

新規セフェム系抗菌剤 cefozopran の嫌気性菌に対する抗菌作用

およびマウス盲腸内細菌叢への影響

渡辺 邦友・加藤 直樹・田中香お里

田中 保知・加藤 はる・上野 一恵

岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設*

新しい cephem 系抗生剤である cefozopran の嫌気性菌に対する抗菌作用を寒天平板希釈法により検討した。また *Bacteroides fragilis* 由来の β -lactamase に対する本薬剤の安定性およびマウス盲腸内細菌叢に与える影響を検討した。

Cefozopran は、*B. fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides ovatus* のいわゆる *B. fragilis* group と *Prevotella bivia*, *Clostridium difficile*, *Eubacterium lentum* の少数菌種を除く嫌気性参考菌のすべての菌種の発育を 6.25 μ g/ml の濃度で抑制する良好な抗菌作用を示した。特に、*Peptostreptococcus*, *Veillonella*, *Fusobacterium*, *P. bivia* を除く *Prevotella* spp., *C. difficile* を除く *Clostridium* spp. に強い抗菌作用を示した。

Cefozopran は *B. fragilis* 3 株由来の β -lactamase に対し cefuzonam より安定で、ceftazidime と同程度の安定性を示した。マウスに本薬剤を皮下接種した場合の盲腸内における *C. difficile* 異常増殖誘導の程度が検討されたが、対照薬剤よりも弱く、マウス細菌叢への影響は少ないものと考えられた。

Key words: cefozopran, 抗嫌気性菌作用, β -lactamase, *C. difficile*

Cefozopran は、武田薬品工業株式会社研究所で化学修飾法により開発された注射用 cephem 系抗生剤である。本薬剤は *Staphylococcus aureus* と *Pseudomonas aeruginosa* の両方に比較的良好な抗菌作用を示す。このような性質はいままでのこの系統の薬剤には見られず興味ある薬剤である¹⁻³⁾。

著者らは cefozopran の嫌気性菌に対する抗菌力が既存の cephem 系抗生剤の中のどのような位置にあるかを明らかにする目的で、すでに臨床応用されている cephem 系抗菌剤のうち、*Staphylococcus* には抗菌作用を示すが *Pseudomonas* には抗菌作用を示さない cefuzonam と flomoxef およびその反対の性質をもつ ceftazidime を対照薬剤として、*in vitro* で検討を行った。さらに本剤の *Bacteroides fragilis* 由来の β -lactamase に対する安定性およびマウス盲腸内細菌叢に及ぼす影響についても検討を加えた。

材料および方法

供試菌株

Table 1 に示す研究室保存の代表参考菌株および American Type Culture Collection (ATCC), National Collection of Type Culture (NCTC), Virginia Polytechnic Institute (VPI) 由来参考菌株

と当研究室で臨床材料から分離した嫌気性菌を用いた。臨床分離株は、原則として PRAS II media (Scott, USA) をもちいる生化学的性状とガスクロマトグラフィーによる代謝産物中の低級脂肪酸の分析から VPI manual 第 4 版に基づき同定した⁴⁾。一部の菌株は Rap ID ANA system (IDS, USA) を用いた数値同定とガスクロマトグラフィーによる代謝産物中の低級脂肪酸の分析結果を基にして同定した。これらの菌株は 20% スキムミルクを保護剤として -80°C で保存した。

供試験薬剤

Cefozopran の原末を用いた。*in vitro* 抗菌力試験の対照薬剤として ceftazidime, cefuzonam および flomoxef を、 β -lactamase に対する安定性の検討には、さらに cefpirome, imipenem, cephaloridine を加えた。いずれも力価の明らかなものである。

薬剤の最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

寒天平板希釈法によって測定した。寒天平板希釈法は日本化学療法学会の推奨する方法に準じて行った⁵⁾ 抗菌スペクトラムの検討には感受性測定用培地として 5% うさぎ溶血血液添加 Brucella HK 寒天 (極東製薬) を用いた。臨床分離株に対する MIC 測定には

*〒500 岐阜市司町 40

Table 1. Antibacterial spectrum of cefozopran against anaerobic bacteria compared with those of other agents

organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	cefzopran	ceftazidime	cefuzonam	flomoxef
<i>Bacteroides</i>				
<i>B. fragilis</i> GAI 5562	12.5	25	6.25	0.39
<i>B. fragilis</i> GAI 0558	200<	200<	200	6.25
<i>B. vulgatus</i> ATCC 8482	25	12.5	6.25	0.78
<i>B. distasonis</i> ATCC 8503	25	12.5	1.56	1.56
<i>B. ovatus</i> ATCC 8483	200<	200<	50	50
<i>B. thetaiotaomicron</i> ATCC 29741	200<	200<	50	100
<i>B. uniformis</i> GAI 5466	50	50	3.13	0.78
<i>B. eggerthii</i> ATCC 27754	12.5	25	3.13	0.78
<i>B. gracilis</i> GAI 10428 ^a	1.56	3.13	12.5	0.78
<i>B. ureolyticus</i> NCTC 10941 ^a	0.10	0.10	≤ 0.05	0.10
<i>Prevotella</i>				
<i>P. oris</i> ATCC 33573	1.56	3.13	1.56	0.78
<i>P. oralis</i> ATCC 33269	1.56	6.25	3.13	1.56
<i>P. bivia</i> ATCC 29303	200	50	6.25	100
<i>P. intermedia</i> ATCC 25611	0.39	0.20	0.20	0.20
<i>Fusobacterium</i>				
<i>F. nucleatum</i> ATCC 25586	50	12.5	1.56	0.20
<i>F. varium</i> ATCC 8501	200	200	12.5	1.56
<i>Desulfomonas</i>				
<i>D. pigra</i> DSA 749	≤ 0.05	0.10	0.10	0.10
<i>Veillonella</i>				
<i>V. parvula</i> ATCC 10790	0.78	6.25	0.39	0.78
<i>Peptostreptococcus</i>				
<i>P. anaerobius</i> ATCC 27337	3.13	0.78	0.20	0.20
<i>P. asaccharolyticus</i> WAL 3218	0.20	0.39	0.10	0.10
<i>P. indolicus</i> GAI 0915	≤ 0.05	0.10	≤ 0.05	≤ 0.05
<i>P. magnus</i> ATCC 29328	3.13	6.25	0.78	0.39
<i>Streptococcus</i>				
<i>S. intermedius</i> ATCC 27335 ^b	0.39	3.13	0.10	0.78
<i>S. parvulus</i> VPI 0546	3.13	25	1.56	0.78
<i>Staphylococcus</i>				
<i>S. saccharolyticus</i> ATCC 14953	0.39	1.56	0.20	0.10
<i>Propionibacterium</i>				
<i>P. acnes</i> ATCC 11828	3.13	12.5	0.78	0.39
<i>P. granulosum</i> ATCC 25564	1.56	6.25	0.78	0.39
<i>Eubacterium</i>				
<i>E. lentum</i> ATCC 25559	200	200<	100	12.5
<i>Clostridium</i>				
<i>C. butyricum</i> ATCC 19398	3.13	25	3.13	0.20
<i>C. difficile</i> GAI 10029	100	50	50	6.25
<i>C. histolyticum</i> ATCC 19401	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05	0.10
<i>C. perfringens</i> GAI 5526	3.13	6.25	1.56	0.20
<i>C. septicum</i> ATCC 12464	6.25	100	6.25	0.10
<i>C. sordellii</i> ATCC 9714	1.56	0.78	0.20	0.10

inoculum size : 10^6 cfu/ml^a not strict anaerobes (to be reclassified.), ^b not strict anaerobes

GAM 寒天培地 (日水製薬) を用いた。嫌気性培養は anaerobic glove box (平沢製作所 東京) (N_2 80%, CO_2 10%, H_2 10%) で2日間行った。

臨床分離株に対する抗菌作用

最近数年間に、当研究室で扱った次の菌株を実験に供した。*Bacteroides fragilis* 91株, *Bacteroides vulgatus* 2株, *Bacteroides ovatus* 8株, *Bacteroides th-*

etaiotaomicron 19株, *Bacteroides distasonis* 4株 (以上1992年分離株), *Prevotella intermedia* 24株, *Prevotella bivia* 24株, *Porphyromonas gingivalis* 20株 (以上1988~1991年分離株), *Peptostreptococcus anaerobius* 20株, *Peptostreptococcus magnus* 38株, *Peptostreptococcus asaccharolyticus* 29株 (以上1990~1992年分離株), *Clostridium difficile* 26株, *Clostridium*

perfringens 14 株 (以上 1991~1992 年分離株), *Mobiluncus* spp. 24 株 (1988~1991 年分離株) を用いた。偏性嫌気性菌ではないが *Mobiluncus* spp. と共に Bacterial Vaginosis との関連で重要な *Gardnerella vaginalis* 20 株 (1988~1991 年分離株) をも検討に加えた⁶⁾。

B. fragilis 生産の β -lactamase に対する安定性

Imipenem 耐性の GAI 30144⁷⁾, imipenem 感受性, ampicillin 高度耐性の GAI 10150⁸⁾ および imipenem, cefoxitin に感受性ではあるが, その他の β -lactam 剤に耐性を示す 0558 株⁹⁾ の 3 株の *B. fragilis* を用い, 本薬剤の安定性を検討した。被験菌株を GAM ブイヨンにて 37°C, 4 時間嫌気性培養した後, 4°C にて遠心分離 (5000 rpm, 20 分) して集菌後, 超音波処理にて菌体を破壊し, 再び 4°C にて遠心 (12000 rpm, 60 分) した。この上清を粗酵素液として用いた。 β -lactamase 活性は photometric assay にて測定した。cephaloridine の分解活性を 100 とする相対率で現した。

マウス盲腸内細菌叢に及ぼす影響

5 週齢の ddY 雄性マウス, 体重 30 ± 1 g (日本クレア, 東京) を用いた。対照薬剤として cefuzonam および ceftazidime を用いた。各抗菌剤は 20 mg/kg を 1 日 2 回, 5 日間投与した。抗菌剤投与終了翌日および 7 日後, 麻酔下にと殺したマウスから盲腸を切除し, 直ちに嫌気性グローブボックス内に搬入し *C. difficile* の定量培養に供した。分離培地として cycloserine cefoxitin mannitol 寒天平板 (日水製薬) を用いた。

成 績

Cefozopran の抗菌スペクトラム

Cefozopran の ATCC 由来の標準菌株を含む主要嫌気性菌に対する 10⁶cfu/ml および 10⁸cfu/ml 接種での MIC 値を Table 1, 2, 3 および 4 に示した。10⁶cfu/ml の接種菌液を使用した場合, cefozopran が特に優れた抗菌力を示した嫌気性菌は *Bacteroides gracilis*, *Bacteroides ureolyticus*, *Prevotella oris*, *Prevotella oralis*, *P. intermedia*, *Desulfomonas*, *Veillonella*, *Peptostreptococcus* spp., *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Propionibacterium* spp., *Clostridium butyricum*, *Clostridium histolyticum*, *C. perfringens*, *Clostridium septicum*, *Clostridium sordellii*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium pseudolongum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus reuteri* および *Lactobacillus salivarius* であった。中等度の抗菌力を示した菌種は, *B. fragilis*, *B. vulgatus*, *B. distasonis*, *Bacteroides eggerthii* の *B. fra-*

gilis group および *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus casei* であった。Cefozopran の抗菌力が弱かった菌種は, *B. fragilis* GAI 0558, *B. thetaiotaomicron*, *B. ovatus*, *Bacteroides uniformis*, *P. bivia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium varium*, *Eubacterium lentum*, *C. difficile*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactococcus plantarum* であった。

Cefozopran の抗菌スペクトラムは対照薬剤の中では ceftazidime と cefuzonam と類似しており, flomoxef とは異なった。全体的に見た抗菌力では cefuzonam よりやや劣り, ceftazidime に近い成績が得られた。

10⁶cfu/ml 接種での成績と 10⁸cfu/ml 接種での成績を比較すると, *B. fragilis* と *C. butyricum* では 8 倍と大きな差を認めしたが, その他の菌種では 2 倍程度の差に収まっていた。

臨床分離株に対する抗菌作用

成績を Table 5 に示した。10⁶cfu/ml 接種で観察すると, *B. fragilis* 91 株に対する cefozopran の MIC₅₀ と MIC₉₀ はそれぞれ 6.25, 100 μ g/ml と試験薬剤中最も優れた。この 91 株を, 高感度のニトロセフィン法の結果のみが陽性の β -lactamase low producer と低感度のアシドメトリーでも陽性となる high producer に分けて分析すると, high producer に対しては MIC₅₀ と MIC₉₀ がいずれも 200 μ g/ml 以上であったが, low producer に対しては 3.13, 200 μ g/ml 以上であり, 両者に顕著な差異が認められた。*B. fragilis* 以外の *B. fragilis* group である *B. thetaiotaomicron*, *B. ovatus*, *B. vulgatus*, *B. distasonis* に対しても, cefozopran は中等度の抗菌力を示し, ceftazidime とほぼ同等の成績を示した。*P. intermedia*, *P. bivia* に対して, cefozopran は ceftazidime より劣る成績であった。しかし, *P. gingivalis* には, ceftazidime よりすぐれた成績を示した。

Cefozopran の β -lactamase に対する安定性

Cefozopran は, *B. fragilis* GAI 30144, GAI 0558 および GAI 10150 由来の β -lactamase に対し, 相対加水分解率 29.9, 2.1 および 6.0% であった。Cefozopran は *B. fragilis* GAI 30144 由来の metallo- β -lactamase に対し cefuzonam, flomoxef, imipenem, cefpirome より安定であった。また cefozopran は, 残りの 2 株の *B. fragilis* が産生する β -lactamase に対し, cefuzonam より安定で, ceftazidime, cefpirome とほぼ同程度の安定性を示した (Table 6)。

Table 2. Antibacterial spectrum of cefozopran against anaerobic bacteria compared with those of other agents

organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	cefazopran	ceftazidime	cefuzonam	flomoxef
<i>Bacteroides</i>				
<i>B. fragilis</i> GAI 5562	200	50	50	0.78
<i>B. fragilis</i> GAI 0558	200<	200<	200<	12.5
<i>B. vulgatus</i> ATCC 8482	50	25	12.5	3.13
<i>B. distasonis</i> ATCC 8503	25	12.5	1.56	3.13
<i>B. ovatus</i> ATCC 8483	200<	200<	100	50
<i>B. thetaiotaomicron</i> ATCC 29741	200<	200<	100	100
<i>B. uniformis</i> GAI 5466	100	100	12.5	0.78
<i>B. eggerthii</i> ATCC 27754	25	25	6.25	1.56
<i>B. gracilis</i> GAI 10428	6.25	3.13	50	3.13
<i>B. ureolyticus</i> NCTC 10941	0.20	0.10	≤ 0.05	0.10
<i>Prevotella</i>				
<i>P. oris</i> ATCC 33573	1.56	3.13	1.56	0.78
<i>P. oralis</i> ATCC 33269	3.13	6.25	3.13	1.56
<i>P. bivia</i> ATCC 29303	200<	100	25	100
<i>P. intermedia</i> ATCC 25611	0.78	0.39	0.39	0.20
<i>Fusobacterium</i>				
<i>F. nucleatum</i> ATCC 25586	50	25	1.56	0.20
<i>F. varium</i> ATCC 8501	200<	200<	25	1.56
<i>Desulfomonas</i>				
<i>D. pigra</i> DSA 749	0.10	0.20	0.10	0.10
<i>Veillonella</i>				
<i>V. parvula</i> ATCC 10790	1.56	12.5	0.78	0.78
<i>Peptostreptococcus</i>				
<i>P. anaerobius</i> ATCC 27337	6.25	0.78	0.20	0.39
<i>P. asaccharolyticus</i> WAL 3218	0.39	0.78	0.20	0.20
<i>P. indolicus</i> GAI 0915	≤ 0.05	0.20	≤ 0.05	≤ 0.05
<i>P. magnus</i> ATCC 29328	6.25	12.5	1.56	0.39
<i>Streptococcus</i>				
<i>S. intermedius</i> ATCC 27335	0.78	3.13	0.10	1.56
<i>S. parvulus</i> VPI 0546	3.13	25	1.56	0.78
<i>Staphylococcus</i>				
<i>S. saccharolyticus</i> ATCC 14953	0.78	3.13	0.20	0.10
<i>Propionibacterium</i>				
<i>P. acnes</i> ATCC 11828	3.13	12.5	0.78	0.39
<i>P. granulosum</i> ATCC 25564	1.56	12.5	0.78	0.39
<i>Eubacterium</i>				
<i>E. lentum</i> ATCC 25559	200	200<	200	12.5
<i>Clostridium</i>				
<i>C. butyricum</i> ATCC 19398	50	200	12.5	1.56
<i>C. difficile</i> GAI 10029	100	200<	100	6.25
<i>C. histolyticum</i> ATCC 19401	0.78	0.78	0.78	0.10
<i>C. perfringens</i> GAI 5526	3.13	12.5	3.13	0.39
<i>C. septicum</i> ATCC 12464	6.25	100	6.25	0.20
<i>C. sordellii</i> ATCC 9714	3.13	0.78	0.39	0.20

inoculum size : 10^8 cfu/ml

マウス盲腸内細菌叢に対する影響

Cefozopran 投与の場合、投薬終了翌日および7日目とも *C. difficile* の増殖は見られなかった。対照とした2薬剤のうち、flomoxef 投与の場合には投与終了翌日のみに100%のマウスから *C. difficile* が分離された。Ceftazidime 投与の場合には投与終了翌日および7日目のいずれにおいても 10^2 から 10^3 程度の *C. difficile* が分離された (Table 7)。

考 察

Cefozopran は、新しく開発された注射用 cephem 系抗菌剤である。著者らは、cefazopran の嫌気性菌に対する *in vitro* 抗菌作用を検討した。Cefazopran は、*B. fragilis* GAI 0558, *B. thetaiotaomicron* ATCC 29741, *B. ovatus* ATCC 8483, *B. vulgatus* ATCC 8482, *B. uniformis* GAI 5466, *F. varium* ATCC 8501, *C. difficile* GAI 10029, *E. lentum* ATCC 25559

Table 3. Antibacterial spectrum of ceftazidime against *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus* spp. compared with those of other agents

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	ceftazidime	ceftazidime	cefuzonam	flomoxef
<i>Bifidobacterium</i> ^a				
<i>B. bifidum</i> JCM 1255	0.39	0.78	0.20	0.10
<i>B. adolescentis</i> JCM 1275	0.20	1.56	0.10	0.20
<i>B. breve</i> JCM 1192	25	25	1.56	1.56
<i>B. longum</i> JCM 1217	0.78	6.25	0.39	1.56
<i>B. pseudolongum</i> JCM 1205	≤ 0.05	0.78	0.10	0.20
<i>Lactobacillus</i> ^b				
<i>L. acidophilus</i> JCM 1132	0.78	3.13	0.78	6.25
<i>L. brevis</i> subsp. <i>brevis</i> JCM 1059	200	200<	50	50
<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i> JCM 1134	12.5	50	25	100
<i>L. fermentum</i> JCM 1173	50	200	12.5	12.5
<i>L. plantarum</i> JCM 1149	200	6.25	0.20	50
<i>L. reuteri</i> JCM 1112	6.25	12.5	6.25	25
<i>L. salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i> JCM 1231	0.78	12.5	0.78	6.25

inoculum size : 10^6 cfu/ml^a strict anaerobic species, ^b facultative anaerobic speciesTable 4. Antibacterial spectrum of ceftazidime against *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus* spp. compared with those of other agents

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	ceftazidime	ceftazidime	cefuzonam	flomoxef
<i>Bifidobacterium</i>				
<i>B. bifidum</i> JCM 1255	0.39	1.56	0.20	0.10
<i>B. adolescentis</i> JCM 1275	0.20	1.56	0.10	0.20
<i>B. breve</i> JCM 1192	50	50	3.13	3.13
<i>B. longum</i> JCM 1217	0.78	6.25	0.78	1.56
<i>B. pseudolongum</i> JCM 1205	0.10	1.56	0.10	0.39
<i>Lactobacillus</i>				
<i>L. acidophilus</i> JCM 1132	1.56	6.25	0.78	6.25
<i>L. brevis</i> subsp. <i>brevis</i> JCM 1059	200	200<	50	50
<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i> JCM 1134	12.5	50	25	200
<i>L. fermentum</i> JCM 1173	100	200	25	25
<i>L. plantarum</i> JCM 1149	200<	200<	200<	50
<i>L. reuteri</i> JCM 1112	6.25	12.5	6.25	50
<i>L. salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i> JCM 1231	1.56	50	1.56	6.25

inoculum size : 10^6 cfu/ml

に対し 25 $\mu\text{g/ml}$ 以上の比較的高い MIC を示したが、その他の菌種には 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 以下と優れた MIC を示し広いスペクトラムを有した。臨床材料から最もしばしば分離される重要な嫌気性菌は、*B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron* などの *B. fragilis* group と *Peptostreptococcus* spp. である¹⁰⁾。そのうち *B. fragilis* は、そのほとんどが β -lactamase を産生することが知られている。Ceftazidime は β -lactamase を多量に生産する代表的菌種として著者が用いている *B. fragilis* GAI 0558 に対し、200 $\mu\text{g/ml}$ と高い MIC を示したが、生産量の少ない株の代表として用いている *B. fragilis* GAI 5562 に対してはより低い MIC を示した。この成績は、臨床分離の *B. fragilis* を用いた同様の検討でさ

らに明らかとなった。すなわち検出感度の高いニトロセフィン法でのみ β -lactamase 産生が検出できる株 (β -lactamase low producer) の MIC₅₀ は小さいが、検出感度の低いアシドメトリー法でも検出できる株 (β -lactamase high producer) に対する MIC₅₀ は高かった。なお当然ながら *B. fragilis* group に対し、その抗菌力は cefuzonam や ceftazidime と異なり *B. fragilis* の β -lactamase に極めて安定な薬剤として知られている oxacephem 系の抗菌剤、flomoxef より明らかに劣っていた。

B. fragilis の 2/3 以上の多くの菌株が産生する β -lactamase は GAI 0558 株のそれである。Ceftazidime はこの酵素に対し ceftazidime, cefpirome と同程度の

Table 5-1. MIC distribution of cefozopran against clinical isolates of anaerobes and *G. vaginalis*

Organism	Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$) : 10^8cfu/ml		
		Range	50 %	90 %
<i>B. fragilis</i> (91 strains)	cefazopran	1.56 ~ >200	12.5	>200
	ceftazidime	6.25 ~ >200	25	>200
	cefuzonam	1.56 ~ >200	6.25	100
	flomoxef	0.39 ~ >200	0.39	200
high producer (21 strains)	cefazopran	100 ~ >200	>200	>200
	ceftazidime	25 ~ >200	>200	>200
	cefuzonam	6.25 ~ >200	100	200
	flomoxef	1.56 ~ >200	3.13	>200
low producer (70 strains)	cefazopran	1.56 ~ >200	12.5	200
	ceftazidime	6.25 ~ >200	25	200
	cefuzonam	1.56 ~ 200	6.25	25
	flomoxef	0.39 ~ >200	0.78	3.13
<i>B. thetaiotaomicron</i> (19 strains)	cefazopran	100 ~ >200	>200	>200
	ceftazidime	100 ~ >200	>200	>200
	cefuzonam	12.5 ~ >200	50	>200
	flomoxef	3.13 ~ 100	6.25	50
<i>B. ovatus</i> (8 strains)	cefazopran	100 ~ >200		
	ceftazidime	200 ~ >200		
	cefuzonam	25 ~ >200		
	flomoxef	6.25 ~ 200		
<i>B. vulgatus</i> (2 strains)	cefazopran	12.5 ~ 25		
	ceftazidime	12.5 ~ 25		
	cefuzonam	3.13 ~ 6.25		
	flomoxef	0.78 ~ 1.56		
<i>B. distasonis</i> (4 strains)	cefazopran	6.25 ~ >200		
	ceftazidime	25 ~ >200		
	cefuzonam	3.13 ~ 50		
	flomoxef	6.25 ~ 50		
<i>P. intermedia</i> (24 strains)	cefazopran	≤ 0.025 ~ 100	0.20	12.5
	ceftazidime	≤ 0.025 ~ 12.5	0.20	1.56
	cefuzonam	≤ 0.025 ~ 6.25	0.10	0.78
	flomoxef	≤ 0.025 ~ 6.25	0.10	1.56
<i>P. bivia</i> (24 strains)	cefazopran	0.39 ~ 200	50	200
	ceftazidime	0.78 ~ 200	12.5	50
	cefuzonam	0.20 ~ 25	6.25	12.5
	flomoxef	0.39 ~ 50	12.5	50
<i>P. gingivalis</i> (20 strains)	cefazopran	≤ 0.025 ~ 0.20	0.10	0.20
	ceftazidime	0.05 ~ 0.78	0.20	0.39
	cefuzonam	≤ 0.025 ~ 0.05	≤ 0.025	0.05
	flomoxef	≤ 0.025 ~ 0.20	0.05	0.10
<i>P. magnus</i> (38 strains)	cefazopran	1.56 ~ 12.5	3.13	6.25
	ceftazidime	3.13 ~ 12.5	6.25	6.25
	cefuzonam	0.20 ~ 3.13	0.78	1.56
	flomoxef	0.05 ~ 0.39	0.20	0.39
<i>P. anaerobius</i> (20 strains)	cefazopran	1.56 ~ 100	3.13	6.25
	ceftazidime	0.20 ~ 12.5	0.78	0.78
	cefuzonam	0.05 ~ 3.13	0.10	0.20
	flomoxef	0.10 ~ 6.25	0.20	0.39
<i>P. asaccharolyticus</i> (29 strains)	cefazopran	0.10 ~ 0.78	0.20	0.78
	ceftazidime	0.05 ~ 12.5	0.20	12.5
	cefuzonam	≤ 0.025 ~ 0.20	0.05	0.10
	flomoxef	≤ 0.025 ~ 0.20	0.05	0.10
<i>Mobiluncus</i> spp. (24 strains)	cefazopran	0.10 ~ 3.13	1.56	3.13
	ceftazidime	0.39 ~ 50	1.56	3.13
	cefuzonam	≤ 0.025 ~ 0.39	0.10	0.20
	flomoxef	0.05 ~ 0.78	0.39	0.78

Table 5-2. MIC distribution of ceftazopran against clinical isolates of anaerobes and *G. vaginalis*

Organism	Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ; 10^6cfu/ml		
		Range	50 %	90 %
<i>C. difficile</i> (26 strains)	ceftazopran	50 ~ 200	100	200
	ceftazidime	50 ~ >200	50	>200
	cefuzonam	50 ~ 100	50	100
	flomoxef	3.13 ~ 12.5	6.25	12.5
<i>C. perfringens</i> (14 strains)	ceftazopran	$\leq 0.025 \sim 0.05$	≤ 0.025	≤ 0.025
	ceftazidime	$\leq 0.025 \sim 0.39$	≤ 0.025	0.10
	cefuzonam	$\leq 0.025 \sim 0.05$	≤ 0.025	0.05
	flomoxef	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>G. vaginalis</i> ^a (20 strains)	ceftazopran	0.20 ~ 25	0.78	1.56
	ceftazidime	0.78 ~ 50	1.56	3.13
	cefuzonam	$\leq 0.025 \sim 3.13$	0.05	0.10
	flomoxef	$\leq 0.025 \sim 0.78$	0.10	0.10

^a facultative anaerobic bacteria

Table 6. Stability of ceftazopran against β -lactamases from three *B. fragilis* isolates

antibiotics	relative hydrolysis rate ^a		
	GAI 30144	GAI 0558	GAI 10150
ceftazopran	29.9	2.1	6.0
ceftazidime	14.3	4.3	1.3
cefuzonam	105.5	20.9	34.9
flomoxef	166.1	— ^b	—
cefpirome	84.4	6.9	5.6
imipenem	167.9	0.4	0.5
cephaloridine	100	100	100

^a: % ^b: not detectable

Note: GAI 30144; imipenem resistant, GAI 10150; ampicillin highly resistant, GAI 0558; β -lactamase high producer

安定性を示した。

Ceftazopran の *B. fragilis* をはじめとする *B. fragilis* group に対する抗菌力は、今回著者らが対照薬剤として用いた既存の注射用セファロsporin 剤である ceftazidime に最も近いと考えられた。

以上の結果と本薬剤の 250, 500 mg i. v. d. の投与での Cmax がそれぞれ 14.9, 29.1 $\mu\text{g/ml}$ であることを考え合わせると¹¹⁾, ceftazopran は、本薬剤を加水分解できる酵素を産生し比較的高い MIC を有する *B. fragilis* group の菌株および *P. bivia* と *E. lentum* など一部のこの系統に自然耐性を示す菌種を除いた多くの嫌気性菌に対して臨床的に有用性が期待できるものと考えられる。

さらに、マウスのモデルを用いた検討により、ceftazopran は対照薬剤とした flomoxef, ceftazidime よりマウス盲腸内への影響、すなわち *C. difficile* の異常増殖を引き起こす力が著しく弱いことが知られた。本薬剤の臨床第一相試験におけるヒト腸内細菌叢に及ぼ

Table 7. Emergence of *Clostridium difficile* in mouse caecum contents after 5 days, dosing of ceftazopran, flomoxef, and ceftazidime

Antimicrobial ^a	Route	Days after completing administration	No. of <i>C. difficile</i> (colony forming units/g of caecum content)					
			< 10 ²	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
ceftazopran	s.c.	1	5					
		7	5					
flomoxef	s.c.	1		1		1		3
		7	5					
ceftazidime	s.c.	1	2	1	1			
		7	1	2	2			1
control (no drug)		1	5					
		7	5					

^aFive mice (ddY strain) received each antimicrobial at a dose of 20 mg/kg twice a day for 5 days.

す影響の検討でも、細菌叢への影響は軽微で *C. difficile* の出現も見られなかったと述べられている¹¹⁾。これらの成績から cefozopran の抗菌剤関連下痢症を起す可能性は低いことが予想された。

文 献

- 1) Iwahi T, Okonoi K, Yamazaki T, Shiki S, Kondo M, Miyake K, Imada A: *In vitro* and *in vivo* activities of SCE-2787, a new parenteral cephalosporin with a broad antibacterial spectrum. *Antimicrob Agent Chemother* 36(7) : 1358~1366, 1992
- 2) Miyake A, Yoshimura Y, Yamaoka M, Nishimura T, Hashimoto N, Imada A : Studies on condensed - heterocyclic azolium cephalosporins. *J Antibiot* 45(5) : 709~720, 1992
- 3) Nakao M, Noji Y, Iwahi T, Yamazaki T : Antibacterial properties of SCE-2787, a new cephem antibiotic. *J Antimicrob Chemother* 29 : 509~518, 1992
- 4) Holdeman L V, Cato E P and Moore W E C : *Anaerobe laboratory Manual* 4th Edition, The Virginia Polytechnic Institute and State University Anaerobe Laboratory, Blacksburg, Virginia 1972
- 5) 嫌気性菌の MIC 測定法検討委員会 : 嫌気性菌の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法. *Chemotherapy*. 27(3) : 559~560, 1979
- 6) 沢 赫代, 渡辺邦友, 上野一恵 : 帯下より分離された *Gardnerella vaginalis* と *Mobiluncus* spp. の各種化学療法剤に対する薬剤感受性. *Chemotherapy* 36(10) : 706~712, 1988
- 7) Bando K, Watanabe K, Muto Y, Tanaka Y, Kato N, Ueno K : Conjugal transfer of imipenem resistance in *Bacteroides fragilis*. *J Antibiot* 45(4) : 542~547, 1992
- 8) Yamaoka K, Watanabe K, Muto Y, Kano K, Tally F P : R-plasmid mediated transfer of β -lactam resistance in *Bacteroides fragilis*. *J Antibiot* 43(10) : 1302~1306, 1990
- 9) Asahi Y, Watanabe K, Ueno K : Biochemical properties of β -lactamase produced by *Bacteroides distasonis*. *J Antibiot* 42(6) : 960~967, 1989
- 10) Finegold S M ed. : *General Aspects of Anaerobic Infection, in Anaerobic Infections in Humans*, Academic Press, Inc., San Diego, California, 1989
- 11) 山本俊夫, 足立幸彦, 長峰保郎, 諏訪雅男, 南野達夫 : Cefozopran の臨床第 I 相試験. *診療と新薬*. 30(2) : 281~304, 1993

In vitro antibacterial activity of novel cephalosporin, cefozopran, against anaerobic bacteria

Kunitomo Watanabe, Kaori Tanaka, Naoki Kato, Haru Kato

Yasunori Tanaka and Kazue Ueno

Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University

The antibacterial activity of a novel cephalosporin, cefozopran, against anaerobic bacteria of reference and clinical isolates was determined by agar dilution method. The stability of this compound against β -lactamases derived from three *B. fragilis* isolates and the effect of this compound on the normal cecal flora in mice was also determined.

Cefozopran was very active against *Peptostreptococcus*, and *Porphyromonas* spp., and inhibited the growth of most anaerobic bacterial species tested at the concentration of 6.25 μ g/ml, except several species including *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides ovatus*, *Prevotella bivia*, *Clostridium difficile* and *Eubacterium lentum*.

Cefozopran was hydrolysed to some extent by the β -lactamases from three isolates of *B. fragilis*, but it was more stable than cefuzonam and as stable as ceftazidime. This compound, when administered subcutaneously, did not lead to the overgrowth of *Clostridium difficile* in murine cecum.