

Loracarbefの細菌学的評価

中根たみ子・井上邦雄・三橋 進
エビゾーム研究所*

新しいカルバセフェム系抗生物質loracarbef(LCBF)の*in vitro*における抗菌力、 β -lactamaseに対する安定性について、cefaclor(CCL), cefdinir(CFDN), cefprozil(CFPZ)を対照薬剤として比較検討した。

- 1)LCBFはグラム陽性菌に対し、CCLと同等あるいはそれを上回る抗菌力で、グラム陰性菌に対してはCCLと同等もしくはそれよりも優れた抗菌力を示した。
- 2)LCBFはセフェム系抗生物質と同様の殺菌作用を示した。
- 3)LCBFはCSaseおよびCXaseの一部を除く各種 β -lactamaseに安定性を示し、またpenicillinase産生菌に対してCCLよりすぐれた抗菌力を有していた。

Key words : loracarbef, 抗菌活性

Loracarbef(LCBF)(Fig. 1)は、協和醸酵工業(株)東京研究所で創製されたはじめての経口用カルバセフェム系抗生物質である。本剤は3位と7位にcefaclor(CCL)と同一の側鎖を有し、CCLに近似した化学構造を有している。

今回、LCBFの有効性を評価する目的で、抗菌力(MIC)、殺菌作用および β -lactamaseに対する作用を既存の β -ラクタム剤と比較検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 使用薬剤

LCBFは協和醸酵工業(株)から、対照薬に用いたCCL, cefdinir(CFDN), cefprozil(CFPZ)はそれぞれ、塩野義製薬、藤沢薬品工業、ブリストル・マイヤーズから分与を受けた。またpenicillin G(PCG), cephaloridine(CER)は市販製剤を用いた。

2. 使用菌株

日本化学療法学会規定の標準菌株¹⁾、各種臨床分離菌株、 β -lactamase産生菌株および感染菌株はいずれもエビゾーム研究所保存のものを使用した。なお、臨床分離菌株は、主に1985~1987年に本邦各地の医療施設で分離され、当研究所に分与を受けたものである。

3. 使用培地と最小発育阻止濃度測定法

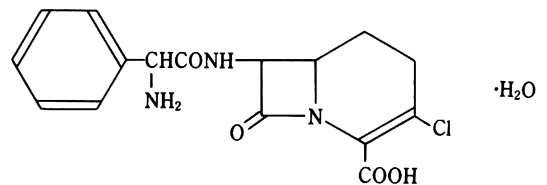
使用培地は試供菌種によって異なるため、Table 1に一括して表示した。最小発育阻止濃度(MIC)測定は日本化学療法学会規定の感受性測定法²⁾ならびに嫌気性菌感受性測定法³⁾に準拠して実施した。接種用菌液調整にはbuffered saline with gelatin(BSG)を用いた。

*Neisseria gonorrhoeae*にはロウソク培養を行なった。

4. 殺菌作用

1)最小殺菌濃度(MBC)の測定

まず、sensitivity test broth(STB)で前培養した試験菌を新鮮STB10mlに0.1ml接種し37℃5~6時間振盪培養し、培養液を 5×10^6 cfu/mlに調整、培養液原液を0.5MacFarland単位に希釈し、さらにそれを10倍希釈し、試験薬剤の2倍希釈系列を作成しておき、菌液(5×10^6 cfu/ml)を100 μ lあて接種する。接種菌量はSDAを用いた混釈法で正確に求めておき37℃、20時間培養し、試験管を15秒攪拌し、さらに4時間培養しMICを求めた後、培養液を50 μ l採りSDAによる混釈法を行ない37℃、24時間培養後コロニー計数を行ない99.9% killing pointを求め最小薬物濃度をminimum bactericidal concentration(MBC)とした。



(6R, 7S)-7-[(R)-2-amino-2-phenylacetamido]-3-chloro-8-oxo-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic acid · monohydrate

Fig. 1. Chemical structure of loracarbef.

*〒371-01群馬県勢多郡富士見村小暮2220

2) 増殖曲線に及ぼす影響

試験菌をSTBで前培養し、これを新鮮STBで適宜希釈後、37°Cで振盪培養を行ない2時間後の約 5×10^8 cfu/mlに達した時点で薬剤を添加した。さらに振盪培養を継続し、1, 3, 6, 24時間後に菌液を分取して、生菌数を測定した。

5. β -lactamaseに対する作用1) β -lactamase産生菌に対する抗菌力

酵素学的性質の明らかにされた各種 β -lactamase産生菌¹⁾を用い、前記の感受性測定法²⁾によって抗菌力を検討した。

2) β -lactamaseに対する安定性

すべての β -lactamaseは当研究所に保存中の精製標品³⁾を適宜希釈して用いた。各薬剤(100 μ M)の β -lactamaseによる加水分解速度はspectrophotometric assay⁴⁾により30°Cで測定し β -lactamase安定性はpenicillinase(PCase)に対してはPCGの、cephalosporinase(CSase)およびcefuroximase(CXase)に対してはCERの分解を100とした相対加水分解速度で表した。

3) β -lactamase基質特異性

被験薬剤の β -lactamase阻害活性は、PCGまたはCERの100 μ Mを基質とした時に、 β -lactamaseの加水分解反応に対する薬剤の阻害定数(Km, Vmax)をLineweaver-Burk⁵⁾の式から算出した。

II. 実験成績

1. 抗菌スペクトル

LCBFの標準菌株に対する抗菌力を、CCL, CFDN, CFPZと比較検討し、Table 2に示した。LCBFは、*Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*を除く各菌種に対し強い抗菌スペクトラムを有していた。この時のMIC値はグラム陽性菌で0.05~1.56 μ g/ml, グラム陰性菌で0.20~

1.56 μ g/mlを示し、その抗菌力はCCLを上回るかあるいは同等の優れた抗菌活性を示した。

2. 臨床分離株に対する抗菌力

各種臨床分離菌株に対するLCBFおよび対照薬剤の抗菌力を、MIC range, MIC₅₀, MIC₉₀でTable 3-1, 3-2に示した。

Staphylococcus aureus (MSSA) 61株に対してLCBFは0.78~>100 μ g/mlのMIC分布を示した。

そのMIC₅₀, MIC₉₀値は1.56, >100 μ g/mlでCCLと同様の抗菌力を示した。

S. aureus (MRSA) 39株に対してLCBFは12.5~>100 μ g/mlのMIC分布を示し、MIC₅₀値は>100 μ g/mlで対照薬剤と同様に耐性菌が多かった。

Staphylococcus epidermidis 67株に対してLCBFは0.39~100 μ g/mlのMIC分布を示し、MIC₅₀値は6.25 μ g/mlでCCLと同等のやや弱い抗菌力を示した。

Enterococcus faecalis 99株に対してLCBFは1.56~>100 μ g/mlのMIC分布を示し、その抗菌力はCFDNに比べるとかなり劣っていた。

Enterococcus faecium 35株に対しては、各薬剤ともほとんど抗菌力を示さなかった。

Escherichia coli 100株に対してLCBFは0.20~25 μ g/mlのMIC分布を示し、MIC₅₀値は0.78 μ g/mlでCFDNに次ぐ良好な抗菌力を有していた。

Klebsiella pneumoniae 89株に対してLCBFは0.39 μ g/mlのMIC₉₀値を示し、CCLよりも1管良好な抗菌力を有していた。

Klebsiella oxytoca 106株に対するLCBFのMIC₅₀値は0.39 μ g/mlで、CCL, CFPZよりも1管良好なものであったが一部の菌株に抗菌力を示さなかった。

E. cloacae 98株に対してLCBFは0.39~>100 μ g/mlのMIC分布を示し、MIC₅₀, MIC₉₀値は100 μ g/ml, >100 μ g/mlとCFDNのMIC₅₀値12.5 μ g/mlには及ばな

Table 1. Various media used for determination of antibacterial activity

Medium	Organism
For preculture	
GCA + 1% hemoglobin (Difco) + 1% Iso Vitalex (BBL)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
STB + 0.4% KNO ₃	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
GAMB	Anaerobes
STB	Other organisms
For MIC determination	
GCA + 1% hemoglobin (Difco) + 1% Iso Vitalex (BBL)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
GAMA	Anaerobes
SDA-N	Other organisms

GCA: GC agar base (Difco) STB: sensitivity test broth (Nissui) GAMB: GAM broth (Nissui)
SDA-N: sensitivity test agar-N GAMA: GAM agar (Nissui)

かった。

E. aerogenes 11株に対してLCBFは12.5～>100 $\mu\text{g/ml}$ のMIC分布を示しCCL, CFPZと同様にその抗菌活性は弱かった。

S. marcescens 99株に対するLCBFのMIC₅₀, MIC₉₀値は>100 $\mu\text{g/ml}$ で, CFNDのMIC₅₀値は25 $\mu\text{g/ml}$ で, CCL, CFPZはLCBFと同様のかなり弱い抗菌力であった。

P. aeruginosa 116株に対するLCBFのMIC分布は, 対照薬剤と同様>100 $\mu\text{g/ml}$ を示し, 全て無効であった。

Pseudomonas cepacia 47株に対してLCBFは6.25～>100 $\mu\text{g/ml}$ のMIC分布を示し, CFNDのMIC分布は0.78～50 $\mu\text{g/ml}$ を示し, LCBFはCCL, CFPZと同様, CFNDよりもかなり劣る抗菌力を示した。

M. morgani 68株に対しても*P. cepacia*と同様の傾向がみられた。

Citrobacter freundii 96株に対するLCBFのMIC₅₀値は25 $\mu\text{g/ml}$ と対照薬剤3剤のMIC₅₀値は0.78～100 $\mu\text{g/ml}$

で抗菌力は低かった。

Proteus mirabilis 102株に対してLCBFは0.78 $\mu\text{g/ml}$ のMIC₅₀値を示し, CCLよりも1管良好な抗菌力を有していた。CFDNのMIC₅₀値は0.10 $\mu\text{g/ml}$ と強い抗菌力を示した。

Moraxella catarrhalis 42株に対するLCBFのMIC₅₀は0.78 $\mu\text{g/ml}$ でCFDNのMIC₅₀値0.10 $\mu\text{g/ml}$ には劣るがCCLと同様に強い抗菌力を示した。

Acinetobacter calcoaceticus 35株に対しLCBFのMIC₅₀値は50 $\mu\text{g/ml}$ でCFDNのMIC₅₀値の3.13 $\mu\text{g/ml}$ と比較すると4管劣るMIC₅₀値を示した。

N. gonorrhoeae 13株に対しLCBFは0.05～0.78 $\mu\text{g/ml}$ のMIC分布を示し, 対照薬剤同様に強い抗菌力を示した。

Clostridium perfringens 16株に対するLCBFのMIC₅₀値は1.56 $\mu\text{g/ml}$ と対照薬剤と略同等の良好な抗菌活性を示した。

3. 殺菌作用

Table 2. Antibacterial activity of loracarbef against standard strains of bacteria

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	loracarbef	cefaclor	cefдинир	cefprozil
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P JC-1	1.56	1.56	0.20	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	0.05	0.10	0.02	0.05
<i>Staphylococcus aureus</i> MS353	0.78	0.78	0.10	0.39
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	0.20	0.39	0.01	0.05
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.20	0.10	0.20	0.10
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.78	0.78	0.10	0.39
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.78	1.56	0.20	1.56
<i>Escherichia coli</i> K-12 C600	0.78	1.56	0.10	1.56
<i>Enterobacter cloacae</i> 963	100	>100	0.78	50
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	50	100	1.56	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i> PCI-602	0.39	0.39	0.02	0.78
<i>Salmonella typhimurium</i> IID 971	0.39	0.78	0.20	0.78
<i>Salmonella typhi</i> 901	0.20	0.39	0.20	0.39
<i>Salmonella paratyphi</i> 1015	0.78	1.56	0.10	1.56
<i>Salmonella schottmuelleri</i> 8006	0.20	0.39	0.05	0.39
<i>Salmonella enteritidis</i> G14	0.39	0.78	0.05	0.78
<i>Serratia marcescens</i> IAM 1184	50	>100	1.56	50
<i>Morganella morgani</i> IFO 3848	25	50	0.78	25
<i>Proteus mirabilis</i> IFO 3849	1.56	3.13	0.10	1.56
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	50	25	0.39	12.5
<i>Proteus vulgaris</i> HX-19	25	12.5	0.10	12.5
<i>Providencia rettgeri</i> IFO 3850	0.39	1.56	≤ 0.006	0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 3445	>100	>100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC 10490	>100	>100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO 1	>100	>100	>100	>100

Inoculum size: 10⁶ cells/ml

Table 3-1. Antibacterial activity of loracarbef against clinical isolates

Test organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		range	50%	90%
<i>Staphylococcus aureus</i> MSSA (61)	loracarbef	0.78 ~ >100	1.56	>100
	cefaclor	1.56 ~ >100	3.13	>100
	cefdinir	0.20 ~ 12.5	0.39	12.5
	cefprozil	0.39 ~ 100	0.78	>100
	methicillin	0.39 ~ 3.13	1.56	3.13
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA (39)	loracarbef	12.5 ~ >100	>100	>100
	cefaclor	6.25 ~ >100	>100	>100
	cefdinir	6.25 ~ >100	50	>100
	cefprozil	3.13 ~ >100	>100	>100
	methicillin	6.25 ~ >100	50	>100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (67)	loracarbef	0.39 ~ 100	6.25	25
	cefaclor	0.39 ~ >100	6.25	50
	cefdinir	0.025 ~ >100	1.56	100
	cefprozil	0.20 ~ 100	1.56	12.5
<i>Enterococcus faecalis</i> (99)	loracarbef	1.56 ~ >100	50	100
	cefaclor	3.13 ~ >100	50	100
	cefdinir	0.39 ~ >100	0.78	6.25
	cefprozil	1.56 ~ >100	12.5	12.5
<i>Enterococcus faecium</i> (35)	loracarbef	12.5 ~ >100	>100	>100
	cefaclor	50 ~ >100	>100	>100
	cefdinir	1.56 ~ >100	>100	>100
	cefprozil	25 ~ >100	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> (100)	loracarbef	0.20 ~ 25	0.78	1.56
	cefaclor	0.78 ~ 100	1.56	6.25
	cefdinir	0.05 ~ 6.25	0.20	0.39
	cefprozil	0.39 ~ 100	1.56	6.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (89)	loracarbef	0.20 ~ 6.25	0.39	0.39
	cefaclor	0.39 ~ 12.5	0.78	0.78
	cefdinir	0.05 ~ 0.39	0.10	0.20
	cefprozil	0.39 ~ 25	0.78	1.56
<i>Klebsiella oxytoca</i> (106)	loracarbef	0.20 ~ 100	0.39	1.56
	cefaclor	0.39 ~ >100	0.78	1.56
	cefdinir	0.025 ~ 0.78	0.05	0.10
	cefprozil	0.39 ~ >100	0.78	1.56
<i>Enterobacter cloacae</i> (98)	loracarbef	0.39 ~ >100	100	>100
	cefaclor	0.78 ~ >100	>100	>100
	cefdinir	0.10 ~ >100	12.5	>100
	cefprozil	0.78 ~ >100	100	>100
<i>Enterobacter aerogenes</i> (11)	loracarbef	12.5 ~ >100	50	>100
	cefaclor	50 ~ >100	100	>100
	cefdinir	0.39 ~ >100	0.78	6.25
	cefprozil	12.5 ~ >100	50	>100
<i>Serratia marcescens</i> (99)	loracarbef	6.25 ~ >100	>100	>100
	cefaclor	6.25 ~ >100	>100	>100
	cefdinir	0.39 ~ >100	25	>100
	cefprozil	3.13 ~ >100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (116)	loracarbef	>100	>100	>100
	cefaclor	>100	>100	>100
	cefdinir	>100	>100	>100
	cefprozil	>100	>100	>100
<i>Pseudomonas cepacia</i> (47)	loracarbef	6.25 ~ 100	>100	>100
	cefaclor	12.5 ~ >100	>100	>100
	cefdinir	0.78 ~ 50	3.13	12.5
	cefprozil	12.5 ~ >100	>100	>100

Inoculum size: 10^6 cells/ml

1)MBCとMIC
標準菌株12株に対するLCBFおよび対照薬剤のMIC (液体培地), MBCをTable 4に示した。LCBFは*S. epidermidis* IID866および*E. coli* K-12C-600に対しMICとMBCに3管の差があるものの, 他の菌種においては

同等または1管の差であり殺菌的に作用した。

2)増殖曲線に及ぼす影響

S. aureus Smith, *E. coli* ML4707の2菌株の増殖曲線に及ぼす影響を, CCL, CFDNと比較し, Fig. 2~3に示した。

Table 3-2. Antibacterial activity of loracarbef against clinical isolates

Test organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		range	50%	90%
<i>Morganella morganii</i> (68)	loracarbef	1.56 ~ >100	>100	>100
	cefaclor	1.56 ~ >100	>100	>100
	cefdinir	0.10 ~ 100	6.25	100
	cefprozil	0.78 ~ >100	>100	>100
<i>Citrobacter freundii</i> (96)	loracarbef	0.39 ~ >100	25	>100
	cefaclor	1.56 ~ >100	100	>100
	cefdinir	0.20 ~ >100	0.78	100
	cefprozil	0.78 ~ >100	12.5	>100
<i>Proteus mirabilis</i> (102)	loracarbef	0.20 ~ 6.25	0.78	1.56
	cefaclor	0.39 ~ 25	1.56	3.13
	cefdinir	0.025 ~ 0.39	0.10	0.10
	cefprozil	0.20 ~ 12.5	0.78	3.13
<i>Moraxella catarrhalis</i> (42)	loracarbef	0.20 ~ 12.5	0.78	1.56
	cefaclor	0.20 ~ 12.5	0.78	1.56
	cefdinir	0.05 ~ 0.78	0.10	0.20
	cefprozil	0.78 ~ 12.5	1.56	6.25
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (35)	loracarbef	3.13 ~ >100	50	>100
	cefaclor	12.5 ~ >100	100	>100
	cefdinir	0.78 ~ 100	3.13	25
	cefprozil	25 ~ >100	>100	>100
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (13)	loracarbef	0.05 ~ 0.78	0.20	0.39
	cefaclor	0.10 ~ 3.13	0.39	1.56
	cefdinir	0.013 ~ 0.20	0.013	0.025
	cefprozil	0.20 ~ 6.25	1.56	6.25
<i>Clostridium perfringens</i> (16)	loracarbef	0.10 ~ 6.25	1.56	1.56
	cefaclor	0.39 ~ 6.25	0.78	1.56
	cefdinir	0.78 ~ 1.56	0.78	0.78
	cefprozil	0.78 ~ 6.25	1.56	1.56

Inoculum size: 10^6 cells/ml

Table 4. Correlation between MICs and MBCs

Organism	Inoculum size (cfu/ml)	MIC*/MBC** ($\mu\text{g/ml}$)			
		loracarbef	cefaclor	cefdinir	cefprozil
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P JC-1	1.6×10^5	3.13/6.25	6.25/12.5	1.56/3.13	1.56/3.13
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	9.5×10^4	0.39/0.39	0.78/1.56	0.10/0.20	0.39/0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> MS353	1.0×10^5	0.78/1.56	1.56/1.56	1.56/3.13	0.78/1.56
<i>Staphylococcus epidermidis</i> IID866	1.7×10^5	1.56/12.5	1.56/3.13	0.10/0.10	0.39/1.56
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	1.3×10^5	0.10/0.20	0.78/0.78	0.39/0.78	0.10/0.10
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	3.6×10^5	12.5/25	25/25	0.39/0.39	6.25/12.5
<i>Escherichia coli</i> K-12 C600	3.9×10^5	1.56/12.5	12.5/12.5	0.78/0.78	3.13/6.25
<i>Serratia marcescens</i> IAM1184	1.5×10^5	50/50	>100/>100	6.25/12.5	3.13/6.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> PCI-602	4.5×10^5	0.78/0.78	0.78/0.78	0.10/0.10	0.78/0.78
<i>Proteus mirabilis</i> IFO3849	1.6×10^5	3.13/3.13	1.56/3.13	0.78/1.56	6.25/25
<i>Morganella morganii</i> IFO 3848	2.8×10^5	50/50	100/100	1.56/3.13	50/50
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	3.8×10^5	>100/>100	100/100	3.13/3.13	50/100

* Broth dilution method ** $\geq 99.9\%$ killing

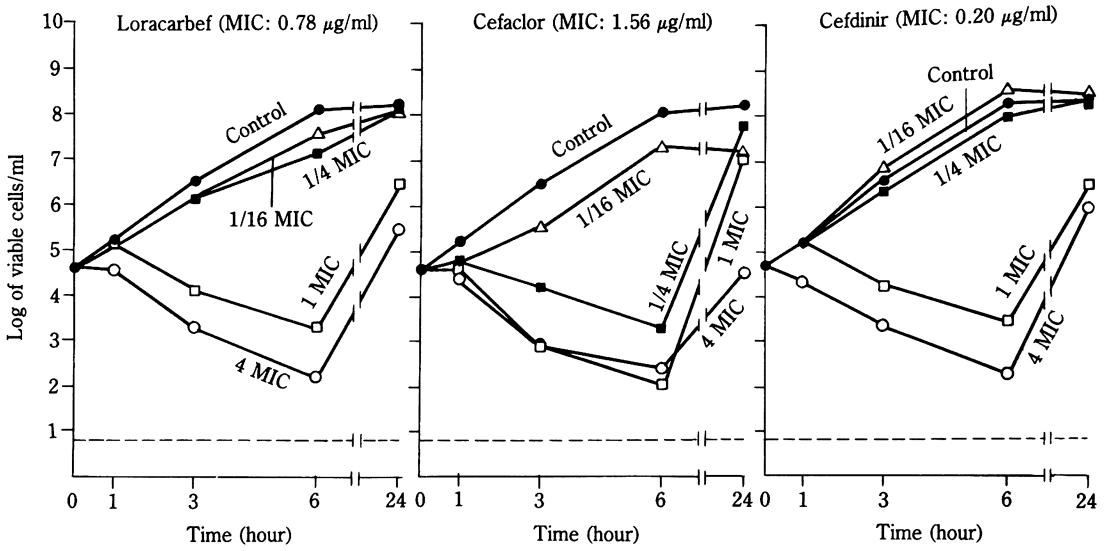
Staphylococcus aureus Smith

Fig. 2. Bactericidal activity of loracarbef.

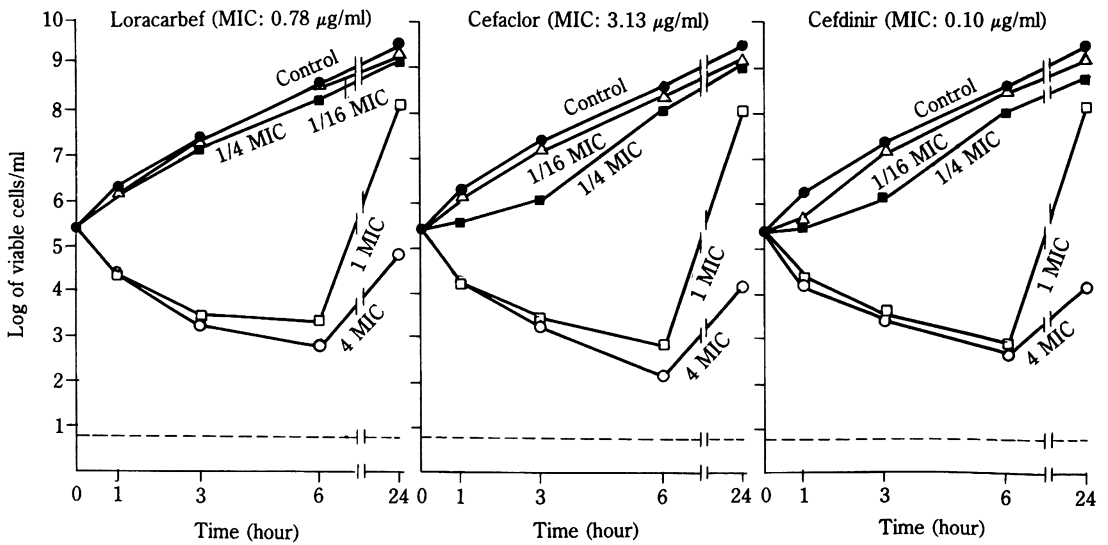
Escherichia coli ML4707

Fig. 3. Bactericidal activity of loracarbef.

S. aureus Smithに対し、LCBFは1MIC以上の添加で強力な殺菌作用が6時間まで継続したが6時間後は再増殖の傾向がみられた。

E. coli ML4707に対し、LCBF、CCL、CFDNとも1MIC以上の添加で6時間まで強力な殺菌作用がみられたが*S. aureus* Smith同様に6時間後は再増殖の傾向がみられた。

4. β -lactamaseに対する作用

1) β -lactamase産生菌に対する抗菌力

LCBFと対照薬剤の各種 β -lactamase産生菌に対する

抗菌力をTable 5に示した。PCase産生株に対するLCBFのMIC値は0.39~1.56 μ g/mlの強い抗菌力を示した。LCBFの抗菌力はCCLやCFPZと同等またはそれを上回る優れたものであった。またCFDNと比較すると、LCBFはPCase産生plasmidを組み込んだ各菌株に対し優れた抗菌力を示した。CSase、CXase¹⁾を産生するグラム陰性桿菌の多くに対しては抗菌力は弱く、CFDN、LCBF、CFPZ、CCLの順であった。

2) β -lactamase安定性

LCBFの β -lactamase安定性をTable 6に示した。

Table 5. Antibacterial activity of loracarbef against β -lactamase-producing bacteria

Organism	Type of β -lactamase	MIC (μ g/ml)			
		loracarbef	cefaclor	cefdinir	cefprozil
<i>Escherichia coli</i> ML4901/Rms212	PCase I	0.78	3.13	0.20	3.13
<i>Escherichia coli</i> ML4901/Rms213	PCase II	0.78	3.13	0.20	1.56
<i>Escherichia coli</i> ML4901/Rte16	PCase III	0.78	1.56	0.39	1.56
<i>Escherichia coli</i> ML4901/Rms149	PCase IV	0.39	1.56	0.20	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> ML15009/p1258	PCase V	1.56	1.56	0.39	0.78
<i>Escherichia coli</i> ML4901/TEM-1	PCase	0.78	1.56	0.20	3.13
<i>Escherichia coli</i> ML4901/TEM-2	PCase	1.56	6.25	0.39	25
<i>Escherichia coli</i> ML4901/OXA-1	PCase	0.39	1.56	0.20	1.56
<i>Escherichia coli</i> ML4901/OXA-2	PCase	0.78	12.5	0.39	3.13
<i>Escherichia coli</i> ML4901/PSE-1	PCase	0.39	1.56	0.20	1.56
<i>Escherichia coli</i> ML4901/PSE-3	PCase	0.78	3.13	0.20	1.56
<i>Escherichia coli</i> ML4901/SHV-1	PCase	0.78	6.25	0.20	6.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> GN69	PCase	0.78	0.78	0.20	0.78
<i>Escherichia coli</i> GN5428	CSase	50	>100	12.5	>100
<i>Escherichia coli</i> GN14929	CSase	25	>100	6.25	50
<i>Escherichia coli</i> GN14930	CSase	0.78	3.13	0.39	3.13
<i>Citrobacter freundii</i> GN346	CSase	>100	>100	>100	>100
<i>Citrobacter freundii</i> GN7391	CSase	>100	>100	>100	>100
<i>Enterobacter cloacae</i> GN5707	CSase	>100	>100	50	>100
<i>Enterobacter cloacae</i> GN7471	CSase	>100	>100	50	>100
<i>Enterobacter cloacae</i> GN7476	CSase	>100	>100	50	>100
<i>Serratia marcescens</i> GN10857	CSase	>100	>100	>100	>100
<i>Serratia marcescens</i> GN14931	CSase	>100	>100	25	>100
<i>Serratia marcescens</i> GN14932	CSase	>100	>100	>100	>100
<i>Morganella morganii</i> GN5307	CSase	100	>100	6.25	100
<i>Morganella morganii</i> GN5375	CSase	100	>100	6.25	>100
<i>Morganella morganii</i> GN5407	CSase	>100	>100	6.25	100
<i>Providencia rettgeri</i> GN4430	CSase	25	25	0.006	12.5
<i>Providencia rettgeri</i> GN4762	CSase	>100	>100	0.20	>100
<i>Providencia rettgeri</i> GN5284	CSase	50	>100	0.012	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> GN918	CSase	>100	>100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> GN10326	CSase	>100	>100	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> GN10367	CSase	>100	>100	>100	>100
<i>Klebsiella oxytoca</i> GN10650	CXase I	>100	>100	0.78	>100
<i>Proteus vulgaris</i> GN76	CXase I	>100	>100	12.5	>100
<i>Proteus vulgaris</i> GN4413	CXase I	>100	>100	>100	>100
<i>Proteus vulgaris</i> GN7919	CXase I	>100	>100	12.5	>100
<i>Pseudomonas cepacia</i> GN11164	CXase I	>100	>100	1.56	>100
<i>Xanthomonas maltophilia</i> GN12873	CXase I & II	>100	>100	>100	>100

PCase: penicillinase CSase: cephalosporinase CXase: cefuroximase

Table 6. β -lactamase stability of loracarbef against penicillinase (PCase), Cephalosporinase (CSase) and cefuroximase (CXase)

Type	Enzyme source	Loracarbef		Cefaclor		Penicillin G	Cephaloridine	Loracarbef
		Vmax ^{a)} (relative)	Km (μ M)	Vmax (relative)	Km (μ M)	Vmax	Vmax	MIC ^{b)} (μ g/ml)
PCase	Type I Rms212	2.42	223	19.9	991	100		0.78
	Type II Rms213	2.87	92.6	NT ^{c)}		100		0.78
	Type IV Rms149	1.95	96.8	11.5	636	100		0.39
	Type V pl258	5.52	13.4	24.7	74.4	100		1.56
CSase	<i>Escherichia coli</i> GN5482	76.7	48.6	111	23.4		100	50
	<i>Enterobacter cloacae</i> GN7471	7.60	29.2	37.4	86.0		100	>100
	<i>Citrobacter freundii</i> GN7391	17.7	43.0	63.4	91.7		100	>100
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> GN10362	35.3	5.93	204	21.5		100	>100
CXase	<i>Xanthomonas maltophilia</i> GN12873	17.2	92.0	8.41	9.81		100	>100
	<i>Flavobacterium odoratum</i> NG14053	52.6	31.2	600	69.2		100	NT
	<i>Alcaligenes denitrificans</i> subsp.	9.76	1423	3.27	89.0		100	NT
	<i>xyloxydans</i> GN14062							

a). The rate of hydrolysis is expressed as a percentage of the hydrolysis of penicillin G (PCase) or cephaloridine (CSase, CXase).

b). Inoculum size: 10^6

c). Not tested.

PCG, CERのVmaxを100としたとき, LCBFは*E. coli* GN5482, *P. aeruginosa* GN10362の産生するCSaseおよび*Flavobacterium odoratum* GN14053の産生するCXaseを除き, Vmaxが1.95~17.7で安定性が高かった。

Ⅲ. 考 察

今回の実験成績からまず, LCBFはグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対しCCLと同様の広域抗菌スペクトラムを示し, 特に臨床分離の*E. coli*, *K. pneumoniae*に対してはCCLに優る抗菌力を有していた。

LCBFは対数増殖期の*S. aureus*(感受性株), *E. coli*に対して短い時間内にセフェム系薬剤と同様の殺菌作用を示した。これは*E. coli*のPBP 1A, 3にCCLと同様の強い親和性⁷⁾を示し, 殺菌作用に顕著に現われたものと考えられる。

LCBFは酵素学的性質の明らかにされた各種 β -lactamase産生菌に対しCSase, CXaseを産生するグラム陰性菌の多くに対しては, その抗菌活性は弱かったがPCase産生株には強い抗菌力を示した。また, LCBFは*E. coli* GN5482, *P. aeruginosa* GN10362および*F. odoratum* GN14053の産生する β -lactamaseを除く各種 β -lactamase⁴⁾に対して安定性が認められた。

LCBFは*in vitro*において, グラム陽性菌およびグラム陰性菌に対しCCLと同様の広域抗菌スペクトラムを示し, 特に*E. coli*, *K. pneumoniae*に対し強い抗菌作用を示した。また, マウス感染モデル実験⁷⁾でも*in vitro*

の抗菌力を反映した良好な感染防御力を示すことから, これらの成績から臨床における感染症の治療に対して優れた効果が期待される。

文 献

- 1) 三橋 進, 井上松久: MIC測定用標準菌株。Chemotherapy 27: 561, 1979
- 2) 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
- 3) 日本化学療法学会嫌気性菌MIC測定法検討委員会: 嫌気性菌の発育阻止濃度(MIC)測定法。Chemotherapy 27: 559~560, 1979
- 4) Mitsuhashi S and Inoue M: Mechanisms of resistance to β -lactam antibiotics. β -lactam antibiotics (Mitsuhashi S, ed.), pp. 41~56, Japan Sci Soc Press, 1981
- 5) Waley S G: A spectrophotometric assay of β -lactamase action on penicillins. Biochem J 139: 780~789, 1974
- 6) Lineweaver H and Burk D: The determination of enzyme dissociation constants. J Am Chem Soc 56: 658~663, 1934
- 7) Sato K, Okachi R, Matsukuma I, Mochida K and Hirata T: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of KT3777, a new orally active carbapenem. J Antibiotics 42, 1844~1853, 1989

Antibacterial activity of loracarbef, a new carbacephem antibiotic

Tamiko Nakane, Kunio Inoue and Susumu Mitsuhashi

Episome Institute

2220 Kogure, Fujimi-mura, Seta-gun, Gunma 371-01, Japan

The antibacterial activity of a new oral carbacephem antibiotic, loracarbef (LCBF), was compared with those of cefaclor (CCL), cefdinir (CFDN) and cefprozil (CFPZ). The results are summarized as follows.

- 1) LCBF had higher activity than CCL against gram-positive clinical isolates.
- 2) According to the time test of killing activity, LCBF showed almost the same activity as CCL and CFDN.
- 3) LCBF was partly inactivated by cephalosporinase (CSase) and oxyiminocephalosorinase (CXase), but had more potent antibacterial activity than CCL against penicillinase-producing strains.