

SY5555 の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力

西野 武志・岡本 清美・岩尾 佳世・大槻 雅子

京都薬科大学微生物学教室*

新規経口ペネム系抗生物質SY5555の*in vitro*および*in vivo*抗菌力をcefteram pivoxil (*in vitro*実験ではcefteram (CFTM)), cefixime (CFIX), cefaclor (CCL) およびamoxicillin (AMPC) と比較検討した。

SY5555は*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter calcoaceticus*を除く好気性菌および嫌気性菌に対して幅広い抗菌スペクトルを示した。臨床分離株に対する抗菌力(MIC)の比較では、SY5555はenterococciを含む好気性グラム陽性菌に対してAMPCとはほぼ同等であり、CFTM, CFIX およびCCLより優れていた。好気性グラム陰性菌に対する本薬の抗菌力はCFTM, CFIXより若干劣るが、CCL, AMPCより優れていた。

SY5555の抗菌力は培地の種類によりほとんど影響を受けなかった。しかし、培地のpH、馬血清添加、接種菌量による影響は比較薬と同様若干観察された。

細菌の増殖曲線に及ぼすSY5555の影響について検討したところ、*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*に対して本薬は濃度依存的な殺菌効果を示した。また、penicillinase産生プラスミドを導入した*E. coli*に対する本薬の殺菌作用は親株に対するものと同等であった。

SY5555作用時の細菌の形態変化を観察すると、sub-MIC下の*S. aureus*では隔壁形成部位の膨隆が、*E. coli*では球状およびバルジ状を呈する菌体が認められた。また、MIC以上では両菌ともに多くの溶菌像が観察された。

マウス実験的腹腔内感染症に対するSY5555の治療効果は本薬の優れた*in vitro*抗菌力(MIC)を必ずしも反映しなかった。この結果はマウスにおける本薬の体内動態に起因すると考えられる。一方、*E. coli*によるウサギ実験的上行性尿路感染症に対するSY5555の除菌効果はほぼ用量依存的であり、CFIX, CCLより優れていた。

Key words : SY5555, *in vitro* 抗菌力, *in vivo* 抗菌力, 形態変化

SY5555はサントリー株式会社生物医学研究所で創製された新規経口ペネム系抗生物質である。本薬は化学名(+)-(5R, 6S)-sodium 6-[(R)-1-hydroxyethyl]-7-oxo-3-[(R)-2-tetrahydrofuryl]-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylate 5/2 hydrateであり、ペネム環の2位が光学活性なテトラヒドロフリル基に置換されていることを構造上の特徴とする。本薬は*Pseudomonas aeruginosa*を除く好気性のグラム陽性菌・グラム陰性菌および嫌気性菌に対して幅広い抗菌スペクトルを有し、また、既存の経口セフェム薬に耐性を示す β -lactamase産生菌に対しても良好な抗菌活性を示すことが報告されている¹⁾。今回我々はSY5555の*in vitro*および*in vivo*抗菌力をcefteram pivoxil (*in vitro*実験ではcefteram), cefixime, cefaclor および amoxicillin と比較検討した。

I. 実験材料および実験方法

1. 使用菌株

標準株として、教室保存の好気性グラム陽性菌18株、好気性グラム陰性菌32株および嫌気性菌23株を用いた。また臨床分離株として、*Staphylococcus aureus* 87株、methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) 42株、*Staphylococcus epidermidis* 37株、*Streptococcus pyogenes* 34株、*Streptococcus pneumoniae* 29株、*Enterococcus faecalis* 30株、*Enterococcus faecium* 30株、*Enterococcus avium* 14株、*Escherichia coli* 88株、*Klebsiella* spp. 63株、*Citrobacter freundii* 34株、*Enterobacter cloacae* 29株、*Enterobacter aerogenes* 34株、*Serratia marcescens* 87株、*Proteus mirabilis* 29株、*Proteus vulgaris* 41株、*Providencia rettgeri* 17株、*Morganella morganii* 29株、*Acinetobacter calcoaceticus* 57株、*Haemophilus influenzae* 48株、*Morax-*

* 〒 607 京都府京都市山科区御陵中内町 5

Table 1. Antibacterial spectrum of SY5555 against gram-positive bacteria

(Inoculum size: 10^6 CFU/ml)

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	SY5555	cefteram	cefixime	cefaclor	amoxicillin
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P JC	0.1	3.13	25	1.56	0.2
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	0.1	3.13	12.5	1.56	0.2
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	0.2	6.25	12.5	6.25	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> Neumann	0.1	6.25	12.5	1.56	0.2
<i>Staphylococcus aureus</i> No.80	0.1	3.13	6.25	0.78	1.56
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.39	25	100	1.56	0.39
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23	≤ 0.025	≤ 0.025	0.1	0.1	≤ 0.025
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	0.05	≤ 0.025	0.1	0.2	≤ 0.025
<i>Streptococcus pyogenes</i> C-203	≤ 0.025	≤ 0.025	0.05	0.05	≤ 0.025
<i>Enterococcus faecalis</i>	12.5	>100	>100	50	0.78
Viridans group <i>Streptococcus</i>	6.25	>100	>100	50	0.78
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type I	≤ 0.025	≤ 0.025	0.2	0.78	≤ 0.025
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type II	≤ 0.025	0.05	0.2	0.39	≤ 0.025
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type III	≤ 0.025	≤ 0.025	0.2	0.78	≤ 0.025
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	0.39	3.13	25	0.78	0.39
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> Toronto	≤ 0.025	0.39	0.2	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.05	0.05	0.78	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	≤ 0.025	0.39	0.78	0.1	≤ 0.025

ella catarrhalis 18株および *Neisseria gonorrhoeae* 27株を用いた。

2. 使用薬剤

SY5555 (サントリー), cefteram (CFTM, 富山化学工業), cefteram pivoxil (CFTM-PI, 富山化学工業), cefixime (CFIX, 藤沢薬品工業), cefaclor (CCL, 塩野義製薬) および amoxicillin (AMPC, 武田薬品工業) のいずれも力価の明らかなものを用いた。

3. 感受性測定法

好気性菌の感受性測定は日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法²⁾に準じて実施し、前培養には感受性測定用ブイヨン (STB, 栄研またはニッスイ), MIC 測定には感受性測定用寒天培地 (STA, 栄研またはニッスイ) を使用した。なお, *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp. および *Corynebacterium diphtheriae* には10%馬脱繊維血液 (DHB, 日本バイオテスト研究所) 加 STA を, *M. catarrhalis* には5% DHB 加 STA チョコレート寒天培地を前培養・MIC 測定ともに用いた。*H. influenzae* では前培養に5% Fildes enrichment (Difco) 加 STB, MIC 測定に5% Fildes enrichment 加 STA を使用した。*Neisseria* spp. の場合, 前培養・MIC 測定ともに5% DHB 加 STA チョコレート寒天培地を用い, 37°C, 48時間ロウソク培養を行った。

嫌気性菌の感受性測定は日本化学療法学会嫌気性菌

最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法³⁾に準じて行い, 前培養に GAM broth (ニッスイ), MIC 測定に GAM agar (ニッスイ) を用いた。また, 嫌気培養は嫌気チャンパー (Forma scientific) を用い, 35°C, 24時間行った。

4. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす培地の種類, 培地の pH, 馬血清添加および接種菌量の影響を MIC の変動を測定することにより検討した。なお, MIC は *S. aureus* 209P JC-1, *S. aureus* Smith, *S. epidermidis* ATCC 14990, *E. coli* NIHJ JC-2, *E. coli* KC-14, *Klebsiella pneumoniae* PCI 602, *K. pneumoniae* KC-1 および *P. vulgaris* GN 7919 を被検菌として寒天平板希釈法により測定し, 比較薬として CFIX, CCL を用いた。

5. 増殖曲線に及ぼす影響

STA で前培養した被検菌を STB に懸濁後, 37°C で振盪培養を行った。対数増殖期途上 (約 1×10^6 CFU/ml) の菌液に種々濃度の薬剤を添加し, 薬剤添加1, 3, 5, 24時間後の生菌数を測定した。生菌数は適宜希釈した菌液を寒天平板上に塗布することにより求めた。被検菌として *S. aureus* 209P JC-1, *E. coli* NIHJ JC-2 および *E. coli* KC-14 を使用した。また, *E. coli* KC-14 に penicillinase 産生プラスミドを導入した *E. coli* KC-14/RGN823 および *E. coli* KC-14/RGN238 に対する効果も併せて検討した。

Table 2. Antibacterial spectrum of SY5555 against gram-negative bacteria

Organism	(Inoculum size : 10 ⁶ CFU/ml)				
	MIC (μg/ml)				
	SY5555	cefeteram	cefixime	cefaclor	amoxicillin
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	≤0.025	≤0.025	≤0.025	0.05	0.1
<i>Neisseria meningitidis</i>	≤0.025	≤0.025	≤0.025	0.2	0.1
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC 2	0.1	≤0.025	≤0.025	0.78	0.78
<i>Escherichia coli</i> NIH	0.39	0.2	0.78	1.56	3.13
<i>Escherichia coli</i> K 12	0.78	0.05	0.2	1.56	3.13
<i>Escherichia coli</i> KC 14	0.78	0.2	0.05	0.78	1.56
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018 68	0.2	≤0.025	≤0.025	6.25	25
<i>Salmonella typhi</i> T 287	0.1	0.1	≤0.025	0.2	0.2
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.39	0.1	≤0.025	0.78	0.39
<i>Salmonella paratyphi</i> B	0.2	0.2	≤0.025	0.39	0.39
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.39	0.1	≤0.025	0.39	0.39
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.39	0.39	0.2	1.56	3.13
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.1	100	>100	25	12.5
<i>Shigella flexneri</i> Komagome	0.39	0.2	0.2	0.78	3.13
<i>Shigella boydii</i> EW 28	0.39	0.1	0.39	0.78	3.13
<i>Shigella sonnei</i> EW 33	0.39	0.05	0.2	0.78	3.13
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	1.56	0.39	0.05	0.78	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC 1	0.39	0.2	≤0.025	0.78	0.78
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	3.13	3.13	12.5	>100	>100
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3.13	0.39	0.39	>100	>100
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	1.56	6.25	12.5	>100	>100
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	1.56	6.25	3.13	>100	100
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	12.5	3.13	0.39	>100	100
<i>Proteus vulgaris</i> OX 19	1.56	≤0.025	≤0.025	25	50
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	3.13	≤0.025	≤0.025	3.13	0.78
<i>Morganella morganii</i> Kono	1.56	6.25	25	>100	>100
<i>Providencia rettgeri</i> NIH 96	0.78	0.05	≤0.025	1.56	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IAM 1095	25	25	3.13	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO 1	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> NCTC 7844	12.5	50	25	>100	100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> Ac 54	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211	0.1	≤0.025	≤0.025	0.2	0.1

6. 形態変化の観察

(1) 位相差顕微鏡による形態観察

スライドガラス上に作製した種々濃度のSY5555を含む薄層寒天培地に対数増殖期の *S. aureus* 209P JC-1, *E. coli* K-12を塗抹後、カバーガラスで覆いパラフィンで封入した。この標本を37℃で培養し位相差顕微鏡（日本光学）下で観察した。

(2) 走査型電子顕微鏡による形態観察

Trypto-soya broth（ニッスイ）で前培養した被検菌をHeart infusion broth（ニッスイ）に1%接種し、37℃で振盪培養した。培養約3時間後の対数増殖期に所定濃度のSY5555を添加し、以後経時的に菌体を集

菌した。菌体は1.5% glutaraldehyde溶液にて前固定を行い、Kellenberger緩衝液⁴⁾で洗浄後、1% osmium acidで本固定を行った。次にアルコール系列で脱水し、酢酸イソアミルに置換後、臨界点乾燥法により乾燥を行った。その後速やかにカーボン、金にて蒸着を行い、走査型電子顕微鏡JSM-35（JEOL）で菌体の表面構造を観察した。

(3) 透過型電子顕微鏡による形態観察

(2)と同様に被検菌を固定後、2%寒天に懸濁、固化し、寒天ブロックを作製後、2%酢酸ウラニル緩衝液でブロック染色を行った。次にアルコール系列で脱水し、Luftらの方法⁵⁾に準じてエポキシ樹脂に包埋した。

Table 3. Antibacterial spectrum of SY5555 against anaerobic bacteria

(Inoculum size : 10⁶ CFU/ml)

Organism	MIC (μg/ml)				
	SY5555	cefteram	cefixime	cefaclor	amoxicillin
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> GAI 1161	0.1	0.1	0.78	0.39	0.1
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> 4280-2	≤0.025	0.78	0.78	0.39	≤0.025
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 11828	≤0.025	0.39	1.56	0.78	≤0.025
<i>Propionibacterium acnes</i> T-16	≤0.025	0.2	0.39	0.78	0.05
<i>Eubacterium lentum</i> GAI 1515	1.56	100	>100	25	1.56
<i>Eubacterium limosum</i> ATCC 8486	0.05	0.2	3.13	3.13	0.1
<i>Clostridium tetani</i>	≤0.025	0.78	3.13	1.56	0.1
<i>Clostridium perfringens</i>	0.1	0.78	3.13	1.56	≤0.025
<i>Clostridium sporogenes</i>	0.39	6.25	12.5	3.13	0.2
<i>Clostridium sporogenes</i> GAI 0005	0.1	>100	>100	>100	>100
<i>Clostridium ramosum</i> GAI 2560	0.05	12.5	>100	25	0.1
<i>Bacteroides fragilis</i> GM 7000	≤0.025	12.5	6.25	100	12.5
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	≤0.025	12.5	12.5	>100	12.5
<i>Bacteroides fragilis</i> V-240-2	0.1	>100	>100	>100	>100
<i>Bacteroides fragilis</i> V-283	0.05	>100	100	>100	100
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> WAL 2926	0.1	100	50	>100	25
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> WAL 3304	0.1	100	50	>100	25
<i>Bacteroides distasonis</i> Ju-11-1	≤0.025	6.25	6.25	100	6.25
<i>Bacteroides distasonis</i> clin-99-3	1.56	50	50	>100	100
<i>Bacteroides vulgatus</i> ES-14	0.05	6.25	1.56	6.25	12.5
<i>Bacteroides ovatus</i> Ju-6-1	3.13	50	50	>100	25
<i>Fusobacterium varium</i> ATCC 8501	0.1	50	25	50	1.56
<i>Fusobacterium mortiferum</i> F-1-9	0.1	>100	50	25	0.78

これを ultramicrotome 480 IA (LKB) を用いて超薄切片を作製し、酢酸ウラニル飽和溶液、クエン酸鉛溶液を用いて二重染色⁶⁾を行った後、透過型電子顕微鏡 JEM 1200EX (JEOL) で観察した。

7. マウス実験の腹腔内感染症に対する治療効果

マウスはICR系、雄、5週齢(日本エスエルシー)を1群10匹で使用し、感染菌としては *S. aureus* Smith, *S. pyogenes* C-203, *S. pneumoniae* Type III, *E. coli* KC-14, *E. coli* KC-14/RGN823, *E. coli* KC-14/RGN238 および *E. coli* 33 を用いた。寒天培地上で37℃一夜培養した各菌株を Nutrient broth (ニッスイ) または生理食塩水にて所定の菌量に懸濁した後、最終濃度5%となるようムチン (Difco または和光) を添加し、感染菌液とした。ただし、*S. pyogenes* C-203 についてはムチン無添加の菌液を調製した。菌液の0.5ml をマウス腹腔内に接種することにより感染を惹起した。所定濃度に調製した各薬剤を菌接種2時間後に1回0.2ml 経口投与し、5~7日後のマウスの生存率をもとに Probit 法を用いて50% effective dose (ED₅₀) を算出した。なお、SY5555 は滅菌蒸留水に、その他の

薬剤は0.5% carboxymethyl cellulose (ナカライ) 溶液に溶解または懸濁することにより調製した。

8. ウサギ実験の上行性尿路感染症⁷⁾に対する治療効果

ウサギは日本白色種、雄、体重約2kg(清水実験材料)を1群3~4羽で使用し、感染菌としては *E. coli* 444 を用いた。Nutrient broth (ニッスイ) 中で37℃一夜培養した *E. coli* 444 を同培地で所定の菌量に希釈し、感染菌液とした。ペントバルビタール麻酔下開腹したウサギの左尿管内に菌液0.1ml を上行性に注入した後、切開部を縫合した。また、菌液注入時に左尿管を軽く結紮することにより尿管狭窄を作製した。SY5555 の治療効果の用量検討では菌接種4, 24, 32, 48, 56 および72時間後の計6回、1回5, 10, 25および50mg/kg の本薬を経口投与し、SY5555 と CFIX, CCL との治療効果の比較検討では菌接種4, 24, 32, 48および56時間後の計5回、1回5mg/kg の各薬剤を経口投与した。治療効果は薬剤最終投与16~24時間後に左腎内生菌数を測定し、除菌効果として表示した。なお、薬剤調製は7項と同様に行った。

Table 4. Antibacterial activity of SY5555 against gram-positive clinical isolates

Organism No. of isolates ¹⁾	Antibiotic	MIC($\mu\text{g/ml}$)		
		Range	50%	90%
<i>Staphylococcus aureus</i> (87)	SY5555	$\leq 0.025 \sim 0.2$	0.1	0.2
	cefteram	0.78 \sim 6.25	3.13	3.13
	cefixime	3.13 \sim 25	12.5	12.5
	cefaclor	$\leq 0.025 \sim 6.25$	1.56	3.13
	amoxicillin	$\leq 0.025 \sim 3.13$	0.2	1.56
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (42)	SY5555	0.39 \sim >100	1.56	>100
	cefteram	12.5 \sim >100	>100	>100
	cefixime	>100	>100	>100
	cefaclor	12.5 \sim >100	>100	>100
	amoxicillin	25 \sim 100	50	100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (37)	SY5555	$\leq 0.025 \sim$ >100	0.1	25
	cefteram	$\leq 0.025 \sim$ >100	3.13	100
	cefixime	0.78 \sim >100	6.25	>100
	cefaclor	$\leq 0.025 \sim 50$	0.78	25
	amoxicillin	$\leq 0.025 \sim 50$	0.2	6.25
<i>Streptococcus pyogenes</i> (34)	SY5555	$\leq 0.025 \sim 0.05$	≤ 0.025	≤ 0.025
	cefteram	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
	cefixime	0.1 \sim 0.39	0.2	0.2
	cefaclor	0.1 \sim 1.56	0.2	0.39
	amoxicillin	$\leq 0.025 \sim 0.05$	≤ 0.025	0.05
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (29)	SY5555	$\leq 0.025 \sim 0.78$	≤ 0.025	0.2
	cefteram	$\leq 0.025 \sim 12.5$	0.05	0.2
	cefixime	0.2 \sim 100	0.39	1.56
	cefaclor	0.2 \sim 25	0.39	1.56
	amoxicillin	$\leq 0.025 \sim 3.13$	≤ 0.025	0.2
<i>Enterococcus faecalis</i> (30)	SY5555	0.78 \sim 6.25	1.56	3.13
	cefteram	6.25 \sim >100	>100	>100
	cefixime	12.5 \sim >100	>100	>100
	cefaclor	6.25 \sim >100	100	100
	amoxicillin	0.78 \sim 1.56	0.78	0.78
<i>Enterococcus faecium</i> (30)	SY5555	0.78 \sim >100	6.25	50
	cefteram	0.78 \sim >100	>100	>100
	cefixime	12.5 \sim >100	>100	>100
	cefaclor	6.25 \sim >100	50	100
	amoxicillin	0.1 \sim 25	0.39	3.13
<i>Enterococcus avium</i> 14	SY5555	3.13 \sim 25	6.25	25
	cefteram	25 \sim >100	100	>100
	cefixime	>100	>100	>100
	cefaclor	6.25 \sim >100	12.5	>100
	amoxicillin	0.39 \sim 12.5	0.78	12.5

Table 5-1. Antibacterial activity of SY5555 against gram-negative clinical isolates

Organism (No. of isolates)	Antibiotic	MIC ^a (μg/ml) (Inoculum size : 10 ⁶ CFU/ml)		
		Range	50%	90%
<i>Escherichia coli</i> (88)	SY5555	0.1 ~ 3.13	0.78	1.56
	cefteram	≤0.025 ~ 6.25	0.2	0.78
	cefixime	0.1 ~ >100	0.39	1.56
	cefaclor	0.78 ~ >100	3.13	6.25
	amoxicillin	0.2 ~ >100	6.25	>100
<i>Klebsiella</i> spp. (63)	SY5555	0.39 ~ 6.25	0.78	1.56
	cefteram	≤0.025 ~ 25	0.39	0.39
	cefixime	≤0.025 ~ >100	0.1	0.1
	cefaclor	0.39 ~ >100	0.78	6.25
	amoxicillin	1.56 ~ >100	>100	>100
<i>Citrobacter freundii</i> (34)	SY5555	0.2 ~ 3.13	0.78	3.13
	cefteram	0.39 ~ >100	1.56	>100
	cefixime	0.1 ~ >100	1.56	>100
	cefaclor	0.78 ~ >100	50	>100
	amoxicillin	3.13 ~ >100	100	>100
<i>Enterobacter cloacae</i> (29)	SY5555	1.56 ~ 25	6.25	12.5
	cefteram	0.2 ~ 25	0.78	3.13
	cefixime	0.05 ~ 100	1.56	12.5
	cefaclor	0.78 ~ >100	>100	>100
	amoxicillin	>100	>100	>100
<i>Enterobacter aerogenes</i> (34)	SY5555	0.78 ~ 25	3.13	12.5
	cefteram	0.2 ~ >100	0.78	50
	cefixime	0.2 ~ >100	1.56	>100
	cefaclor	25 ~ >100	>100	>100
	amoxicillin	>100	>100	>100
<i>Serratia marcescens</i> (87)	SY5555	3.13 ~ 100	12.5	50
	cefteram	0.39 ~ >100	6.25	100
	cefixime	0.2 ~ >100	1.56	25
	cefaclor	100 ~ >100	>100	>100
	amoxicillin	25 ~ >100	>100	>100
<i>Proteus mirabilis</i> (29)	SY5555	0.78 ~ 6.25	3.13	6.25
	cefteram	≤0.025 ~ 0.39	0.1	0.2
	cefixime	≤0.025	≤0.025	≤0.025
	cefaclor	0.78 ~ 6.25	1.56	3.13
	amoxicillin	0.39 ~ 6.25	0.78	1.56
<i>Proteus vulgaris</i> (41)	SY5555	0.39 ~ 25	3.13	6.25
	cefteram	≤0.025 ~ 25	0.2	0.78
	cefixime	≤0.025 ~ 1.56	≤0.025	0.1
	cefaclor	1.56 ~ >100	>100	>100
	amoxicillin	0.78 ~ >100	6.25	>100
<i>Providencia rettgeri</i> (17)	SY5555	0.2 ~ 6.25	1.56	6.25
	cefteram	≤0.025 ~ 12.5	0.78	6.25
	cefixime	≤0.025 ~ 0.78	0.1	0.78
	cefaclor	1.56 ~ >100	>100	>100
	amoxicillin	0.2 ~ 25	6.25	25

Table 5 2. Antibacterial activity of SY5555 against gram-negative clinical isolates

Organism No. of isolates	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$) (Inoculum size : 10^6 CFU/ml)		
		Range	50%	90%
<i>Morganella morganii</i> 29	SY5555	0.39 ~ 12.5	1.56	12.5
	cefteram	0.1 ~ 25	0.2	12.5
	cefixime	0.05 ~ 50	0.78	50
	cefactor	50 ~ >100	>100	>100
	amoxicillin	50 ~ >100	>100	>100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 57	SY5555	0.2 ~ 25	6.25	25
	cefteram	0.39 ~ >100	25	>100
	cefixime	0.78 ~ >100	12.5	100
	cefactor	1.56 ~ >100	50	>100
	amoxicillin	3.13 ~ >100	25	50
<i>Haemophilus influenzae</i> 48	SY5555	0.1 ~ >100	0.2	0.78
	cefteram	≤ 0.025 ~ >100	≤ 0.025	0.05
	cefixime	≤ 0.025 ~ 0.1	≤ 0.025	0.05
	cefactor	0.39 ~ >100	0.78	6.25
	amoxicillin	0.2 ~ 100	0.39	0.78
<i>Moraxella catarrhalis</i> 18	SY5555	0.05 ~ 0.78	0.39	0.78
	cefteram	0.1 ~ 1.56	0.78	1.56
	cefixime	0.05 ~ 1.56	0.2	0.39
	cefactor	0.39 ~ 1.56	0.39	0.78
	amoxicillin	0.05 ~ 6.25	1.56	6.25
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> 27	SY5555	≤ 0.025 ~ 0.1	≤ 0.025	0.1
	cefteram	≤ 0.025 ~ 0.1	≤ 0.025	0.05
	cefixime	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
	cefactor	0.05 ~ 0.78	0.2	0.78
	amoxicillin	0.1 ~ 50	0.2	6.25

II. 実験結果

1. 抗菌スペクトル

教室保存の好気性グラム陽性菌、好気性グラム陰性菌および嫌気性菌に対するSY5555の抗菌力について検討した結果をTable 1~3に示す。

好気性グラム陽性菌に対するSY5555のMIC値は ≤ 0.025 ~ $12.5\mu\text{g/ml}$ で、その抗菌力はCFTM、CFIXおよびCCLより優れ、AMPCとほぼ同等であった。*P. aeruginosa*, *A. calcoaceticus*を除く好気性グラム陰性菌に対しては本薬はCFTM、CFIXより若干劣るものの、CCL、AMPCより優れた抗菌力を示した。しかし、*P. aeruginosa*, *A. calcoaceticus*に対しては、比較薬と同様抗菌力は弱かった。

一方、嫌気性菌に対するSY5555のMIC値は ≤ 0.025 ~ $3.13\mu\text{g/ml}$ で、本薬の抗菌力は試験薬中で最も優れていた。特に、比較薬が高いMIC値を示す*Bacteroides* spp.等のグラム陰性菌に対して、本薬は強い抗菌力を示した。

2. 臨床分離株に対する抗菌力

各種臨床分離株に対するSY5555のMIC range, MIC₅₀およびMIC₉₀をTable 4および5に示す。

(1) *S. aureus*の場合

SY5555のMIC rangeは ≤ 0.025 ~ $0.2\mu\text{g/ml}$, MIC₉₀値は $0.2\mu\text{g/ml}$ で、本薬は試験薬中最も優れた抗菌力を示した。

(2) MRSAの場合

SY5555のMIC rangeは 0.39 ~ $>100\mu\text{g/ml}$ と広く、また、すべての試験薬のMIC₉₀値は $100\mu\text{g/ml}$ 以上であった。しかし、本薬のMIC₅₀値は $1.56\mu\text{g/ml}$ で試験薬中極めて小さい値であった。

(3) *S. epidermidis*の場合

SY5555のMIC rangeは ≤ 0.025 ~ $>100\mu\text{g/ml}$ と比較薬と同様に広がったが、MIC₅₀値は $0.1\mu\text{g/ml}$ で試験薬中で最も優れていた。しかし、MIC₉₀値を比較すると本薬の抗菌力はAMPCより劣り、CCLと同様であった。

Table 6. Influence of the type of medium on the antibacterial activity

(Inoculum size : 10^6 CFU/ml)

Organism	Medium*	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		SY5555	cefixime	cefactor
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P JC-1	SDA	0.1	25	1.56
	NA	0.1	12.5	1.56
	TSA	0.1	25	1.56
	HIA	0.1	25	1.56
	BHIA	0.05	12.5	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	SDA	0.1	12.5	1.56
	NA	0.1	12.5	0.78
	TSA	0.1	12.5	1.56
	HIA	0.1	12.5	1.56
	BHIA	0.1	6.25	3.13
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	SDA	0.05	3.13	0.39
	NA	0.05	3.13	0.39
	TSA	0.05	3.13	0.39
	HIA	0.1	3.13	0.39
	BHIA	0.05	1.56	0.78
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	SDA	0.78	0.2	1.56
	NA	0.39	0.39	0.78
	TSA	0.78	0.39	1.56
	HIA	0.78	0.39	3.13
	BHIA	1.56	0.39	3.13
<i>Escherichia coli</i> KC-14	SDA	0.1	≤ 0.025	0.2
	NA	0.2	≤ 0.025	0.39
	TSA	0.2	≤ 0.025	0.39
	HIA	0.2	≤ 0.025	0.39
	BHIA	0.2	≤ 0.025	0.78
<i>Klebsiella pneumoniae</i> PCI 602	SDA	0.1	≤ 0.025	0.78
	NA	0.2	≤ 0.025	0.78
	TSA	0.2	≤ 0.025	0.78
	HIA	0.2	≤ 0.025	0.78
	BHIA	0.2	≤ 0.025	1.56
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	SDA	0.2	≤ 0.025	0.78
	NA	0.39	0.05	0.39
	TSA	0.39	≤ 0.025	0.78
	HIA	0.39	≤ 0.025	0.78
	BHIA	0.78	0.05	1.56
<i>Proteus vulgaris</i> GN 7919	SDA	0.39	0.2	> 100
	NA	0.78	0.2	> 100
	TSA	0.78	0.39	> 100
	HIA	0.78	0.39	> 100
	BHIA	0.78	0.78	> 100

* SDA, Sensitivity disk agar (Nissui) ; NA, Nutrient agar (Nissui) ;
TSA, Trypto-soya agar (Nissui) ; HIA, Heart infusion agar (Nissui) ;
BHIA, Brain heart infusion agar (Nissui).

Table 7. Influence of pH of medium on the antibacterial activity

Organism	pH	MIC ($\mu\text{g/ml}$) (Inoculum size : 10^6 CFU/ml)		
		SY5555	cefixime	cefaclor
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P JC-1	5	≤ 0.025	0.78	0.39
	6	0.05	6.25	0.78
	7	0.1	12.5	1.56
	8	0.2	25	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	5	≤ 0.025	3.13	0.78
	6	0.05	6.25	0.78
	7	0.1	12.5	1.56
	8	0.2	25	1.56
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	5	≤ 0.025	0.78	0.2
	6	≤ 0.025	1.56	0.2
	7	0.05	3.13	0.39
	8	0.1	3.13	0.39
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	5	1.56	0.78	3.13
	6	0.78	0.39	1.56
	7	0.39	0.2	3.13
	8	0.39	0.2	3.13
<i>Escherichia coli</i> KC-14	5	0.39	0.05	1.56
	6	0.2	≤ 0.025	0.39
	7	0.2	≤ 0.025	0.39
	8	0.2	≤ 0.025	0.78
<i>Klebsiella pneumoniae</i> PCI 602	5	0.1	0.1	3.13
	6	0.2	≤ 0.025	0.78
	7	0.2	≤ 0.025	0.78
	8	0.39	0.05	0.78
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	5	0.78	0.1	1.56
	6	0.39	0.05	0.78
	7	0.2	≤ 0.025	0.39
	8	0.2	≤ 0.025	0.78
<i>Proteus vulgaris</i> GN 7919	5	0.78	0.2	>100
	6	0.78	0.39	>100
	7	1.56	0.39	>100
	8	0.78	0.2	>100

Medium : Sensitivity disk agar (Nissui)

(4) *S. pyogenes* の場合

SY5555 の MIC₉₀値 は $\leq 0.025 \mu\text{g/ml}$ で、CFTM、AMPC と同等であり、CFIX、CCL より優れていた。

(5) *S. pneumoniae* の場合

SY5555 の MIC₅₀値、MIC₉₀値はそれぞれ ≤ 0.025 、 $0.2 \mu\text{g/ml}$ で、CFTM、AMPC と同等であり、CFIX、CCL より優れていた。

(6) *E. faecalis* の場合

SY5555 は $0.78 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$ と AMPC に次ぐ狭い MIC range を示した。また、MIC₉₀値は $3.13 \mu\text{g/ml}$ で、本薬の抗菌力は AMPC より若干劣るものの、CFTM、

CFIX および CCL より非常に優れていた。

(7) *E. faecium* の場合

SY5555 の MIC₅₀値、MIC₉₀値はそれぞれ 6.25 、 $50 \mu\text{g/ml}$ で、AMPC より劣るものの、CFTM、CFIX および CCL より優れていた。

(8) *E. avium* の場合

SY5555 の MIC₅₀値、MIC₉₀値はそれぞれ 6.25 、 $25 \mu\text{g/ml}$ で、AMPC より劣るものの、CFTM、CFIX および CCL より優れていた。

(9) *E. coli* の場合

SY5555 の MIC₉₀値は $1.56 \mu\text{g/ml}$ で、本薬の抗菌力

Table 8. Influence of addition of horse serum on the antibacterial activity

Organism	Horse serum (%)	MIC (μg/ml) ¹⁾		
		SY5555	cefixime	cefactor
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P JC-1	0	0.1	25	1.56
	10	0.2	50	3.13
	25	0.78	50	6.25
	50	0.78	25	6.25
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	0	0.1	12.5	1.56
	10	0.2	25	1.56
	25	0.39	25	3.13
	50	0.78	25	6.25
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	0	0.05	3.13	0.39
	10	0.1	3.13	0.39
	25	0.2	3.13	0.1
	50	0.05	1.56	≤0.025
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC 2	0	0.39	0.2	3.13
	10	0.78	0.2	3.13
	25	1.56	0.2	12.5
	50	3.13	0.2	12.5
<i>Escherichia coli</i> KC-14	0	0.2	≤0.025	0.39
	10	0.39	≤0.025	0.78
	25	0.78	0.05	1.56
	50	0.78	0.05	6.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> PCI 602	0	0.2	0.1	0.78
	10	0.39	0.05	1.56
	25	0.78	0.05	1.56
	50	0.78	≤0.025	3.13
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	0	0.39	≤0.025	0.78
	10	0.78	≤0.025	0.78
	25	0.78	≤0.025	1.56
	50	0.78	≤0.025	3.13
<i>Proteus vulgaris</i> GN 7919	0	0.78	0.2	>100
	10	1.56	0.2	>100
	25	1.56	0.39	>100
	50	1.56	0.78	>100

Medium : Sensitivity disk agar (Nissui)

は CFTM, CFIX とほぼ同等であり, CCL, AMPC より優れていた。

(10) *Klebsiella* spp. の場合

SY5555 の MIC range は 0.39~6.25 μg/ml と狭く, MIC₉₀ 値は 1.56 μg/ml で, CFTM, CFIX より劣るものの, CCL, AMPC より優れていた。

(11) *C. freundii* の場合

比較薬の MIC₉₀ 値がすべて >100 μg/ml であるのに対して, SY5555 の MIC₉₀ 値は 3.13 μg/ml と試験薬中 最小値を示した。

(12) *E. cloacae* の場合

SY5555 の MIC₉₀ 値は 12.5 μg/ml で, 本薬の抗菌力は CFTM より劣るものの, CFIX と同等であり, CCL, AMPC より優れていた。

(13) *E. aerogenes* の場合

SY5555 の MIC₉₀ 値は 12.5 μg/ml で, 本薬は試験薬中最も優れた抗菌力を示した。

(14) *S. marcescens* の場合

SY5555 の MIC₉₀ 値は 50 μg/ml で, CFIX より若干劣るものの, CFTM, CCL および AMPC より優れていた。

Table 9. Influence of inoculum size on the antibacterial activity

Organism	Inoculum size (CFU/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		SY5555	cefixime	cefaclor
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P JC 1	10^5	0.1	25	1.56
	10^6	0.1	25	1.56
	10^7	0.1	25	1.56
	10^8	0.1	25	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	10^5	0.1	12.5	1.56
	10^6	0.1	12.5	1.56
	10^7	0.1	12.5	1.56
	10^8	0.1	12.5	3.13
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	10^5	0.05	3.13	0.39
	10^6	0.05	3.13	0.39
	10^7	0.05	3.13	0.78
	10^8	0.05	3.13	0.78
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC 2	10^5	0.39	0.2	1.56
	10^6	0.78	0.2	1.56
	10^7	0.78	0.39	6.25
	10^8	0.78	0.39	25
<i>Escherichia coli</i> KC 14	10^5	0.1	≤ 0.025	0.2
	10^6	0.1	≤ 0.025	0.2
	10^7	0.2	0.05	1.56
	10^8	0.39	0.05	3.13
<i>Klebsiella pneumoniae</i> PCI 602	10^5	0.05	≤ 0.025	0.39
	10^6	0.1	≤ 0.025	0.78
	10^7	0.2	0.05	0.78
	10^8	0.39	0.1	1.56
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC 1	10^5	0.1	≤ 0.025	0.39
	10^6	0.2	≤ 0.025	0.78
	10^7	0.78	0.05	0.78
	10^8	0.78	0.05	1.56
<i>Proteus vulgaris</i> GN 7919	10^5	0.2	0.1	>100
	10^6	0.39	0.2	>100
	10^7	1.56	0.39	>100
	10^8	6.25	25	>100

Medium : Sensitivity disk agar (Nissui)

(15) *P. mirabilis* の場合

SY5555 の MIC₉₀値は 6.25 $\mu\text{g/ml}$ で、CFIX の $\leq 0.025\mu\text{g/ml}$, CFTM の 0.2 $\mu\text{g/ml}$, AMPC の 1.56 $\mu\text{g/ml}$ および CCL の 3.13 $\mu\text{g/ml}$ より劣っていた。

(16) *P. vulgaris* の場合

SY5555 の MIC₉₀値は 6.25 $\mu\text{g/ml}$ で、本薬の抗菌力は CFTM, CFIX より劣るものの、CCL, AMPC より非常に優れていた。

(17) *P. rettgeri* の場合

SY5555 の MIC₉₀値は 6.25 $\mu\text{g/ml}$ で、CFIX より劣るものの、CFTM と同等であり、CCL, AMPC より優れていた。

(18) *M. morgani* の場合

SY5555 の MIC₉₀値は 12.5 $\mu\text{g/ml}$ で、CFTM と同等であり、CFIX, CCL および AMPC より優れていた。

(19) *A. calcoaceticus* の場合

SY5555 の MIC₅₀値, MIC₉₀値はそれぞれ 6.25, 25 $\mu\text{g/ml}$ で、本薬は試験薬中最も優れた抗菌力を示した。

(20) *H. influenzae* の場合

SY5555 の MIC₉₀値は 0.78 $\mu\text{g/ml}$ で、CFTM, CFIX より劣るものの、AMPC と同等であり、CCL より優れていた。

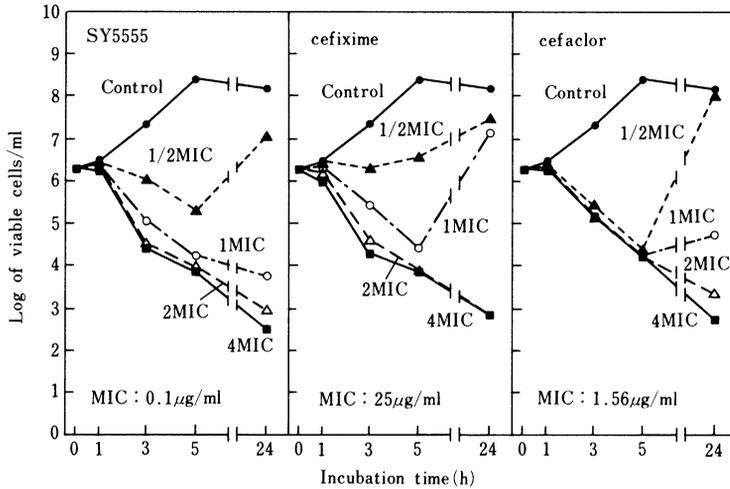


Fig. 1. Effect of SY555 on the viability of *Staphylococcus aureus* 209P JC-1

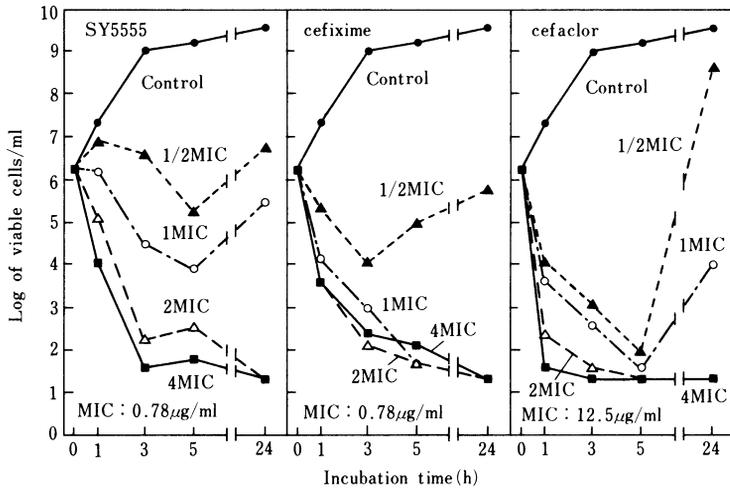


Fig. 2. Effect of SY555 on the viability of *Escherichia coli* NIHJ JC-2

(21) *M. catarrhalis* の場合

SY555 の MIC₉₀ 値は 0.78 µg/ml で、本薬の抗菌力は CFTM, CFIX および CCL とほぼ同等であり、AMPC より優れていた。

(22) *N. gonorrhoeae* の場合

SY555 の MIC₅₀ 値, MIC₉₀ 値はそれぞれ ≤ 0.025, 0.1 µg/ml で、CFTM, CFIX と同等であり、CCL, AMPC より優れていた。

3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

SY555 の抗菌力に及ぼす培地の種類, 培地の pH, 馬血清添加および接種菌量の影響について検討した結果を Table 6~9 に示す。

すべての被検菌において SY555 の抗菌力は培地の種類による影響をほとんど受けなかった。培地の pH による SY555 の MIC 値の変動は *S. aureus* で若干観察され、本薬は酸性側でより良好な抗菌力を示した。同様の変動は CFIX および CCL においても認められた。

SY555 の MIC 値は *S. epidermidis* を除くすべての被検菌に対して、馬血清添加量の増加に伴い上昇する傾向を示した。この MIC 値の上昇傾向は比較薬でも観察された。

グラム陽性菌に対する SY555 の抗菌力は接種菌量による影響を全く受けなかった。しかし、グラム陰性

菌に対する本薬のMIC値は、CFIX および CCL と同様、接種菌量の増加に伴い上昇した。この傾向は *P. vulgaris* で特に顕著であった。

4. 増殖曲線に及ぼす影響

S. aureus 209P JC-1 および *E. coli* NIHJ JC-2 の増殖曲線に及ぼす SY5555 の影響を Fig. 1 および 2 に示す。SY5555 は *S. aureus* 209P JC-1 に対して 1/2 MIC で静菌作用を、1 MIC 以上で濃度依存的な殺菌作用を示した。また、*E. coli* NIHJ JC-2 に対しては、SY5555 は 1 MIC で静菌作用を、2 MIC 以上で濃度依存的な殺菌作用を示した。両菌株に対する本薬の作用は CFIX および CCL と同様、殺菌的であった。

Fig. 3 には *E. coli* KC-14、*E. coli* KC-14/RGN823 および *E. coli* KC-14/RGN238 を被検菌とした場合の結果を示す。Penicillinase 産生プラスミド導入株に対して SY5555 は、1/2 MIC・1 MIC で親株 (*E. coli* KC-14) の場合に比べ、やや弱い殺菌効果を示した。しかし、2 MIC 以上では両者に対する殺菌作用に差は認められなかった。一方、比較薬に用いた AMPC はプラスミド導入株の増殖に何ら影響を与えなかった。

5. 形態変化の観察

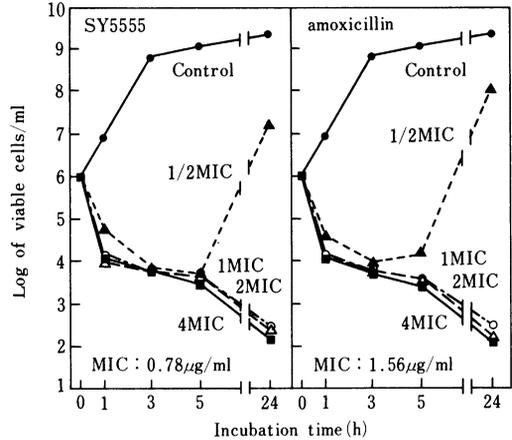
S. aureus 209P JC-1 に SY5555 を作用させた時の位相差顕微鏡像および透過型電子顕微鏡像を Fig. 4 および 5 に示す。0.0125 $\mu\text{g/ml}$ (1/8 MIC) および 0.025 $\mu\text{g/ml}$ (1/4 MIC) の SY5555 作用時に隔壁形成の異常像が、また、0.1 $\mu\text{g/ml}$ (1 MIC) 以上では多くの溶菌像が観察された。

E. coli K-12 に SY5555 を作用させた時の位相差顕微鏡像および走査型電子顕微鏡像を Fig. 6 および 7 に示す。0.2 $\mu\text{g/ml}$ (1/8 MIC) および 0.39 $\mu\text{g/ml}$ (1/4 MIC) の SY5555 作用時には時間の経過とともに菌体の球状化が観察された。また、1.56 $\mu\text{g/ml}$ (1 MIC) 作用時には 2 時間後にバルジ状の菌体が見られ、4 時間後には溶菌像が観察された。さらに、6.25 $\mu\text{g/ml}$ (4 MIC) 作用時にはスフェロプラスチ様構造や溶菌像が認められた。

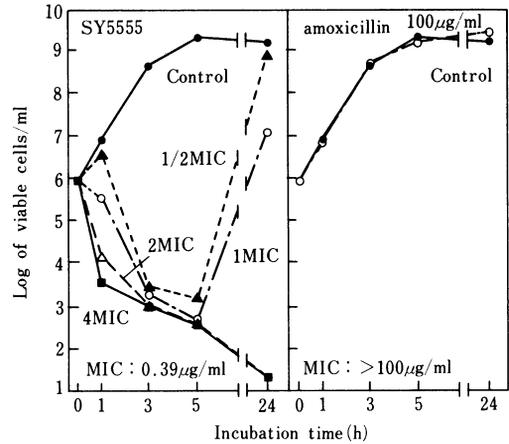
6. マウス実験的腹腔内感染症に対する治療効果

S. aureus Smith, *S. pyogenes* C-203, *S. pneumoniae* Type III および *E. coli* KC-14 に対する SY5555 の治療効果を Table 10 に示す。*S. aureus* Smith 感染症に対する SY5555 の治療効果は CFTM-PI, CFIX より優れているものの、CCL, AMPC よりも劣っていた。*S. pneumoniae* Type III 感染症に対して、SY5555 は CFIX, CCL より 2 倍以上優れ、CFTM-PI, AMPC より劣る治療効果を示した。特に AMPC との比較では、本薬の治療効果は約 20 倍劣っていた。*S. pyogenes* C

(A) *E. coli* KC-14



(B) *E. coli* KC-14/RGN823



(C) *E. coli* KC-14/RGN238

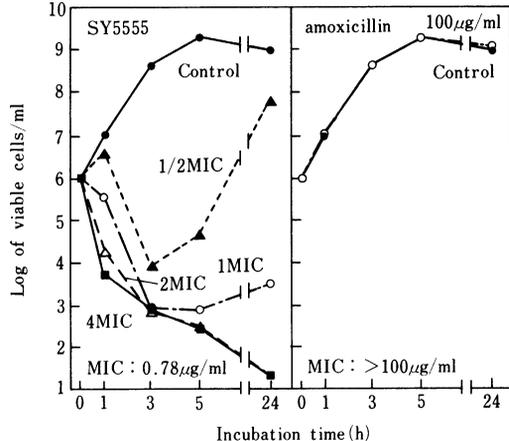


Fig. 3. Effect of SY5555 on the viability of penicillinase producing *Escherichia coli*

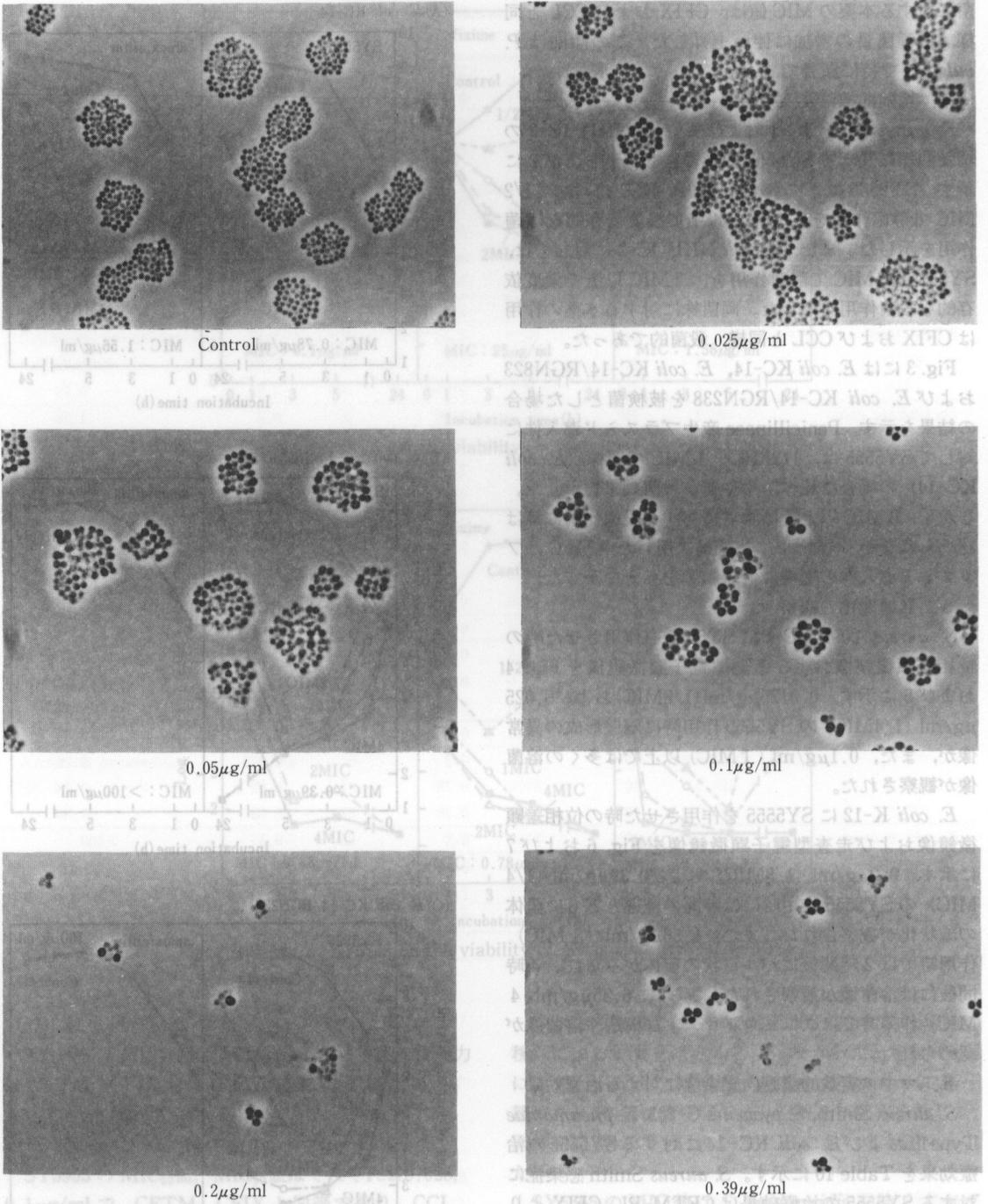


Fig. 4. Phase-contrast micrographs of *Staphylococcus aureus* 209P JC-1 exposed to SY5555 for 3 hours

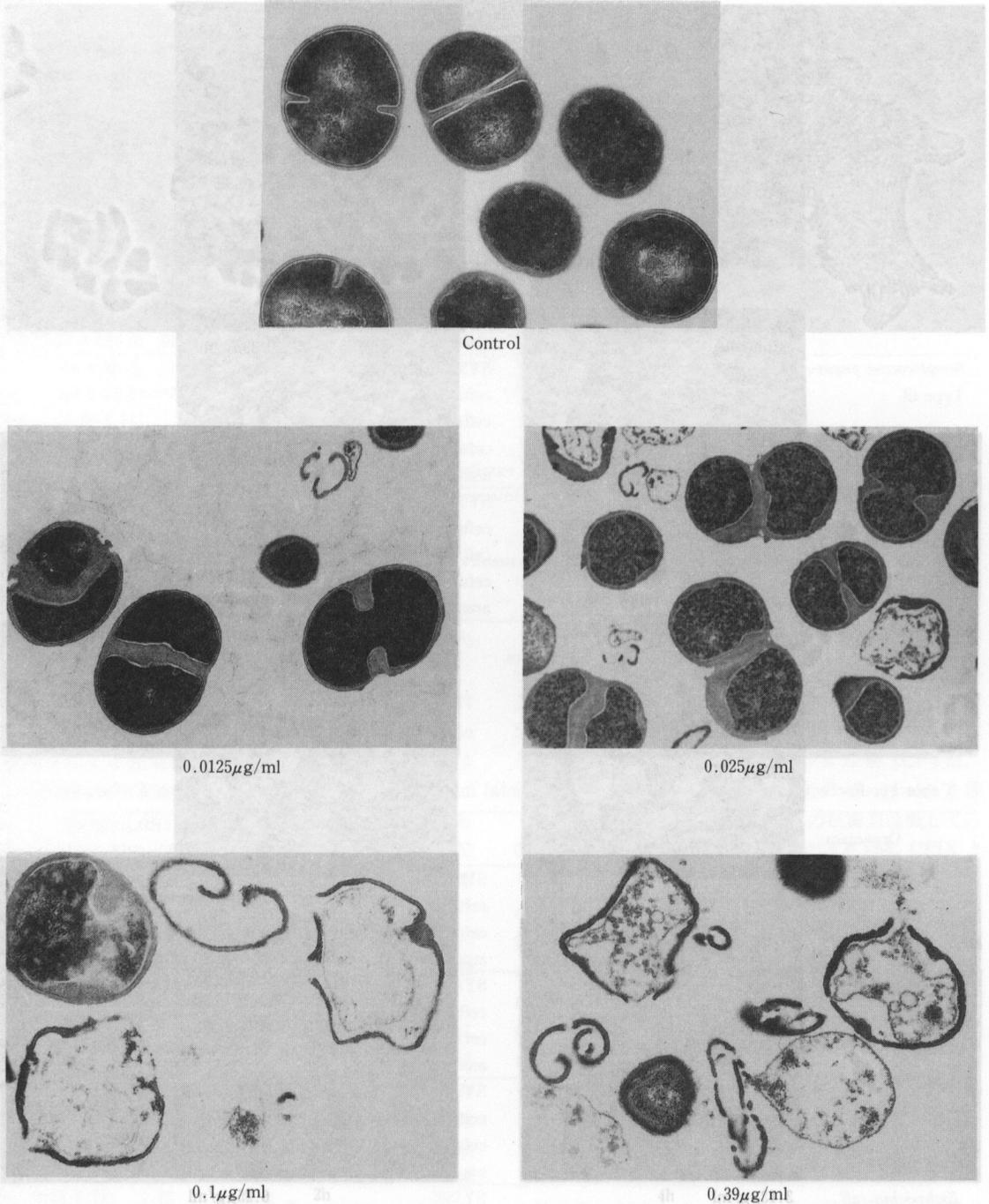


Fig. 5. Transmission electron micrographs of *Staphylococcus aureus* 209P JC-1 exposed to SY5555 for 4 hours

Fig. 7. Scanning electron micrographs of *Escherichia coli* K-12 exposed to SY5555

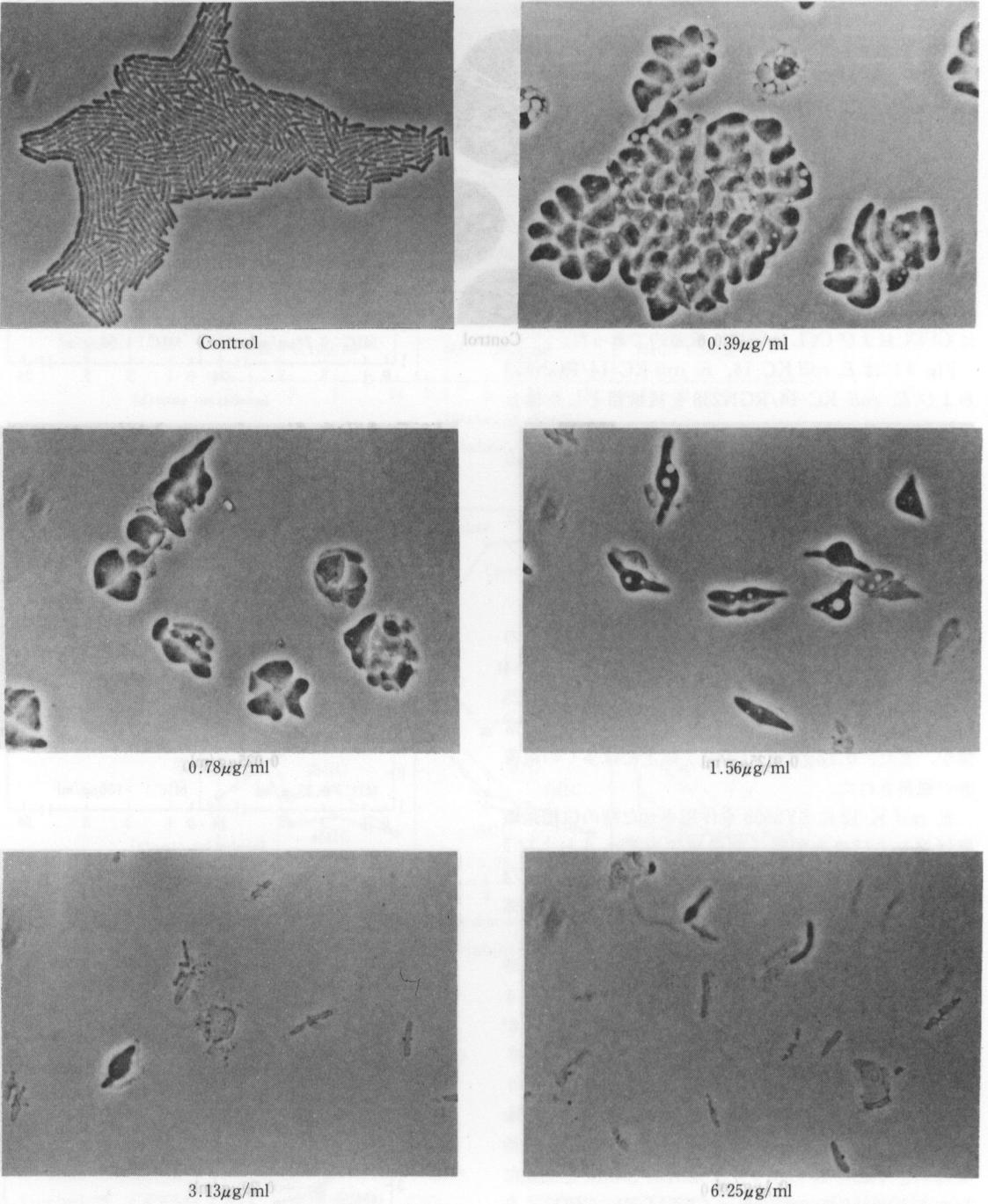


Fig. 6. Phase-contrast micrographs of *Escherichia coli* K-12 exposed to SY5555 for 3 hours

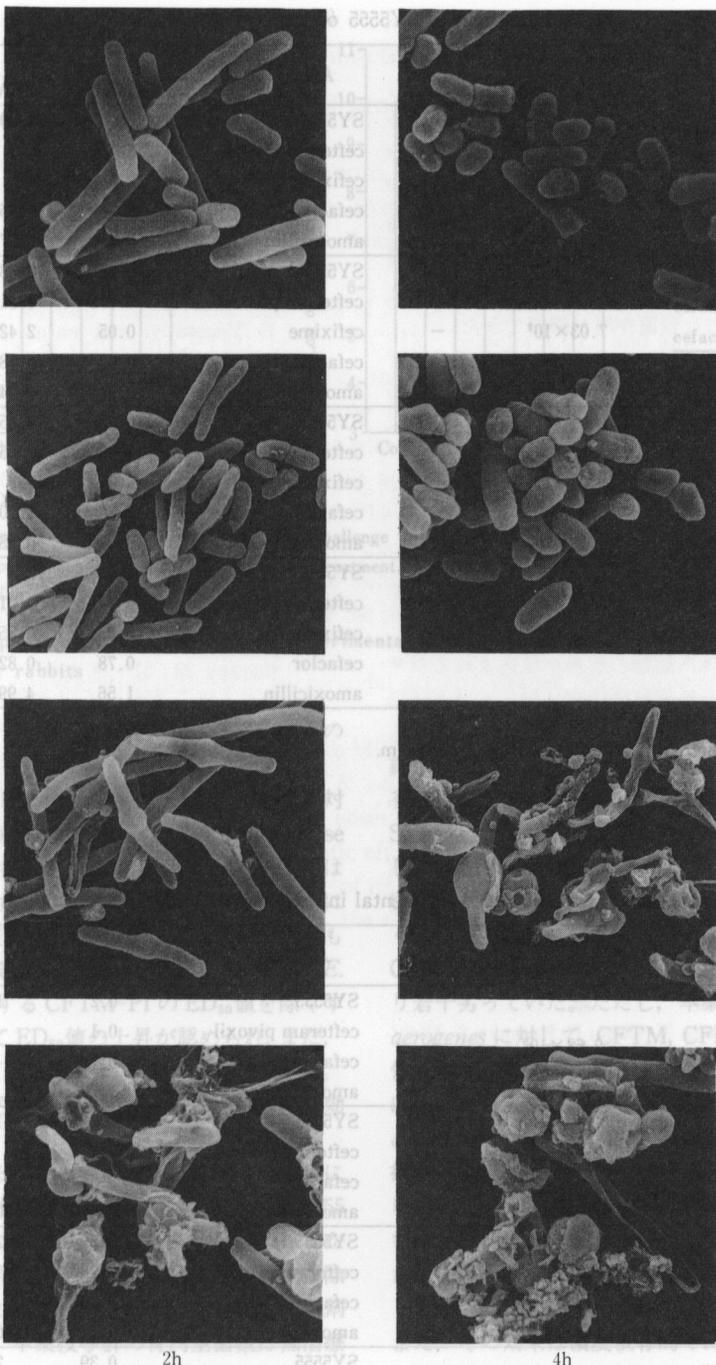


Fig. 7. Scanning electron micrographs of *Escherichia coli* K-12 exposed to SY5555 ① ② ③ Penicillin binding proteins (PBP)に対する親和性により影響

を受けることが知られ、β-ラクタム系は細胞壁を合成する際にPBPを必要とする。β-ラクタム系はPBPと結合し、その結果として細胞壁の合成が阻害され、細胞が壊れる。β-ラクタム系は、細胞壁の合成を阻害することによって、細菌の生存を妨げる。β-ラクタム系は、細胞壁の合成を阻害することによって、細菌の生存を妨げる。β-ラクタム系は、細胞壁の合成を阻害することによって、細菌の生存を妨げる。

Table 10. Protective effect of SY5555 on experimental infection in mice

Organism	Challenge dose (CFU/mouse)	Mucin	Antibiotic	MIC* ($\mu\text{g/ml}$)	ED ₅₀ (mg/kg) (95% confidence limits)
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	6.28 × 10 ⁵	+	SY5555	0.1	4.99 (4.02-6.19)
			cefteram pivoxil	3.13	25.7 (15.9-64.1)
			cefixime	12.5	101 (74.4-137)
			cefaclor	1.56	0.0619 (0.0457-0.101)
			amoxicillin	0.2	0.0703 (0.0586-0.0844)
<i>Streptococcus pyogenes</i> C-203	7.03 × 10 ²	-	SY5555	≤ 0.025	7.63 (3.78-13.2)
			cefteram pivoxil	≤ 0.025	0.113 (0.0714-0.175)
			cefixime	0.05	2.42 (1.77-3.33)
			cefaclor	0.05	3.78 (2.29-6.49)
			amoxicillin	≤ 0.025	0.249 (0.165-0.374)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type III	9.05 × 10 ²	+	SY5555	≤ 0.025	4.05 (2.88-5.64)
			cefteram pivoxil	≤ 0.025	1.65 (1.12-2.61)
			cefixime	0.2	19.3 (14.2-58.5)
			cefaclor	0.78	8.70 (6.61-16.3)
			amoxicillin	≤ 0.025	0.282 (0.187-0.404)
<i>Escherichia coli</i> KC-14	9.68 × 10 ⁵	+	SY5555	0.2	12.8 (10.5-15.5)
			cefteram pivoxil	0.1	1.01 (0.843-1.22)
			cefixime	0.05	0.551 (0.372-0.790)
			cefaclor	0.78	0.821 (0.619-1.06)
			amoxicillin	1.56	4.99 (3.82-6.46)

* Inoculum size : 10⁶ CFU/ml

MICs of cefteram pivoxil represent as MICs of cefteram.

Table 11. Protective effect of SY5555 on experimental infection with β -lactamase producing *Escherichia coli*

Organism	Challenge dose (CFU/mouse)	Mucin	Antibiotic	MIC* ($\mu\text{g/ml}$)	ED ₅₀ (mg/kg) (95% confidence limits)
<i>Escherichia coli</i> KC-14**	9.68 × 10 ⁵	+	SY5555	0.2	12.8 (10.5-15.5)
			cefteram pivoxil	0.1	1.01 (0.843-1.22)
			cefaclor	0.78	0.821 (0.619-1.06)
			amoxicillin	1.56	4.99 (3.82-6.46)
<i>Escherichia coli</i> KC-14/RGN823	1.04 × 10 ⁶	+	SY5555	0.2	19.7 (15.6-25.1)
			cefteram pivoxil	0.1	1.13 (0.921-1.39)
			cefaclor	1.56	5.31 (3.83-7.32)
			amoxicillin	> 100	> 1,000
<i>Escherichia coli</i> KC-14/RGN238	1.19 × 10 ⁶	+	SY5555	0.39	21.0 (17.7-24.9)
			cefteram pivoxil	0.78	15.4 (11.5-24.0)
			cefaclor	0.78	1.89 (1.48-2.42)
			amoxicillin	> 100	> 1,000
<i>Escherichia coli</i> 33	5.34 × 10 ³	+	SY5555	0.39	21.1 (17.2-25.9)
			cefteram pivoxil	0.1	0.559 (0.440-0.710)
			cefaclor	3.13	5.03 (4.00-6.28)
			amoxicillin	> 100	> 1,000

* Inoculum size : 10⁶ CFU/ml

MICs of cefteram pivoxil represent as MICs of cefteram.

** Non β -lactamase producing strain

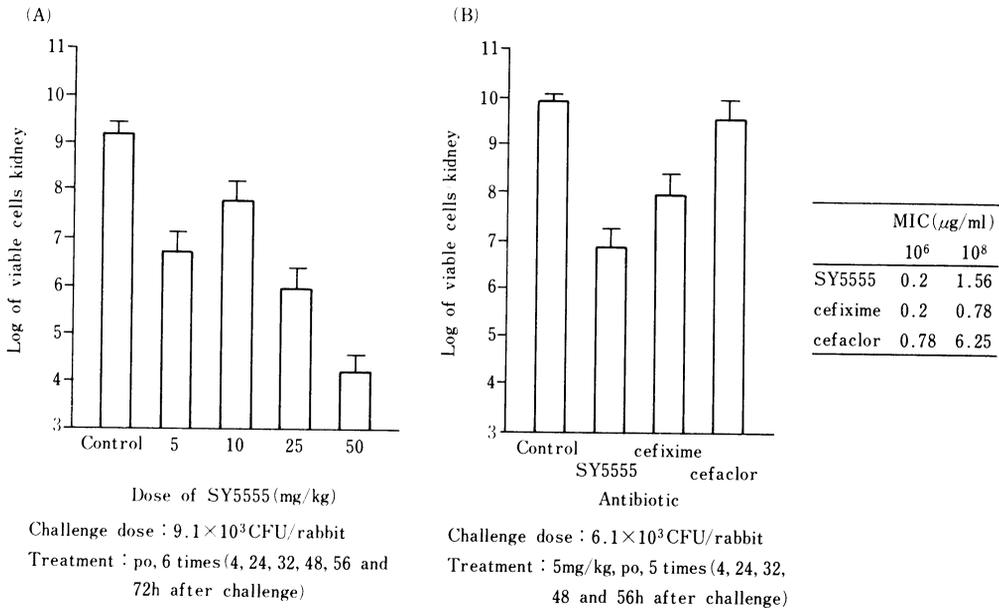


Fig. 8. Therapeutic effect of SY5555 on experimental urinary tract infection with *Escherichia coli* 444 in rabbits

-203 および *E. coli* KC-14 感染症に対する SY5555 の治療効果は試験薬中最も劣っていた。

Table 11 には β -lactamase 産生 *E. coli* 感染症に対する SY5555 の治療効果を示す。3 種の β -lactamase 産生株による感染症に対して、SY5555 の ED₅₀ 値は β -lactamase 非産生株である *E. coli* KC-14 感染症に比べ、若干の上昇を示した。しかし、いずれの場合もその程度は 2 倍以内であった。一方、比較薬では *E. coli* 33 感染症に対する CFTM-PI の ED₅₀ 値を除くすべての場合において ED₅₀ 値の上昇が認められ、また、その上昇程度も SY5555 に比べ大きい傾向にあった。

7. ウサギ実験的上行性尿路感染症に対する治療効果

E. coli 444 によるウサギ実験的上行性尿路感染症に対する SY5555 の治療効果を Fig. 8 に示す。SY5555 は 1 回投与量 5 ないし 10mg/kg で、無治療群の 1/10 から 1/100 に腎内生菌数を減少させ、ほぼ用量依存的な除菌効果を示した。また、1 回投与量 5 mg/kg での他剤との比較検討では、本薬投与群の腎内生菌数は無治療群の約 1/100 となり、その除菌効果は CFIX, CCL より優れていた。

III. 考 察

SY5555 は既存のペニシリン系およびセフェム系と異なるベネム環を基本骨格に有する新規 β -ラクタム薬である。

本薬は好気性のグラム陽性菌・グラム陰性菌および嫌気性菌に対して幅広い抗菌スペクトルを示した。既存の β -ラクタム系経口薬との抗菌力の比較では、① SY5555 は *E. faecalis* を含む好気性グラム陽性菌に対して AMPC とほぼ同等で、セフェム薬 (CFTM, CFIX, CCL) より優れていた。② *P. aeruginosa* を除くグラム陰性菌に対する SY5555 の抗菌力は概して、CCL, AMPC よりは優れていたが、CFTM, CFIX より若干劣っていた。ただし、本薬は *C. freundii*, *E. aerogenes* に対して、CFTM, CFIX より優れた抗菌活性を示し、*E. cloacae* に対しては CFTM, CFIX とほぼ同等の抗菌活性を示した。③ *P. aeruginosa*, *A. calcoaceticus* 等のブドウ糖非発酵菌に対する SY5555 の抗菌力は経口 β -ラクタム薬同様弱かった。④ 既存の経口 β -ラクタム薬に耐性を示す *Bacteroides* spp. を含む嫌気性菌に対して、SY5555 は良好な抗菌力を示した。以上の本薬の特徴が確認できた。

SY5555 の抗菌作用は比較薬と同様殺菌的であり、また、その効果は濃度依存的であった。一般的にグラム陰性菌に対する β -ラクタム薬の抗菌力は①外膜の透過性、② β -lactamase に対する安定性、③ Penicillin binding proteins (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。SY5555 は染色体性 cephalosporinase を産生する *C. freundii*, *Enterobacter* spp. や penicillinase 産生プラスミド導入 *E. coli* に対

して良好な抗菌力を示した。これにより、SY5555は良好な外膜透過性および β -lactamaseに対する安定性を有し、また、PBPsに対しても良好な親和性を示すものと推測された。SY5555作用時の細菌の形態変化から、*S. aureus*では隔壁形成に関与するPBP 1およびPBP 3に、*E. coli*では桿菌形態維持に関与するPBP 2および隔壁形成に関与するPBP 3に本薬が特に強い親和性を有することが推察された^{8,9)}。さらに、両菌ともにMIC以上では多数の溶菌像が観察されることから、SY5555の強力な殺菌作用が確認できた。

マウス実験的腹腔内感染症に対する治療効果の検討では、比較薬が*in vitro*抗菌力(MIC)に比例した治療効果(ED₅₀)を示したのに対し、SY5555はMICから期待されるED₅₀を示すことができなかった。SY5555の体内動態は動物種間での差が非常に大きく、特にマウス・ラットにおいては、そのクリアランスが速いことが報告されている¹⁰⁾。これにより、SY5555のMICがED₅₀に反映されない原因の一つとして、本薬のマウスにおける体内動態が考えられた。一方、マウスに比べ体内動態の改善が見込まれるウサギを用いた実験的上行性尿路感染症に対して、SY5555の治療効果はCFIX、CCLより優れ、感染菌に対する本薬のMICを反映する結果となった。したがって、良好な体内動態が得られる場合には、SY5555は*in vitro*抗菌力に相関する治療効果を示すと考えられる。

以上のように、SY5555は既存の経口 β -ラクタム薬に見られない優れた*in vitro*抗菌力を有しており、今後の臨床における有用性が期待できる。

文 献

1) Nishino T, Maeda Y, Ohtsu E, Koizuka S, Nishi-

hara T, Adachi H, Okamoto K, Ishiguro M : Studies on penem antibiotics II. *in vitro* activity of SUN5555, a new oral penem. J Antibiot 42 : 977 ~ 988, 1989

- 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：嫌気性菌の最小発育阻止濃度(MIC)測定法。Chemotherapy 27 : 559~560, 1979
- 4) Kellenberger E, Ryter A and Sechaund J : Electron microscope study of DNA-containing plasmids II. Vegetative and mature phage DNA as compared with normal bacterial nucleoids in different physiological states. J Biophys Biochem Cytol 4 : 671~678, 1963
- 5) Luft J H : Improvements in epoxy resin embedding methods. J Biophys Biochem Cytol 9 : 409 ~ 414, 1961
- 6) Reynolds E S : The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electro microscopy. J Cell Biol 17 : 208~212, 1963
- 7) 坂本日朗：腎盂腎炎の化学療法にかんする実験的研究，大腸菌性閉塞性腎盂腎炎による検討。Chemotherapy 28 : 31~48, 1980
- 8) 小此木研二，野路弓子，中尾雅文：黄色ブドウ球菌における β -ラクタム剤の作用標的。武田研究所報 50 : 1~22, 1991
- 9) Spratt B G : Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation, and shape of *Escherichia coli* K 12. Proc Natl Acad Sci USA 72 : 2999~3003, 1975
- 10) 金井 靖，諸住なおみ，米本儀之，杉田 修，大沼規男，菊地康博：SY5555の実験動物における体内動態。Chemotherapy 42 (S-1) : 243~253, 1994

In vitro and *in vivo* antibacterial activities of SY5555,
a novel oral penem antibiotic

Takeshi Nishino, Kiyomi Okamoto, Kayo Iwao and Masako Otsuki

Department of Microbiology, Kyoto Pharmaceutical University

5 Nakauchi-cho, Misasagi, Yamashina-ku, Kyoto 607, Japan

The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities of SY5555, a novel oral penem, were investigated and compared with those of ceftoram (CFTM), cefixime (CFIX), cefaclor (CCL) and amoxicillin (AMPC).

SY5555 was found to possess a broad antibacterial spectrum against both aerobic and anaerobic bacteria other than *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter calcoaceticus*.

Against gram-positive aerobic bacteria including enterococci, SY5555, like AMPC, showed better activity than CFTM, CFIX and CCL. The activity of SY5555 against gram-negative aerobic bacteria was superior to that of CCL and AMPC, but slightly inferior to that of CFTM and CFIX. Against anaerobic bacteria including *Bacteroides* spp., SY5555 was more active than any other reference compound tested.

The type of medium was observed to have little influence on the MICs of SY5555. However, the *in vitro* activity of SY5555 was affected to some extent by the pH of the medium, the addition of horse serum to the medium and the inoculum size of bacteria.

SY5555 showed concentration-dependent bactericidal activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

In morphological observations, exposure to sub-MIC of SY5555 was found to induce irregular septum formation of *S. aureus* and to cause the shape of *E. coli* cells to change from rod-like to round or bulging. Moreover, in both bacteria the lysis of cells was observed above the MIC of SY5555.

In experimental infection in mice, the therapeutic efficacy (ED_{50}) of SY5555 did not necessarily reflect its excellent *in vitro* activity (MIC), perhaps because of its pharmacokinetic behavior in the animal. However, in urinary tract infection with *E. coli* in rabbits, the therapeutic effect of SY5555 was found to be dose-dependent and superior to that of CFIX and CCL.