

【原著・基礎】

β -lactamase 非産生 ampicillin 耐性 *Haemophilus influenzae* に対する cefditoren の *in vitro* および *in vivo* 抗菌活性

清水 敦之・金子 真紀・石川みどり・三本木祐美子・鈴木 貴久・高田 利彦

明治製菓株式会社薬品総合研究所*

(平成 15 年 2 月 12 日受付・平成 15 年 3 月 3 日受理)

臨床由来の β -lactamase 非産生 ampicillin (ABPC) 耐性 *Haemophilus influenzae* (BLNAR) に対する cefditoren (CDTR) の *in vitro* 抗菌活性を cefcapene (CFPN), cefdinir (CFDN) および cefaclor (CCL) と、BLNAR によるマウス肺感染モデルに対する cefditoren pivoxil (CDTR-PI) の治療効果を cefcapene pivoxil (CFPN-PI), CFDN および levofloxacin (LVFX) とそれぞれ比較した。125 株の β -lactamase 非産生 *H. influenzae* に対する CDTR, CFPN, CFDN, CCL および ABPC の MIC₉₀ 値は、それぞれ 0.25, 1, 4, 32 および 2 μ g/mL であり、CDTR の抗菌活性がもっとも強かった。また、被験菌 125 株を ABPC に対する感受性から MIC が 0.03~0.25 μ g/mL の群, 0.5~1 μ g/mL の群, および 2~4 μ g/mL の群の 3 群に分け、各群の CDTR, CFPN, CFDN および CCL に対する感受性を比較した。その結果、ABPC の MIC が高い群ほど各抗菌薬の MIC が高くなった。しかし、CDTR の MIC の上昇は他経口セフェム薬 3 剤の MIC の上昇に比較して小さく、被験 4 剤のなかでもっとも強い抗菌活性を示した。CDTR-PI は BLNAR によるマウス肺感染モデルに対して CDTR の *in vitro* 抗菌活性を反映した治療効果を示し、その効果は投与量依存的であった。また、CDTR-PI は、CFPN-PI, CFDN または LVFX の治療効果が認められない感染モデルに対しても治療効果を示した。以上の結果から、CDTR-PI は、他の抗菌薬では治療効果が期待できないような BLNAR 感染症に対しても治療効果が期待できる抗菌薬であることが示された。

Key words: BLNAR, cefditoren, PBPs, 肺感染モデル

Haemophilus influenzae は、現在、市中肺炎で問題となっている主要起因菌の一つであり^{1,2)}、肺炎のみならず細菌性中耳炎および髄膜炎の起因菌となることが知られている^{3,4)}。近年、*H. influenzae* は薬剤耐性化が進み、 β -lactam 薬をはじめ各種抗菌薬に対する耐性化に関する数多くの報告がある⁵⁻⁸⁾。

H. influenzae の β -lactam 系薬耐性メカニズムは、 β -lactam 系薬を不活化させる酵素である β -lactamase の産生または β -lactam 系薬の作用部位である penicillin-binding proteins (PBPs) の変異による β -lactam 系薬の親和性の低下であることが明らかになっている^{9,10)}。近年日本国内では、 β -lactamase 産生株に比較して、 β -lactamase 非産生 ampicillin 耐性 *H. influenzae* (BLNAR) が増加傾向にあり^{11,12)}、特に小児科領域および耳鼻科領域において治療上大きな問題となっている。

Cefditoren pivoxil (CDTR-PI) の活性本体である cefditoren (CDTR) はグラム陽性および陰性菌に幅広い抗菌スペクトルを有し¹³⁾、市中感染症の主要起因菌となっている *H. influenzae* や *Streptococcus pneumoniae* に対して特に強い抗菌力を示している^{14,15)}。

今回われわれは、BLNAR に対する CDTR の *in vitro* 抗菌活性および CDTR-PI の *in vivo* 治療効果を検討し、BLNAR による感染症に対する治療薬としての CDTR-PI の可能性を示す結果を得たので報告する。

I. 材料と方法

1. 使用菌株

1998~1999 年の間に日本国内の市中病院で分離された臨床由来の β -lactamase 非産生 *H. influenzae* 125 株を使用した。さらに、生方らが報告¹⁶⁾している ampicillin (ABPC) 感性、low-BLNAR および BLNAR に対する ABPC の MIC の範囲を参考に、125 株を ABPC の MIC が 0.03~0.25 μ g/mL の群, 0.5~1 μ g/mL の群および 2~4 μ g/mL の群の 3 群に分けた。また、この 125 株のなかから、マウス肺感染性のある TH-1562 (BLNAR), TH-4010 (BLNAR) および TH-5114 (BLNAR+キノロン系薬耐性) を選択し、*in vivo* 有効性試験に用いた。なお、*in vivo* 有効性試験に用いた 3 株については、生方らの方法⁹⁾にしたがい、penicillin-binding protein (PBP) 3 をコードする遺伝子 (*ftsI*) 領域のアミノ酸配列を解析し、BLNAR と判定した。また、キノロン耐

*神奈川県横浜市港北区師岡町 760

Table 1. *Haemophilus influenzae* strains for *in vivo* experiments

<i>H. influenzae</i>	PBP 3	GyrA	ParC	MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)			
				cefditoren	cefcapeone	cefdinir	levofloxacin
TH-1562	⁵²⁶ Asn* \rightarrow Lys	—	—	0.06	0.25	2	0.015
TH-4010	⁵²⁶ Asn* \rightarrow Lys ³⁷⁷ Met* \rightarrow Ile ³⁸⁵ Ser* \rightarrow Thr ³⁸⁹ Leu* \rightarrow Phe	—	—	0.25	2	16	0.015
TH-5114	⁵²⁶ Asn* \rightarrow Lys	⁸⁴ Ser* \rightarrow Arg ⁸⁸ Asp* \rightarrow Ala	⁸⁴ Ser* \rightarrow Arg	0.25	0.5	4	4

*based on *H. influenzae* Rd strain

—: no replacement in quinolone resistance-determining regions (QRDRs)

性については、*gyrA* および *parC* 遺伝子の解析により判定した (Table 1)。

2. 使用抗菌薬

In vitro 試験に、ampicillin (ABPC) は製剤、CDTR は原末、cefcapeone (CFPN), cefdinir (CFDN) および levofloxacin (LVFX) は製剤より抽出した活性体、cefaclor (CCL) は Sigma 社より入手したものを使用した。また、*in vivo* 試験では、CDTR-PI, cefcapeone pivoxil (CFPN-PI), CFDN および LVFX の市販製剤を用いた。

3. 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法

MIC の測定は、日本化学療法学会標準法¹⁷⁾に準じ、sensitivity disk agar-N (SDA; Nissui) を基礎培地とし、5% 馬脱繊維血液添加チョコレート寒天培地を用いた寒天平板希釈法で測定した。Brain heart infusion agar (BHIA; Difco) を基礎培地とした 5% 馬脱繊維血液添加チョコレート寒天培地に発育させたコロニーを sensitivity test broth (STB, Nissui) に接種し、37°C で約 18 時間前培養した。培養後、前培養液を新鮮 STB にて 100 倍希釈したものを接種菌液とし、ミクロプランター (佐久間製作所) を用いて接種した。37°C で約 18 時間培養後、肉眼的に菌の発育が認められない最小抗菌薬濃度を MIC とした。

4. 各薬剤の PBPs への結合親和性測定

ABPC 感性 *H. influenzae* TH-1594 の PBPs に対する CDTR, CFPN, CFDN および CCL の結合親和性の測定は Spratt の方法¹⁸⁾を一部改変して行い、培養方法などについては清水らの方法¹⁹⁾に準じた。すなわち、³H-labeled benzylpenicillin (³H-PCG, Amersham) と PBPs との結合に対する各抗菌薬の阻害の程度を測定する競合阻害で結合親和性を測定した。検出された各 PBPs をコンピュータで画像解析し、抗菌薬非処理群における各 PBPs バンドの濃さの半分になる時の抗菌薬作用濃度を IC₅₀ として算出した。

5. マウス肺感染モデルに対する治療効果

1) 使用動物

4 週齢の雄性 (体重 14 \pm 2 g) の CBA/J 系マウス (日本チャールスリバー) を 1 群 5 匹で使用した。なお、前処理として、感染前日に cyclophosphamide (Sigma) の 200 mg/kg を腹腔内投与し、免疫低下を惹起した。

2) 接種菌液の調製および感染

BHIA チョコレート寒天培地に発育させた菌を 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の hemin および β -NAD を添加した brain heart infusion broth (BHIB, Difco) に接種し、37°C で一夜培養した。この培養液をさらに新鮮 BHIB (15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ hemin および β -NAD 含有) に接種し、37°C で培養した。培養液を O.D (A=660 nm) で約 0.35 になるように調製したものをさらに 20 倍希釈した菌液を接種菌液とした。マウスに pentobarbital sodium (sompentyl[®], Schering-Plough Animal Health) を投与し、麻酔下で接種菌液の 20 μL を経鼻接種し、感染を惹起した。

3) 治療および効果判定

感染翌日から 0.5% メチルセルロースに懸濁した抗菌薬を 1 日 3 回 4 時間間隔で 3 日間経口投与した。感染 4 日後にマウスの肺を無菌的に摘出し、1.8 mL の生理食塩液の入ったガラスホモジナイザーでホモジネート液を作製した。それぞれのホモジネート液の 10 倍希釈系列を作製し、isovitalax-enrichment (BBL) 添加の BHIA 寒天平板に希釈液の 100 μL を塗抹した。37°C で一夜培養後、発育したコロニー数を測定し、希釈率とコロニー数から肺内生菌数 (log CFU/lung) を算出した。

4) 統計解析手法

感染コントロール群と抗菌薬投与群および抗菌薬投与群間における肺内生菌数の有意差検定は、薬効データ解析システム (SAS) を使用し、Mann-Whitney の U 検定で行った。

II. 結 果

1. 臨床由来 *H. influenzae* の薬剤感受性

125 株の β -lactamase 非産生 *H. influenzae* に対する CDTR, CFPN, CFDN, CCL および ABPC の MIC₉₀ 値は、それぞれ 0.25, 1, 4, 32 および 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり、CDTR の抗菌力は CFPN, CFDN, CCL および

Table 2. MICs of cefditoren, cefcapene, cefdinir, cefaclor, and ampicillin for 125 strains of β -lactamase-negative *Haemophilus influenzae*

Drug	MIC range ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
Cefditoren	0.004 – 0.5	0.03	0.25
Cefcapene	0.004 – 2	0.03	1
Cefdinir	0.13 – 8	0.5	4
Cefaclor	0.5 – 64	4	32
Ampicillin	0.03 – 4	0.5	2

ABPC より強かった (Table 2)。被験菌株を ABPC に対する感受性から 3 群に分け、3 群間で各抗菌薬の MIC を比較した結果、ABPC の MIC が高い群ほど被験薬剤の MIC が高くなった。しかし、CDTR の MIC の上昇は他経口セフェム薬、特に CFPN および CFDN の MIC の上昇に比較して低かった。ABPC の MIC が 0.03~0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の群に対して CDTR と CFPN の抗菌力は同等であった。一方、ABPC の MIC が 0.5~1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の群および ABPC の MIC が 2~4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の群に対する CFPN の MIC の上昇は、CDTR の MIC 上昇の 4~8 倍であった (Table 3)。

2. ABPC 感性 *H. influenzae* TH-1549 由来の PBP_s に対する各抗菌薬の結合親和性

CDTR の *H. influenzae* に対する抗菌力の強さを PBP_s に対する結合親和性の観点から明らかにする目的で、ABPC 感性株由来の PBP_s に対する CDTR の結合親和性を他抗菌薬の結合親和性と比較した (Table 4)。

CDTR の結合親和性は、PBP 3 a, 3 b, 1 b, 4, 1 a, 2 の順に強く、その IC₅₀ 値は、それぞれ 0.018, 0.02, 0.066, 0.27, 1.3, 7.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。この結合親和性のパターンは CFPN と類似していた。PBP 3 a および PBP 3 b に対する CDTR の結合親和性は、CFPN と同等で、CFDN および CCL に比較して強かった。しかし、PBP 1 a に対する CDTR の結合親和性は、他薬剤に比較して弱かった。いずれの薬剤も PBP 2 に対する結合親和性は弱かった。

以上の結果から、ABPC 感受性 *H. influenzae* 由来の PBP_s に対する CDTR の結合親和性の特徴として、PBP 3 a および 3 b に対する親和性が強いことが明らかにな

Table 4. Competition of cefditoren and other cepheims with ³H-labeled penicillin G for binding to PBP_s of *Haemophilus influenzae* TH-1594

PBP	IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)			
	cefditoren (0.008*)	cefcapene (0.008*)	cefdinir (0.25*)	cefaclor (2*)
1 a	1.3	0.44	0.44	0.48
1 b	0.066	0.091	0.035	0.023
2	7.2	1.8	3.1	7.2
3 a	0.018	0.02	0.066	1
3 b	0.02	0.013	0.14	1.9
4	0.27	0.27	0.14	1

*MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

った。

3. BLNAR によるマウス肺感染モデルに対する CDTR-PI の治療効果

H. influenzae TH-1562 および TH-4010 による肺感染モデルに対して、CDTR-PI は投与量依存的な治療効果を示した (Fig. 1; A, B)。すなわち、CDTR-PI は、TH-1562 感染に対しては 6.25 mg/kg/回の投与量で、TH-4010 感染に対しては 25 mg/kg/回の投与量で検出限界 (2.3 log) 以下まで菌の減少が認められた。

これら TH-1562 および TH-4010 感染に対する CDTR-PI の治療効果を CFPN-PI, CFDN および LVFX と比較し、その結果を Fig. 2 (A, B) に示した。同一投与量における CDTR-PI の治療効果は、CDTR の *in vitro* 抗菌力を反映しており、CFPN-PI および CFDN の治療効果に比べ優れていた。すなわち、TH-1562 感染の場合、抗菌薬非投与群の肺内生菌数 (log CFU/lung \pm SD) は 6.75 \pm 0.14 を示した。CDTR-PI, CFPN-PI および CFDN の 6.25 mg/kg/回投与群の肺内生菌数はそれぞれ検出限界以下、6.67 \pm 0.26 および 6.77 \pm 0.14 であり、CFPN-PI および CFDN 投与群は、抗菌薬非投与群と同等の肺内生菌数で治療効果が認められなかった。一方、CDTR-PI は優れた治療効果を示した (Fig. 2; A)。

また、TH-4010 感染の場合、抗菌薬非投与群の肺内生菌数が 6.94 \pm 0.49 であるのに対し、CDTR-PI, CFPN-PI および CFDN の 25 mg/kg/回投与群の肺内生菌数はそれぞれ 2.44 \pm 0.31, 6.78 \pm 0.61 および 7.44 \pm 0.37 で

Table 3. MIC₉₀ values of cefditoren, cefcapene, cefdinir, and cefaclor for *Haemophilus influenzae* with different MIC range for ampicillin

MIC range for ampicillin	Number of strains	MIC ₉₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)			
		cefditoren	cefcapene	cefdinir	cefaclor
0.03–0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$	49	0.03 (1)	0.03 (1)	0.5 (1)	4 (1)
0.5 –1 $\mu\text{g}/\text{mL}$	42	0.06 (2)	0.25 (8)	2 (4)	32 (8)
2 –4 $\mu\text{g}/\text{mL}$	34	0.25 (8)	2 (64)	8 (16)	32 (8)

(): relative increase of MIC₉₀ when MIC₉₀ of each drug for 49 *H. influenzae* strains with MIC of ampicillin between 0.03 and 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ is defined as 1.

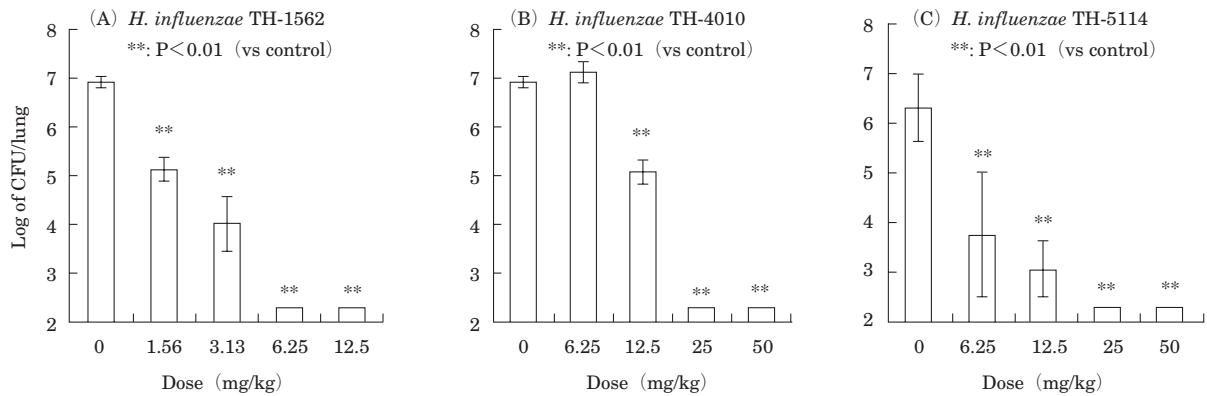
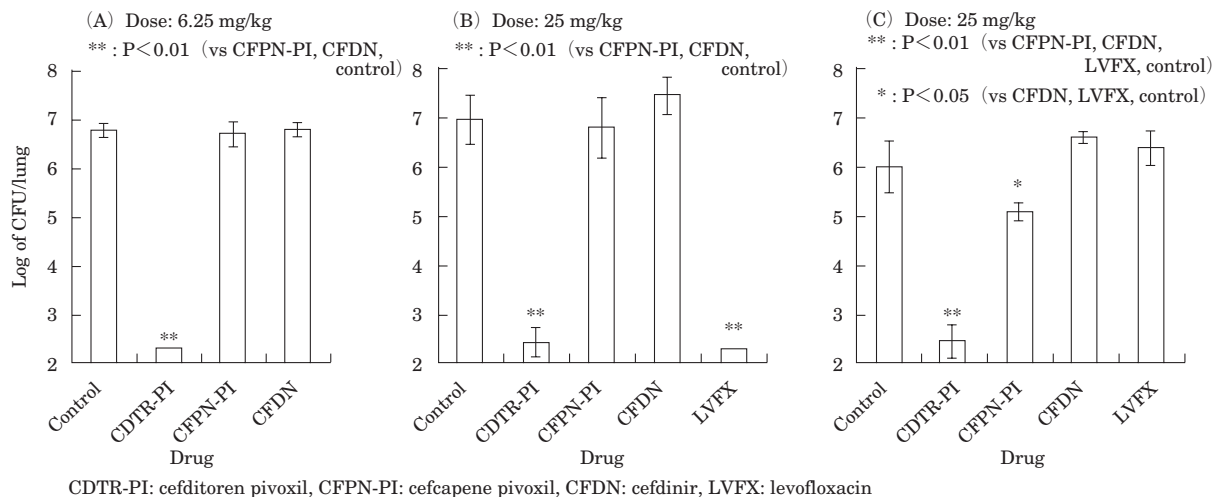


Fig. 1. Therapeutic efficacy of cefditoren pivoxil against respiratory tract infection in mice caused by β -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. (A): *H. influenzae* TH-1562 (MIC of cefditoren: 0.06 μ g/mL), (B): *H. influenzae* TH-4010 (MIC of cefditoren: 0.25 μ g/mL), (C): *H. influenzae* TH-5114 (MIC of cefditoren: 0.25 μ g/mL).



CDTR-PI: cefditoren pivoxil, CFPN-PI: cefcapene pivoxil, CFDN: cefdinir, LVFX: levofloxacin

Fig. 2. Therapeutic efficacy of cefditoren pivoxil, cefcapene pivoxil, cefdinir, and levofloxacin against respiratory tract infection in mice caused by β -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. (A): *H. influenzae* TH-1562 (MIC of cefditoren: 0.06 μ g/mL, MIC of cefcapene: 0.25 μ g/mL, MIC of cefdinir: 2 μ g/mL), (B): *H. influenzae* TH-4010 (MIC of cefditoren: 0.25 μ g/mL, MIC of cefcapene: 2 μ g/mL, MIC of cefdinir: 16 μ g/mL, MIC of levofloxacin: 0.015 μ g/mL), (C): *H. influenzae* TH-5114 (MIC of cefditoren: 0.25 μ g/mL, MIC of cefcapene: 0.5 μ g/mL, MIC of cefdinir: 4 μ g/mL, levofloxacin: 4 μ g/mL).

あり、CFPN-PIおよびCFDN投与群は、抗菌薬非投与群と同等の肺内生菌数で治療効果が認められなかった。一方、LVFXは、CDTR-PIと同様にその強い *in vitro* 抗菌力を反映し、TH-4010感染に対して優れた治療効果を示した (Fig. 2; B)。

次に、キノロン耐性のTH-5114肺感染モデルに対するCDTR-PI、LVFXおよび他経口薬の治療効果を比較した (Fig. 1; C, Fig. 2; C)。CDTR-PIは本菌に対しても投与量依存的な治療効果を示し、25 mg/kg/回の投与量で肺内生菌数を検出限界以下まで抑制した (Fig. 1; C)。

これらTH-5114感染に対するCDTR-PIの治療効果

をCFPN-PI、CFDNおよびLVFXと比較した。その結果、抗菌薬非投与群の肺内生菌数が 6.08 ± 0.53 であったのに対し、CDTR-PI、CFPN-PI、CFDNおよびLVFXの25 mg/kg/回投与群の肺内生菌数はそれぞれ 2.46 ± 0.35 、 5.13 ± 0.18 、 6.67 ± 0.18 および 6.44 ± 0.36 であった。本菌株はLVFXに対して耐性のためLVFXの治療効果は認められなかった。しかし、CDTR-PIは治療効果を示した (Fig. 2; C)。

III. 考 察

市中肺炎の主要起因菌である *H. influenzae* は近年耐性化が進み、特に日本ではBLNARの分離頻度が上昇している^{11,12)}。さらに、日本では近年、 β -lactam系薬

耐性のみならずキノロン系薬耐性 *H. influenzae* の報告もあり、耐性メカニズムとして *gyrA* および *parC* 領域のアミノ酸変異が確認されている⁵⁾。しかし、欧米では日本に比べ BLNAR よりも β -lactamase 産生による耐性株の分離頻度が高いと報告されている^{6,7,20-23)}。

本研究では、BLNAR に着目し、CDTR などの経口セフェム薬の *in vitro* 抗菌力と *in vivo* 有効性について検討した。

β -lactamase 非産生 *H. influenzae* に対する CDTR, CFPN, CFDN, CCL および ABPC の抗菌力を測定した結果、CDTR, CFPN, ABPC, CFDN および CCL の順に強い抗菌力が示された (Table 2)。他方、ABPC に対する感受性の低下に伴い、被験抗菌薬すべての MIC の上昇が認められた (Table 3)。また、ABPC の MIC が 0.03~0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ である ABPC 感性 *H. influenzae* に対して CDTR と CFPN の抗菌力はほぼ同等で CFDN および CCL に比較して強い抗菌力を示した。ABPC 感性 *H. influenzae* 由来の PBP3s に対する CDTR と CFPN の結合親和性は、PBP 3a および 3b に対して強く (Table 4)、両抗菌薬が ABPC 感性 *H. influenzae* に対して優れた抗菌力を示す理由であると考えられた。しかし、ABPC の MIC が 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上である菌株に対しては、CDTR と CFPN との間で抗菌力に差が認められ、特に ABPC の MIC が 2~4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の菌株に対する CDTR および CFPN の MIC₉₀ 値は、それぞれ 0.25 および 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり、CDTR の抗菌力が CFPN に比較して 8 倍強かった (Table 3)。

生方らは *H. influenzae* の PBP 3 のアミノ酸変異パターンを調べ、 β -lactam 系薬の MIC 変動との相関性を解析し、PBP 3 のアミノ酸変異により CFPN の MIC が CDTR に比較して高くなることを報告している¹¹⁾。したがって、BLNAR に対する CDTR の抗菌力が CFPN より強いというわれわれの結果は、*H. influenzae* の PBP 3 のアミノ酸変異があっても、変異した PBP 3 に対する CDTR の結合親和性が CFPN に比べ強い可能性を示唆している。PBP 3 に対する親和性の差が BLNAR に対する CDTR と CFPN との抗菌力の差の一因と考えられるが詳細な検討が今後の課題である。

さらに、われわれは、BLNAR に対する CDTR の *in vitro* 抗菌力が、*in vivo* 有効性に反映されるかどうかを明らかにする目的で、BLNAR によるマウス肺感染モデルを作成し、CDTR-PI の治療効果を、他経口薬と比較した。今回われわれが作成した BLNAR によるマウス肺感染モデルを用いて CDTR-PI の治療効果を検討したところ、被験菌株に対する CDTR の MIC を反映した治療効果が得られ、その効果は投与量依存的であった (Fig. 1)。この結果は、使用したマウス肺感染モデルについては、経口薬の *in vitro* 抗菌力が反映されるモデルであることを示している。次に本モデルに対する各種経口薬

の治療効果を検討した結果、CFPN-PI, CFDN または LVFX の治療効果が認められない感染条件下でも CDTR-PI には治療効果が認められた (Fig. 2)。

H. influenzae に対する経口薬の *in vivo* 有効性については、種々の感染モデル系で報告がある^{24,25)}。宮崎らは、より臨床に近い感染モデルとして cell-binding organisms (CBO) 法を提唱し、各種経口薬の有効性を評価している^{25,26)}。そのなかで、宮崎らは BLNAR に対する CDTR-PI の治療効果は CFDN より優れ、CFPN-PI と同等であると報告している²⁶⁾。BLNAR に対する CDTR-PI と CFPN-PI の治療効果について、今回われわれの得た結果と食い違いがあるが、感染モデル系の違いや被験菌株の違いなどの理由によるものと考えられる。

今回われわれが実施した試験の結果から、*H. influenzae*、特に BLNAR に対する CDTR の抗菌力は他経口セフェム薬より強いことが明らかになった。また、CDTR-PI は、今後臨床の現場においてさらに増加することが予想される BLNAR 感染症に対しても治療効果が期待できる抗菌薬であると考えられる。

文 献

- 1) 永武 毅: インフルエンザ菌感染症の変遷 (成人)。化学療法の領域 14: 1125~1131, 1998
- 2) 上原すゝ子: インフルエンザ菌感染症の変遷とインフルエンザ菌 b 型ワクチン (小児)。化学療法の領域 14: 1132~1139, 1998
- 3) 山中 昇, 保富宗城: 耳鼻咽喉科領域の感染症とインフルエンザ菌。化学療法の領域 14: 1191~1197, 1998
- 4) 上原すゝ子: 5. 各論 (病原体の特徴と治療法) 1) インフルエンザ菌性髄膜炎。化学療法の領域 17: 1255~1265, 2001
- 5) Georgiou M, Munoz R, Roman F, et al.: Ciprofloxacin-resistant *Haemophilus influenzae* strains possess mutation in analogous position of GyrA and ParC. *Antimicrob. Agents Chemother.* 40: 1741~1744, 1996
- 6) Sahm D F, Jones M E, Hickey M L, et al.: Resistance surveillance of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* isolated in Asia and Europe. *J. Antimicrob. Chemother.* 45: 457~466, 2000
- 7) Thornsberry C, Jones M E, Hickey M L, et al.: Resistance surveillance of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* isolated in the United States, 1997-1998. *J. Antimicrob. Chemother.* 44: 749~759, 1999
- 8) Vila J, Ruiz J, Sanchez F, et al.: Increase in quinolone resistance in a *Haemophilus influenzae* strain isolated from a patient with recurrent respiratory infections treated with ofloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43: 161~162, 1999
- 9) Ubukata K, Shibasaki Y, Tamamoto K, et al.: Association of amino acid substitutions in penicillin-binding protein 3 with beta-lactam resistance in beta-lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*

- 45: 1693~1699, 2001
- 10) Karlowsky J A, Verma G, Zhanel G G, et al.: Presence of ROB-1 beta-lactamase correlates with cefaclor resistance among recent isolates of *Haemophilus influenzae*. J. Antimicrob. Chemother. 45: 871~875, 2000
 - 11) 生方公子: 市中感染症研究会・3年間のまとめ。肺炎球菌とインフルエンザ菌についての疫学的考察。Jpn. J. Antibiot. 54 (Suppl. B): 72~79, 2001
 - 12) 砂川慶介, 野々山勝人, 高山陽子, 他: 本邦における1997年以降3年間の小児化膿性髄膜炎の動向。感染症学雑誌 75: 931~939, 2001
 - 13) 西野武志, 高田利彦, 大槻雅子, 他: ME 1207の*in vitro*及び*in vivo*抗菌作用。Chemotherapy 40 (S-2): 37~50, 1992
 - 14) Clark C L, Nagai K, Dewasse B E, et al.: Activity of cefditoren against respiratory pathogens. J. Antimicrob. Chemother. 50: 33~41, 2002
 - 15) Seki H, Kasahara Y, Ohta K, et al.: Antimicrobial activities of cefditoren against respiratory pathogens isolated from children in Japan. J. Infect. Chemother. 5: 16~20, 1999
 - 16) Ubukata K, Chiba N, Hasegawa K, et al.: Differentiation of β -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* from other *H. influenzae* by a disc method. J. Infect. Chemother. 8: 50~58, 2002
 - 17) 日本化学療法学会 MIC 測定法改訂委員会: 最小発育濃度 (MIC) 測定法改訂について。Chemotherapy 29: 76~77, 1981
 - 18) Spratt B G: Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation and shape of *Escherichia coli* K-12. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 72: 2999~3003, 1975
 - 19) 清水正樹, 高田利彦, 益吉眞次, 他: Cefditorenの臨床分離 *Haemophilus influenzae* に対する抗菌力, 殺菌力, β -ラクタマーゼ安定性およびペニシリン結合蛋白質への結合親和性。日化療会誌 43: 815~820, 1995
 - 20) Felmingham D, Gruneberg R N, and the Alexander Project Group: The alexander project 1996-1997: latest susceptibility data from this international study of bacterial pathogens from community-acquired lower respiratory tract infections. J. Antimicrob. Chemother. 45: 191~203, 2000
 - 21) Thornsberry C, Ogilvie P T, Holley H P Jr, et al.: Survey of susceptibility of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis* isolates to 26 antimicrobial agents: a prospective U.S. study. Antimicrob. Agents Chemother. 43: 2612~2623, 1999
 - 22) Doern G V, Jones R N, Pfaller M A, et al.: *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* from patients with community-acquired respiratory tract infections: antimicrobial susceptibility patterns from the sentry antimicrobial surveillance program (United States and Canada, 1997). Antimicrob. Agents Chemother. 43: 385~389, 1999
 - 23) 生方公子: 肺炎球菌, インフルエンザ菌の疫学的考察。Jpn. J. Antibiot. 54 (Suppl. B): 4~10, 2001
 - 24) Tawara S, Hatano K, Wakai Y, et al.: In vivo antibacterial activity of FK 041, a new orally active cephalosporin. J. Antibiot. (Tokyo) 52: 660~665, 1999
 - 25) Miyazaki S, Nunoya T, Matsumoto T, et al.: New murine model of bronchopneumonia due to cell-bound *Haemophilus influenzae*. J. Infect. Dis. 175: 205~209, 1997
 - 26) 宮崎修一, 藤川利彦, 山口恵三: アンピシリン耐性 *Haemophilus influenzae* 感染モデルにおける経口セフェム系薬の治療効果と MIC との関連。日化療会誌 48: 903~907, 2000

In vitro and *in vivo* activity of cefditoren against β -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*

Atsuyuki Shimizu, Maki Kaneko, Midori Ishikawa, Yumiko Sanbongi,
Takahisa Suzuki and Toshihiko Takata

Pharmaceutical Research Center, Meiji Seika Kaisha, LTD.
760 Morooka-cho, Kohoku-ku, Yokohama 222-8567, Japan

The *in vitro* antibacterial activity of cefditoren (CDTR) against β -lactamase-negative ampicillin (ABPC)-resistant *Haemophilus influenzae* (BLNAR) was compared to those of cefcapene (CFPN), cefdinir (CFDN), and cefaclor (CCL). Therapeutic efficacy of cefditoren pivoxil (CDTR-PI) against respiratory tract infection caused by BLNAR in mice was also compared to those of cefcapene pivoxil (CFPN-PI), cefdinir (CFDN), and levofloxacin (LVFX). MIC₉₀ values of CDTR, CFPN, CFDN and CCL against 125 strains of β -lactamase-negative *H. influenzae* were 0.25, 1, 4, and 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$, showing the strongest activity of CDTR among tested antibiotics. Based on the susceptibility of these strains to ABPC, they were classified into 3 groups. MIC range of ABPC for groups were 0.03–0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.5–1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 2–4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and the susceptibility of each group to CDTR, CFPN, CFDN, and CCL was compared. The 4 antibiotics increased their MICs as MIC of ABPC increased, but an increase in MIC of CDTR was less than those of the other 3 antibiotics. We examined the therapeutic efficacy of CDTR-PI, CFPN-PI, CFDN, and LVFX against respiratory tract infection due to BLNAR in mice. Therapeutic efficacy of CDTR-PI against models was dose-dependent and higher than those of other oral cephem antibiotics, as reflected in *in vitro* antimicrobial activity. In this study, we showed that CDTR-PI may have potential therapeutic efficacy against BLNAR infection for which other antibiotics are not effective.