

## 細菌学的立場からみた FK037 の抗菌力について

長曾部紀子・野々山勝人・島内千恵子・井上 松久  
北里大学医学部微生物学教室\*

新しく開発されたセフェム剤 FK037 の *in vitro* 抗菌力を ceftazidime (CAZ), ceftizoxime (CZX), flomoxef (FMOX), cefuzonam (CZON), imipenem (IPM) および piperacillin (PIPC) などと比較検討した。その結果、FK037 はグラム陽性菌やグラム陰性桿菌の標準株に対して幅広い抗菌スペクトルを示した。グラム陽性球菌に対する FK037 の抗菌力は CZON, FMOX, IPM に比べやや劣ったが、メチシリン耐性ブドウ球菌属に対しては CZON, FMOX, IPM などより数倍以上強い抗菌力を発揮した。

FK037 は腸内細菌に対して強い抗菌力を示した。また本剤は *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens* などのセフェム剤耐性菌に対しても対照薬より強い活性を示し、その抗菌力は CAZ や CZX のそれに比しセファロスポリナーゼ量の影響を受け難かった。また、FK037 は典型的なセファロスポリナーゼやペニシリナーゼに安定であったが、2型 (OXA 型) 酵素によって若干加水分解された。これらの結果から、FK037 がセファロスポリナーゼ産生菌などに対して強い抗菌力を発揮するものと考えられ、その臨床効果が期待される。

**Key words** :  $\beta$ -ラクタム剤, セフェム剤, FK037

最近藤沢薬品研究所において開発された FK037 は、注射用セフェム剤である。本剤は、ブドウ球菌属をはじめとしたグラム陽性菌および腸内細菌や緑膿菌などのグラム陰性菌にまで幅広い抗菌力を示す薬剤と報告されている<sup>1)</sup>。今回、FK037 についての抗菌力をはじめとした細菌学的検討を行う機会を得、次の結果を得たので報告する。

### I. 実験材料とその方法

#### 1 使用薬剤

抗菌力測定には、FK037 をはじめそれぞれ力価の判明した以下の薬剤を用いた。即ち、ceftizoxime (CZX, 藤沢薬品), flomoxef (FMOX, 塩野義製薬), cefuzonam (CZON, 日本レダリー), ceftazidime (CAZ, 日本グラクソ), imipenem (IPM, 萬有製薬), ampicillin (ABPC, 萬有製薬), piperacillin (PIPC, 富山化学) を対照に検討した。また  $\beta$ -ラクタマーゼ安定性測定の際には必要に応じて、cephaloridine (CER), cephalothin (CET, 以上塩野義製薬) および penicillin G (PCG, 萬有製薬) も用いた。

#### 2 使用菌株

当教室保存の ATCC 標準菌株および 1992 年 11 月から 1993 年 4 月にかけて分離された臨床分離株を中心に使用した。特に *Staphylococcus aureus* については、予め 3% NaCl 存在下 methicillin (6.25  $\mu$ g/ml)

含有培地に増殖した菌株を methicillin 耐性 *S. aureus* (MRSA), 増殖しなかった菌株を methicillin 感受性 *S. aureus* (MSSA) として用いた。また、 $\beta$ -ラクタマーゼ産生株に対する各薬剤の MIC の検討には、*Escherichia coli* K12 ML4901 を受容菌とし、臨床分離菌からの酵素産生遺伝子を形質転換または接合伝達された保存菌株<sup>2)</sup>や新たに構築した菌株を用いた。

#### 3 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

化学療法学会標準法に従い測定した<sup>3)</sup>。即ち、被検菌の一夜培養菌液を約  $3 \sim 5 \times 10^6$  CFU/ml となるように BSG にて希釈し、これを、マイクロプランター (佐久間製作) を用い薬剤の 2 倍希釈系列を含む寒天平板に接種した。その後これらの平板を 37°C 18 時間培養後、肉眼で菌の発育が認められない最小の薬剤濃度をもって最小発育阻止濃度 (MIC) とした。

#### 4 使用培地

MIC 測定用寒天培地には感受性測定用 N 培地 (日水製薬, STA) を用いた。また、他に感受性測定用液体培地 (日水製薬, STB) を用いた。

#### 5 $\beta$ -ラクタマーゼに対する安定性

基質特異性の判明した  $\beta$ -ラクタマーゼ産生菌を STB にて一夜 37°C にて培養した。この培養菌液を STB にて 50 倍希釈し、37°C での振盪培養で得られた

対数中期の菌を 4°C, 10,000 rpm にて 10 分間遠心した。菌体を 50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.2) に浮遊させ、超音波にて菌体を破碎した。その後、4°C, 10,000 rpm, 10 分間遠心し、得られた上清を粗酵素とした。酵素活性は従来の方法に従って UV 法によって測定し、薬剤の安定性は  $V_{max}$  を求め CER または PCG との相対値で比較した<sup>4,5)</sup>。

## II. 実験成績

### 1. 標準菌株に対する抗菌力

グラム陽性の標準菌株に対する FK037 および対照薬の抗菌力を Table 1 に示した。*Enterococcus faecium* に対する FK037 の MIC は 12.5  $\mu\text{g/ml}$  であり、対照薬 CAZ, CZX に比べ遙かに強い結果であった。また、*Enterococcus faecalis* に対する FK037 の MIC は 12.5  $\mu\text{g/ml}$  であり、CAZ (3.13  $\mu\text{g/ml}$ ), CZX (12.5  $\mu\text{g/ml}$ ) とほぼ同程度であったが、いずれの薬剤も対照薬 PIPC に比べて高い MIC を示した。*S. aureus* をはじめとしたブドウ球菌属に対する FK037 の抗菌力は、全般に対照薬 PIPC よりも強く、ほとんどの菌種においてその MIC は 0.78  $\mu\text{g/ml}$  以下であったが、中には *Staphylococcus simulans* ATCC 27851 のように FK037 の MIC が 6.25  $\mu\text{g/ml}$  を示す菌株も存在した。

次いで、グラム陰性菌に対する FK037 の抗菌力を Table 2 に示した。FK037 は *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella typhimurium* や *Salmonella enteritidis*, *Shigella sonnei*, *Shigella flexneri*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* など多くの菌種に対して優れた MIC を示した。*Pseudomonas aeruginosa* に対する FK037 の抗菌力は、CAZ に比べやや劣っていたが、PIPC とほぼ同程

度であり、CZX よりも遙かに優れた抗菌力を示した。

### 2. 臨床分離菌に対する抗菌力

臨床分離の *S. aureus* を予め MSSA, MRSA とにそれぞれ分けて、FK037 の抗菌力を対照薬のそれと比較した。Fig. 1 に示す通り MSSA に対して、FK037 は 0.78~1.56  $\mu\text{g/ml}$  の範囲で全株の発育を阻止した。この時 MSSA に対する各薬剤の抗菌力は、IPM ( $\leq 0.20\sim 0.39$   $\mu\text{g/ml}$ ), FMOX ( $\leq 0.20\sim 0.78$   $\mu\text{g/ml}$ ), CZON ( $\leq 0.20\sim 0.78$   $\mu\text{g/ml}$ ), ABPC ( $\leq 0.20\sim 12.5$   $\mu\text{g/ml}$ ) であった。一方、MRSA に対する FK037 の抗菌力は、一部の菌株では IPM より劣ったものの 6.25~50  $\mu\text{g/ml}$  と狭い濃度範囲でその増殖を抑え、FK037 高度耐性の MRSA は検出できなかった。これに対して対照薬の抗菌力は IPM ( $\leq 0.20\sim 100$   $\mu\text{g/ml}$ ), ABPC (6.25~100  $\mu\text{g/ml}$ ), FMOX (3.13~200  $\mu\text{g/ml}$ ), CZON (3.13~ $\geq 400$   $\mu\text{g/ml}$ ) の順であり、広い濃度範囲にて菌の増殖が認められた。FK037 と FMOX との相関関係を調べ、結果を Fig. 2 に示した。MSSA 6 株中 5 株に対する抗菌力は FMOX の方が FK037 より優れていたが、MRSA では、8 株中 7 株に対して FK037 の方が FMOX より優れた抗菌力を示した。*Staphylococcus epidermidis* をはじめとした coagulase 陰性ブドウ球菌 (CNS) に対する FK037 の抗菌力は対照薬 CZON, FMOX, IPM あるいは ABPC に耐性の株に対して優れ、*S. epidermidis* またはその他の CNS の発育をそれぞれ 3.13, 50  $\mu\text{g/ml}$  で完全に阻止した (Fig. 3, 4)。

*E. coli* に対して FK037 は 0.20  $\mu\text{g/ml}$  以下で検査株 52 株全株の発育を阻止した (Fig. 5)。これに対して CAZ, CZX, PIPC の MIC の上限はそれぞれ 1.56, 6.25,  $\geq 200$   $\mu\text{g/ml}$  であった。

*Shigella* spp. に対してはいずれのセフェム剤も優れ

Table 1. Antibacterial spectrum of FK037 against gram-positive bacteria

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )			
	FK037	ceftazidime	ceftizoxime	piperacillin
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 8750	12.5	3.13	12.5	1.56
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 29212	12.5	$\geq 200$	$\geq 200$	3.13
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 12386	$\leq 0.025$	0.20	0.05	0.10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0.78	6.25	1.56	0.39
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	0.39	6.25	0.39	6.25
<i>Staphylococcus simulans</i> ATCC 27851	6.25	25	3.13	1.56
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	1.56	25	25	1.56
<i>Staphylococcus sciuri</i> ATCC 29060	0.05	0.20	0.05	1.56
<i>Staphylococcus xylosus</i> ATCC 29971	0.39	12.5	1.56	0.39
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	12.5	$\geq 200$	$\geq 200$	1.56
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 533	12.5	25	3.13	3.13

Table 2. Antibacterial spectrum of FK037 against gram-negative bacteria

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )			
	FK037	ceftazidime	ceftizoxime	piperacillin
<i>Moraxella catarrhalis</i> ATCC 8176	6.25	25	3.13	3.13
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	$\leq 0.025$	0.10	0.10	1.56
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	$\leq 0.025$	0.10	$\leq 0.025$	1.56
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	0.05	0.10	0.05	$\geq 200$
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	0.20	3.13	6.25	6.25
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	0.05	0.20	0.10	3.13
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 35029	0.39	12.5	12.5	25
<i>Flavobacterium multivorum</i> ATCC 35656	50	$\geq 200$	50	12.5
<i>Flavobacterium odoratum</i> ATCC 4561	0.39	12.5	1.56	0.78
<i>Flavobacterium meningosepticum</i> ATCC 13253	1.56	6.25	6.25	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	$\leq 0.025$	0.05	$\leq 0.025$	3.13
<i>Klebsiella oxytoca</i> AMS 101	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	6.25
<i>Pseudomonas cepacia</i> ATCC 25416	12.5	3.13	3.13	6.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 35422	12.5	6.25	$\geq 200$	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	3.13	0.78	25	3.13
<i>Pseudomonas diminuta</i> ATCC 19146	6.25	25	3.13	3.13
<i>Xanthomonas maltophilia</i> ATCC 13637	$\geq 200$	100	$\geq 200$	$\geq 200$
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 21100	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29245	0.05	0.05	$\leq 0.025$	0.78
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	$\leq 0.025$	0.20	$\leq 0.025$	1.56
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	0.10	0.39	0.05	3.13
<i>Shigella boydii</i> ATCC 9207	$\leq 0.025$	0.10	$\leq 0.025$	0.78
<i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 13313	$\leq 0.025$	0.05	$\leq 0.025$	0.10
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	$\leq 0.025$	0.10	$\leq 0.025$	1.56
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	$\leq 0.025$	0.20	$\leq 0.025$	0.39
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100	0.78	0.78	1.56	12.5
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	0.10	0.20	0.10	1.56
<i>Serratia rubidaea</i> ATCC 33670	0.39	0.78	0.20	1.56
<i>Oligella urethralis</i> ATCC 17960	12.5	25	3.13	6.25
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 23715	$\leq 0.025$	0.10	$\leq 0.025$	0.39

た抗菌力を発揮した。特に FK037 は 33 株全株を 0.05  $\mu\text{g/ml}$  で阻止したが、対照薬 CAZ, CZX においては 1.56  $\mu\text{g/ml}$  の MIC を示す菌株がそれぞれ 1 株存在した。一方、PIPC の MIC 分布は 25  $\mu\text{g/ml}$  以下を示す菌株が全体の 93.9% を占めた。*K. pneumoniae* に対する抗菌力は FK037 の方が CZX よりやや劣ったものの FK037 の MIC<sub>100</sub> は 0.39  $\mu\text{g/ml}$  であった。これに対して、CAZ は 6.25  $\mu\text{g/ml}$  で全株を抑えた。*E. cloacae* に対する抗菌力は FK037 > CZX > CAZ > PIPC の順であった。*E. coli* や *K. pneumoniae* と異なり *E. cloacae* に対する FK037 の MIC では、3.13~50  $\mu\text{g/ml}$  を示す耐性菌が 6 株 (20.7%) 分離されたが、これらの菌株はいずれも CZX, CAZ の MIC が 25  $\mu\text{g/ml}$  以上、PIPC に対しては  $\geq 200$   $\mu\text{g/ml}$  であった (Table 3)。

*S. marcescens* 29 株に対していずれのセフェム剤も

MIC 1.56  $\mu\text{g/ml}$  を境に感受性群と耐性群の 2 峰性の分布が示された。このうち、1.56  $\mu\text{g/ml}$  以下の MIC を示す菌株は FK037 の場合全体で 22 株 (75.9%)、CAZ 22 株 (75.9%)、CZX 18 株 (62.1%) であり、PIPC では 12.5  $\mu\text{g/ml}$  以上を示す菌株は 16 株 (55.2%) であった (Table 4)。なおデータには示さなかったが、CET や CER では MIC 1.56  $\mu\text{g/ml}$  以下を示す菌株は存在しなかった。これらの結果よりセフェム剤耐性菌 (MIC 3.13  $\mu\text{g/ml}$  以上) の分離率は CZX > CAZ, FK037 の順であった。一方、 $\beta$ -ラクタム剤感受性菌 (MIC 1.56  $\mu\text{g/ml}$  以下) に対する抗菌力はその感受性分布から FK037 > CZX, CAZ > PIPC の順であった。*P. aeruginosa* に対する FK037 の MIC 範囲は 0.39~50  $\mu\text{g/ml}$  であり、この値は PIPC の 0.78~200  $\mu\text{g/ml}$ , CAZ の 0.78~200  $\mu\text{g/ml}$  より優れていた。ま

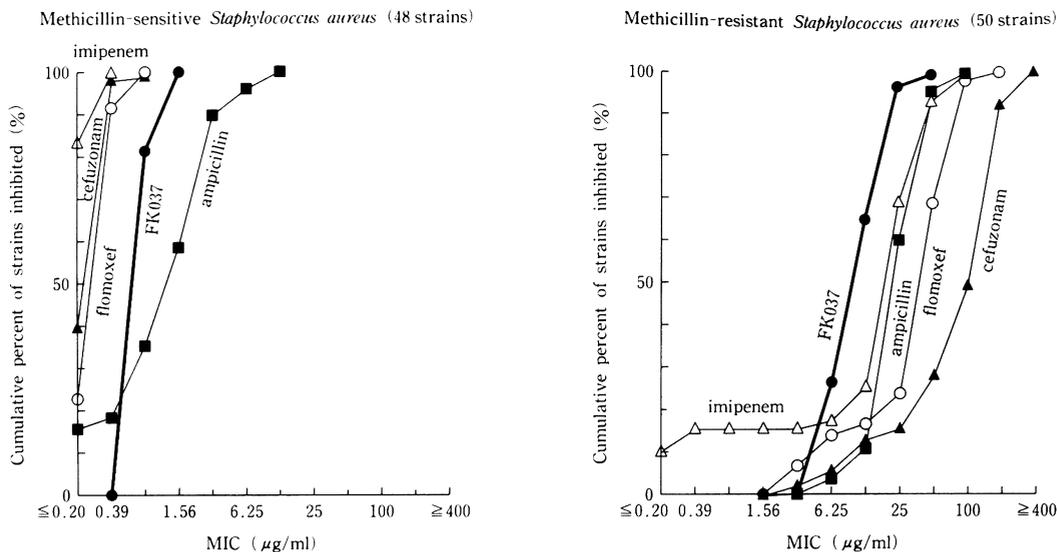


Fig. 1. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Staphylococcus aureus*

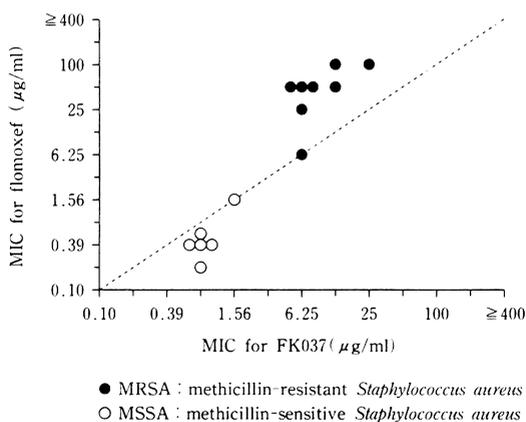


Fig. 2. Correlogram of MICs between FK037 and flomoxef

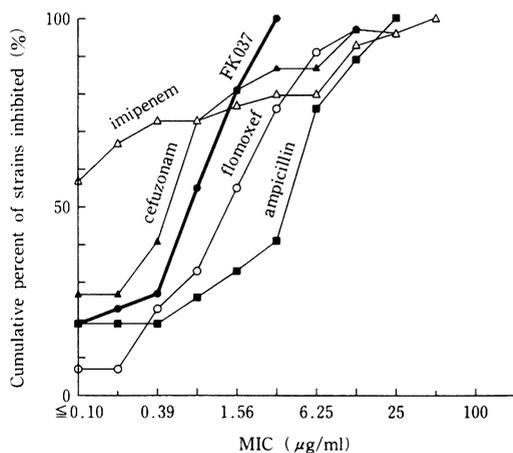


Fig. 3. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis* (27 strains)

た、80%の菌の発育を阻害する濃度、 $MIC_{80}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) で比較すると、FK037(25), CAZ(50), PIPC(100) であった (Fig. 6)。

### 3 PBP 変異株に対する抗菌力

*S. aureus* および *E. cloacae* 由来のそれぞれの PBP 変異株に対する各薬剤の MIC を調べ、その結果を Table 5 に示した。まず *S. aureus* の場合、親株に対する ABPC, FMOX, CZON, IPM および FK037 の MIC は順に 0.10, 0.20, 0.20, 0.05, 0.78  $\mu\text{g/ml}$  であった。

これに対して PBP 欠損株に対する FK037 の MIC は、それぞれ PBP 2 欠損株で 4 倍、PBP 4 欠損株で 256 倍抗菌力の増強が見られた。同様の傾向が ABPC, FMOX, CZON においても見られたが、他方 IPM では PBP 2 欠損株で親株に比べて 4 倍の MIC の増強が見られたが、PBP 4 欠損株では親株と同じ MIC であった。

一方、*E. cloacae* の PBP 2, PBP 3 変異株に対しても FK037 の MIC は親株に比べて大きく異なってい

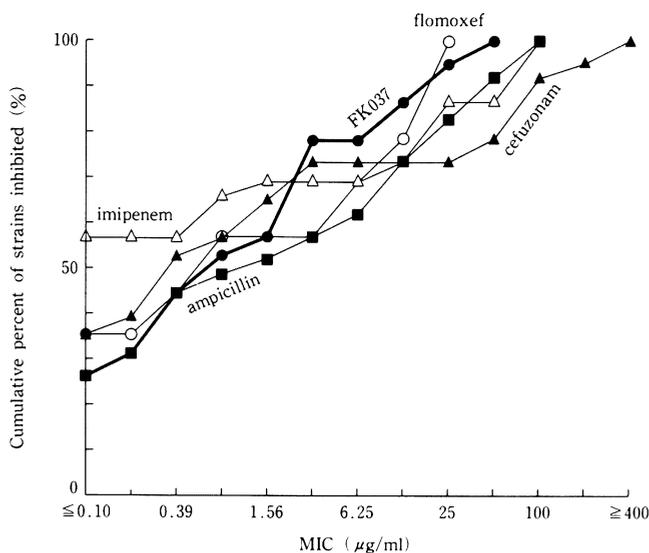


Fig. 4. Sensitivity distribution of clinical isolates of coagulase-negative staphylococci (23 strains)

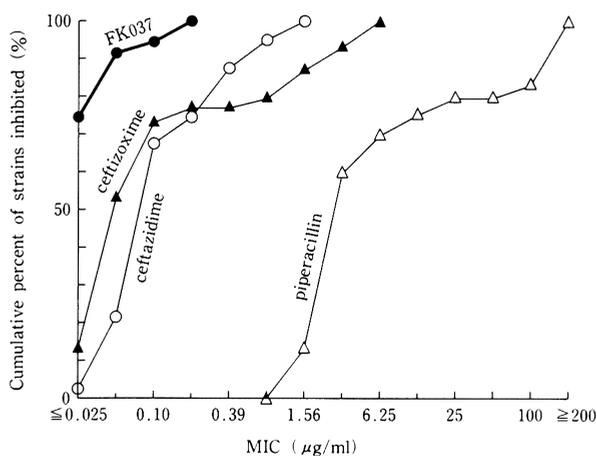


Fig. 5. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Escherichia coli* (52 strains)

た。即ち、親株 KU 69 では、FK037 の MIC は  $0.025 \mu\text{g/ml}$  であったが、PBP 3 耐性株 KU 72 では MIC は  $0.78 \mu\text{g/ml}$ 、PBP 2 欠損株 KU 74 では MIC は  $\leq 0.003 \mu\text{g/ml}$  であり、FK037 の PBP 変異株での MIC の変動は CAZ、CZX、PIPC などと同様の傾向が見られた。これに対して、IPM の MIC は PBP 3 耐性株 KU 72 では親株 KU 69 の MIC に比べて 2 倍強く、PBP 2 欠損株 KU 74 では親株の MIC と同等であっ

た。

4  $\beta$ -ラクタマーゼ産生菌に対する抗菌力  
 $\beta$ -ラクタマーゼをその基質特異性の違いからペニシリナーゼ(PCase)、セファロスポリナーゼ(CEPase)とに予め分類した菌株を用いて、FK037 および対照薬の MIC を調べた。

Table 6 に示した如く、FK037 は CZX とほぼ同様 CET の MIC が  $12.5 \sim 200 \mu\text{g/ml}$  を示す菌株に対し



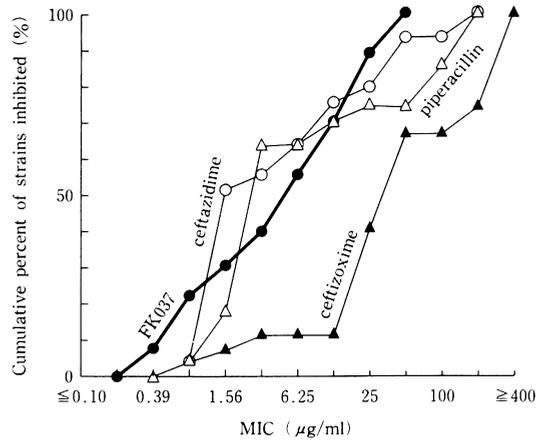


Fig. 6. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* (27 strains)

Table 5. Antibacterial activities of FK037 and other  $\beta$ -lactams against the mutants for penicillin binding protein(s)

Strain no.	Mutation of	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )				
		FK037	ampicillin	flomoxef	cefzonam	imipenem
<i>Staphylococcus aureus</i> MS15009	parent	0.78	0.10	0.20	0.20	0.05
<i>Staphylococcus aureus</i> KU 64	PBP2 <sup>-</sup>	0.20	0.05	0.05	0.10	0.0125
<i>Staphylococcus aureus</i> KU 66	PBP4 <sup>-</sup>	0.003	0.0015	0.003	0.003	0.05
		FK037	ceftazidime	ceftizoxime	piperacillin	imipenem
<i>Enterobacter cloacae</i> KU 69	parent	0.025	0.10	0.05	3.13	0.10
<i>Enterobacter cloacae</i> KU 72	PBP3 <sup>r</sup>	0.78	1.56	1.56	6.25	0.05
<i>Enterobacter cloacae</i> KU 74	PBP2 <sup>-</sup>	$\leq 0.003$	0.025	0.0125	0.20	0.10

: negative, 'r' : resistance

Table 6. Antibacterial activities of FK037 and other  $\beta$ -lactams against plasmid mediated  $\beta$ -lactamase producing strains in *Escherichia coli*

Plasmid no.	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )					$\beta$ -lactamase type
	FK037	ceftazidime	ceftizoxime	cephalothin	piperacillin	
pKU522	0.10	0.20	0.05	12.5	0.78	CEPase
pKU523	0.20	0.39	0.20	50	1.56	CEPase
pKU524	0.05	0.78	0.39	100	3.13	CEPase
pKU525	0.39	0.20	0.20	50	1.56	CEPase
pKU527	0.05	0.10	0.05	3.13	6.25	PCase
pKU534	0.10	0.10	0.10	25	0.78	CEPase
pKU536	0.10	0.39	0.10	12.5	1.56	CEPase
pKU538	0.05	0.10	0.05	3.13	12.5	PCase
pKU540	0.39	0.39	0.39	50	3.13	CEPase
pKU541	0.025	0.10	0.025	3.13	12.5	PCase
pKU554	0.10	1.56	0.39	200	3.13	CEPase
pKU924	0.025	0.39	0.39	100	3.13	CEPase
pKU971	0.39	25	0.39	100	1.56	CEPase
pKU7	0.39	1.56	0.39	200	200	PCase+CEPase

でも 0.025~0.39  $\mu\text{g/ml}$  と強い抗菌力を発揮した。FK037 の抗菌力は CAZ に比べて同等若しくは若干強かった。しかし、pKU 554, pKU 971 のように FK037 および CZX の MIC (0.10 または 0.39  $\mu\text{g/ml}$ ) に比べ、CAZ の MIC が明らかに高い菌株 (1.56  $\mu\text{g/ml}$ , 25  $\mu\text{g/ml}$ ) も存在した。

一方、PCase 産生菌に対して FK037, CAZ, CZX は共に優れた MIC を示した。これらの結果を反映して、PCase+CEPase を産生する菌株 pKU 7 に対して FK037 の MIC は 0.39  $\mu\text{g/ml}$  であったが、CAZ は 1.56  $\mu\text{g/ml}$  の MIC を示し両者に 4 倍の MIC の差が見られた。

### 5 $\beta$ -ラクタマーゼ産生と MIC

臨床分離の腸内細菌の中で CEPase のみを産生する菌株の CEPase 活性と FK037 および CAZ の MIC との関係について検討した。Fig. 7 に示す通り CEPase 活性が蛋白 1 mg 当たり 1.5 U/ml 以下の菌株において、FK037 の MIC は 0.025~0.78  $\mu\text{g/ml}$ , CAZ の MIC は 0.39~6.25  $\mu\text{g/ml}$  と FK037 の MIC が CAZ に比べ明らかに優っていた。また、CEPase 活性が蛋白 1 mg 当たり 5~6 U/ml を示す菌株に対する FK037 の MIC は 1.56  $\mu\text{g/ml}$ , CAZ は 6.25~12.5  $\mu\text{g/ml}$  であり、CEPase 活性の増加により FK037 の抗菌力にわずかに低下が見られたが、CAZ より優れていた。

### 6 $\beta$ -ラクタマーゼに対する安定性

臨床材料から最も容易に検出される TEM 型 PCase, 希に検出される OXA 型 PCase およびグラム陰性桿菌に広くみられる典型的な CEPase によって

FK037 がどの程度加水分解されるか調べた。Fig. 8 に示す通り、FK037 は典型的な PCase (1 型, TEM 型) や CEPase に対して安定であった。これに対して FK037 は 2 型 PCase (OXA 型) や *P. vulgaris* 由来の酵素によって若干加水分解されたものの、その割合は対照薬 CAZ や CZX に比べほとんど同程度であった。

### III. 考 察

FK037 は種々の標準菌株に対して CAZ, CZX, PIPC に比べてより低濃度で抗菌力を発揮したことから、本剤は幅広い抗菌力を示す薬剤と言える。しかし、FK037 は *P. aeruginosa* をはじめ *E. faecalis*, *E. faecium* など一部の菌種に対してその MIC が 3.13~12.5  $\mu\text{g/ml}$  であったことからこれらの菌種に対しては中程度の抗菌力を示す薬剤といえる。事実、これらの標準菌株に対する MIC の動向は臨床分離細菌においてもほぼ同様であった。

*S. aureus* や *S. epidermidis* あるいはコアグララーゼ陰性ブドウ球菌属に対する FK037 の抗菌力は、メチシリン感受性菌とメチシリン耐性菌間で有意に差が見られた。まず、メチシリン感受性ブドウ球菌属に対する FK037 の抗菌力は MIC で比較すると PIPC より優るものの CZON, FMOX, IPM に比べ 2~4 倍劣っていた。他方、メチシリン耐性ブドウ球菌属に対し FK037 は対照薬より強い抗菌力を示した。今回調べたメチシリン耐性ブドウ球菌属に対する FK037 の MIC の上限は 50  $\mu\text{g/ml}$  であり、この値は CZON, FMOX, IPM 高度耐性菌の MIC より 2~16 倍以上優れた結果であった。

一方、グラム陰性桿菌に対する FK037 の抗菌力はこれまでに報告されたセフェム剤に比べても優れており、その MIC は狭い濃度範囲内に収束していた。特に *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *Shigella* spp. に対する FK037 の抗菌力は CAZ, CZX に比べ同等または優っていた。また、CAZ  $\geq 200 \mu\text{g/ml}$ , CZX 100~ $\geq 200 \mu\text{g/ml}$  の MIC を示す菌株に対する FK037 の MIC は 25~50  $\mu\text{g/ml}$  であり、セフェム剤耐性菌に対する抗菌力に FK037 の特徴が見られた。次いで、*S. marcescens* や *P. aeruginosa* の大部分の菌株に対する FK037 の MIC は、CAZ に比べより小さかった。また全菌株の発育を阻止する MIC<sub>100</sub> は、*S. marcescens* の場合 FK037 12.5  $\mu\text{g/ml}$ , CAZ 6.25  $\mu\text{g/ml}$ , CZX 100  $\mu\text{g/ml}$ , PIPC  $\geq 200 \mu\text{g/ml}$ , *P. aeruginosa* では FK037 50  $\mu\text{g/ml}$ , CAZ 200  $\mu\text{g/ml}$ , CZX  $\geq 400 \mu\text{g/ml}$ , PIPC 200  $\mu\text{g/ml}$  であり、やはり FK037 はセフェム剤耐性菌や PIPC 耐性菌に対して明らかに優れた抗菌力を発揮した。

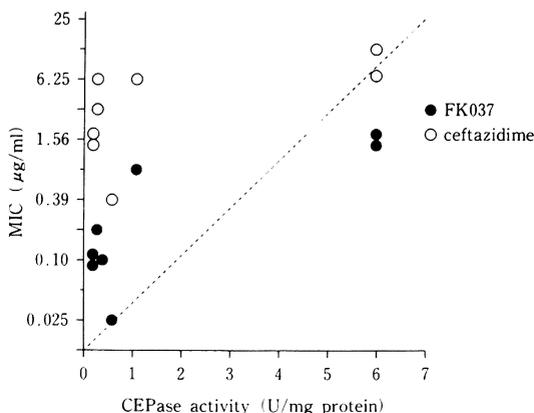
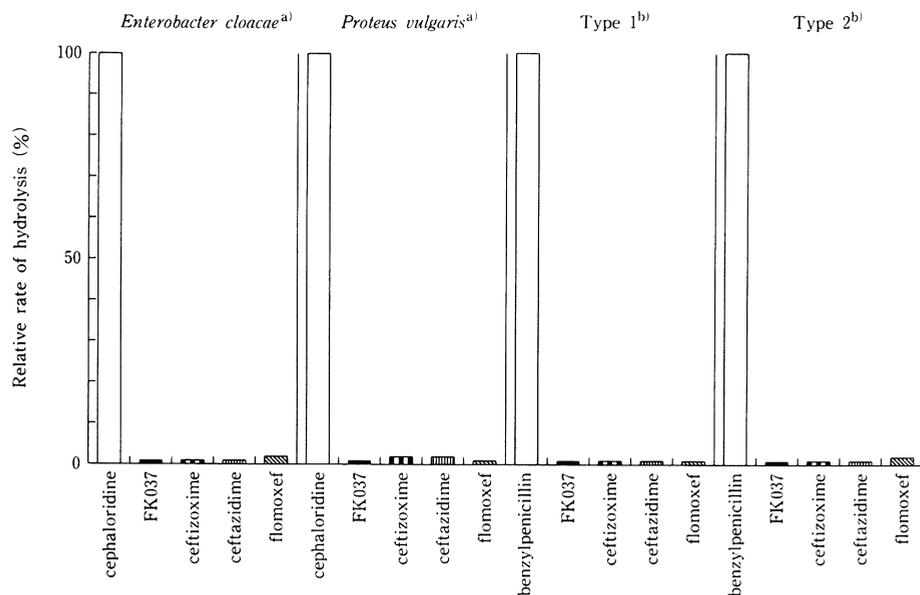


Fig. 7. Correlogram between MIC and  $\beta$ -lactamase activity



<sup>a)</sup> Relative rate of hydrolysis is expressed as the percentage of cephaloridine (100 $\mu$ M) hydrolysis

<sup>b)</sup> Relative rate of hydrolysis is expressed as the percentage of benzylpenicillin (100 $\mu$ M) hydrolysis

Fig. 8. Stability of FK037 against  $\beta$ -lactamases

$\beta$ -ラクタム剤の抗菌力は、薬剤の透過性に加えてその標的部位である PBP 親和性や  $\beta$ -ラクタム剤耐性の主因となる  $\beta$ -ラクタマーゼに対する安定性や親和性の低下によって左右される<sup>6)</sup>。FK037 についてもかかる観点から検討した。*S. aureus* PBP 変異株に対する FK037 の抗菌力は、親株に比べ PBP2 欠損株では 4 倍、PBP4 欠損株では 256 倍以上強かった。この PBP 欠損株に対する抗菌力の増強は、ABPC、FMOX、CZON においても同様の傾向であったが、IPM のそれとは明らかに異なっていた。この結果から、FK037 の *S. aureus* の PBP に対する親和性が PBP2 または PBP3 に強く、むしろ PBP4 に対する親和性は弱いと考えられる。また FK037 は、MRSA をはじめメチシリン耐性ブドウ球菌属に対していずれの対照薬よりも強い抗菌力を示したことから、FK037 は PBP 2' の誘導能が弱いかまたは PBP 2' に対する親和性が強い薬剤と言えよう。またこれらの結果から、FK037 は先に我々が報告した MRSA に対する cefazolin (CEZ) と IPM との併用作用に比べてさらに強い効果が期待される<sup>7)</sup>。この点については今後の課題である。

他方、グラム陰性桿菌に対する FK037 の抗菌力は優れていたが、この背景は *E. cloacae* PBP 変異株に対する MIC の結果から推定できた。即ち、FK037 は PBP3 耐性菌に対して 32 倍の抗菌力の低下が見られたが PBP2 欠損株では 8 倍の抗菌力の増強が見られたことから、FK037 は PBP3 に対する親和性が強い薬剤と推定される。また、グラム陰性桿菌の多くは染色体性遺伝子支配の誘導型 CEPase を産生するが、FK037 はこれらの菌種のセフェム剤感受性菌や耐性菌に対しても対照薬より強い抗菌力を発揮したことは、一つには FK037 の CEPase の誘導能の低さを反映したものと考えられた。さらに FK037 は、プラスミド支配の構成型 CEPase 産生菌に対しても優れた MIC を発揮した。この結果は、単に FK037 が CEPase によって加水分解され難く安定であるというだけでなく、これまでに報告されたいくつかの薬剤の様に CEPase に対する親和性が低い、言い換えれば FK037 は CEPase の量的変動によっても MIC が動き難い薬剤と考えられた<sup>8)</sup>。事実、FK037 は 2 型 PCase (OXA 型) や *P. vulgaris* 由来の酵素によりわずかに加水分解されたが、典型的な PCase や CEPase に対して安定であったし、臨床

分離菌では非常に希な CEPase 量が異常に高い蛋白 1 mg 当たり 5~6 U/ml の酵素産生菌においてもその MIC の変動が少なかった。

以上述べた結果と考察から、FK037 は感染症の治療を目的とした臨床の場において、その効果が期待されよう。

#### 文 献

- 1) Neu H C, Chin N, Huang H: *In vitro* activity and  $\beta$ -lactamase stability of FK037, a parenteral cephalosporin. *Antimicrob Agents Chemother* 37: 566~573, 1993
- 2) Hiraoka M, Masuyoshi S, Mitsuhashi S, Tomatsu K, Inoue M: Cephalosporinase interactions and antimicrobial activity of BMY-28142, ceftazidime and cefotaxime. *J Antibiot* 41: 86~93, 1988
- 3) 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
- 4) Inoue M, Maejima T, Sanai S, Okamoto R, Hashimoto H: Purification and properties of a chromosomal  $\beta$ -lactamase from *Klebsiella oxytoca*. *J Antibiot* 44: 435~440, 1991
- 5) 井上松久, 平岡聖樹, 岡本了一:  $\beta$ -ラクタマーゼの検査法, 酵素の活性測定と基質特異性の求め方。 *検査と技術* 16: 239~243, 1988
- 6) 岡本了一, 井上松久: 耐性発現と分子遺伝学。 *総合臨床* 42: 231~238, 1993
- 7) 井上松久, 橋本一, 松井初江, 桜井奈津子, 大久保豊司: MRSA に対する ceftazolin または ceftizoxime と imipenem との併用効果について。 *Chemotherapy* 37: 869~876, 1989
- 8) 平岡聖樹, 三橋 進, 益吉真次, 井上松久: Cefepime のセファロスポリナーゼ産生菌に対する抗菌力とセファロスポリナーゼとの相互作用について。 *Chemotherapy* 39(S-2): 15~19, 1991

### Antibacterial activity of FK037 against clinical isolates

Toshiko Hasobe, Masato Nonoyama, Chieko Shimauchi  
and Matsuhisa Inoue

Department of Microbiology, Kitasato University School of Medicine  
1-15-1 Kitasato, Sagamihara, Kanagawa 228, Japan

The *in vitro* activity of FK037, a new cephalosporin, was examined in comparison with that of ceftazidime (CAZ), ceftizoxime (CZX), flomoxef (FMOX), cefuzonam (CZON), imipenem (IPM), piperacillin (PIPC) and ampicillin (ABPC). FK037 had a strong activity against a broad spectrum of gram-positive and gram-negative standard strains. The activity of FK037 against gram-positive cocci was one-second to one-fourth that of CZON, FMOX and IPM. However, FK037 showed higher activity against methicillin-resistant staphylococci than CZON, FMOX and IPM did.

FK037 showed a strong activity against Enterobacteriaceae. FK037 also provided a potent activity against cephem-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* and *Serratia marcescens*, indicating that the activity of FK037 is less affected by cephalosporinase-production than that of CAZ and CZX. FK037 was not hydrolyzed by typical cephalosporinase and penicillinase but was weakly hydrolyzed by OXA-type enzyme. From these results, FK037 is likely to be stable to the enzymes at the low concentrations expected in the bacterial cells and, therefore, the stability contributes to the antibacterial activity of FK037 against cephalosporinase-producing bacteria.