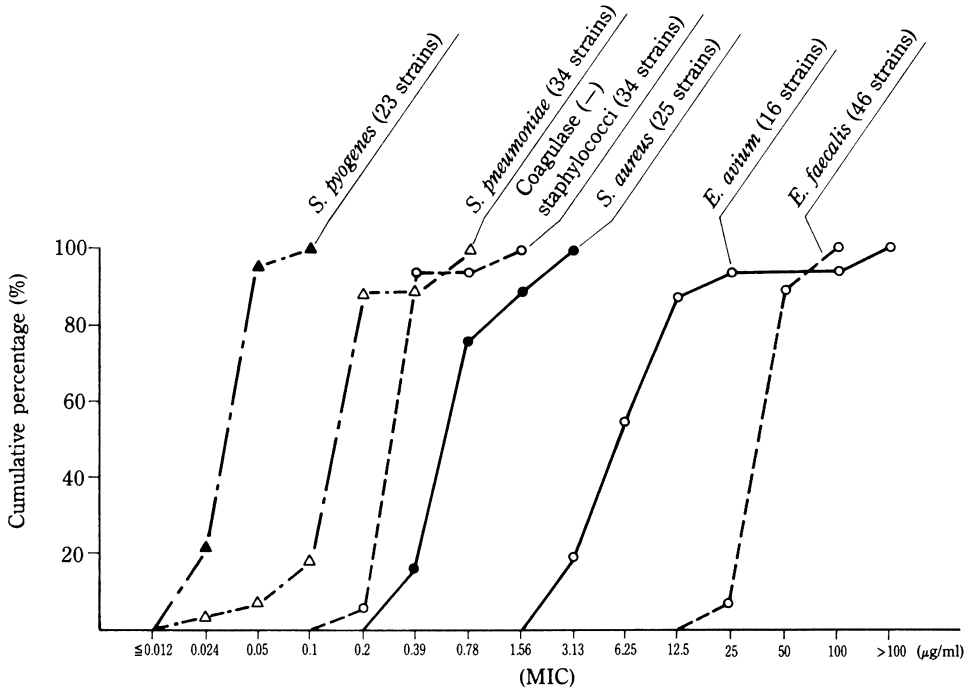


Fig. 31. Sensitivity distribution of Gram-positive clinical isolates to BMY-28100.

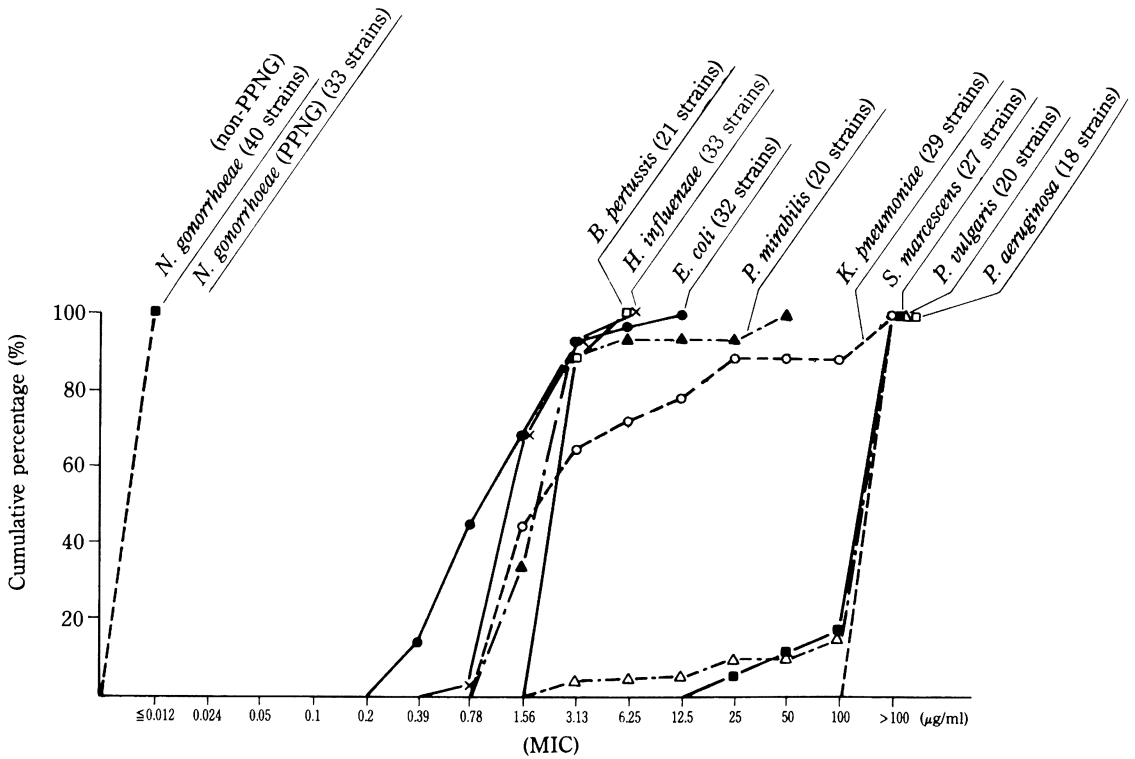


Fig. 32. Sensitivity distribution of Gram-negative clinical isolates to BMY-28100.

Table 5. Protective effect of BMY-28100 and other antibiotics in experimental infections in mice

Organism* (challenge dose, MLD)	Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) ( $10^6$ cfu/ml)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse) (95% confidence limit)
<i>S. aureus</i> Smith ( $1.2 \times 10^6$ cfu/mouse 12 MLD)	BMY-28100	0.78	0.01 (0.01–0.02)
	CCL	1.56	0.04 (0.03–0.06)
	CFIX	12.5	2.50 (1.54–4.05)
	CFTM-PI	25**	10
<i>S. pneumoniae</i> TMS 3 (Type III) ( $1.7 \times 10^{10}$ cfu/mouse 85 MLD)	BMY-28100	$\leq 0.013$	0.79 (0.51–1.21)
	CCL	6.25	10
	CFIX	0.05	2.50
	CFTM-PI	$\leq 0.013$ **	1.25 (0.80–1.96)
<i>E. faecalis</i> TMS 3 ( $2 \times 10^9$ cfu/mouse 2 MLD)	BMY-28100	50	0.20 (0.12–0.32)
	CCL	>100	0.25 (0.17–0.37)
	CFIX	>100	>20
	CFTM-PI	>100**	20
<i>E. coli</i> C-11 ( $4 \times 10^5$ cfu/mouse 4 MLD)	BMY-28100	1.56	0.05 (0.01–0.07)
	CCL	0.78	0.06 (0.05–0.07)
	CFIX	$\leq 0.013$	0.04 (0.02–0.05)
	CFTM-PI	0.025**	0.05 (0.03–0.06)
<i>K. pneumoniae</i> 3K-25 ( $1 \times 10^4$ cfu/mouse 10 MLD)	BMY-28100	3.13	1.98 (1.36–2.88)
	CCL	3.13	1.98 (1.56–2.49)
	CFIX	0.1	0.49 (0.39–0.62)
	CFTM-PI	0.39**	0.74 (0.48–1.44)

\* 5% mucin added \*\* As CFTM

ED<sub>50</sub> : Van der Waerden methodMouse : ICR, 4-week old, male,  $19 \pm 1$  g, 6 animals/group

Challenge : i.p.

Therapy : p.o., 1 hr after infection

CCL : cefaclor

CFIX : cefixime

CFTM-PI : ceftoram pivoxil

Table 6. Protective effect of BMY-28100 and other antibiotics in mixed infection with *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* in mice

Organism* (challenge dose, MLD)	Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )** ( $10^6$ cfu/ml)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse) (95% confidence limit)
<i>S. aureus</i> Smith ( $1 \times 10^6$ cfu/mouse 10 MLD)	BMY-28100	0.78/50	0.02 (0.01–0.02)
	CCL	1.56/>100	0.04 (0.03–0.05)
<i>E. faecalis</i> TMS-3 ( $2 \times 10^5$ cfu/mouse 0.0002 MLD)	CFIX	25/>100	2.50 (1.47–4.23)
	CFTM-PI	3.13/>100***	10 (5.79–17.28)

\* 5% mucin added

\*\* MIC : *S. aureus*/*E. faecalis* \*\*\*As CFTMED<sub>50</sub> : Van der Waerden methodMouse : ICR, 4-week old, male,  $19 \pm 1$  g, 6 animals/group

Challenge : i.p.

Therapy : p.o., 1 hr after infection

CCL : cefaclor

CFIX : cefixime

CFTM-PI : ceftoram pivoxil

*E. coli* C-11株を感染菌とした成績をTable 8に示した。BYM-28100のED<sub>50</sub>値は0.99 mg/mouseでありCFIXの1/2, CFTM-PIの1/2.5と小さい値を示したがCCLよりは少し大きい値であった。

#### 4) 呼吸器感染モデル

*K. pneumoniae* 3K-25株による呼吸器感染症マウスに対するBYM-28100及びCCLの治療成績をFig. 33に示した。

薬剤非投与マウスの肺内生菌数は感染時から感染7日後まで10<sup>6</sup>~10<sup>7</sup>cfu/gで推移した。BYM-28100, CCLの両抗菌薬投与マウスにおいて投与翌日には肺内菌数が1/100以下に減少し、感染7日後(投与中止2日後)BYM-28100投与群では平均10<sup>2</sup>cfu/g, CCL投与群では平

均10<sup>3</sup>cfu/gの生菌数となった。

#### 5) 上行性尿路感染モデル

*E. coli* KU-3株による尿路感染症マウスに対するBYM-28100及びCCLの治療成績をFig. 34に示した。

抗菌薬非投与マウスの腎内生菌数は10<sup>7</sup>~10<sup>8</sup>cfu/gで推移した。BYM-28100及びCCL両抗菌薬投与マウスにおいて投与開始翌日(感染2日後)には腎内生菌数はともに10<sup>3</sup>cfu/gに減少した。さらに感染5日後BYM-28100投与群では10<sup>2</sup>cfu/gレベルに減少したがCCL投与群では10<sup>4</sup>cfu/gと再増殖の傾向が認められた。

#### 4. マウス血清中濃度測定

BYM-28100, CCL, CFIX及びCFTM-PIをそれぞれ0.5

Table 7. Protective effect of BYM-28100 and other antibiotics in mixed infection with *Escherichia coli* and *Bacteroides fragilis* in mice

Organism* (challenge dose, MLD)	Drug	MIC (μg/ml)** (10 <sup>6</sup> cfu/ml)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse) (95% confidence limit)
<i>E. coli</i> C-11 ( 1 × 10 <sup>7</sup> cfu/mouse ) ( 100 MLD )	BYM-28100	1.56/>100	0.50 (0.29—0.85)
	CCL	0.78/>100	0.16 (0.10—0.25)
<i>B. fragilis</i> GM-7004 ( 3 × 10 <sup>7</sup> cfu/mouse ) ( 0.006 MLD )	CFIX	≤0.013/>100	0.63 (0.36—1.10)
	CFTM-PI	0.025/>100***	0.63 (0.36—1.10)

\* 5% mucin added

\*\* MIC : *E. coli*/*B. fragilis* \*\*\*As CFTM

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

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

Challenge : i.p.

Therapy : p.o., 1 hr after infection

CCL : cefaclor

CFIX : cefixime

CFTM-PI : ceftoram pivoxil

Table 8. Protective effect of BYM-28100 and other antibiotics in experimental infection with *Escherichia coli* in neutropenic mice

Organism* (challenge dose, MLD)	Drug	MIC (μg/ml) (10 <sup>6</sup> cfu/ml)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse) (95% confidence limit)
<i>E. coli</i> C-11 ( 1 × 10 <sup>7</sup> cfu/mouse ) ( 100 MLD )	BYM-28100	1.56	0.99 (0.72—1.38)
	CCL	0.78	0.63 (0.40—0.97)
	CFIX	≤0.013	1.98 (1.37—2.88)
	CFTM-PI	0.025**	2.50 (1.48—4.23)

\* 5% mucin added \*\* As CFTM

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

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

Neutropenic mouse : cyclophosphamide, 250 mg/kg, i.p., 4 days before challenge

Challenge : i.p.

Therapy : p.o., 1 hr after infection

CCL : cefaclor

CFIX : cefixime

CFTM-PI : ceftoram pivoxil

mg/mouse, 1mg/mouseを経口投与した時のマウス血清中濃度の成績をFig. 35に示した。

1mg/mouse投与群においてBMY-28100は投与後15分に最高濃度70 $\mu$ g/mlとなった。CCLは同様の血清中濃度推移パターンを示し、ピーク値は投与15分後42 $\mu$ g/mlであった。BMY-28100の血清中濃度が測定したいずれの時点においてもCCLより高い値を示した。一方、CFIX及びCFTM-PIのピーク値はそれぞれ1時間及び30分後にあり、その値はBMY-28100より小さいが持続性がみられ、特にCFIXはその傾向が顕著であった。

#### 5. マウス腎及び肺濃度測定

マウスにBMY-28100, CCL, CFIX, CFTM-PIを1mg/mouseそれぞれ経口投与した場合の腎及び肺濃度をFig. 36, 37に示した。

BMY-28100の腎内濃度の最高値は投与後30分の34 $\mu$ g/mlであり、この値はCCL, CFIX及びCFTM-PIのピーク値より高く、また本剤の投与後約3時間までの何れの

時点における濃度も他剤より高かった。

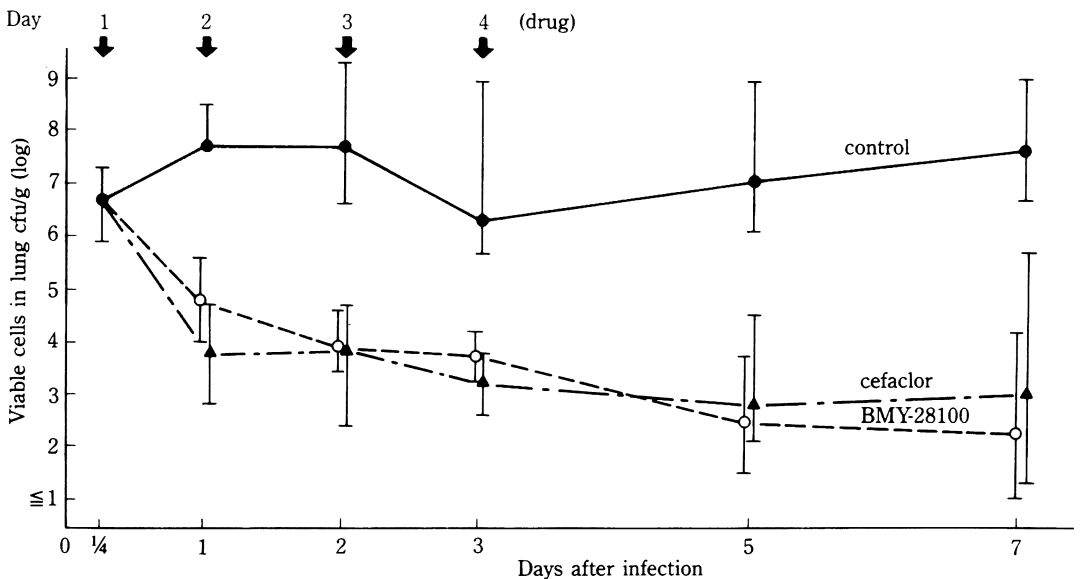
BMY-28100の投与30分後の肺内濃度のピーク値は他の3剤より高く、1時間後CFTM-PIと同程度、2時間後CFTM-PIより低いもののCFIXと同程度であり、いずれの時間でもBMY-28100はCCLより高い濃度を示した。濃度推移パターンはCCLと類似していた。また各抗菌薬の肺内濃度は血清中濃度を反映していた。

### III. 考 察

本報告は経口セファロsporin剤として開発されたBMY-28100の*in vitro*, *in vivo*抗菌作用をCCL, CFIX及びCFTM(CFTM-PI)と比較した成績である。

マウス単独菌感染モデルにおいてBMY-28100は、本実験に用いたグラム陽性球菌に対し、CCL, CFIX及びCFTM-PIより優れた治療効果を示した。しかしグラム陰性桿菌に対してはBMY-28100は対照薬と同等か劣っていた。

この結果は本剤の*in vitro*活性における特徴、すなわち



Organism : *K. pneumoniae* 3K-25

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

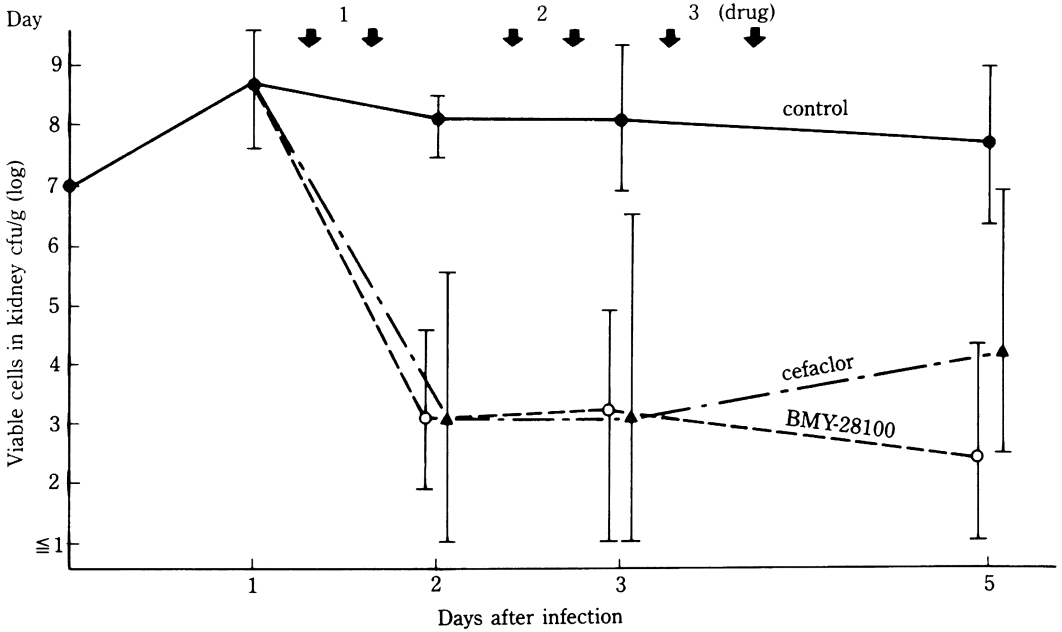
Challenge dose : transnasal inoculation (20  $\mu$ l : 1.4  $\times$  10<sup>7</sup> cfu)

Therapy : p.o., once a day for 4 days, each 5 mg/mouse

MIC ( $\mu$ g/ml, 10<sup>6</sup> cfu/ml) : BMY-28100/cefaclor (3.13/3.13)

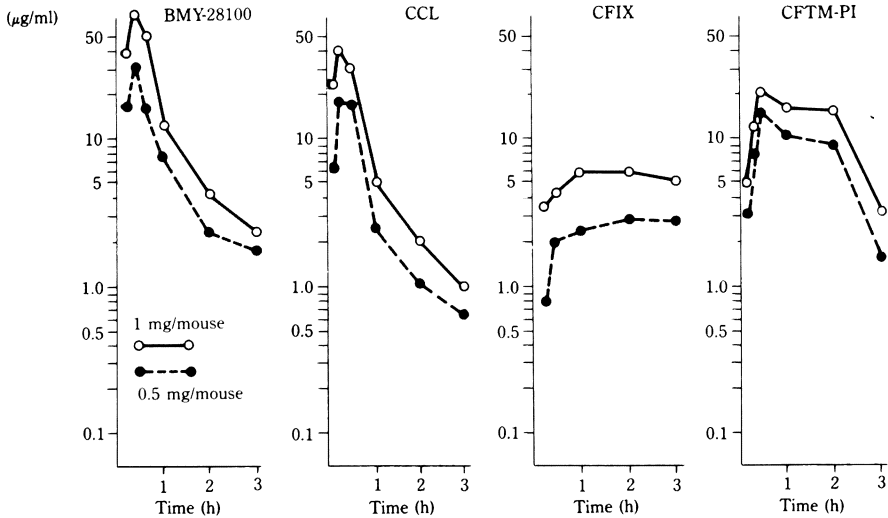
— : The data represents the range of each value of 6 animals

Fig. 33. Therapeutic effect of BMY-28100 and cefaclor on respiratory tract infection with *Klebsiella pneumoniae* 3K-25 in mice.



Organism : *E. coli* KU-3  
 Mouse : ICR, 4-week old, female,  $19 \pm 1$  g, 6 animals/group  
 Challenge dose : transurethral inoculation ( $50 \mu\text{l} : 1 \times 10^7$  cfu)  
 Therapy : p.o., twice a day for 3 days, each 5 mg/mouse  
 MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ,  $10^6$  cfu/ml) : BMY-28100/cefaclor (1.56/1.56)  
 ——— : The data represents the range of each value of 6 animals

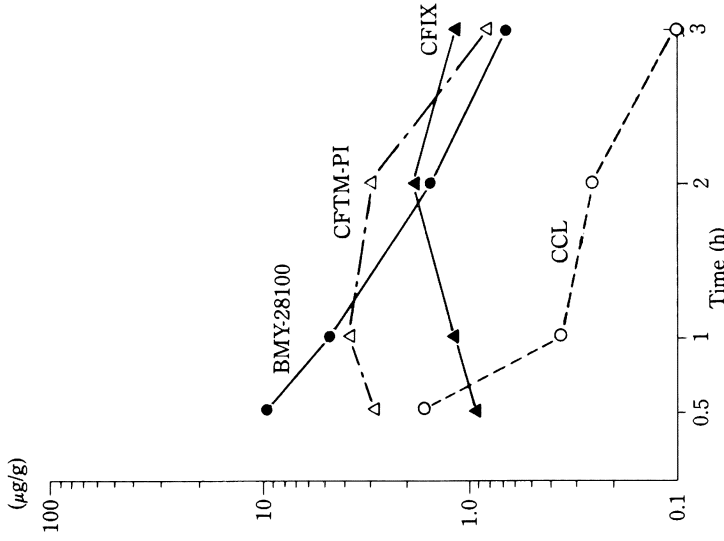
Fig. 34. Therapeutic effect of BMY-28100 and cefaclor on ascending urinary tract infection with *Escherichia coli* KU-3 in mice.



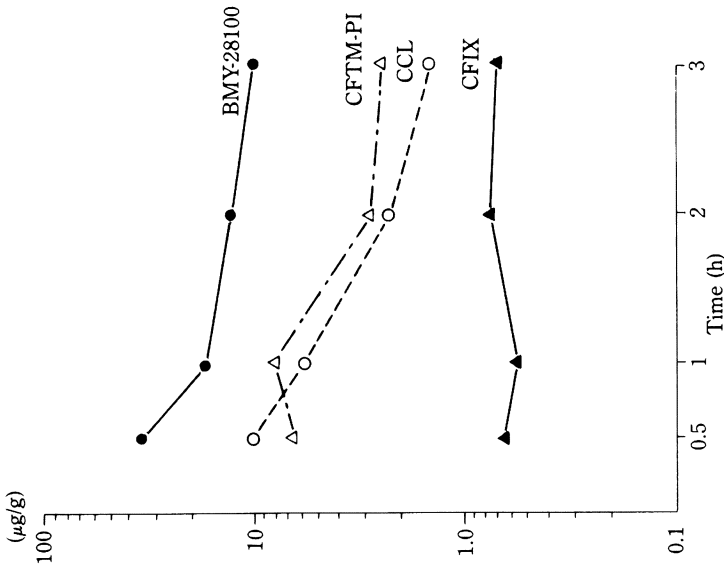
Administration : p.o.  
 Mouse : ICR, male, 4-week old,  $19 \pm 1$  g, 5 animals/group  
 CCL : cefaclor    CFIX : cefixime    CFTM-PI : ceftem pivoxil

Fig. 35. Serum levels of BMY-28100 and other cepheims in mice.





Administration : p.o., 1 mg/mouse  
Mouse : ICR, 4-week old, male, 19±1 g, 5 animals/group  
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM-PI : cefteram pivoxil  
Fig. 37. Lung levels of BMY-28100 and other antibiotics in mice.



Administration : p.o., 1 mg/mouse  
Mouse : ICR, 4-week old, male, 19±1 g, 5 animals/group  
CCL : cefaclor CFIX : cefixime CFTM-PI : cefteram pivoxil  
Fig. 36. Kidney levels of BMY-28100 and other antibiotics in mice.

グラム陽性菌に対しては他の対照薬よりも抗菌力が優れ、一方グラム陰性菌に対してはやや劣るという成績と対応する。また本剤は嫌気性菌に対しても強い抗菌力を示し、特に偽膜性大腸炎の原因菌として知られている*C. difficile*に比較的良好な抗菌力を示した。

*S. aureus*と*E. faecalis*の混合感染に対するBYM-28100を含む4剤の治療効果はいずれも*S. aureus*の単独感染の場合と同等で、ED<sub>50</sub>値には大差が認められなかった。これは両実験において、*S. aureus*の感染量(10 MLD又は12 MLD)がほぼ等しく、かつ*E. faecalis*の感染量に比較してはるかに多かった。そのため*S. aureus*のマウス体内での増殖が致死要因で、*E. faecalis*はこの条件下では、マウスの生死に影響を与えていないことを示唆する。

*E. coli*とMLD値以下の*B. fragilis*を混合感染させた場合は*E. coli*の単独感染時に比べ、BYM-28100を含む各抗菌薬のED<sub>50</sub>値が3~6倍大きくなった。この理由としては混合感染時の*E. coli*の感染菌量が単独感染時の25倍多いこと、また*B. fragilis*が産生するβ-lactamaseにより投与された抗菌薬が不活化されたことによると考えられる。

つぎにマウスに経鼻感染させた場合、感染5日後、及び上行性尿路感染の場合、感染3日後までBYM-28100及びCCL投与群はほとんど同様な生菌数の減少傾向が認められた。しかしその後BYM-28100投与群ではこの減少傾向が維持されたが、CCLでは再増殖の傾向が認められた。この治療効果の差は両抗菌薬の*in vitro*抗菌力が等しいので、肺及び腎への移行性がBYM-28100の方がCCLより優れていることが反映したと考えられる。

以上の基礎検討の成績から、本剤は経口セフェム抗菌薬として臨床での有用性が期待される。

#### 文 献

- 1) NAITO T, HOSHI H, ABURAKI S, ABE Y, OKUMURA J, TOMATSU K, KAWAGUCHI H: Synthesis and structure-activity relationships of a new oral cephalosporin, BYM-28100 and related compounds. *J. Antibiotic.* 40: 991~1005, 1987
- 2) LEITNER F, PURSIANO T A, BUCK R E, TSAI Y H, CHISHOLM D R, MISIEK M, DESIDERIO J V, KESSLER R E: BYM-28100, a new oral cephalosporin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 31: 238~243, 1987
- 3) CHIN N X, NEU H C: Comparative antibacterial activity of a new oral cephalosporin, BYM-28100. *Antimicrob. Agents Chemother.* 31: 480~483, 1987
- 4) ELIOPOULOS G M, REISZNER E, WENNERSTEN C, MOELLER R C Jr: *In vitro* activity of BYM-28100, a new oral cephalosporin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 31: 653~656, 1987
- 5) TOMATSU K, ANDO S, MASUYOSHI S, KONDO S, HIRANO M, MIYAKI T, KAWAGUCHI H: *In vitro* and *in vivo* evaluations of BYM-28100, a new oral cephalosporin. *J. Antibiotics* 40: 1175~1183, 1987
- 6) 五島瑳智子, 小川正俊, 辻 明良, 金子康子, 吉田 勇, 桑原章吾: 新経口cephalosporin剤, cefaclor (CCL)とcephalexinの抗菌作用の比較。 *Chemotherapy* 27(S-7): 1~13, 1979
- 7) 五島瑳智子, 池田文昭, 小川正俊, 宮崎修一, 金子康子, 桑原章吾: 新経口cephalosporin剤, cefixime (CFIX)の*in vitro*, *in vivo*抗菌作用。 *Chemotherapy* 33(S-6): 29~45, 1985
- 8) 五島瑳智子, 小川正俊, 辻 明良, 宮崎修一, 金子康子, 桑原章吾: 新経口Cephem系抗生物質 T-2588の*in vitro*および*in vivo*抗菌作用。 *Chemotherapy* 34(S-2): 13~23, 1986
- 9) 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
- 10) 川崎賢二, 関口金雄, 小川正俊, 辻 明良, 五島瑳智子: Opportunistic Pathogenと宿主防衛機能の関連について, 実験的白血球減少マウスにおける各菌種の易感染化と抗菌薬の治療効果について。 *Chemotherapy* 28: 14~21, 1980

## IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF BMY-28100, A NEW ORAL CEPHALOSPORIN

CHIEKO JIN, MASATOSHI OGAWA, SHUICHI MIYAZAKI, YASUKO KANEKO, AKIYOSHI TSUJI and SACHIKO GOTO

Department of Microbiology, School of Medicine, Toho University,

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

We examined the *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of BMY-28100 and compared it with those of cefaclor (CCL), cefixime (CFIX), and ceftam pivoxil (CFTM-PI) as reference drugs. In an *in vitro* study, CFTM was used instead of CFTM-PI.

The *in vitro* antibacterial activity of BMY-28100 against *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci was more potent than that of CCL, CFIX and CFTM. The drug was also more active than CCL and CFIX against *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus pneumoniae*. Its activity against Enterobacteriaceae, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Haemophilus influenzae* and *Bordetella pertussis* was comparable to that of CCL but inferior to that of CFIX or CFTM.

BMY-28100 was more active than CCL, CFIX and CFTM against non-penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae* (non-PPNG), *N. gonorrhoeae* (PPNG) and *Clostridium difficile*.

In systemic infection with *S. aureus*, *S. pneumoniae* and *Enterococcus faecalis*, the ED<sub>50</sub>'s of BMY-28100 were lower than those of CCL, CFIX and CFTM-PI.

The protective activity of BMY-28100 against *Escherichia coli* resembled that of CCL, CFIX and CFTM-PI. In mice infected with *Klebsiella pneumoniae*, BMY-28100 and CCL were inferior to CFIX and CFTM-PI.

In respiratory tract infection with *K. pneumoniae* and urinary tract infection with *E. coli*, the therapeutic efficacy of BMY-28100 and CCL were almost equal to each other.