

新経口用セフェム剤 cefetamet pivoxil の活性体 cefetamet の *in vitro* 抗菌作用

関根 譲・須藤 ユリ・櫻井千寿子・有沢 幹雄

日本ロシュ研究所*

Cefetamet (CEMT) は *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, ブドウ糖非醗酵菌および *Peptococcus variabilis* を除くグラム陽性および陰性菌に対し強い抗菌活性を示した。対照薬剤との比較では *Staphylococcus* 属, グラム陽性嫌気性菌を除く全被検菌種に対し本剤は cefaclor (CCL), cephalixin (CEX) より, また cefixime (CFIX), ceftamandole (CFTM) との比較では, 本剤は *Streptococcus pyogenes* に対し CFIX より優れた強い抗菌活性を有していた。*Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Haemophilus influenzae* に対して本剤は CFIX と同等ないしやや弱く, *Branhamella catarrhalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* 属, *Serratia marcescens*, *Proteus* 属に対しては CFTM と同等, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* に対しては CFIX, CFTM と同等といずれも強い抗菌活性を有していた。*Morganella morganii* に対する本剤の抗菌力は CFIX, CFTM より劣り, *Pseudomonas cepacia* では CFIX と共に中等度, 嫌気性菌では CFIX と同程度の抗菌活性を示した。CEMT の抗菌活性は CFIX 同様一部の試験菌株で培地 pH, 接種菌量の影響を若干受けたが, 培地の種類, 馬血清添加による影響はほとんどみられなかった。*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Providencia rettgeri* を用いて菌の形態におよぼす CEMT の影響を調べた結果, 低濃度ではフィラメント細胞が, 高濃度ではスフェロプラストおよび溶菌が優位に認められた。CEMT の殺菌力を MBC/MIC 比で検討した結果, グラム陽性および陰性菌に対し本剤は強い殺菌力を示した。この殺菌力は血清補体を添加した場合増強され, 本剤 1/2 MIC で, 補体存在下で強い殺菌作用が認められた。

Key words : Cefetamet, CEMT, *in vitro* 抗菌作用, MIC, 殺菌作用

Cefetamet pivoxil (CEMT-PI) は経口用セファロスポリン剤であり, 経口投与後腸管から吸収される際に腸管壁エステルラーゼにより脱エステル化され, 生体内では cefetamet (CEMT) として抗菌活性を発揮し作用する。活性体 CEMT は一部菌種を除くグラム陽性菌およびブドウ糖非醗酵菌以外のグラム陰性菌に対し広範囲な優れた抗菌活性を示す¹⁻³⁾。

本報は活性体 CEMT の *in vitro* 抗菌作用を cefixime (CFIX), ceftamandole (CFTM), cefaclor (CCL), cephalixin (CEX), ampicillin (ABPC) と比較した成績である。

I. 実験材料と方法

1. 使用菌株

当研究室保存の標準菌株および 622 株の臨床材料由来の各種グラム陽性菌ならびにグラム陰性菌を用いた。

2. 使用薬剤

CEMT および CFTM はロシュ社で合成した標準

品を用いた。CFIX は藤沢薬品工業, CCL は塩野義製薬, CEX および ABPC は明治製薬のものをそれぞれ用いた。

3. 感受性測定法

前培養には感受性測定用パイオン (STB: ニッスイ) を, 感受性測定には感受性測定用寒天培地 (STA: ニッスイ) を用いて, 日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法⁴⁾ に準じて行った。*Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Haemophilus influenzae* に対しては 5% 馬脱繊維血 (Nippon Bio-Test Laboratory: NBL) を添加した STA のチョコレート寒天培地を用いた。嫌気性菌に対しては前培養に GAM パイオン (ニッスイ) を, 感受性測定には GAM 寒天培地 (ニッスイ) を用いた。

4. 抗菌活性に対する諸因子の影響

被検菌として *Escherichia coli* NIHJ JC-2, *Serratia marcescens* IFO 12648, *Citrobacter freundii*

*〒247 鎌倉市梶原 200

IFO 12681, *Proteus vulgaris* ATCC 6380, *Providencia rettgeri* ATCC 14505, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27736, *Proteus mirabilis* IFO 3849 を用いて感受性測定用寒天培地 (STA: ニッスイ), Heart infusion agar (HIA: Eiken), Brain heart infusion agar (BHIA: Eiken), Trypto-soy agar (TSA: Eiken), Nutrient agar (NA: Eiken) の各種培地, 培地 pH (STA: pH 5.5, 6.5, 7.5, 8.5), 接種菌量 (10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 cells/ml), そして馬血清 (NBL) の添加 (0, 10, 25, 50%) の影響を寒天平板希釈法により検討した。

5. 最小殺菌濃度 (MBC) の測定

被検菌 (標準株および臨床分離株) の *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *P. mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *S. pyogenes* 各々 5 株ならびに *S. pneumoniae* 4 株を STB および BHI-broth に接種し一夜培養後, これを最終濃度 10^8 cells/ml となるように新たに薬剤の 2 倍希釈系列を含む液体培地に接種し, 37°C , 18 時間培養後肉眼的に発育の認められなかった濃度を MIC とした。さらにこの broth サンプルより $10 \mu\text{l}$ を取り STA に接種し, 37°C , 18 時間培養後, 寒天平板上にコロニーの生育がまったく認められなかった薬剤濃度をもって MBC とした。

6. 形態変化の観察

10^7 cells/ml の被検菌 *E. coli* NIHJ JC-2, *K. pneumoniae* ATCC 27736, *Providencia rettgeri* ATCC 14505 をそれぞれ各薬剤 (CEMT, CFIX, CFTM, CCL, CEX) の 2 倍希釈系列を含む寒天平板培地 (STA) 上に 1 滴接種し, 37°C で 3 時間培養後, 寒天平板を直接, 位相差顕微鏡下にて形態の観察を行った。

7. 血清補体との協力的殺菌作用の検討⁵⁾

被検菌 *E. coli* NIHJ JC-2 を 10^6 cells/ml となるように調製した菌液を 5 ml ずつ試験管に分注し, この菌液のみのサンプルを対照とし, これに 1/2 MIC の薬剤 (CEMT, CFIX, CCL) を加えたサンプル, また, 菌液に健常人の 20% 非働化血清および菌の増殖に影響を与えない最高量の全補体 (50% hemolytic unit of complement; CH_{50} ; 0.9 units/ml)⁶⁾ を加えたサンプルおよびこれに 1/2 MIC の薬剤を加えたサンプルを調製した。これらを 37°C で振盪培養し, 0, 1, 3, 5 および 24 時間目でサンプルの一部を採取し, 寒天平板法により生菌数を測定した。

II. 実験結果

1. 抗菌スペクトラム

研究室保存のグラム陽性菌, ブドウ糖非醗酵菌を含むグラム陰性菌および嫌気性菌の計 69 株に対する

Table 1. Antibacterial spectrum of cefetamet against Gram-positive bacteria

Microorganism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	cefetamet	cefixime	cefaclor	cephalexin	ampicillin
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	25	12.5	1.56	1.56	0.1
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P JC-1	50	25	1.56	1.56	0.05
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	25	6.25	1.56	3.13	0.1
<i>Staphylococcus aureus</i> 1V61	>100	>100	100	100	>100
<i>Staphylococcus aureus</i> 1R503	25	12.5	12.5	6.25	25
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC10389	0.78	0.39	50	12.5	6.25
<i>Streptococcus pyogenes</i> 15	0.05	0.1	0.39	0.78	0.025
<i>Streptococcus pyogenes</i> 16	0.05	0.1	0.2	0.78	0.025
<i>Streptococcus pyogenes</i> 17	0.05	0.1	0.2	0.78	0.025
<i>Streptococcus pneumoniae</i> 53	1.56	1.56	3.13	25	0.2
<i>Streptococcus pneumoniae</i> 54	3.13	1.56	3.13	25	0.2
<i>Streptococcus pneumoniae</i> 55	0.39	0.2	0.78	3.13	0.05
<i>Streptococcus pneumoniae</i> 56	0.39	0.2	0.78	3.13	0.025
<i>Streptococcus pneumoniae</i> 57	25	12.5	3.13	6.25	0.05
<i>Streptococcus agalactiae</i> 25	1.56	0.39	3.13	6.25	0.2
<i>Streptococcus agalactiae</i> 26	1.56	0.39	3.13	6.25	0.2
<i>Streptococcus agalactiae</i> 27	1.56	0.39	3.13	6.25	0.2
<i>Streptococcus agalactiae</i> 28	1.56	0.39	3.13	6.25	0.2
<i>Streptococcus agalactiae</i> 29	1.56	0.39	3.13	12.5	0.2
<i>Enterococcus faecalis</i> IFO3826	>100	>100	50	100	0.78
<i>Micrococcus luteus</i> BP1202	25	3.13	0.39	0.78	0.2
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	50	25	0.2	0.78	0.025

Agar dilution method

Inoculum size: 10^6 cells/ml

Table 2. Antibacterial spectrum of cefetamet against Gram-negative bacteria

Microorganism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	cefetamet	cefixime	cefaclor	cephalexin	ampicillin
<i>Haemophilus influenzae</i> 153	0.2	0.05	3.13	25	>100
<i>Haemophilus influenzae</i> 154	0.2	0.05	6.25	50	100
<i>Haemophilus influenzae</i> 155	0.2	0.05	12.5	50	12.5
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	1.56	0.39	3.13	12.5	12.5
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	0.78	0.39	50	12.5	6.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC27736	0.2	0.05	1.56	6.25	1.56
<i>Citrobacter freundii</i> IFO12681	3.13	1.56	>100	>100	50
<i>Shigella flexneri</i> 2a CPA4807-6	0.2	0.1	3.13	6.25	1.56
<i>Shigella flexneri</i> Y NCTC 9730	0.78	0.78	3.13	12.5	1.56
<i>Shigella sonnei</i> I SH 72-415	0.39	0.2	1.56	12.5	6.25
<i>Salmonella paratyphi</i> A 144-12-93	3.13	0.39	3.13	12.5	6.25
<i>Salmonella paratyphi</i> B 333-76	0.78	0.1	1.56	6.25	3.13
<i>Salmonella paratyphi</i> C	0.1	≤ 0.006	0.1	0.78	0.05
<i>Salmonella newport</i> 563	0.2	0.05	1.56	6.25	1.56
<i>Salmonella typhi</i> 1099-77	0.78	0.05	0.78	6.25	0.78
<i>Salmonella schottmulleri</i> ATCC8759	0.2	0.05	1.56	6.25	1.56
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC13311	>100	>100	25	100	0.78
<i>Proteus mirabilis</i> IFO3849	0.1	≤ 0.006	6.25	25	3.13
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC6380	0.1	≤ 0.006	>100	100	>100
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC6898	0.025	≤ 0.006	100	50	50
<i>Providencia rettgeri</i> ATCC14505	0.012	0.025	>100	>100	>100
<i>Serratia marcescens</i> IFO12648	3.13	0.78	>100	>100	50
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC13047	100	100	>100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC9721	>100	12.5	>100	>100	>100
<i>Pseudomonas fluorescens</i> ATCC13525	>100	>100	50	>100	3.13
<i>Pseudomonas cepacia</i> ATCC25416	>100	>100	50	>100	1.56
<i>Xanthomonas maltophilia</i> ATCC13673	>100	>100	50	>100	0.78
<i>Pseudomonas putida</i> ATCC12633	>100	100	>100	>100	>100
<i>Alcaligenes faecalis</i> IFO13111	>100	25	3.13	100	50

Agar dilution method Inoculum size : 10^6 cells/ml

Table 3. Antibacterial spectrum of cefetamet against anaerobes

Microorganism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	cefetamet	cefixime	cefaclor	cephalexin	ampicillin
<i>Bacteroides fragilis</i> 1X95	50	50	>100	>100	25
<i>Bacteroides fragilis</i> 1Z273	12.5	6.25	>100	25	1.56
<i>Bacteroides fragilis</i> 1U640	25	25	>100	50	12.5
<i>Bacteroides vulgatus</i> 1Z301	>100	25	>100	50	25
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> 1Z294	25	25	>100	25	25
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> 1Z295	>100	6.25	100	>100	12.5
<i>Fusobacterium mortiferum</i> 1Z318	0.025	0.39	25	50	3.13
<i>Clostridium perfringens</i> 1Z313	3.13	3.13	0.39	0.39	≤ 0.006
<i>Clostridium perfringens</i> 1Z314	100	>100	6.25	12.5	0.2
<i>Clostridium perfringens</i> 1Z315	6.25	6.25	1.56	0.78	0.012
<i>Eubacterium lentum</i> 1Z316	>100	>100	100	12.5	3.13
<i>Peptostreptococcus micros</i> 1Z352	0.1	0.39	1.56	3.13	0.05
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> 1Z330	0.78	0.78	0.78	0.2	0.012
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> 1Z331	0.78	0.39	0.78	0.1	≤ 0.006
<i>Peptococcus aerogenes</i> 1Z328	3.13	6.25	0.78	0.2	0.05
<i>Peptococcus aerogenes</i> 1Z329	>100	100	0.78	0.2	0.1
<i>Peptococcus variabilis</i> 1Z338	100	100	12.5	12.5	0.2
<i>Peptococcus variabilis</i> 1Z339	100	100	12.5	12.5	0.2

Agar dilution method Inoculum size : 10^6 cells/ml

CEMTの抗菌スペクトラムをCFIX, CCL, CEX, ABPCを対照薬剤として比較した結果をTable 1~3に示した。

CEMTは、グラム陽性菌に対しABPCよりは弱いものの*Streptococcus*属のほとんどの株に対して、CFIX同様MICが1.56 µg/ml以下と強い抗菌活性を示し、CCL, CEXのそれよりも優れていた。*S. aureus*, *E. faecalis*に対しては本剤およびCFIXの抗菌活性は弱いものであった。

一方、グラム陰性菌では、本剤は*H. influenzae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Shigella*属, *Salmonella*属, *Proteus*属, *P. rettgeri*のほとんどの株に対し1 µg/mlより低いMICを示し、CFIX同様にCCL, CEX, ABPCよりも優れた強い抗菌活性を有していた。*C. freundii*, *S. marcescens*に対しては本剤のMICは3, 13 µg/mlと中等度の抗菌活性を示しており、CCL, CEX, ABPCは無効であった。*Pseudomonas*属, *Xanthomonas maltophilia*, *Alcaligenes faecalis*などのブドウ糖非醗酵菌に対しては5剤全てその抗菌活性は非常に弱いものであった。

嫌気性菌に対する本剤の抗菌活性はCFIXと同程

度であり、両剤共*Fusobacterium mortiferum*および*Peptostreptococcus*属にはMICが1 µg/mlより強く強い抗菌活性を示した。*Bacteroides*属, *Clostridium perfringens*, *Peptococcus*属に対する本剤の抗菌活性はCFIX同様弱かった。

2. 臨床分離株に対する抗菌活性

臨床材料より分離されたグラム陽性菌, グラム陰性菌および嫌気性菌に対するCEMTの抗菌活性をCFIX, CFTM, CCL, CEXの4剤と比較検討し, その結果をMIC-range, MIC₅₀およびMIC₉₀(被検菌の50%および90%の株の発育を阻止する濃度)で表わしTable 4~6に示した。

CEMTの*S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*に対する抗菌活性はMIC₅₀が50 µg/mlと他の4剤に比べ弱かったが, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae*に対しては, 本剤はMIC₉₀が0.78 µg/ml以下を示しCFIX, CFTMと同様, CCL, CEXより優れた非常に強い抗菌活性を有していた。

Branhamella catarrhalis, *H. influenzae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. mirabilis*に対しては本剤はCFIX, CFTMと同様MIC₉₀が1.56 µg/ml以下

Table 4. Antibacterial activity of cefetamet against clinical isolates (Gram-positive bacteria)

Microorganism (No. of strains)	Drug	MIC range (µg/ml)	MIC ₅₀ (µg/ml)	MIC ₉₀ (µg/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i> (36)	cefetamet	25 - >100	50	>100
	cefixime	6.25 - >100	12.5	>100
	cefteram	1.56 - >100	3.13	50
	cefaclor	0.78 - >100	1.56	50
	cephalexin	1.56 - >100	6.25	50
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (22)	cefetamet	1.56 - >100	25	>100
	cefixime	0.78 - >100	12.5	50
	cefteram	0.2 - >100	3.13	3.13
	cefaclor	0.1 - 100	1.56	12.5
	cephalexin	0.78 - >100	3.13	50
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (40)	cefetamet	0.025 - 0.78	0.2	0.39
	cefixime	0.025 - 0.78	0.1	0.39
	cefteram	≤0.006 - 0.05	≤0.006	0.05
	cefaclor	0.1 - 1.56	0.39	0.78
	cephalexin	0.39 - 12.5	1.56	3.13
<i>Streptococcus pyogenes</i> (32)	cefetamet	≤0.006 - 0.05	0.025	0.025
	cefixime	0.025 - 0.78	0.025	0.78
	cefteram	≤0.006 - 0.012	≤0.006	≤0.006
	cefaclor	0.025 - 0.2	0.1	0.1
	cephalexin	0.1 - 3.13	0.39	0.39
<i>Streptococcus agalactiae</i> (42)	cefetamet	0.2 - 1.56	0.78	0.78
	cefixime	0.1 - 0.39	0.2	0.39
	cefteram	0.012 - 0.025	0.025	0.025
	cefaclor	0.2 - 0.39	0.78	0.78
	cephalexin	0.78 - 3.13	1.56	3.13

Agar dilution method

Inoculum size : 10⁶ cells/ml

Table 5. Antibacterial activity of cefetamet against clinical isolates (Gram-negative bacteria)

Microorganism (No. of strains)	Drug	MIC Range ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/ml}$)
<i>Branhamella catarrhalis</i> (18)	cefetamet	0.39 - 1.56	0.39	1.56
	cefixime	0.012 - 0.2	0.1	0.2
	cefteram	0.025 - 1.56	0.2	0.78
	cefaclor	0.2 12.5	0.78	6.25
	cephalexin	3.13 - 50	3.13	12.5
<i>Haemophilus influenzae</i> (38)	cefetamet	0.025 - 1.56	0.1	0.78
	cefixime	≤ 0.006 - 0.78	0.025	0.2
	cefteram	≤ 0.006 - 0.1	0.012	0.05
	cefaclor	0.39 12.5	1.56	3.13
	cephalexin	1.56 - 100	12.5	25
<i>Escherichia coli</i> (54)	cefetamet	0.39 - 1.56	0.78	1.56
	cefixime	0.025 - 0.78	0.1	0.78
	cefteram	0.2 0.78	0.39	0.78
	cefaclor	0.78 12.5	3.13	12.5
	cephalexin	6.25 - 25	6.25	25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (27)	cefetamet	0.05 - 0.39	0.2	0.2
	cefixime	≤ 0.006 - 0.2	0.025	0.05
	cefteram	0.05 0.39	0.2	0.2
	cefaclor	0.39 1.56	0.78	0.78
	cephalexin	3.13 - 6.25	3.13	6.25
<i>Klebsiella oxytoca</i> (27)	cefetamet	0.05 - 0.39	0.1	0.2
	cefixime	≤ 0.006 - 0.1	0.012	0.05
	cefteram	0.05 3.13	0.1	0.2
	cefaclor	0.39 100	0.78	1.56
	cephalexin	3.13 - 50	3.13	6.25
<i>Enterobacter cloacae</i> (27)	cefetamet	0.39 - 12.5	1.56	6.25
	cefixime	0.2 12.5	1.56	3.13
	cefteram	0.1 6.25	0.78	1.56
	cefaclor	3.13 - >100	>100	>100
	cephalexin	3.13 - >100	>100	>100
<i>Citrobacter freundii</i> (24)	cefetamet	0.78 - >100	3.13	>100
	cefixime	0.39 - >100	1.56	>100
	cefteram	0.39 - >100	0.78	>100
	cefaclor	3.13 - >100	25	>100
	cephalexin	25 - >100	50	>100
<i>Serratia marcescens</i> (27)	cefetamet	0.78 - >100	6.25	>100
	cefixime	0.2 100	0.78	50
	cefteram	1.56 - >100	3.13	>100
	cefaclor	>100 - >100	>100	>100
	cephalexin	>100 - >100	>100	>100
<i>Proteus mirabilis</i> (27)	cefetamet	0.05 - 0.2	0.05	0.1
	cefixime	≤ 0.006 - 0.012	≤ 0.006	0.012
	cefteram	0.025 - 0.2	0.05	0.1
	cefaclor	1.56 - >100	1.56	6.25
	cephalexin	6.25 - >100	12.5	100
<i>Morganella morganii</i> (23)	cefetamet	1.56 - >100	12.5	>100
	cefixime	0.2 25	1.56	6.25
	cefteram	0.1 12.5	0.39	6.25
	cefaclor	50 - >100	>100	>100
	cephalexin	>100 - >100	>100	>100
<i>Proteus vulgaris</i> (27)	cefetamet	0.1 - 12.5	0.2	12.5
	cefixime	≤ 0.006 - 3.13	0.012	3.13
	cefteram	0.05 3.13	0.1	1.56
	cefaclor	12.5 - >100	>100	>100
	cephalexin	50 - >100	>100	>100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (26)	cefetamet	0.1 - 100	25	100
	cefixime	0.78 50	12.5	25
	cefteram	0.78 100	50	100
	cefaclor	6.25 100	50	100
	cephalexin	25 - >100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (27)	cefetamet	>100 - >100	>100	>100
	cefixime	6.25 - >100	>100	>100
	cefteram	25 - >100	>100	>100
	cefaclor	>100 - >100	>100	>100
	cephalexin	>100 - >100	>100	>100
<i>Pseudomonas cepacia</i> (26)	cefetamet	0.39 - 6.25	3.13	6.25
	cefixime	0.2 - 6.25	1.56	6.25
	cefteram	3.13 50	12.5	50
	cefaclor	12.5 - >100	>100	>100
	cephalexin	25 - >100	>100	>100

Agar dilution method Inoculum size: 10^6 cells/ml

Table 6. Antibacterial activity of cefetamet against clinical isolates (anaerobes)

Microorganism (No. of strains)	Drug	MIC Range ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/ml}$)
<i>Peptococcus</i> spp. (12)	cefetamet	1.56 - >100	100	>100
	cefixime	3.13 - >100	50	100
	cefteram	0.1 100	1.56	12.5
	cefaclor	0.2 - >100	6.25	12.5
	cephalexin	0.05 - >100	6.25	50
<i>Peptostreptococcus</i> spp. (13)	cefetamet	0.2 100	12.5	50
	cefixime	0.2 100	3.13	6.25
	cefteram	0.025 - 6.25	0.39	0.78
	cefaclor	0.2 100	0.78	3.13
	cephalexin	0.1 100	3.13	6.25
<i>Bacteroides fragilis</i> (27)	cefetamet	3.13 50	25	50
	cefixime	0.39 25	12.5	25
	cefteram	1.56 25	12.5	25
	cefaclor	6.25 - >100	>100	>100
	cephalexin	25 100	25	100

Agar dilution method

Inoculum size: 10^6 cells/ml

下と非常に強く、CCL, CEX より優れた抗菌活性を示した。*E. cloacae* に対しては CCL, CEX は MIC₅₀ が 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上と無効であったが、本剤および CFIX, CFTM は MIC₉₀ で各々 6.25, 3.13, 1.56 $\mu\text{g/ml}$ と中等度の抗菌活性を有していた。*C. freundii*, *S. marcescens* に対しては、本剤および CFIX, CFTM は MIC₅₀ が 0.78~6.25 $\mu\text{g/ml}$ と中等度の抗菌活性を示したが、MIC₉₀ は 50~>100 $\mu\text{g/ml}$ であり耐性株も認められた。一方 CCL, CEX はこの 2 菌種に対し MIC₅₀ が 25~>100 $\mu\text{g/ml}$ と無効であった。また、やはり CCL, CEX に MIC₅₀ が 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上と耐性である *P. vulgaris* に対し本剤および CFIX, CFTM は共に *P. mirabilis* に対する抗菌活性よりは弱いものの MIC₅₀ が 0.012~0.2 $\mu\text{g/ml}$, MIC₉₀ が 1.56~12.5 $\mu\text{g/ml}$ と強い抗菌活性を示した。しかし、*M. morgani* に対して本剤は MIC₅₀ および MIC₉₀ が各々 12.5, >100 $\mu\text{g/ml}$ と CFIX, CFTM と比べて弱い抗菌活性であった。*Acinetobacter calcoaceticus* には本剤を含めた 5 剤共に MIC₅₀ が 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上であり弱い抗菌活性であった。*P. aeruginosa* に対しては全ての薬剤が無効であったが、同じブドウ糖非酸酵菌である *Pseudomonas cepacia* に対しては、本剤および CFIX は MIC₉₀ が 6.25 $\mu\text{g/ml}$ と中等度で CFTM よりも優れた抗菌活性を有していた。CCL, CEX は無効であった。

嫌気性菌については、本剤は *Peptococcus* 属に対し CFIX 同様抗菌活性は弱く、CFTM, CCL, CEX の方が優れていた。*Peptostreptococcus* 属に対しては、本剤は MIC₅₀ が 12.5 $\mu\text{g/ml}$, MIC₉₀ が 50 $\mu\text{g/ml}$ と中等度の活性を有していたが他の 4 剤よりは弱いものであ

た。*Bacteroides fragilis* に対する本剤および CFIX, CFTM の抗菌活性は CCL, CEX よりは強いものの、MIC₅₀ は各々 25, 12.5, 12.5 $\mu\text{g/ml}$, MIC₉₀ は 50, 25, 25 $\mu\text{g/ml}$ といずれも中等度の抗菌活性であった。

3. 抗菌活性におよぼす諸因子の影響

グラム陰性の標準菌株 8 菌種を用いて培地の種類、培地の pH, 接種菌量および馬血清の添加による CEMT の抗菌活性におよぼす影響について CFIX, CCL, CEX, ABPC の 4 剤を対照薬剤として検討したが、本剤は CFIX と同様一部の試験菌株で培地 PH, 接種菌量の影響を若干受けた以外はこれら諸因子の影響はほとんど認められなかった。

4. MIC と MBC の比較

グラム陽性菌 3 菌種 17 株およびグラム陰性菌 4 菌種 23 株に対する CEMT の MIC および MBC を CFIX, CCL, CEX, ABPC を対照薬剤として比較した。その結果、*K. pneumoniae*, *P. mirabilis* において、本剤および対照薬剤共に MBC/MIC 比が 4 以上の株が認められたものの *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *K. oxytoca* のほとんどの株に対し本剤はその MBC/MIC 比が 1~2 であり強い殺菌力を有していた。

5. 形態変化の観察

E. coli NIHJ JC-2, *K. pneumoniae* ATCC 27736, *P. rettgeri* ATCC 14505 を被検菌として、各種濃度の CEMT 及び CFIX, CFTM, CCL, CEX の 5 剤と 3 時間反応後、各々の形態変化を観察した結果を Fig. 1 に示した。

本剤は対照薬剤同様、MIC 以下の濃度 (1/2~1/8

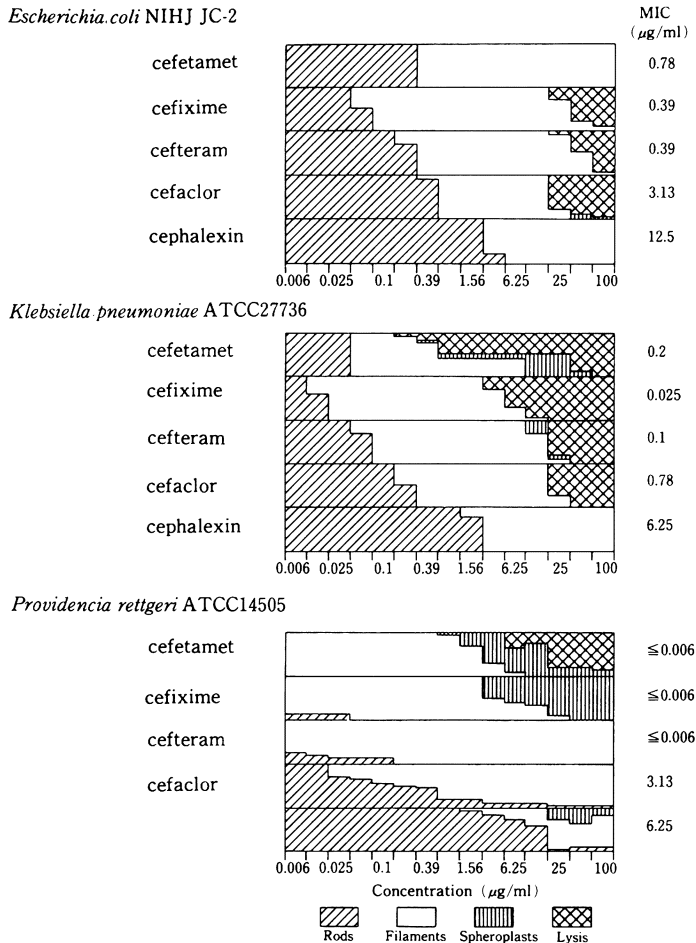


Fig. 1. Effect of cefetamet on morphology (37°C, 3h)

MIC) から広い濃度範囲にわたりフィラメント化を起こしていた。フィラメント化の始まる各薬剤の濃度は各々の抗菌活性の強さを反映していた。*K. pneumoniae*, *P. rettgeri* では、本剤の各々 0.2, 0.78 µg/ml の低濃度で溶菌あるいはスフェロプラスト化が始まり、さらに高濃度では溶菌が優位にみられた。この2菌種に対する溶菌能は他剤と比べ強いものであった。

6. 血清補体との協力的殺菌作用

E. coli NIHJ JC-2 株を被検菌として CH_{50} : 0.9 units/ml (本菌の増殖に影響をおよぼさない最高量) の血清補体および健康人の20%非働化血清存在下で、1/2 MIC の CEMT を作用させると生菌数は3時間後では本剤単独の場合の約3%, 5時間後で1%以下であり、さらに24時間後でも再増殖は認められなかった。CFIX も同様の結果であったが、CCL は補体存在

下でも増殖曲線は CCL 単独の場合と変わりがなく、補体との協力的作用は認められなかった。(Fig. 2)

以上のように CEMT には血清補体存在下で強い殺菌作用が認められた。

III. 考 察

CEMT は7位に2-(2-アミノチアゾリル)-メトキシイミノアセタミド側鎖を有し、グラム陽性および陰性菌に対し幅広い抗菌スペクトラムを示す。なかでもグラム陽性菌では *Streptococcus* 属、グラム陰性菌では *H. influenzae*, 腸内細菌群に強い抗菌活性を有する。しかし、*Staphylococcus* 属やブドウ糖非醗酵菌に対する抗菌活性は弱い。

本剤を第1世代の経口セフェム剤 CCL や CEX と比較すると、グラム陰性菌に対するスペクトラムの拡張が細菌学的特徴として認められた。特に呼吸器感染症で重要な起炎菌であるにもかかわらず、CCL

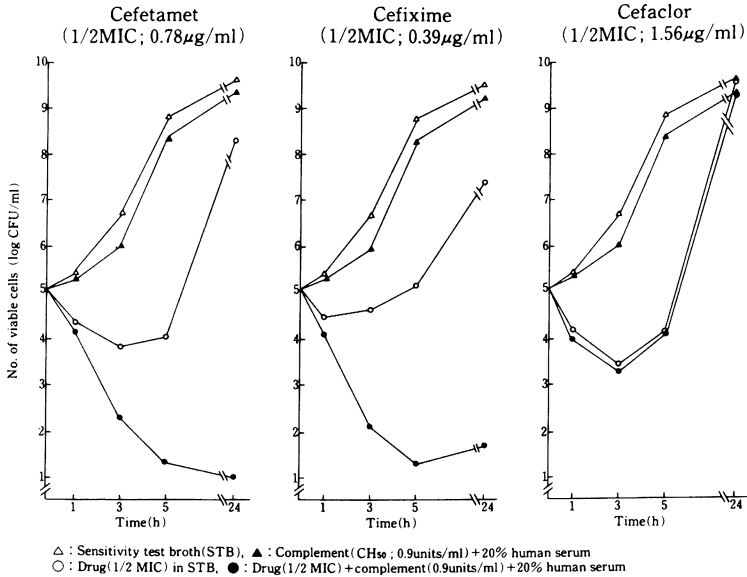


Fig. 2. Synergy of bactericidal effect between the serum complement and 1/2 MIC of cefetamet

や CEX に対し中等度以下の感受性しか示さない *H. influenzae* や *K. pneumoniae* に対し本剤は良好な抗菌活性を示す点は注目される。本剤の *Streptococcus* 属に対する強い抗菌活性も考慮すると、CEMT の呼吸器感染症領域での高い治療効果が期待される。

一方、*Staphylococcus* 属に対する抗菌活性が弱いという欠点は、本剤が皮膚感染症や耳鼻科領域の感染症では使用しにくい薬剤であることを示唆している。

本剤と同じ側鎖を 7 位に有する新経口セフェム剤 CFIX, CFTM とともに細菌学的に比較検討を行なったが、これら 3 剤間に大差は認められなかった。ただ、CEMT は MIC と MBC の比較による検討の結果各種菌種に対して対照薬剤と共に強い殺菌活性を示したが、その中で *K. pneumoniae*, *S. aureus* に対しては本剤の殺菌活性の方が CFIX のそれより優れていた。また、この本剤の強い殺菌力は MIC 以下の低い濃度でフィラメント化が始まり、それが溶菌へ進むという形態変化の観察結果およびその溶菌力の点で *K. pneumoniae* および *P. rettgeri* に対しては本剤の方が CFIX よりも優れていたということからも認められた。これは、CEMT が隔壁形成に重要な役割をはたしている PBP 3^{7,8)} に高い親和性を有しているという報告⁹⁾とも一致している。これらの差異が臨床効果にどの様に反映するかが興味深い。

文 献

1) WISE R, ANDREW JM, PIDDOCK LJV : *In vitro* activ-

ity of Ro 15-8074 and Ro 19-5247, two orally administered cephalosporin metabolites. *Antimicrob Agents Chemother* 29 : 1067~1072, 1986

- 2) NEU HC, CHIN N, LABTHAVIKUL P : *In vitro* activity and β -lactamase stability of two oral cephalosporins, cefetrame (Ro 19-5247) and cefetamet (Ro 15-8074). *Antimicrob Agents Chemother* 30 : 423~428, 1986
- 3) JONES RN, FUCHS PC, BARRY AL, AYERS LW, GERLACH EH, GAVAN TL : Antimicrobial activity of Ro 15-8074, active metabolite of a new oral cephalosporin (Ro 15-8075), against 7,775 recent clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 30 : 961~963, 1986
- 4) MIC 測定改訂委員会 : 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について, *Chemotherapy* 29 : 76~79, 1981
- 5) 横田 健, 吉田玲子, 鈴木映子, 清田 浩 : 新しい内服用セフェム, cefixime (CFIX) の試験管内抗菌力, 作用点 PBP に対する結合親和性及び血清補体と白血球との協力的食菌殺菌作用. *Chemotherapy* 33 (S-6) : 13~19, 1985
- 6) MAYER MM : Complement and complement fixation, *Experimental Immunochimistry* 2nd Ed p 133~240, C C Thomas Publisher, 1961
- 7) SPRATT BG : Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation and shape of *Escherichia coli* K-12. *Proc Natl Acad Sci U. S. A.* 72 : 2999~3003, 1975
- 8) SUZUKI H, NISHIMURA Y, HIROTA Y : On the process

of cellular division in *E. coli* altered in the penicillin binding proteins. Proc Natl Acad Sci U. S. A. 75 : 664~668, 1978

9) THEN RL : Interaction of two new cephalospor-

ins, CEMT and cefteteram, with β -lactamases and penicillin binding proteins. Proc 15 th Int Congr Chemother, 185~187, Istanbul/TURK, Jul. 19~24, 1987

IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CEFETAMET, ACTIVE FORM OF A NEW ORAL CEPHALOSPORIN, CEFETAMET PIVOXIL

YUZURU SEKINE, YURI SUDOH, CHIZUKO SAKURAI, MIKIO ARISAWA

Department of Chemotherapy and Biochemistry, Nippon Roche Research Center,

200 Kajiwara, Kamakura-shi, 247, Japan

We studied the *in vitro* antibacterial activity of cefetamet (CEMT), the active form of a new oral cephalosporin, cefetamet pivoxil (CEMT-PI), and compared it with those of cefixime (CFIX), cefteteram (CFTM), cefaclor (CCL), cephalexin (CEX) and ampicillin (ABPC). CEMT had a broad spectrum and showed potent activity against Gram-positive and-negative bacteria except staphylococci, *Enterococcus faecalis*, glucose non-fermentative bacteria and *Peptococcus variabilis*. In comparison with the reference drugs, the antibacterial activity of CEMT was stronger than those of CCL and CEX against all species tested except staphylococci and Gram-positive anaerobes. As compared with CFIX or CFTM, the activity of CEMT against most species tested was similar to that of CFIX or CFTM. Like CFIX, the antibacterial activity of CEMT against some strains tested was affected by the pH of the medium and the inoculum size, but not by the kind of medium and the addition of serum. The effect of CEMT on the morphology of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Providencia rettgeri* was studied by optical microscope. Filamentous cells were observed at lower concentrations, but at higher concentrations spheroplasts and lyzed cells were dominant in the population. The bactericidal activity of CEMT against Gram-positive and-negative bacteria was confirmed by comparing MICs and MBCs. The bactericidal activity was augmented by adding serum complement, showing synergy of bactericidal effect between 1/2 MIC of CEMT and complement.