

Cefetamet pivoxil の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力について

西野 武志・波多野和男・岩尾 英治・大槻 雅子
京都薬科大学微生物学教室*

Cefetamet (CEMT) のプロドラッグである cefetamet pivoxil (CEMT-PI) の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用について amoxicillin (AMPC), cefaclor (CCL), cefuroxime (CXM), cefixime (CFIX) および cefpodoxime (CPDX) を比較薬として *in vitro* は CEMT, *in vivo* は CEMT-PI を用いて検討した。CEMT はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に幅広い抗菌スペクトルを有し、グラム陽性菌に対する抗菌力は CFIX と同様で、*Staphylococcus aureus* に対する抗菌力は弱いが、*Streptococcus* 属には良好な感受性を示した。グラム陰性菌には CFIX や CPDX と同様の抗菌力を示し、AMPC, CCL, CXM に比べ優れていた。しかし、*Pseudomonas aeruginosa* にはすべての薬剤が抗菌力を示さなかった。臨床分離株に対する感受性でも同様の結果が得られた。CEMT は使用したいずれの菌種に対しても薬剤濃度に応じた殺菌作用を示した。位相差顕微鏡により CEMT の *Serratia marcescens* に対する形態変化を観察したところ、0.025 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で filament の形成が、また 0.78 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の濃度で spheroplast 様構造や溶菌像が観察された。マウス実験の腹腔内感染症に対する CEMT-PI の治療効果は *Streptococcus pyogenes* に対しては cefpodoxime proxetil (CPDX-PR; CPDX のプロドラッグ) と CFIX の中間的な効果を示した。*Escherichia coli* 2 株、*Klebsiella pneumoniae* に対しては CPDX-PR や CFIX に次ぐ治療効果を示し、CCL や cefuroxime axetil (CXM-AX; CXM のプロドラッグ) より優れていた。また、*K. pneumoniae* を用いたマウスでの実験的呼吸器感染症に対しても CEMT-PI は CCL や CXM-AX に比べ良好な治療効果を示した。

Key words: Cefetamet, Cefetamet pivoxil, MIC, 殺菌作用, 実験感染治療効果

Cefetamet pivoxil (CEMT-PI) は 1984 年にロシュ社で合成されたオキシム型の経口用セフェム系抗生物質で、cefetamet (CEMT) の 2 位カルボキシル基にピバロイルオキシメチルをエステル結合することにより経口吸収を可能にしたプロドラッグである。したがって、CEMT-PI は生体内で速やかに CEMT に代謝され、活性型となり抗菌活性を発揮する。CEMT-PI の化学名は (+)-(6R, 7R)-pivaloyloxymethyl-7-[(Z)-2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4, 2, 0]oct-2-ene-2-carboxylate hydrochloride で、分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}_2 \cdot \text{HCl}$ 、分子量 548.04 の白色ないし淡黄白色の結晶性の粉末である。CEMT 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し、特にグラム陰性菌に対して優れた抗菌力を示す。また、オキシム型であるので β -lactamase にはきわめて安定であることが報告されている^{1,2)}。

今回、我々は CEMT-PI の *in vitro* および *in vivo*

抗菌力について amoxicillin (AMPC), cefaclor (CCL), cefuroxime (CXM), cefixime (CFIX) および cefpodoxime (CPDX) を比較薬として検討したので報告する。

I. 実験材料および実験方法

1. 使用菌株および使用薬物

菌株は教室保存の標準株および臨床材料より分離されたメチシリン感受性 *Staphylococcus aureus* 40 株、メチシリン耐性 *S. aureus* 41 株、*Staphylococcus epidermidis* 41 株、*Streptococcus pyogenes* 33 株、*Streptococcus pneumoniae* 37 株、*Enterococcus faecalis* 30 株、*Enterococcus faecium* 30 株、*Enterococcus avium* 14 株、*Branhamella catarrhalis* 20 株、*Escherichia coli* 44 株、*Klebsiella pneumoniae* 42 株、*Enterobacter cloacae* 29 株、*Enterobacter aerogenes* 34 株、*Serratia marcescens* 44 株、*Proteus mirabilis* 29 株、*Proteus vulgaris* 41 株、*Morganella morganii* 28 株、*Providencia rettgeri* 17 株、*Haemophilus influenzae* 31 株および *Acinetobacter calcoaceticus* 74 株を用いた。

* 〒607 京都市東山区山科御陵中内町 5

また、使用した薬物はいずれも力価の明らかな CEMT (日本ロシュ), CEMT-PI (日本ロシュ), CCL (塩野義製薬), CXM (日本グラクソ), cefuroxime axetil (CXM-AX; 日本グラクソ), CFIX (藤沢薬品), CPDX (三共), cefpodoxime proxetil (CPDX-PR; 三共) および AMPC (藤沢薬品) を用いた。

2. 感受性測定法

前培養に Trypto soya broth (TSB; ニッスイ), 測定用に Heart infusion agar (HIA; Difco) を用い、日本化学療法学会感受性測定法に準じた方法³⁾ で、37°C 20 時間培養後の MIC を測定した。なお、*Streptococcus* 属は 10% 脱繊維馬血液を、*H. influenzae* は 5% Bacto-Filde's enrichment (Difco) を含んだ HIA を用いた。*Neisseria* 属の場合 10% 脱繊維馬血液を含んだ Mueller Hinton agar (MHA; Difco) を用い、37°C 48 時間培養後の MIC を測定した。

3. 抗菌力におよぼす諸因子の影響

抗菌力におよぼす培地種類 [HIA, Brain heart infusion agar (BHIA; ニッスイ), Trypto soya agar (TSA; ニッスイ), Neutrient agar (NA; ニッスイ), Sensitivity test agar (STA; ニッスイ)], 培地 pH (5.5, 7.0, 8.5), 接種菌量 (10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 cells/ml) および馬血清添加 (0, 10, 25%) の影響について、*S. aureus*, *E. coli* および *K. pneumoniae* の各々 7 株を被検菌として、日本化学療法学会感受性測定法³⁾

に準じて検討を行った。

4. 増殖曲線に及ぼす影響

TSB で前培養した *S. aureus* 209-P JC, *E. coli* K-12, *E. coli* KC-14, *K. pneumoniae* KC-1, *S. marcescens* IFO 3736 および 5% 馬血清を含んだ TSB で前培養した *S. pyogenes* C-203 を同新鮮培地に接種し、37°C で振とう培養を続けた。対数期途中 (約 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ cells/ml) に所定の濃度になるように薬物を添加し、添加 4 時間後まで経時的に生菌数を常法に従い測定した。

5. 位相差顕微鏡による観察

スライドガラス上に種々の濃度の薬剤を添加した薄層寒天培地を作成し、これに対数期の *S. marcescens* IFO 3736 を塗抹後、カバーガラスをかぶせてパラフィンで封入した。これを恒温装置付の倒立位相差顕微鏡 (Nikon) を用いて経時的に形態変化を観察した。

6. マウス実験的腹腔内感染症に対する治療効果

S. aureus Smith, *E. coli* KC-14, *E. coli* 33 および *K. pneumoniae* KC-1 はいずれも Nutrient broth (NB; ニッスイ) で 37°C 18 時間培養後、同培地で希釈し、6% hog gastric mucin (Orthana Kemisk Fabrik A/S) と等量混合した。また *S. pneumoniae* type III および *S. pyogenes* C-203 は TSA で 37°C 18 時間培養し、生理食塩水に懸濁した。これらの菌液の 0.5 ml を 1 群 10 匹の ddy 系雄性マウス (体重 20 ± 1 g) の腹腔

Table 1. Antibacterial spectrum of Gram-positive bacteria (10^6 cells/ml)

Organism	MIC (μ g/ml)						
	cefetamet	amoxicillin	cefaclor	cefuroxime	cefixime	cefpodoxime	
<i>Staphylococcus aureus</i>	209-P JC	50	0.10	0.78	0.78	25	3.13
	Smith	50	0.20	0.78	1.56	12.5	3.13
	Terajima	50	0.39	6.25	1.56	25	3.13
	Neumann	50	0.20	1.56	0.78	12.5	3.13
	E-16	50	0.20	1.56	0.78	6.25	3.13
	No. 80	50	0.20	1.56	0.78	12.5	1.56
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	KC-1	>100	0.39	1.56	6.25	>100	12.5
<i>Streptococcus pyogenes</i>	S-23*	0.025	0.012	0.10	0.012	0.10	0.012
	Cook*	0.025	0.012	0.10	0.012	0.10	0.012
	C-203*	0.012	≤ 0.006	0.025	≤ 0.006	0.05	≤ 0.006
<i>Enterococcus faecalis</i>	KC-1*	>100	0.78	25	>100	>100	>100
Viridans group <i>streptococcus</i> *		>100	0.78	25	>100	>100	>100
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	type I*	0.20	0.39	0.39	≤ 0.006	0.20	0.025
	type II*	0.39	≤ 0.006	0.39	0.025	0.20	≤ 0.006
	type III*	0.39	0.025	0.78	0.012	0.20	0.025
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	KC-1*	12.5	0.20	0.39	0.78	25	1.56
	Toronto*	≤ 0.006					
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC9341	1.56	≤ 0.006	0.025	0.10	1.56	0.05
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC6633	3.13	0.012	0.05	0.10	0.78	0.20
<i>Bacillus anthracis</i>	KC-1	100	0.012	0.39	25	>100	12.5

Medium: heart infusion agar *supplemented with 10% horse blood

Table 2. Antibacterial spectrum of Gram-negative bacteria (10⁶ cells/ml)

Organism	MIC (μg/ml)					
	cefetamet	amoxicillin	cefaclor	cefuroxime	cefixime	cefepodoxime
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> KC-1	≤0.006	0.10	0.10	0.025	≤0.006	≤0.006
<i>Neisseria meningitidis</i> KC-1	≤0.006	0.05	0.20	0.025	≤0.006	≤0.006
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC10211	0.05	0.20	0.78	0.39	0.012	0.025
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	0.39	6.25	1.56	6.25	0.39	0.78
	NIH	0.20	6.25	0.78	0.39	0.20
	K-12	0.20	3.13	0.78	1.56	0.20
	KC-14	0.39	6.25	0.78	6.25	0.39
<i>Citrobacter freundii</i> NIH10018-62	25	>100	>100	50	50	100
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.05	0.20	0.20	0.78	0.025	0.05
	O-901	0.05	0.39	0.39	0.39	0.012
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.10	0.39	0.39	0.78	0.012	0.10
	B	0.10	0.39	0.39	0.78	0.025
<i>Salmonella enteritidis</i> KC-1	0.20	0.39	0.39	0.78	0.05	0.10
<i>Shigella dysenteriae</i> FW-7	0.39	3.13	1.56	3.13	0.20	0.20
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.20	3.13	0.78	1.56	0.20	0.20
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.20	6.25	0.78	0.78	0.39	0.20
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.20	3.13	0.39	0.78	0.20	0.10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC9632	0.20	50	0.39	1.56	0.025	0.20
	KC-1	0.10	0.78	0.39	1.56	0.025
	DT-S	0.20	0.78	0.78	1.56	0.05
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC9394	0.78	>100	>100	6.25	3.13	1.56
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC1006	3.13	>100	>100	12.5	12.5	3.13
<i>Enterobacter aerogenes</i> KC-1	0.20	>100	50	0.78	0.10	0.20
<i>Hafnia alvei</i> NCTC4540	0.78	100	100	25	1.56	3.13
<i>Serratia marcescens</i> IFO3736	1.56	50	>100	50	0.20	1.56
	T55	6.25	25	>100	100	0.78
<i>Proteus vulgaris</i> CX-19	0.10	50	25	3.13	≤0.006	0.025
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.10	0.39	0.78	0.20	≤0.006	0.025
	181	0.10	1.56	1.56	≤0.006	0.10
<i>Morganella morganii</i> Kono	50	>100	100	25	0.39	0.78
<i>Providencia rettgeri</i> NIH91	≤0.006	0.39	0.20	0.39	≤0.006	≤0.006
<i>Providencia inconstans</i> NIH118	0.012	100	6.25	0.39	≤0.006	0.012
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	>100	>100	>100	>100	50	>100
	No. 5	>100	>100	>100	100	100
	E-2	>100	>100	>100	100	>100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> AC-54	6.25	12.5	25	25	12.5	6.25
<i>Alcaligenes faecalis</i> IFO121	6.25	6.25	0.78	25	3.13	6.25

Medium : heart infusion agar

内に接種し、感染を惹起させた。治療は感染2時間後に各薬物の0.5% sodium carboxymethyl cellulose懸濁液の0.25 mlを1回経口投与することによって行った。判定は感染7日後のマウスの生存率より、Probit法⁴⁾によりED₅₀値を算出した。

7. マウス実験的呼吸器感染症に対する治療効果

K. pneumoniae DT-SをNAで37℃、18時間培養後NBに懸濁し、nebulizerを用い噴霧吸入感染させた⁵⁾。噴霧終了15時間後にCEMT-PI, CXM-AX, CCLを1回経口投与し、以後経時的に肺を無菌摘出した。これをhomogenizeした後、生菌数を常法に従い測定した。また感染5日後のマウスの生存率より、

Probit法⁴⁾によりED₅₀値を算出した。なお、1群5匹のddy系雌マウス(体重20±2g)を用いた。

8. マウス尿中回収率

各薬物の20 mg/kg (CPDX-PRおよびCXM-AXはCPDXおよびCXM力価として20 mg/kg)を経口投与し、投与後6時間までの尿を(1群10匹)採取した。薬物濃度は、CEMT-PIは培地にAntibiotic medium 1 (Difco)を用い検定菌に*E. coli* ATCC 39188を、CCLでは培地にMHAを検定菌に*Micrococcus luteus* ATCC 9431を、CFIXではNAを培地に*E. coli* ATCC 39188を検定菌に、CPDXおよびCXMではクエン酸ナトリウム培地を用い*Bacillus*

subtilis ATCC 6633 を検定菌とした薄層ペーパーディスク法により測定した。

II. 実験結果

1. 抗菌スペクトル

CEMT の教室保存のグラム陽性菌群および陰性菌群標準株に対する抗菌スペクトルを Table 1, 2 に示した。グラム陽性の *S. aureus* に対して, CEMT は CFIX と同様, 無効であったが, *S. pyogenes* や *S. pneumoniae* に対しては CCL や CFIX よりも優れた抗菌力を示した。一方, グラム陰性菌に対する CEMT の抗菌力は AMPC, CCL, CXM よりも優れており, CFIX や CPDX とほぼ同等であった。しかし

Pseudomonas aeruginosa のいずれの菌株に対しても, CEMT は $>100 \mu\text{g/ml}$ であり無効であった。また Table には示さなかったが, 10^8 cells/ml の接種菌量でも同様の傾向を認めた。

2. 臨床分離株に対する抗菌力

各種臨床分離株に対する CEMT の MIC 分布, MIC₅₀ および MIC₉₀ を Table 3 に示した。

a) メチシリンの MIC が $6.25 \mu\text{g/ml}$ 以下のメチシリン感性 *S. aureus* (MSSA) 40 株に対する CEMT の MIC₅₀ および MIC₉₀ はそれぞれ 25, $50 \mu\text{g/ml}$ であり, 対照薬に比べて劣った抗菌力を示した。

b) メチシリンの MIC が $12.5 \mu\text{g/ml}$ 以上のメチシ

Table 3. Antibacterial activity of cefetamet and reference drugs against clinical isolates of Gram-positive and-negative bacteria

Organism	Drug	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Methicillin-sensitive <i>Staphylococcus aureus</i> (n=40)	cefetamet	12.5-100	25	50
	amoxicillin	0.05-6.25	0.2	1.56
	cefaclor	0.2-6.25	0.78	1.56
	cefuroxime	0.2-1.56	0.78	1.56
	cefixime	3.13-25	12.5	12.5
	cefpodoxime	0.78-3.13	1.56	3.13
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (n=41)	cefetamet	>100	>100	>100
	amoxicillin	3.13-100	50	100
	cefaclor	50->100	100	>100
	cefuroxime	6.25->100	>100	>100
	cefixime	100->100	>100	>100
	cefpodoxime	12.5->100	50	>100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (n=41)	cefetamet	6.25->100	25	>100
	amoxicillin	0.05-100	0.39	12.5
	cefaclor	0.2-100	0.78	25
	cefuroxime	0.2-25	0.78	6.25
	cefixime	1.56->100	12.5	100
	cefpodoxime	0.39->100	3.13	100
<i>Streptococcus pyogenes</i> (n=33)	cefetamet	0.025-0.1	0.05	0.05
	amoxicillin	0.012-0.025	0.012	0.012
	cefaclor	0.1-0.78	0.2	0.2
	cefuroxime	$\leq 0.006-0.025$	0.012	0.012
	cefixime	0.05-0.2	0.1	0.1
	cefpodoxime	0.012-0.025	0.012	0.025
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (n=37)	cefetamet	$\leq 0.006-12.5$	0.1	1.56
	amoxicillin	$\leq 0.006-3.13$	0.012	0.1
	cefaclor	$\leq 0.006-12.5$	0.2	0.78
	cefuroxime	$\leq 0.006-6.25$	0.025	0.2
	cefixime	$\leq 0.006-0.78$	0.025	0.2
	cefpodoxime	$\leq 0.006-3.13$	0.012	0.05
<i>Enterococcus faecalis</i> (n=30)	cefetamet	3.13->100	12.5	>100
	amoxicillin	0.39-0.78	0.39	0.78
	cefaclor	3.13->100	50	100
	cefuroxime	1.56->100	6.25	12.5
	cefixime	1.56->100	12.5	>100
	cefpodoxime	1.56->100	3.13	25
<i>Enterococcus faecium</i> (n=30)	cefetamet	12.5->100	>100	>100
	amoxicillin	0.05-3.13	0.2	1.56
	cefaclor	6.25->100	25	100
	cefuroxime	0.78->100	100	>100
	cefixime	50->100	>100	>100
	cefpodoxime	1.56->100	100	>100
<i>Enterococcus avium</i> (n=14)	cefetamet	12.5->100	>100	>100
	amoxicillin	0.1-12.5	0.39	6.25
	cefaclor	1.56-100	3.13	50
	cefuroxime	3.13->100	12.5	>100
	cefixime	50->100	>100	>100
	cefpodoxime	1.56->100	100	>100

(continued)

Table 3. continued

Organism	Drug	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Haemophilus influenzae</i> (n=31)	cefetamet	0.025-0.2	0.1	0.2
	amoxicillin	0.2-25	0.39	3.13
	cefaclor	0.012-3.13	0.78	1.56
	cefuroxime	0.05-6.25	0.39	0.78
	cefixime	≤0.006-0.39	0.025	0.05
	cefpodoxime	0.012-12.5	0.05	0.1
<i>Branhamella catarrhalis</i> (n=20)	cefetamet	0.39-50	0.39	0.78
	amoxicillin	0.05-6.25	1.56	3.13
	cefaclor	0.2-1.56	0.39	0.78
	cefuroxime	0.39-1.56	0.78	0.78
	cefixime	0.05-25	0.2	0.39
	cefpodoxime	0.2-12.5	0.39	0.78
<i>Escherichia coli</i> (n=44)	cefetamet	0.1-50	0.39	1.56
	amoxicillin	3.13->100	>100	>100
	cefaclor	0.39->100	1.56	6.25
	cefuroxime	0.2-100	6.25	12.5
	cefixime	0.1-100	0.39	0.78
	cefpodoxime	0.1-50	0.39	0.78
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=42)	cefetamet	0.1-1.56	0.2	0.2
	amoxicillin	25->100	100	>100
	cefaclor	0.39->100	0.78	6.25
	cefuroxime	1.56-25	3.13	3.13
	cefixime	0.025-0.78	0.05	0.1
	cefpodoxime	0.1-1.56	0.1	0.2
<i>Enterobacter cloacae</i> (n=29)	cefetamet	0.2-50	1.56	6.25
	amoxicillin	100->100	>100	>100
	cefaclor	0.78->100	>100	>100
	cefuroxime	3.13->100	12.5	>100
	cefixime	0.1-50	1.56	12.5
	cefpodoxime	0.2-50	1.56	6.25
<i>Enterobacter aerogenes</i> (n=34)	cefetamet	0.2->100	0.78	100
	amoxicillin	>100	>100	>100
	cefaclor	12.5->100	>100	>100
	cefuroxime	1.56->100	6.25	>100
	cefixime	0.2->100	1.56	>100
	cefpodoxime	0.39->100	0.78	>100
<i>Proteus mirabilis</i> (n=29)	cefetamet	0.05-0.2	0.1	0.2
	amoxicillin	0.39->100	0.78	1.56
	cefaclor	0.39-6.25	1.56	1.56
	cefuroxime	0.2-6.25	1.56	3.13
	cefixime	≤0.006-0.012	0.012	0.012
	cefpodoxime	0.025-0.2	0.1	0.2
<i>Proteus vulgaris</i> (n=41)	cefetamet	0.05-12.5	0.2	0.78
	amoxicillin	0.78->100	>100	>100
	cefaclor	0.78->100	50	>100
	cefuroxime	0.39->100	100	>100
	cefixime	0.012-0.39	0.012	0.05
	cefpodoxime	0.05-50	0.1	3.13
<i>Morganella morganii</i> (n=28)	cefetamet	0.2->100	1.56	>100
	amoxicillin	50->100	>100	>100
	cefaclor	50->100	>100	>100
	cefuroxime	3.13->100	25	>100
	cefixime	0.05-50	0.2	50
	cefpodoxime	0.1->100	0.39	100
<i>Providencia rettgeri</i> (n=17)	cefetamet	≤0.006-0.78	0.1	0.39
	amoxicillin	0.39->100	>100	>100
	cefaclor	0.78->100	>100	>100
	cefuroxime	0.1-50	6.25	25
	cefixime	≤0.006-0.78	0.1	0.78
	cefpodoxime	≤0.006-3.13	0.39	1.56
<i>Serratia marcescens</i> (n=44)	cefetamet	0.39->100	1.56	12.5
	amoxicillin	25->100	>100	>100
	cefaclor	>100	>100	>100
	cefuroxime	25->100	100	>100
	cefixime	0.2-100	0.78	6.25
	cefpodoxime	0.39->100	1.56	25
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (n=74)	cefetamet	0.1->100	6.25	100
	amoxicillin	0.05->100	25	100
	cefaclor	0.1->100	100	>100
	cefuroxime	0.39->100	25	100
	cefixime	0.78->100	12.5	100
	cefpodoxime	0.78->100	6.25	100

Inoculum size: 10⁶ cells/ml

リン耐性 *S. aureus* (MRSA) 41 株に対して CEMT はすべて $>100 \mu\text{g/ml}$ であり、まったく抗菌力を示さなかった。CFIX や CPDX も同様な傾向を示した。

c) *S. epidermidis* 41 株に対して CEMT は $12.5 \mu\text{g/ml}$ と $>100 \mu\text{g/ml}$ にピークを有する 2 峰性の分布を示し、その MIC_{50} は $25 \mu\text{g/ml}$ であった。*S. aureus* の場合と同様、AMPC、CXM、CCL、CPDX よりも劣っていた。

d) *S. pyogenes* 33 株に対して CEMT の MIC_{90} は $0.05 \mu\text{g/ml}$ であり、非常に優れた抗菌力を示した。その抗菌力は CFIX よりも 2 倍優れ、CXM や CPDX よりも 2 倍劣っていた。

e) *S. pneumoniae* 37 株に対して CEMT の MIC_{50} は $0.1 \mu\text{g/ml}$ であり、CCL よりも 2 倍優れた抗菌力を示した。

f) *E. faecalis* 30 株に対する CEMT の抗菌力は $3.13 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ に分布したが、その抗菌力は CCL や CFIX などの他の cephem 剤同様あまり良好なものではなかった。

g) *E. faecium* に対する CEMT の抗菌力は大部分が $>100 \mu\text{g/ml}$ であり、CFIX や CXM などと同様であった。

h) *E. avium* に対する抗菌力も *E. faecium* の場合

と同様、CEMT の MIC_{50} は $>100 \mu\text{g/ml}$ であった。

i) *H. influenzae* 31 株に対する CEMT の MIC は $0.1 \mu\text{g/ml}$ をピークとした $0.025 \sim 0.2 \mu\text{g/ml}$ に分布し、CFIX、CPDX には劣るものの、CCL、CXM および AMPC より優れていた。

j) *B. catarrhalis* 20 株に対する CEMT の MIC は $0.39 \mu\text{g/ml}$ にピークを示し、1 株だけ $50 \mu\text{g/ml}$ が存在するものの他のすべての株が $0.39 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$ に分布し、本剤の抗菌力は AMPC や CXM より優れており、CPDX や CCL と同様であった。

k) *E. coli* 44 株に対する CEMT の感受性は $0.39 \mu\text{g/ml}$ にピークを示し、90%以上の株が $0.1 \sim 1.56 \mu\text{g/ml}$ に分布し、本剤の抗菌力は CFIX や CPDX と同様で他の対照薬より明らかに優れていた。

l) *K. pneumoniae* 42 株に対する CEMT の MIC は $0.1 \sim 1.56 \mu\text{g/ml}$ に分布し、CFIX には若干劣るものの、CPDX と同等で、CCL、CXM および AMPC より優れていた。

m) *E. cloacae* 29 株に対する CEMT の MIC は $0.2 \sim 50 \mu\text{g/ml}$ に分布し、その抗菌力は CFIX や CPDX と同様であり、CCL、CXM および AMPC より優れていた。

n) *E. aerogenes* 34 株に対する CEMT の MIC は

Table 4. Effect of medium, mediumpH, serum and inoculum size on MIC of cefetamet MIC ($\mu\text{g/ml}$)

Organism	Agar					MIC ($\mu\text{g/ml}$) in heart infusion agar at inoculum size (cells/ml)				pH of HIA			Serum conc in HIA			
	Heart infusion agar	Brain heart infusion agar	Trypto soya agar	Neutrient agar	Sensitivity test agar	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵	pH5.5	pH7.0	pH8.5	0%	+10% serum	+25% serum	
<i>Staphylococcus aureus</i>	209-P JC	25	25	25	25	25	50	50	25	25	0.20	25	50	50	25	50
	3	50	50	25	25	50	50	50	50	6.25	25	100	50	50	100	
	5	25	25	25	25	25	25	25	25	3.13	25	50	25	25	50	
	8	25	25	25	25	25	25	50	25	25	6.25	12.5	50	50	50	50
	15	25	25	25	12.5	25	50	50	25	25	3.13	12.5	50	50	25	50
	43	25	25	25	25	25	25	50	25	25	3.13	12.5	50	50	25	25
45	25	25	25	12.5	25	25	25	25	25	6.25	12.5	50	25	25	25	
<i>Escherichia coli</i>	NIH JC-2	0.39	0.39	0.78	0.39	1.56	0.78	0.78	0.39	0.39	0.39	0.39	0.20	0.78	0.39	0.78
	104	0.10	0.20	0.20	0.10	0.20	0.20	0.20	0.10	0.10	0.39	0.20	0.10	0.20	0.20	0.10
	105	0.39	0.39	0.39	0.20	0.20	0.39	0.39	0.39	0.20	0.20	0.39	0.39	0.39	0.20	0.20
	121	0.20	0.39	0.39	0.20	0.20	0.20	0.39	0.20	0.20	0.39	0.39	0.20	0.39	0.20	0.20
	126	0.78	0.78	0.39	0.39	1.56	0.78	0.78	0.78	0.20	0.78	0.39	0.39	0.78	0.39	0.78
	142	0.78	0.78	0.78	0.39	1.56	0.78	0.78	0.78	0.39	0.78	0.39	0.39	0.78	0.39	0.78
163	0.78	0.78	0.78	0.39	0.39	0.78	0.78	0.78	0.39	0.39	0.39	0.39	0.78	0.39	0.39	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KC-1	0.10	0.20	0.20	0.10	0.10	0.20	0.20	0.10	0.10	0.39	0.10	0.10	0.20	0.10	0.10
	103	0.10	0.20	0.20	0.10	0.10	0.20	0.20	0.10	0.10	0.78	0.10	0.10	0.20	0.10	0.10
	119	0.10	0.20	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.20	0.10	0.20	0.10	0.10	0.10
	123	0.10	0.20	0.20	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.39	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
	136	0.10	0.10	0.20	0.20	0.10	0.20	0.20	0.10	0.10	0.39	0.10	0.10	0.20	0.10	0.10
	145	0.10	0.20	0.20	0.10	0.10	0.20	0.20	0.10	0.10	0.39	0.20	0.20	0.20	0.10	0.10
181	0.10	0.20	0.20	0.10	0.20	0.20	0.20	0.10	0.10	0.39	0.20	0.10	0.20	0.10	0.10	

Inoculum size : 10^6 cells/ml

0.2~>100 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、CPDX とほぼ同等で、CFIX より若干優れ CCL, AMPC よりはるかに優れていた。

o) *P. mirabilis* 29 株に対する CEMT の MIC は 0.05~0.2 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、CFIX には劣るものの、CPDX と同様優れた抗菌力を示し、CCL, CXM および AMPC より優れていた。

p) *P. vulgaris* 41 株に対する CEMT の MIC は 0.2 $\mu\text{g/ml}$ をピークとした 0.05~12.5 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、CFIX より劣るものの、CPDX と同様の抗菌力を示し、CCL, CXM および AMPC より優れていた。

q) *M. morgani* 28 株に対する CEMT の MIC は 0.2~>100 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、CFIX, CPDX に若干劣るものの、CXM より優れ、また CCL や AMPC よりはるかに優れていた。

r) *P. rettgeri* 17 株に対する CEMT の MIC は $\leq 0.006\sim 0.78$ $\mu\text{g/ml}$ に分布し、CFIX とほぼ同様の優れた抗菌力を示した。

s) *S. marcescens* 44 株に対する CEMT の MIC は 0.39~>100 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、CFIX に若干劣るものの、CPDX と同様の優れた抗菌力を示し、CCL, CXM, AMPC より優れていた。また CCL に対する感受性はすべて >100 $\mu\text{g/ml}$ であった。

t) *A. calcoaceticus* 74 株に対する CEMT の MIC は 0.1~>100 $\mu\text{g/ml}$ の広い範囲に分布するものの、対照薬より優れた抗菌力を示した。

3. 抗菌力におよぼす諸因子の影響

各種培地における CEMT の *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* 各 7 株に対する抗菌力を Table 4 に示した。*S. aureus*, *K. pneumoniae* の場合培地の種類が異なってもほとんど影響を受けなかった。しかし *E. coli* では NA で相対的に良く、STA で悪い抗菌力を示したが、その差は 1 管程度であった。

接種菌量における CEMT の抗菌力を Table 4 に示した。各菌種とも菌量の影響を比較的受けにくく、菌量の増加により 1~2 管程度の抗菌力の低下を示した。

培地 pH 5.5, 7.0, 8.5 および血清添加 0, 10, 25% の CEMT の抗菌力におよぼす影響を Table 4 に示した。培地 pH の影響では *S. aureus* の場合酸性側で抗菌力が良好となり、*E. coli* および *K. pneumoniae* の場合中性、アルカリ性域で酸性側より抗菌力が良好だった。また血清添加の影響ではほとんど影響が見られなかった。

4. 増殖曲線におよぼす影響

CEMT の *S. aureus*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens* に対する殺菌作用について検討した結果を Fig. 1 に示した。*S. aureus* と *S. pyogenes* のグラム陽性菌に対する CEMT の殺菌力は弱かったが *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens* のグラム陰性菌に対しては薬剤濃度に対応した殺菌作用がみられ、4 時間目まで再増殖は認められなかった。

5. 形態変化

S. marcescens IFO 3736 での CEMT による形態変化を Fig. 2 に示した。0.025 $\mu\text{g/ml}$ 作用では control

Table 5. Protective effect of cefetamet pivoxil and related antibiotics in experimental infection with Gram-positive bacteria in mice

Organism	Challenge dose (cells/mouse)	Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ (mg/mouse)
			10 ⁸	10 ⁹	
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	7.5×10 ⁶ (32LD ₅₀)	cefetamet pivoxil	50	50	>2
		cefaclor	1.56	0.78	0.0038(0.0026~0.0054)***
		cefuroxime axetil	1.56*	1.56	0.038(0.025~0.050)
		cefixime	25	12.5	>2
		cefpodoxime proxetil	3.13**	3.13	0.109(0.075~0.148)
<i>Streptococcus pyogenes</i> C-203	2.1×10 ² (125LD ₅₀)	cefetamet pivoxil	0.025	0.012	0.00881(0.0085~0.0091)
		cefaclor	0.1	0.025	0.166(0.159~0.174)
		cefuroxime axetil	0.012*	≤ 0.006	0.0051(0.0048~0.0055)
		cefixime	0.1	0.05	0.0659(0.0648~0.0671)
		cefpodoxime proxetil	≤ 0.006 **	≤ 0.006	0.0019(0.0019~0.0020)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type III	1.2×10 ² (24LD ₅₀)	cefetamet pivoxil	0.39	0.39	1.01(0.97~1.04)
		cefaclor	0.78	0.78	0.305(0.294~0.316)
		cefuroxime axetil	0.012*	0.012	0.043(0.040~0.047)
		cefixime	0.2	0.2	0.267(0.258~0.276)
		cefpodoxime proxetil	0.025**	0.025	0.0179(0.016~0.019)

* MIC of cefuroxime ** MIC of cefpodoxime *** 95% confidence limits

とほぼ同様に増殖していく様子が観察され、0.1, 0.39, 1.56 および 6.25 $\mu\text{g/ml}$ では菌体の伸長化が、50 $\mu\text{g/ml}$ 作用では spheroplast 様構造や溶菌像を認めた。これらの位相差顕微鏡による観察結果をまとめたのが Fig. 3 で、CEMT は幅広い filament 形成濃度域を有し、作用時間の経過とともに spheroplast 形成や溶菌をおこす濃度域が広がった。

6. マウス実験的腹腔内感染症に対する治療効果

CEMT-PI の *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *E. coli* および *K. pneumoniae* を用いたマウス実験的感染症に対する治療効果を Table 5, 6 に示した。*S. aureus* Smith では CEMT-PI は CFIX と同様、治療効果が得られなかった。*S. pyogenes* C-203 に対して CEMT-PI は CCL や CFIX よりも優れた治療効果を示したが、*S. pneumoniae* に対してはこれらの薬物より劣っていた。*E. coli* KC-14 および 33 に対する CEMT-PI の治療効果は CFIX とほぼ同等で、

CCL や CXM-AX より優れていた。*K. pneumoniae* に対して CEMT-PI は CFIX や CPDX-PR より劣った治療効果を示したが、CCL や CXM-AX よりも優れていた。

7. マウス実験的呼吸器感染症に対する治療効果

K. pneumoniae DT-S によるマウス実験的感染症に対する CEMT-PI の治療効果を Fig. 4 および Table 7 に示した。8 mg/mouse 投与群において、CEMT-PI および CXM-AX 治療群共に肺内生菌数の減少がみられたが、CEMT-PI 治療群の 24 時間目の生菌数は CXM-AX 治療群より低く優れていた。2 mg/mouse 投与群では CEMT-PI および CXM-AX 治療群共に投与 4 時間後まで肺内生菌数が減少したが、CXM-AX では以後再増殖がみられた。一方、CCL 治療群はいずれの投与量においても肺内生菌数の減少効果がみられず、投与 4 時間後再増殖がみられた。また CEMT-PI の ED₅₀ は CXM-AX より優れており、

Table 6. Protective effect of cefetamet pivoxil and related antibiotics in experimental infection with Gram-negative bacteria in mice

(n=10)

Organism	Challenge dose (cells/mouse)	Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ (mg/mouse)
			10 ⁸	10 ⁶	
<i>Escherichia coli</i> KC-14	1.4 × 10 ⁶ (55LD ₅₀)	cefetamet pivoxil	0.78	0.39	0.0185 (0.0180~0.0189)***
		cefaclor	6.25	0.78	0.0337 (0.0326~0.0348)
		cefuroxime axetil	3.13*	3.13	0.122 (0.118~0.126)
		cefixime	0.39	0.39	0.0160 (0.0153~0.0168)
		cefepodoxime proxetil	0.39**	0.39	0.00891 (0.00873~0.00913)
<i>Escherichia coli</i> 33	4.0 × 10 ⁵ (341LD ₅₀)	cefetamet pivoxil	0.39	0.39	0.0832 (0.0812~0.0853)
		cefaclor	100	3.13	0.201 (0.193~0.209)
		cefuroxime axetil	1.56*	0.39	0.109 (0.106~0.113)
		cefixime	0.78	0.78	0.0771 (0.0754~0.0789)
		cefepodoxime proxetil	0.39**	0.2	0.0474 (0.0464~0.0485)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	9.8 × 10 ³ (210LD ₅₀)	cefetamet pivoxil	0.2	0.1	0.0408 (0.0398~0.0419)
		cefaclor	0.78	0.39	0.0666 (0.0646~0.0687)
		cefuroxime axetil	6.25*	1.56	0.291 (0.283~0.299)
		cefixime	0.1	0.025	0.00739 (0.00726~0.00752)
		cefepodoxime proxetil	0.2**	0.1	0.0185 (0.0178~0.0192)

* MIC of cefuroxime ** MIC of cefepodoxime *** 95% confidence limits

Table 7. Protective effect of cefetamet pivoxil, cefaclor and cefuroxime axetil in mice infected with *Klebsiella pneumoniae* DT-S by inhalation

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ (95 % confidence limits)* (mg/mouse)
	10 ⁸	10 ⁶	
cefetamet pivoxil	0.39	0.20	2.15 (2.01~2.31)
cefaclor	25	0.78	>8
cefuroxime axetil	25	1.56	5.16 (4.79~5.59)

Administration: 15 h after inhalation

Observation period: 5 days

*Calculated by probit method

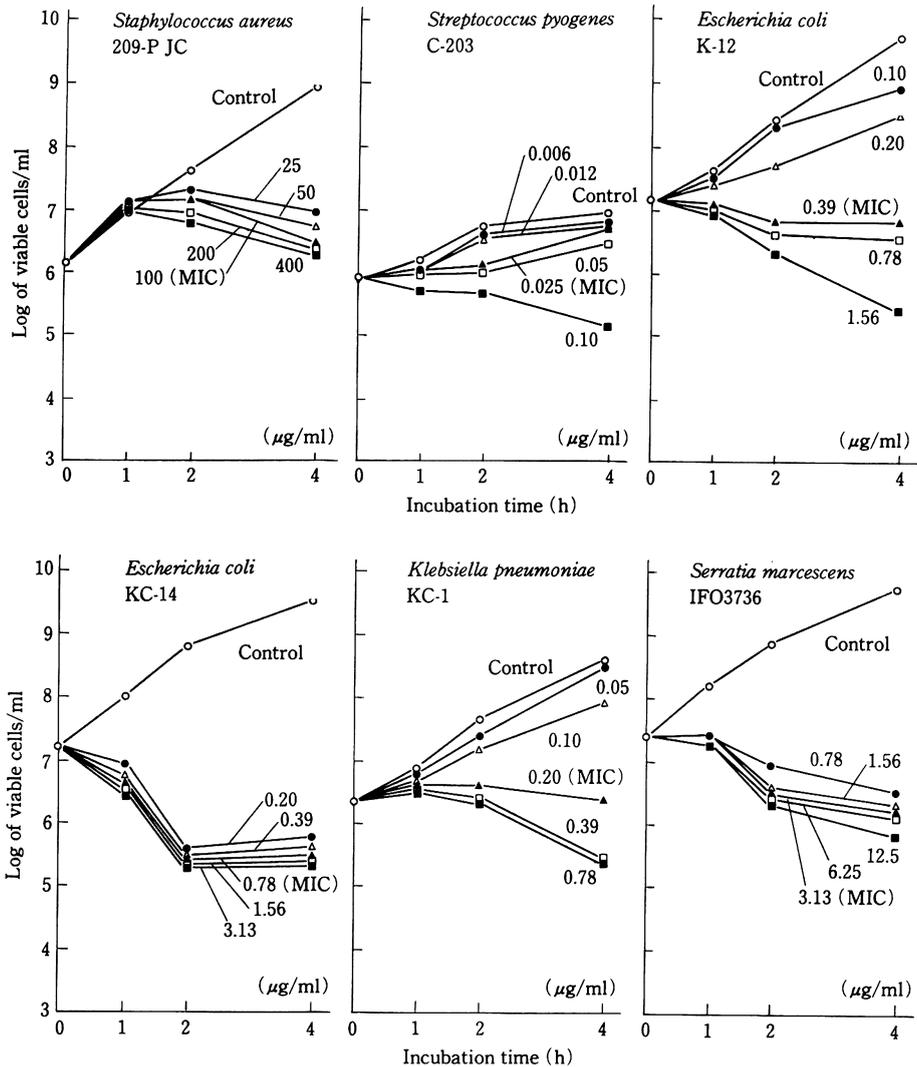


Fig. 1. Effect of cefetamet on viability of *Staphylococcus aureus* 209-P JC, *Streptococcus pyogenes* C-203, *Escherichia coli* K-12, *Escherichia coli* KC-14, *Klebsiella pneumoniae* KC-1 and *Serratia marcescens* IFO3736

CCL では治療効果が得られなかった。

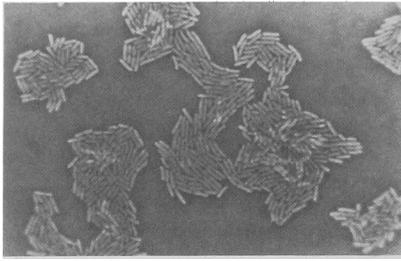
8. マウス尿中回収率

マウスにおける尿中回収率を Table 8 に示した。CEMT-PI の尿中回収率は 58.85% と検討薬剤中最も高く、CFIX の約 2 倍であった。

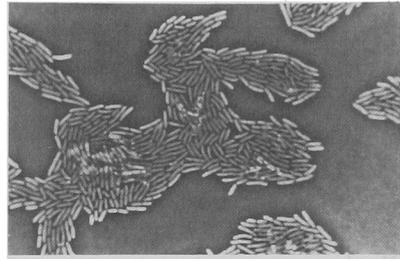
III. 考 察

CEMT は CFIX や cefteram などと同様に 7 位の acyl 側鎖に aminothiazol 基を有するオキシム型のセファロsporin 系抗生物質で、グラム陽性菌およびグ

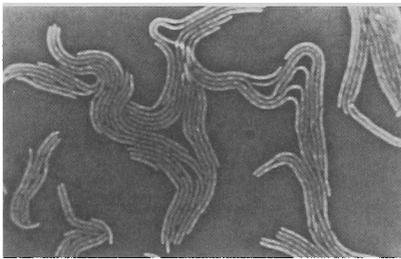
ラム陰性菌に対して幅広い抗菌スペクトルを有するが、*S. aureus* に対する抗菌力は悪い。一方、グラム陰性菌に対する抗菌力は CCL, CXM, AMPC より優れており、CPDX と同等の抗菌力を示した。一般的にグラム陽性菌に対する β -lactam 抗生物質の抗菌力は、1) β -lactamase に対する安定性、2) ペニシリン結合蛋白質 (PBPs) に対する親和性、により影響を受けることが知られている。CEMT は *S. aureus* の産生する β -lactamase には安定であることが報告されてお



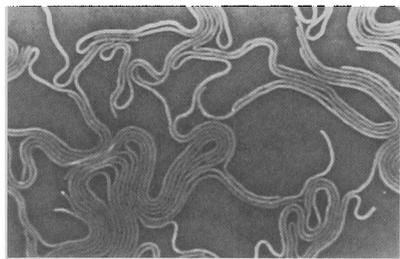
Control



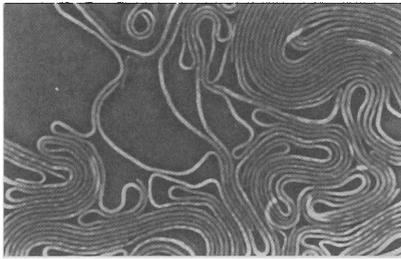
0.025 µg/ml



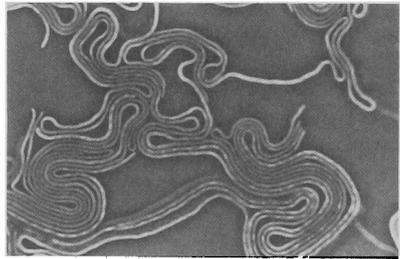
0.1 µg/ml



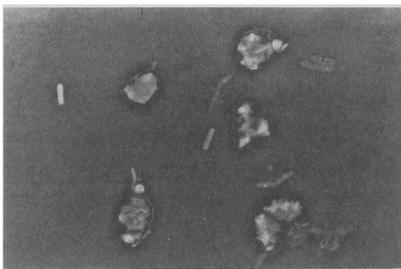
0.39 µg/ml



1.56 µg/ml



6.25 µg/ml



50 µg/ml

Fig. 2. Phase-contrast micrographs of *Serratia marcescens* IFO3736 exposed to cefetamet for 3h (MIC=3.13 µg/ml)

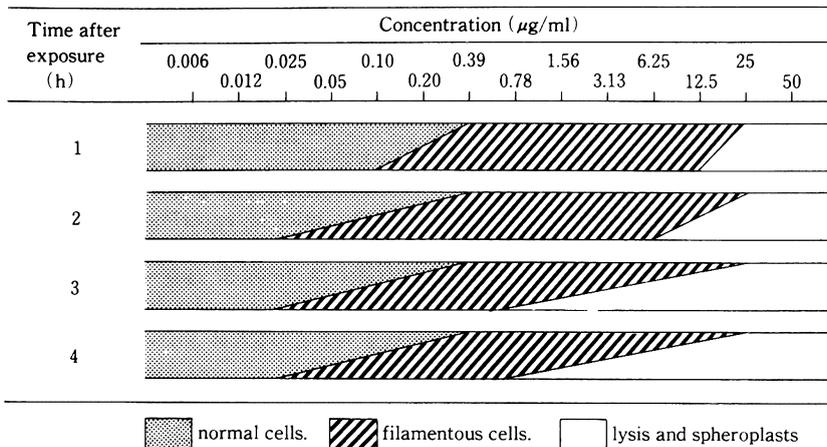


Fig. 3. Morphological response of *Serratia marcescens* IFO3736 to cefetamet

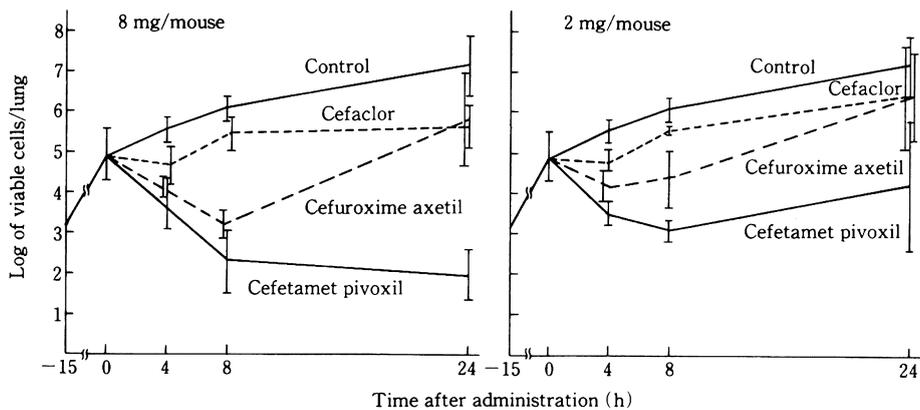


Fig. 4. Protective effect of cefetamet pivoxil, cefaclor and cefuroxime axetil in experimental respiratory tract infection with *Klebsiella pneumoniae* DT-S in mice

Table 8. Urinary recovery of cefetamet pivoxil and related cephalosporins

Drug	Urinary recovery %	(S.E.)
cefetamet pivoxil	58.85	(0.890)
cefaclor	44.58	(2.729)
cefuroxime axetil	41.39	(1.570)
cefixime	25.26	(1.893)
cefpodoxime proxetil	47.58	(0.676)

n=10

Animal; mouse strain Std-ddY, male

Body weight; 20~25g

Administration 20 mg/kg p.o.

り²⁾, *S. aureus* に対して CEMT が良好な抗菌力を示さないのは PBP_s に対する親和性が低いことによるものと思われる。しかしグラム陰性菌には良好な抗菌

力を示すことから、同じ PBP_s でもグラム陰性菌や *S. pyogenes* などの PBP_s には強い親和性を示すものと推測される。またグラム陰性菌の場合、先に述べた2つの因子以外に外膜の透過性の良否が β -lactam 抗生物質の抗菌力に影響をおよぼすことが知られている。CEMT は *P. aeruginosa* 以外のグラム陰性菌には優れた抗菌力を示すことから、外膜の透過性も良好であると考えられる。

マウス実験的腹腔内感染症や呼吸器感染症に対する CEMT-PI の治療効果は *in vitro* 抗菌力に比例して *S. aureus* に対しては良好でなかったが、*S. pyogenes* や *E. coli* そして *K. pneumoniae* に対しては *in vitro* 抗菌力に比例した優れた効果が得られた。マウスでの尿中回収率が比較検討した薬剤中 CEMT-PI が最も高かったことから、CEMT-PI は経口投与後速やかに

吸収され、活性型の CEMT となり、このことが治療効果に反映されたものと思われる。

文 献

- 1) PEETERS M, PIOT P: *In-vitro* activity of Ro 15-8074, a new oral cephalosporin. J Antimicrob Chemother 16 : 469~473, 1985
- 2) NEU H C, CHIN N X, LABTHAVIKUL P: *In vitro* activity and β -lactamase stability of two oral cephalosporins, ceftetrame (Ro 19-5247) and cefetamet (Ro 15-8074). Antimicrob Agents Chemother 30 : 423-428, 1986
- 3) 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
- 4) BLISS C I: The method of probit. Science 79 : 38~39, 409~410, 1934
- 5) OBANA Y, NISHINO T, TANINO T: Therapeutic efficacy of β -lactam and aminoglycoside antibiotics on experimental pneumonia caused by *K. pneumoniae* B-54 in diabetic mice. J Antibiot 37 : 941~947, 1985

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CEFETAMET PIVOXIL, A NEW ORAL CEPHEM ANTIBIOTIC

TAKESHI NISHINO, KAZUO HATANO, EIJI IWAO, MASAKO OTSUKI
Department of Microbiology, Kyoto Pharmaceutical University
5 Nakauchi-cho, Misasagi, Yamashina, Kyoto-shi 607, Japan

We tested the *in vitro* antibacterial activity of cefetamet (CEMT), the parent compound of cefetamet pivoxil (CEMT-PI), and the *in vivo* therapeutic efficacy of CEMT-PI, a new orally active prodrug of CEMT, against experimental mouse infections and compared the results with those for amoxicillin (AMPC), cefaclor (CCL), cefuroxime (CXM), cefixime (CFIX) and cefpodoxime (CPDX). CEMT had a broad antibacterial spectrum against Gram-positive and -negative bacteria and its antibacterial activity against Gram-positive bacteria was almost equal to that of CFIX. CEMT had poor *in vitro* activity against *Staphylococcus aureus*, but good *in vitro* activity against *Streptococcus* spp. The antibacterial activity of CEMT against Gram-negative bacteria was similar to those of CFIX and CPDX and superior to those of AMPC, CCL and CXM. None of the antibiotics tested was active against *Pseudomonas aeruginosa*. We got similar results in the sensitivity distribution of antibiotics to clinical isolates. CEMT showed dose-related bactericidal activity against all the bacteria tested. In a morphological investigation with *Serratia marcescens* by phase-contrast microscope, CEMT induced the formation of filamentous cells at a concentration of 0.025 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and spheroplast-like structures and lysis at a concentration above 0.78 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Against intraperitoneal infections with *Streptococcus pyogenes* in mice, the therapeutic efficacy of CEMT-PI was superior to that of CFIX and inferior to that of cefpodoxime proxetil (CPDX-PR), a prodrug of CPDX. On the other hand, the therapeutic efficacy of CEMT-PI against two strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* was almost equal to that of CFIX, inferior to that of CPDX-PR and superior to those of CCL and cefuroxime axetil (CXM-AX), a prodrug of CXM. In an experimental pulmonary infection with *K. pneumoniae* in mice, CEMT-PI showed superior efficacy to CCL and CXM-AX.