

Cefclidinの試験管内抗菌力、PBPsへの結合親和性および血清補体又はマウス培養マクロファージとの協力作用

横田 健、鈴木映子、新井京子  
順天堂大学医学部 細菌学教室\*

Cefclidin(CFCL)の*Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Xanthomonas malophilia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Escherichia coli* CS2(R), *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*, *Bacteroides fragilis*, *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *S. aureus*(MRSA), coagulase-negative *staphylococci*(CNS), *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*および*Enterococcus faecium*の24~51臨床分離株に対するMIC<sub>50</sub>は、それぞれ0.78, 12.5, 1.56, 0.1, 0.2, 0.39, 0.39, 0.1, 0.78, 0.39, 1.56, 1.56, 0.39, >100, 50, 100, 50, 0.05, 0.39, >100および100μg/mlであった。CFCLは*E. coli*のPBPs 1Bsと3, *P. aeruginosa*のPBPs 1aと3に強い親和性を示した。CFCLと血清補体との協力的殺菌作用は中等度だが、マウス培養Mφは1/8MIC以上のCFCLの存在下で*E. coli*生細胞を良く食菌、消化した。

**Key words :** MIC, PBP, 補体, Mφ

Cefclidin(CFCL)はエーザイ株式会社で開発された新しいセフェム系抗生物質で、その特徴は緑膿菌に対する抗菌力が強い点にあるといふ。

本報告はCFCLの各種細菌臨床分離株に対する試験管内抗菌力、作用点ペニシリン結合蛋白質(PBPs)に対する結合親和性、各種β-lactamaseに対する安定性及び親和性、及び血清補体又はマウス培養マクロファージ(Mφ)との協力作用を検討し、本剤の臨床評価のための基礎的研究成績を集積するのを目的とした。

### I. 材料及び方法

#### 1. 使用薬剤

CFCLは純末をエーザイ株式会社から供与された。对照薬剤としてceftazidime(CAZ:日本グラクソ株式会社)及びcefoperazone(CPZ:ファイザー製薬株式会社)を使用した。

#### 2. 被検菌株

4年以内の臨床分離株で、順天堂大学附属病院中央検査室及び東京都老人研究所附属病院中央検査室から分与された21菌種21~51株を使用した。

#### 3. 試験管内抗菌力の測定

臨床分離株に対する試験管内抗菌力は、日本化学療法学会標準法<sup>1)</sup>による最小発育阻止濃度(MIC)として求めた。すなわち被検菌を5mlのL-broth<sup>2)</sup>で一夜振盪

培養し、グラム陽性菌は100倍に、グラム陰性菌は1,000倍に新鮮L-brothで希釈した。これを10<sup>6</sup>CFU/ml菌浮遊液として接種菌液とした。ただし *Haemophilus influenzae*にはHI broth(DIFCO)にFildes extractを5%添加した培地を用い、*Bacteroides fragilis*はGAM broth(ニッスイ)中で前培養した。又、*Streptococcus pyogenes*にはHI brothを使用し、*Streptococcus pneumoniae*の接種菌液は5%ヒツジ脱線維血液平板上に増殖した集落をかき取り、HI brothに懸濁し660nmの波長でOD 0.5になるように調製し、これをHI brothで100倍希釈して接種菌液とした。Mueller-Hinton agar(DIFCO)に倍々希釈濃度の薬剤を0.013~100μg/ml添加し、これに接種菌液をミクロプランター(サクマ製作所)を用いてスポット接種した。37°Cで一夜培養し、平板上の菌の増殖の有無からMICを求めた。ただし *S. pyogenes*及び*S. pneumoniae*には5%ヒツジ脱線維血液加HI agarを*H. influenzae*には5% Fildes extract加HI agarを使用し、*B. fragilis*は薬剤添加GAM agarを用いガスパック法(BBL)で嫌気培養した。

#### 4. 作用点ペニシリン結合蛋白(PBPs)に対する結合親和性の検討法

*Escherichia coli* NIHJ JC-2, *Providencia rettgeri*

21, *Serratia marcescens* 13, *Pseudomonas aeruginosa* PA01, *Acinetobacter calcoaceticus* 5 及び *H. influenzae* ATCC 9334を被検菌とした。

Spratt<sup>3)</sup>の方法に準じ非放射性CFCLまたはCAZと<sup>14</sup>C-penicillinG (<sup>14</sup>C-PCG: Amersham 500 $\mu$ Ci/ $\mu$ mole/ml)との競合結合実験から検討した。すなわち被検菌を10mlのL-broth中で一夜振盪培養し、その全量を200mlの坂口フラスコ中に接種し、37°Cで振盪培養を続け対数増殖期後期の菌細胞を冷却遠心で集めた。10mMのMgCl<sub>2</sub>加50mMリン酸緩衝液 (pH7.0) で一回洗い、同液8mlに浮遊した。Branson sonifierで10kc、効率20%で氷冷下音波破碎した。その3,000 $\times$ g 10分間遠心上清を、100,000 $\times$ g 30分間超遠心して膜画分を集めた。同緩衝液で一回洗浄後、少量の同液に再浮遊しLowry法でタンパク量10mg/mlになるように調製した。膜画分30 $\mu$ lに水または1.1~137.5 $\mu$ g/mlの非放射性CFCL又はCAZを加え、30°C 10分間反応させた。これに3 $\mu$ lの<sup>14</sup>C-PCG液を加えさらに30°C 10分間反応させた。反応液に3 $\mu$ lの20%w/vのsarkocylと60mg/mlのPCGとの等量混合液を加え反応を停止した。不溶画分を10,000 $\times$ g 30分遠心で除き、上清300 $\mu$ lと15 $\mu$ lのSDS緩衝液及び5 $\mu$ lの $\beta$ -mercaptoethanolを混合し、沸騰水中で2分間加熱した。その全量を10%ポリアクリルアミド平板gelに乗せ120Vで等電圧電気泳動を行った。タンパクを固定しgelを水洗いした後2,5-diphenyloxazoleを浸み込ませて乾燥し、Kodak X-Omat filmに密着し-80°Cで20日間感光させた。

#### 5. $\beta$ -lactamaseに対するCFCLの安定性の検討

各種 $\beta$ -lactamaseに対するCFCLの安定性はMacroiodo法<sup>4)</sup>により測定したVmaxの比較値で表した。

#### 6. $\beta$ -lactamaseに対する結合親和性の検討法

*Enterobacter cloacae* Nek39, *Proteus vulgaris* 33の菌細胞音波破碎液の超遠心上清をcephalosporinase (CEPase) I a型及びI c型の粗酵素液とした。又 *Proteus mirabilis* JY10, *E. coli* CS2/RK1, *Klebsiella pneumoniae* 42及び*E. coli* CS2/RE45の細胞音波破碎液の超遠心上清をPenicillinase (PCase) II b型, III型, IV b型及びV型の粗酵素液とした。CEPaseにはcefaloridine (CER)を、PCaseにはABPCを基質とし、それに対するCFCLまたはCAZのKi値をLineweaver-Burk plotによる計算式から求めた。

#### 7. CFCLと血清補体又はマウス培養Mφとの協力的殺菌作用の検討法

*E. coli* NIHJ JC-2を10mlのL-broth中で一夜37°C振盪培養した。これを新鮮L-brothで10,000倍に希釈し5mlずつ試験管中に分注した。1本を対照とし、2本目

にはCFCLの50%殺菌濃度 (ID<sub>50</sub>: 5時間後に生菌数が接種時の50%になる濃度) を加え、3本目にはこの菌の増殖に影響を与えないモルモット補体の最高量、0.5units/mlと20%ヒト非動化血清を添加し、4本目にはID50のCFCLと補体及びヒト血清を加えた。37°Cで振盪培養を続け、1,3,5及び24時間後にそれぞれの一部を取り出し適当に対数希釈して平板法で生残菌数を計算した。

MφはICR♂ 5週令マウスの腹腔を8mlの10% fetal calf serum加下12培地 (ニッスイ) で洗って採取し低速遠心して同培地5mlに再浮遊した。同液で一回洗浄後10<sup>6</sup>cells/mlの浮遊液を作り、その0.1mlをカバースリップを沈めたCorning cell wells (24穴) の各wellに接種し、同培地1mlを加え5%CO<sub>2</sub>存在下37°C一夜培養した。翌日浮遊液を除き20%L-CM<sup>5)</sup>を加え2時間CO<sub>2</sub>培養しMφを活性化した。各wellに一夜振盪培養した*E. coli* NIHJ JC-2をMφの50倍量接種した。一部のwellには1~1/16MICのCFCLを加えた。これを5時間CO<sub>2</sub>培養を行い、カバースリップを取り出しSaline Gで洗浄後methanol固定、Giemsa染色して光顕像を観察した。

## II. 成 績

### 1. CFCLの試験管内抗菌力

*Staphylococcus aureus* 49臨床分離株 (methicillin-resistant *S. aureus*: MRSAを含む) に対するCFCLのMIC<sub>50</sub>は25 $\mu$ g/mlで、CAZと同程度であった。MRSAだけ集めるとそのMIC<sub>50</sub>は100 $\mu$ g/mlでCAZやCPZより若干強かった。coagulase (-) *staphylococci* 42株に対するCFCLのMIC<sub>50</sub>は12.5 $\mu$ g/mlで、CAZと同程度CPZより弱かった。*S. pyogenes* 48株に対してはCFCLのMIC<sub>50</sub>は0.05 $\mu$ g/mlでCAZより強く、CPZと同程度であった。*S. pneumoniae* 24株に対するCFCLのMIC<sub>50</sub>は0.39 $\mu$ g/mlでCAZと同程度でCPZより弱かった。*Enterococcus faecalis* 39株に対しては、CFCLはCAZ同様に抗菌力を示さず、CPZのMIC<sub>50</sub>は50 $\mu$ g/mlであった。*E. faecium* 42株に対しては、CFCLを含めすべての薬剤は抗菌力を示さなかった (Table 1a)。

種々のR因子を含む*E. coli* CS2 51亜株に対してはCFCLのMIC<sub>50</sub>は0.1 $\mu$ g/mlでCAZよりわずかに強く、CPZよりはかなり抗菌力が強かった。*K. pneumoniae* 50株に対してもCFCLのMIC<sub>50</sub>は0.1 $\mu$ g/mlで、CAZの0.2 $\mu$ g/ml、CPZの0.39 $\mu$ g/mlより優れていた。*P. mirabilis* 50株にはCFCLのMIC<sub>50</sub>は0.2 $\mu$ g/mlで、CAZよりは弱かったがCPZよりはかなり強かった。*P. vulgaris* 50株に対してもCFCLのMIC<sub>50</sub>は0.2 $\mu$ g/mlで、CAZよりは劣るもののCPZより強かった。*P. rettgeri* 43株に

Table 1a. Antibacterial activities of cefclidin and others against clinical isolates of gram-positive bacteria

Strain (No.)	Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		Range	$\text{MIC}_{50}$	$\text{MIC}_{90}$
<i>S. aureus</i> (49)	Cefclidin	6.25~>100	25	100
	Ceftazidime	3.13~>100	25	>100
	Cefoperazone	0.78~>100	3.13	>100
MRSA (48)	Cefclidin	25~>100	100	>100
	Ceftazidime	25~>100	>100	>100
	Cefoperazone	6.25~>100	>100	>100
Coagulase(-) <i>staphylococci</i> (42)	Cefclidin	1.56~>100	12.5	>100
	Ceftazidime	3.13~>100	12.5	100
	Cefoperazone	0.2~>100	1.56	>100
<i>S. pyogenes</i> (48)	Cefclidin	0.025~1.56	0.05	0.1
	Ceftazidime	0.05~0.39	0.1	0.2
	Cefoperazone	0.05~0.78	0.05	0.1
<i>S. pneumoniae</i> (24)	Cefclidin	0.1~1.56	0.39	0.39
	Ceftazidime	0.2~1.56	0.39	0.39
	Cefoperazone	0.025~0.78	0.05	0.1
<i>E. faecalis</i> (39)	Cefclidin	12.5~>100	>100	>100
	Ceftazidime	3.13~>100	>100	>100
	Cefoperazone	6.25~100	50	100
<i>E. faecium</i> (42)	Cefclidin	>100	>100	>100
	Ceftazidime	>100	>100	>100
	Cefoperazone	100~>100	>100	>100
<i>E. coli</i> CS2(R <sup>+</sup> )(51)	Cefclidin	0.05~0.39	0.1	0.2
	Ceftazidime	0.05~0.39	0.2	0.39
	Cefoperazone	0.1~25	3.13	6.25
<i>K. pneumoniae</i> (50)	Cefclidin	0.05~0.78	0.1	0.2
	Ceftazidime	0.05~12.5	0.2	0.39
	Cefoperazone	≤0.013~100	0.39	12.5
<i>P. mirabilis</i> (50)	Cefclidin	0.1~0.39	0.2	0.39
	Ceftazidime	≤0.013~0.39	0.05	0.1
	Cefoperazone	0.025~50	0.78	3.13
<i>P. vulgaris</i> (50)	Cefclidin	0.1~1.56	0.2	0.39
	Ceftazidime	0.025~0.39	0.05	0.1
	Cefoperazone	≤0.013~25	0.78	3.13
<i>P. rettgeri</i> (43)	Cefclidin	≤0.013~1.56	0.1	1.56
	Ceftazidime	0.025~25	0.2	12.5
	Cefoperazone	0.1~>100	3.13	50
<i>M. morganii</i> (50)	Cefclidin	0.05~0.2	0.1	0.2
	Ceftazidime	0.05~12.5	0.1	3.13
	Cefoperazone	0.39~50	1.56	25
<i>S. marcescens</i> (49)	Cefclidin	0.1~>100	0.39	3.13
	Ceftazidime	0.1~>100	0.39	3.13
	Cefoperazone	0.39~>100	1.56	100
<i>E. cloacae</i> (50)	Cefclidin	0.05~>100	0.39	3.13
	Ceftazidime	0.05~>100	0.25	100
	Cefoperazone	0.025~>100	12.5	>100
<i>C. freundii</i> (50)	Cefclidin	0.025~25	0.1	0.78
	Ceftazidime	0.1~>100	0.39	25
	Cefoperazone	0.05~>100	0.78	100
<i>P. aeruginosa</i> (50)	Cefclidin	0.39~3.13	0.39	1.56
	Ceftazidime	0.2~6.25	1.56	3.13
	Cefoperazone	0.78~100	6.25	25
<i>P. cepacia</i> (40)	Cefclidin	1.56~12.5	6.25	12.5
	Ceftazidime	0.78~3.13	1.56	1.56
	Cefoperazone	6.25~50	25	25
<i>A. calcoaceticus</i> (40)	Cefclidin	0.2~12.5	0.78	6.25
	Ceftazidime	0.78~6.25	3.13	6.25
	Cefoperazone	3.13~>100	25	50
<i>X. maltophilia</i> (45)	Cefclidin	0.39~50	6.25	25
	Ceftazidime	0.39~>100	3.13	100
	Cefoperazone	1.56~>100	6.25	25
<i>H. influenzae</i> (ABPC <sup>T</sup> )(26)	Cefclidin	0.05~0.78	0.2	0.78
	Ceftazidime	0.05~0.78	0.2	0.78
	Cefoperazone	≤0.013~0.39	0.1	0.39
<i>B. fragilis</i> (40)	Cefclidin	12.5~>100	50	>100
	Ceftazidime	6.25~>100	25	>100
	Cefoperazone	3.13~>100	50	>100

MRSA : methicillin resistant *S. aureus*

Table 2. *Ki* values of cefclidin and others against various  $\beta$ -lactamases

Richmond classification	Source of enzyme	Specific activity(unit/mg)	Substrate		
			Km(μM)	<i>Ki</i> (μM)	
				Ceftazidime	Cefclidin
Ia	<i>E. cloacae</i> NEK 39	123.3	141	2.2	$8.0 \times 10^2$
Ic	<i>P. vulgaris</i> 33	48.1	167	$8.2 \times 10^3$	$3.8 \times 10^2$
IIb	<i>P. mirabilis</i> JY 10	323.8	53	$8.3 \times 10^2$	$5.2 \times 10^2$
III	<i>E. coli</i> CS 2/RK1	137.2	70	$2.1 \times 10^4$	$4.5 \times 10^2$
IVb	<i>K. pneumoniae</i> 42	15.0	53	$2.1 \times 10^4$	$1.9 \times 10^3$
V	<i>E. coli</i> CS 2/RE45	15.5	29	$1.1 \times 10^4$	$8.1 \times 10^3$

はCFCLの抗菌力が最も優れ、そのMIC<sub>50</sub>は0.1μg/mlであった。特にCAZ, CPZ耐性株に対しCFCLは全株1.56μg/mlで抑えるという強い抗菌力を示した。*Morganella morganii* 50株に対してもCFCLのMIC<sub>50</sub>は0.1μg/mlで、全株0.2μg/mlで抑えCAZやCPZより抗菌力は強かった。*S. marcescens* 49株にはCFCLのMIC<sub>50</sub>は0.39μg/mlであり、CAZと同程度だがCPZより抗菌力は強く、*E. cloacae* 50株に対するCFCLの抗菌力はCAZやCPZよりかなり強く、そのMIC<sub>50</sub>は0.39μg/mlであった。*Citrobacter freundii* 50株にもCFCLの抗菌力はCAZやCPZより強く、そのMIC<sub>50</sub>は0.1μg/mlであった。*P. aeruginosa* 50株に対するCFCLのMIC<sub>50</sub>は0.39μg/mlで、すべての臨床分離株が3.13μg/ml以下で増殖阻止された。これはCAZの2倍、CPZの約20倍強い抗菌力を示すことになる。*P. cepacia* 40株に対しては、本剤のMIC<sub>50</sub>は6.25μg/mlでCAZよりは劣るが、CPZよりは強い抗菌力を示した。*A. calcoaceticus* 40株に対してもCFCLの抗菌力は優れており、そのMIC<sub>50</sub>は0.78μg/mlであった。CFCLはCPZやCAZ同様*Xanthomonas maltophilia*にもある程度の抗菌力を示し、そのMIC<sub>50</sub>は6.25μg/mlであった。ABPC耐性*H. influenzae* 26株に対するCFCLの抗菌力はCAZと同程度でありそのMIC<sub>50</sub>は0.2μg/mlでCPZより若干弱かった。嫌気性菌*B. fragilis* 40株に対してはCFCLのMIC<sub>50</sub>は50μg/mlで、CAZやCPZ同様に抗菌力は弱かった(Table 1b)。

## 2. ペニシリン結合蛋白(PBPs)に対するCFCLの結合親和性

Fig.1aのとおり*E. coli* NIHJ JC-2のPBPsに対するCFCLの結合親和性は、PBP3に最も強い親和性を示した。しかしPBP1A及び1Bsに対する結合親和性はCAZより低かった。*P. rettgeri*に対する結合親和性は、Fig.

1bのごとくPBP3, 1C及び4の順に結合親和性があり、特にPBP3に対する結合親和性はCAZより高かった。*S. marcescens* 13に対しても、Fig.1CのごとくCFCLはPBP3に高い親和性を示した。*P. aeruginosa* PAO1のPBPsには、Fig.1dのごとくPBP1Aに最も親和性が高く、次いでPBP3βに高かった。しかしCAZの結合親和性よりは若干低かった。*A. calcoaceticus* 5のPBPsに対してもFig.1eのごとくPBP3に最も親和性が高く、その程度はCAZより顕著であった。*H. influenzae* ATCC 9334のPBPsに対してはFig.1fのごとく、CFCLはPBP5に親和性が高く、次いでPBP2及び6で、その程度はほぼCAZのそれと同じであった。

## 3. CFCLの各種 $\beta$ -lactamaseに対する安定性

CFCLはFig.2aのとおり各種PCase型 $\beta$ -lactamaseではほとんど水解されなかった。又Fig.2bのとおりIa型及びIb型CEPaseでもCFCLはまったく水解されなかった。

## 4. 各種 $\beta$ -lactamaseに対するCFCLの結合親和性

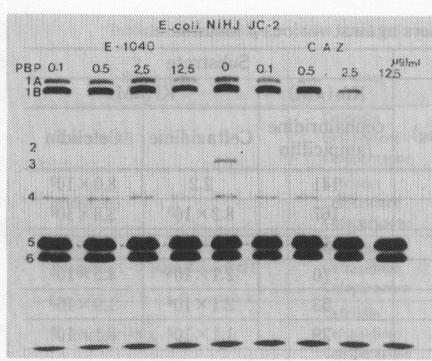
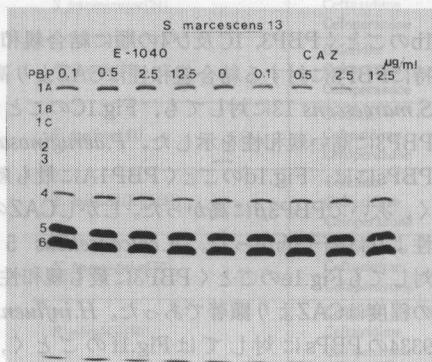
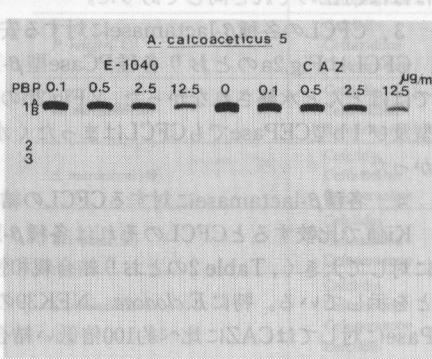
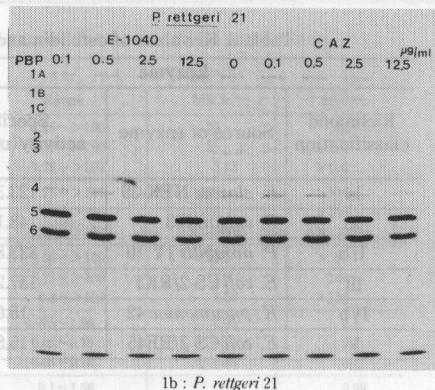
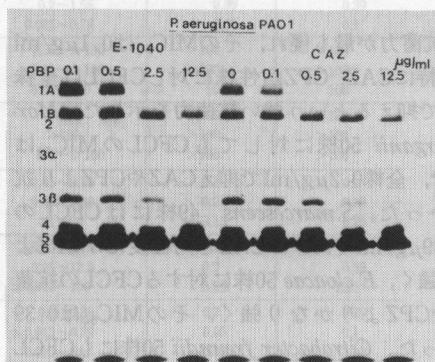
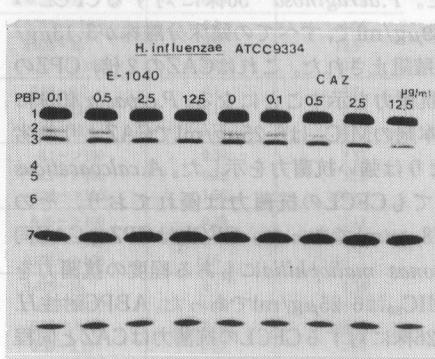
*Ki*値で比較するとCFCLのそれは各種 $\beta$ -lactamaseに対して大きく、Table 2のとおり結合親和性が低いことを示している。特に*E. cloacae* NEK39のIa型CEPaseに対してはCAZに比べ約100倍低い結合親和性を示した。

## 5. CFCLと血清補体との協力的殺菌作用

Fig.3のとおり、ID<sub>50</sub>のCFCLと増殖に影響しない最高量の補体を共存させると殺菌力が相乗的に高くなり、5時間後には共存下で1/100以下の生残菌数になった。しかし24時間後にはある程度の再増殖が認められた。

## 6. CFCLとマウス培養マクロファージ(Mφ)との協力的食菌殺菌作用

*E. coli* NIHJ JC2をマウス培養Mφに食菌させるとFig.4aのごとく食菌された*E. coli*は細胞内で増殖し

1a : *E. coli* NIHJ JC-21c : *S. marcescens* 131e : *A. calcoaceticus* 51b : *P. rettgeri* 211d : *P. aeruginosa* PAO 11f : *H. influenzae* ATCC 9334

M $\phi$ を破壊し遊出する。1 MICのCFCLの共存下では薬剤の影響でfilament化した菌細胞は食菌消化され、M $\phi$ は正常にとどまる(Fig.4b)。1/2~1/8MICのCFCLの存在下でもFig.4c,d,eのごとく薬剤とM $\phi$ の協力

作用が認められM $\phi$ は破壊されなかった。しかし1/16MICになると両者の協力作用は明かでなくM $\phi$ は破壊された。

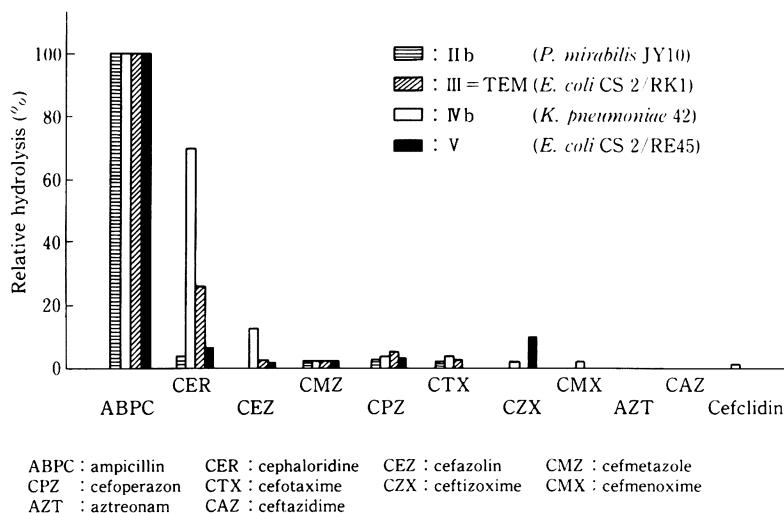


Fig. 2a. Stability of  $\beta$ -lactam antibiotics against various penicillinase-type  $\beta$ -lactamases

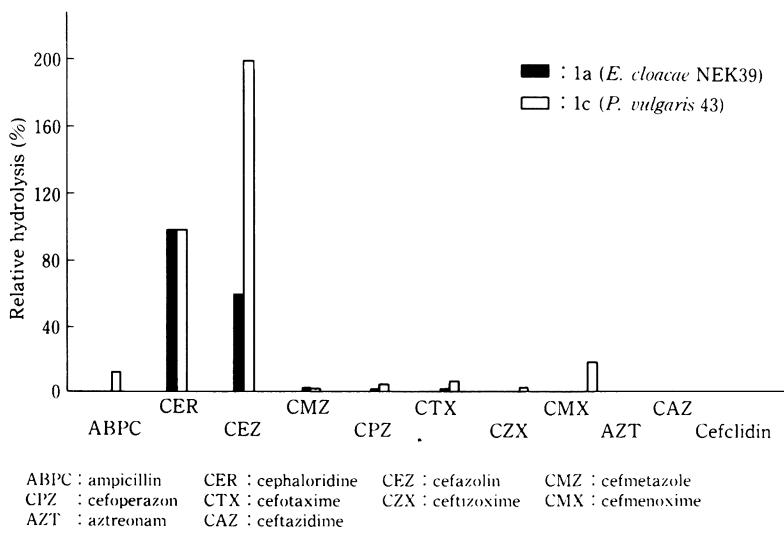


Fig. 2b. Stability of  $\beta$ -lactam antibiotics against various cephalosporinase-type  $\beta$ -lactamases

### III. 考 察

CFCLの最大の特徴は*P. aeruginosa*に対する抗菌力がCAZ及びCPZより強い点にある。しかし、同菌の作用点PBPにはむしろCAZの方が結合親和性が高いので、本剤の優れた*P. aeruginosa*に対する抗菌力は $\beta$ -lactamaseに結合親和性が低いため、薬剤捕捉による耐性(Trapping)が出ていためだろう。その他本剤が*P. aeruginosa*の外膜porinをCAZより良く透過する可能性もある。CFCLは*P. rettgeri*にもCAZやCPZより

優れた抗菌力を示すが、その差は特にCAZやCPZ耐性株に著明なので、この場合も $\beta$ -lactamaseに対する親和性が低いため薬剤捕捉による耐性が出ていためであろう。*E. coli*にもCFCLはCPZよりはもちろん、CAZより強い抗菌力を示すが、この菌がPlasmid性に作るPCase型 $\beta$ -lactamaseには両剤とも結合親和性が低いので、*E. coli*に対するCFCLの優れた抗菌力は優れたporin透過性による可能性が高い。*A. calcoaceticus*の作用点に対してはCFCLのPBP 3に対する結合親和性は

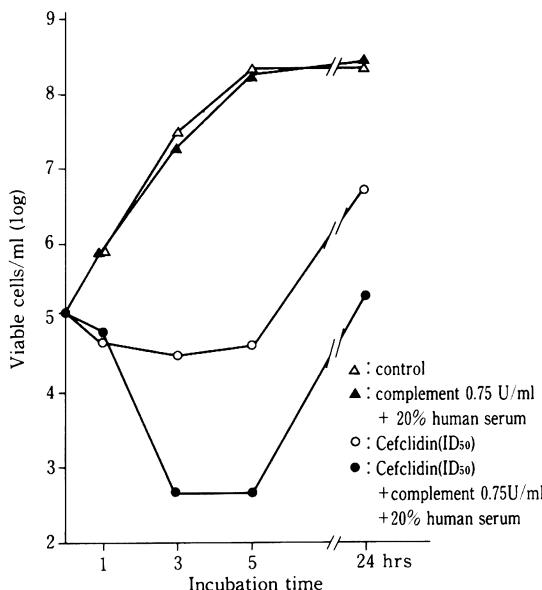


Fig. 3. Influence of complement of the highest concentration manifesting little growth inhibitory effect on *Escherichia coli* NIH JC-2 on the ID<sub>50</sub> of cefclidin (0.05 μg/ml)

CAZより高いので、作用点に対する阻害度の強さがCAZより優れた抗菌力を示す理由と考えられた。CFCLの*S. marcescens*及びABPC耐性*H. influenzae*の本剤の抗菌力はCAZと同程度であり、作用点における結合親和性の強さもあまり差がなかった。

CFCLは各種 $\beta$ -lactamaseで全く水解されないだけでなく、すべての型の $\beta$ -lactamaseに均等に結合親和性が低いので加水分解による耐性菌も薬剤捕捉による耐性菌も出にくい薬剤ということができる。

CFCLは血清補体との協力的殺菌作用が強いだけでなく、マウス培養Mφとの協力的食菌殺菌作用も顕著で1/8MICまでその協力作用は認められた。以上のことを総合するとCFCLはその体内動態が良ければ各種細菌感染症、特に*P. aeruginosa*, *E. cloacae*, *P. rettgeri*等による難治感染症に特に優れた臨床効果が期待される。

#### 文 献

- 1) 日本化学療法学会MIC測定法改訂委員会：最小発育阻止濃度(MIC)測定法再改訂について。Chemotherapy 29(1) 76~79, 1981
- 2) Lennox E.S. : Transduction of linked genetic characters of the host by bacteriophage P1. Virology 1 : 190~206, 1955
- 3) Spratt B.G. : Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation and shape of *Escherichia coli* K12. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 72 2999~3003, 1975
- 4) Ross G.W., O'callaghan C.H. :  $\beta$ -Lactamase assay. Methods Enzymol. 43 : 69~85, 1975
- 5) Nozawa R.T., Yokota T : Inhibition by glucocorticoids and choleragen of the conditional growth of poorly adherent mononuclear phagocytes of new-born hamster liver and lung (hormonal control of macrophage growth). Cell. Physiol. 100 351~364, 1979

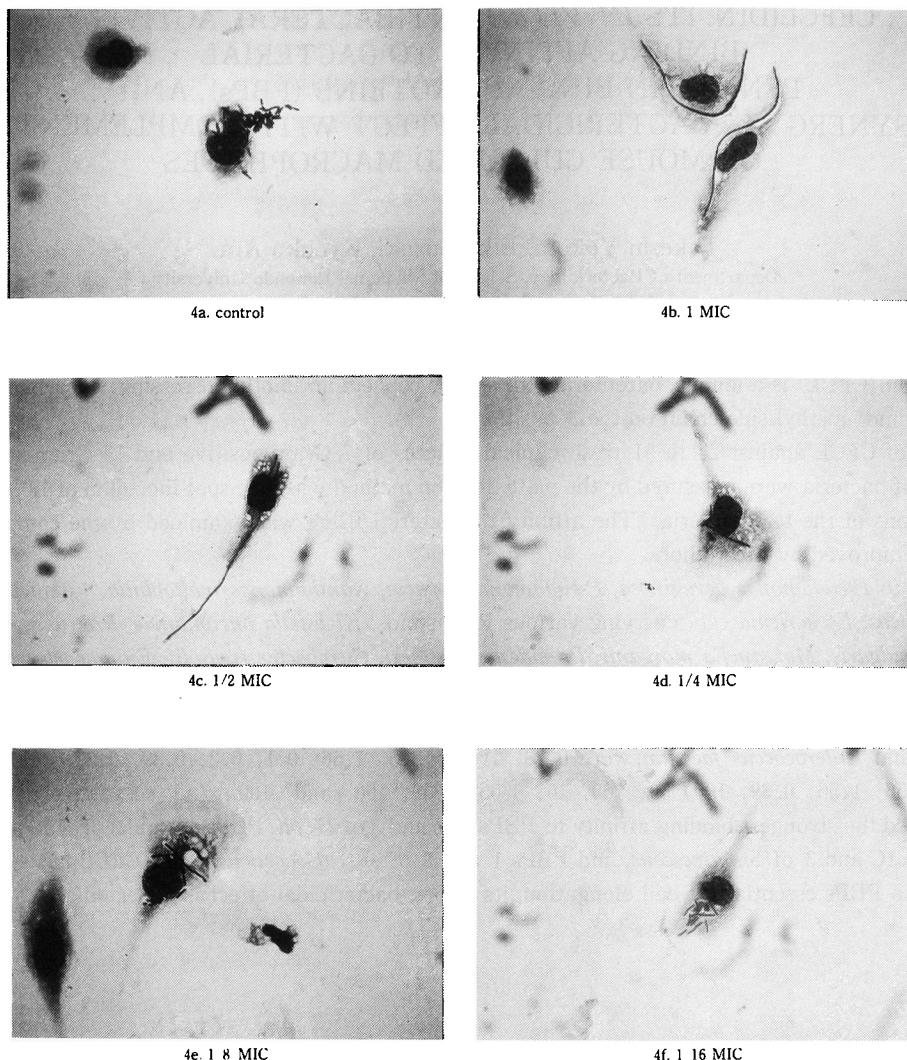


Fig. 4. Phagocytosis of *Escherichia coli* NIH JC-2 by mouse cultured macrophages in the presence of sub MIC of cefclidin

CEFCLIDIN, ITS *IN VITRO* ANTIBACTERIAL ACTIVITY,  
BINDING AFFINITY TO BACTERIAL  
PENICILLIN BINDING PROTEINS (PBPs), AND  
SYNERGY IN BACTERICIDAL EFFECT WITH COMPLEMENT  
OR MOUSE CULTURED MACROPHAGES

Takeshi Yokota, Eiko Suzuki, Kyouko Arai

Department of Bacteriology, School of Medicine, Juntendo University  
2-1-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

Cefclidin(CFCL) is a unique, parenteral oxime-type cephem antibiotic possessing (4-carbamoyl-1-quinuclidino) methyl side chain on the 3 position.

MICs of CFCL against 24 to 51 fresh clinical isolates of 7 Gram-positive and 15 Gram-negative species of bacteria were measured by the plate dilution method with one-spot inoculum of  $10^6$  cfu/ml suspensions of the test bacteria. The affinity to bacterial PBPs was examined by the competitive method improved by the authors.

$\text{MIC}_{80}$  to *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Xanthomonas maltophilia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Escherichia coli*, carrying various R plasmids, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae*, *Bacteroides fragilis*, *Staphylococcus aureus*, MRSA, coagulase-negative *staphylococci*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* were 0.78, 12.5, 12.5, 1.56, 0.1, 0.2, 0.39, 0.39, 0.1, 0.78, 0.39, 1.56, 1.56, 0.39, >100, 50, 100, 50, 0.05, 0.39, >100, and 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , respectively. CFCL manifested the strongest binding affinity to PBPs 1Bs and 3 of *E.coli*, PBPs 1A and 3 of *P.aeruginosa*, PBPs 1B, 1C and 3 of *S.marcescens*, and PBPs 1 and 3 of *A. calcoaceticus*. Since CFCL has a strong affinity to PBPs essential for cell elongation, its strong bactericidal effect is expected.