

Cefatrizine과 clavulanic acid 병합제의 *in vitro* 및 *in vivo* 항균력

최성학* · 김지영 · 김계원 · 김원배 · 심미자¹ · 이경원² · 정윤섭²

동아제약연구소, ¹서울시립대학교 생명과학과

²연세대학교 의과대학 임상병리과학교실

Comparative *in vitro* and *in vivo* Antibacterial Activities of Cefatrizine/Clavulanic Acid Combination and Other β -lactam Antibiotics

Seonghak CHOI*, Jiyoung KIM, Gyewon KIM, Wonbae KIM,
Mija SHIM¹, Kyungwon LEE² and Yunsop CHONG²

Research Laboratories, Dong-A Pharm. Co., Ltd., Yongin, Kyunggi-do, Korea

¹Department of Life Science, the University of Seoul, Seoul, Korea,

²Department of Clinical Pathology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

(Received February 18, 1999; accepted March 11, 1999)

Abstract—The resistant strains due to the extended-spectrum β -lactamase (ESBL) were susceptible to cefatrizine combined with clavulanic acid. The purpose of this study was to evaluate the *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities of cefatrizine/clavulanic acid (CTRZ/CV) combination at a ratio of 2:1 in comparison with cefaclor (CCLO), cefuroxime (CRXM), cefuroxime axetil (CRXMA) and amoxicillin/clavulanic acid (AMXCCV). CTRZ/CV showed good activity against laboratory strains of gram-positive and gram-negative bacteria and exhibited excellent antibacterial activity against β -lactamase-producing strains. The bactericidal activity of CTRZ/CV was superior to that of CCLO and CRXM, and almost equal to that of AMXCCV against the β -lactamase-producing strains. The *in vitro* results were substantiated by *in vivo* mouse experimental infection studies with β -lactamase-producing and non-producing strains. In mixed experimental infection due to β -lactamase-producing and non-producing strains, the therapeutic efficacy of CTRZ/CV was superior to that of CTRZ, CCLO, CRXM, CRXMA and AMXCCV. In respiratory tract infection in mice due to *Klebsiella pneumoniae* EB40, CTRZ/CV was more effective than CCLO, CRXMA and AMXCCV and also more efficacious than CCLO, CRXMA and AMXCCV in urinary tract infection in mice due to *Escherichia coli* EB13. These results indicate that CTRZ/CV is a useful drug for the treatment of infection caused by β -lactamase-producing strains including ESBL-producing strains.

Keywords □ cefatrizine, clavulanic acid, *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity

세균감염증 치료를 위해서 β -lactam제가 널리 사용됨에 따라서 β -lactam제에 내성인 세균이 대단히 흔해졌다. 세균의 β -lactam제에 대한 내성 기전 중 가장 중요한 것은 β -lactamase 생산에 의한 β -lactam제의 불활성화이다 (Noguchi와 Gill, 1988). β -Lactamase 생산세균에 대처하기 위해서 β -lactam 모핵에 새로운 작용기를 도입하여 β -lactamase에 안정한 제제를 개발하거나, 기존의 β -lactam제에 β -lactamase 저해제를 복합하여 사용하고 있다(Yokota 등, 1982). Clavulanic acid(CV)는 *Streptomyces clavuligerus*가 생산하는 β -lactamase 저해제로(Hardy, 1991) 자체로는 항

균력이 매우 약하지만 β -lactamase와 비가역적으로 결합하여 이 효소를 불활성화하며 amoxicillin(AMXC)과의 복합제로 사용되고 있다. 경구용 제3세대 cephalosporin인 cefatrizine(CTRZ)은 여러 가지 감염증에 유효하지만 일부 β -lactamase에 의해 가수분해되어 항균활성을 나타내지 못한다. 그러나 저자들은 이러한 β -lactamase 생산세균에 대하여 CV의 병합으로 CTRZ의 항균활성이 개선되며, 특히 근래 급증하고 있는 제3세대 cephalosporin을 가수분해하는 extended-spectrum β -lactamase(ESBL) 생산균주(Jacoby와 Medeiros, 1991)에 항균력이 매우 우수하다는 결과를 얻은 바 있다(Kim 등, 1998).

본 연구에서는 CTRZ/CV의 표준균주에 대한 항균력, β -

* To whom correspondence should be addressed.

lactamase 생산균주에 대한 살균력과 β -lactamase 생산 및 비생산균주로 감염시킨 생쥐 복강내감염, 혼합감염, 호흡기 감염 및 요로감염 모델에서의 치료효과에 대해 임상에서 사용되고 있는 amoxicillin/clavulanic acid(AMXCCV)와 경구용 cephalosporin인 cefaclor(CCLO) 및 cefuroxime axetil (CRXMA)과 비교, 평가하였다.

재료 및 방법

시험재료

CTRZ(동아제약)와 CV(Fermic, Mexico)는 원료를, CRXMA는 시판품(진네트, 한국그락소웰컴)을 사용하였으며, AMXC, CCLO 및 cefuroxime(CRXM)은 Sigma사 (미국)에서 구입하여 사용하였다. CTRZ/CV 및 AMXCCV는 CTRZ와 AMXC를 CV와 2:1로 혼합하여 만들었다. 시험균주는 동아제약 연구소에서 보존중인 것을 사용하였고 미생물 배양에 사용한 배지는 Difco사 (미국)에서 구입하여 사용하였다. 복강내 및 호흡기감염 치료시험에는 체중 18-21 g인 4주령의 수컷 ICR계 생쥐(대한실험동물센터)를 사용하였으며, 요로감염 치료시험에는 체중 17-20 g인 5주령의 암컷 ICR계 생쥐를 사용하였다.

최소 발육저지 농도(MIC)의 측정

최소 발육저지 농도(minimum inhibitory concentration; MIC)는 일본화학요법학회 표준법(Japan Society of Chemotherapy, 1981)에 따라 단계별로 희석된 항균제가 포함된 Mueller Hinton agar(MHA)를 사용한 한천배지희석법으로 측정하였으며, *Haemophilus influenzae*는 5%(v/v) Fildes enrichment가 첨가된 MHA를 사용하여 시험하였다.

살균곡선

대수증식기에 있는 시험균을 37°C의 Mueller Hinton broth(MHB)에 10^6 - 10^7 CFU/ml가 되도록 접종한 다음 MIC의 1/2, 1, 2 및 4배의 농도가 되도록 각각의 약물을 첨가하고 37°C 항온기에서 진탕배양하면서 1, 2, 4 및 6시간 후 배양액중 생균수를 Tryptic soy agar(TSA)를 사용하여 측정하였다. *H. influenzae*의 배양 및 생균수의 측정은 5% Fildes enrichment가 첨가된 MHB 및 Brain heart infusion agar (BHIA)를 사용하였다.

복강내 감염 치료효과

Streptococcus pneumoniae 및 *H. influenzae*는 각각 5%(v/v) sheep blood(코메드)와 5% Fildes enrichment가 첨가된 BHIA에 접종하여 37°C에서 48시간 candle jar에서 배양하였고, *Staphylococcus aureus*는 BHIA에, *K. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Moraxella catarrhalis* 및 *E. coli*는 TSA에 접종하여 37°C에서 18시간 배양 후 생리식염수에 부유하고 LD₁₀₀(lethal dose)의 2-20배가 되도록 5%(w/v) mucin(Difco)에 현탁 하

였다. 1군당 8마리의 생쥐 복강에 균부유액 0.5 ml를 주사하고 균점종 1시간 후 0.5%(w/v) methyl cellulose에 현탁한 항균제를 경구로 투여하였다. 균점종 7일 후 생존률을 조사하여 Probit 분석법(Bliss, 1985)으로 50% 유효량(ED₅₀)을 구하였다.

호흡기 감염 치료효과

K. pneumoniae EB40을 TSA에 접종하여 37°C에서 18시간 배양 후 생리식염수에 10^8 CFU/ml가 되도록 맞춘 균부유액 20 μ l를 pentobarbital(Sigma) 100 mg/kg을 복강내로 주사하여 마취시킨 면역결핍 생쥐의 코에 주입하였다. 면역결핍은 균점종 4일전에 cyclophosphamide(Sigma) 200 mg/kg을 생쥐의 복강내로 주사하여 유발시켰다. *K. pneumoniae* 221은 TSA에 접종하여 37°C에서 18시간 배양 후 생리식염수에 10^6 CFU/ml가 되도록 맞춘 균부유액 20 μ l를 마취시킨 정상 생쥐의 코에 주입하였다(Tsuji 등, 1993). *K. pneumoniae* EB40을 사용한 호흡기감염 모델에서는 균점종 6, 24, 30, 36, 48, 54 및 60시간 후 5 mg씩 7회 약물을 경구로 투여하고 균점종 4일 후 생존률을 측정하였으며 1군당 생쥐 14마리씩을 시험하였다. *K. pneumoniae* 221을 사용한 호흡기감염 모델에서는 감염 10시간 후 2 mg의 약물을 1회 경구로 투여한 다음 2, 4, 6 및 8시간 후 무균적으로 폐를 적출하여 생리식염수로 균질화 한 후 TSA를 사용하여 생균수를 측정하였으며 1군 당 생쥐 5마리씩을 시험하였다.

요로 감염 치료효과

E. coli EB13을 TSA에 접종하여 37°C, 18시간 배양 후 생리식염수에 10^9 CFU/ml가 되도록 맞추어 균부유액을 만들었다. 하룻밤 절수 사육한 생쥐를 강제로 배뇨시킨 후 pentobarbital 100 mg/kg을 복강내로 주사하여 마취시키고 미량주사기로 요도를 통하여 균액 50 μ l를 방광내에 접종하였다(Goto 등, 1992). 요도구를 소형클립으로 3시간 동안 막고 균점종 24, 30, 48, 54, 72 및 78시간 후 5 mg씩 6회 약물을 경구로 투여하고, 균점종 4일 후 신장을 적출하여 생리식염수를 가하고 균질화 한 후 생균수를 측정하였으며 1군 당 생쥐 5마리씩을 시험하였다.

결 과

항균 스펙트럼

그람양성균주에 대한 CTRZ/CV의 MIC는 ≤ 0.025 ~25 μ g/ml로 CTRZ, CCLO, CRXM 및 AMXCCV의 MIC와 비슷하였다(Table I). 그람음성균주의 경우 CTRZ/CV의 MIC는 0.39~>100 μ g/ml로 균종에 따라 다양하였으나 *Serratia marcescens*, *Providentia rettgeri*, *Morganella morgani*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Hafnia alvei* 및 *Stenotrophomonas maltophilia*를 제외한 균주에 대해서 0.39~12.5 μ g/ml이었으며, 특히 ESBL을 생산하는 균주

Table I. Antibacterial activities of cefatrizine/clavulanic acid and other antibiotics against gram-positive bacteria

Strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^a				
	CTRZ/CV	CTRZ	CCLO	CRXM	AMXCCV
<i>Staphylococcus aureus</i> SG511	0.78	0.39	0.78	0.78	0.78
<i>S. aureus giorgio</i>	0.78	0.78	0.78	0.78	3.13
<i>S. aureus</i> 209P	1.56	0.78	1.56	1.56	0.78
<i>S. aureus</i> 285	1.56	1.56	3.13	1.56	0.39
<i>S. aureus</i> 503	0.78	0.78	3.13	0.78	0.39
<i>S. aureus</i> Smith	0.78	0.78	1.56	1.56	0.2
<i>S. aureus</i> 6538P	3.13	1.56	6.25	3.13	0.78
<i>S. pyogenes</i> 77A	1.56	1.56	0.78	3.13	6.25
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC9341	≤ 0.025	0.1	≤ 0.025	0.2	≤ 0.025
<i>Bacillus anthracis</i>	0.39	0.39	0.78	1.56	0.39
<i>B. cereus</i> ATCC9634	25	25	25	>100	6.25
<i>B. megaterium</i>	6.25	3.13	12.5	100	3.13
<i>B. mycoides</i>	0.05	0.05	≤ 0.025	≤ 0.025	0.05
<i>B. subtilis</i> ATCC6633	0.2	0.2	0.2	12.5	6.25

^aCTRZ/CV, cefatrizine/clavulanic acid; CTRZ, cefatrizine; CCLO, cefaclor; CRXM, cefuroxime; AMXCCV, amoxicillin/clavulanic acid.

Table II. Antibacterial activities of cefatrizine/clavulanic acid and other antibiotics against gram-negative bacteria

Strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^a				
	CTRZ/CV	CTRZ	CCLO	CRXM	AMXCCV
<i>Escherichia coli</i> TEM	0.78	3.13	1.56	3.13	12.5
<i>E. coli</i> DC2	0.78	1.56	1.56	0.1	0.78
<i>E. coli</i> 29	0.39	0.78	0.78	0.1	1.56
<i>E. coli</i> V6311/65	0.78	1.56	1.56	3.13	3.13
<i>E. coli</i> ATCC9637	1.56	0.39	0.39	0.39	0.39
<i>E. coli</i> (E6)04	1.56	1.56	0.78	0.78	6.25
<i>E. coli</i> 026	0.78	0.39	0.39	0.78	3.13
<i>E. coli</i> 055	0.78	1.56	1.56	0.1	3.13
<i>E. coli</i> 078	0.78	0.39	0.39	0.78	1.56
<i>E. coli</i> 036	0.78	0.39	0.39	0.39	1.56
<i>E. coli</i> 0114	0.78	0.78	0.39	1.56	1.56
<i>E. coli</i> 0126	0.78	0.39	0.39	0.2	1.56
<i>E. coli</i> 1507E	1.56	0.78	0.78	1.56	3.13
<i>E. coli</i> ATCC9637	0.78	0.78	0.78	6.25	3.13
<i>E. coli</i> K12	1.56	1.56	0.78	25	6.25
<i>E. coli</i> EB13	0.78	12.5	12.5	50	6.25
<i>E. coli</i> EB14	0.78	100	100	>100	50
<i>Shigella flexneri</i>	0.39	0.39	0.78	0.78	1.56
<i>Samonella give</i>	0.39	0.39	0.78	0.05	0.39
<i>S. oranienburg</i>	0.78	0.78	0.39	6.25	0.39
<i>S. orion</i>	0.39	0.39	0.39	0.1	0.39
<i>S. typhi</i>	0.39	0.39	0.2	0.39	0.2
<i>S. typhimurium</i>	0.78	0.78	0.78	3.13	0.78
<i>Klebsiella oxytoca</i>	6.25	>100	100	>100	25
<i>K. pneumoniae</i> ATCC10031	0.39	0.78	0.78	0.05	1.56
<i>K. pneumoniae</i> ATCC9977	0.78	0.78	0.39	3.13	0.78
<i>K. pneumoniae</i> 1	0.78	0.78	0.78	3.13	1.56
<i>K. pneumoniae</i> EB40	3.13	100	>100	>100	12.5
<i>K. pneumoniae</i> EB41	1.56	100	50	12.5	12.5

Table II. Continued

Strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^a				
	CTRZ/CV	CTRZ	CCLO	CRXM	AMXCCV
<i>K. aerogenes</i> 1522E	0.78	0.39	0.39	0.78	0.39
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.39	0.39	0.39	0.2	0.78
<i>E. cloacae</i> 417	0.39	0.78	0.78	1.56	1.56
<i>E. cloacae</i> 1321E	0.39	0.78	0.39	0.05	0.78
<i>Serratia marcescens</i> ATCC20017	100	>100	>100	>100	100
<i>S. marcescens</i> ATCC20161	100	>100	100	100	50
<i>S. marcescens</i> US 12	1.56	1.56	0.78	1.56	0.78
<i>S. marcescens</i> 11001	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC9090	12.5	12.5	100	0.78	50
<i>Proteus vulgaris</i> 867	1.56	1.56	3.13	3.13	1.56
<i>P. vulgaris</i> 868	0.78	0.78	1.56	0.05	0.78
<i>P. vulgaris</i> 5	3.13	>100	>100	>100	3.13
<i>P. mirabilis</i> ATCC14273	3.13	1.56	1.56	3.13	1.56
<i>P. mirabilis</i> 4	1.56	1.56	3.13	3.13	1.56
<i>Providentia rettgeri</i> 936	50	50	100	6.25	100
<i>P. rettgeri</i> 937	1.56	50	>100	100	3.13
<i>Morganella morganii</i> 938	0.78	0.39	0.78	1.56	0.78
<i>M. morganii</i> 939	>100	>100	100	50	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> 1771M	12.5	12.5	50	12.5	0.2
<i>P. aeruginosa</i> 77/2	>100	>100	>100	>100	100
<i>P. aeruginosa</i> 110/2	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> 830/2	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. cepacia</i>	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Hafnia alvei</i> ATCC11604	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	>100	>100	>100	>100	12.5
<i>Haemophilus influenzae</i> 13059	3.13	6.25	25	1.56	3.13
<i>H. influenzae</i> 15005	3.13	3.13	3.13	0.78	1.56
<i>Moraxella catarrhalis</i> 6012	0.78	6.25	6.25	3.13	0.39
<i>Bacteroides fragilis</i> 421	12.5	50	>100	12.5	25

^aCTRZ/CV, cefatrizine/clavulanic acid; CTRZ, cefatrizine; CCLO, cefaclor; CRXM, cefuroxime; AMXCCV, amoxicillin/clavulanic acid.

(*E. coli* EB13, *E. coli* EB14, *K. pneumoniae* EB40, *K. pneumoniae* EB41)와 *Klebsiella oxytoca*, *P. vulgaris* 5 및 *Providentia rettgeri* 937에 대한 CTRZ/CV의 MIC는 CTRZ보다 16배 이상 낮아 우수한 항균력을 나타내었다(Table II).

살균곡선

β -Lactamase를 생산하는 *E. coli* EB13, *K. pneumoniae* EB40, *H. influenzae* 13059 및 *M. catarrhalis* 6012에 대한 CTRZ/CV의 살균작용을 CCLO, CRXM 및 AMXCCV와 비교하였다.

E. coli EB13에 대하여 CTRZ/CV는 0.78 $\mu\text{g/ml}$ (1 \times MIC) 이상의 농도에서 생균수를 감소시켰으며, 0.78 $\mu\text{g/ml}$ (1 \times MIC)에서는 2시간 후에 재증식이 관찰되었다. CTRZ/CV는 AMXCCV, CCLO 및 CRXM과 비교하여 우수한 살균작용을 나타내었다(Fig. 1).

K. pneumoniae EB40에 대하여 CTRZ/CV는 1.56 $\mu\text{g/ml}$

(1/2 \times MIC) 이상의 농도에서 생균수를 감소시켰다. CTRZ/CV는 AMXCCV, CCLO 및 CRXM과 비교하여 우수한 살균작용을 나타내었다(Fig. 2).

H. influenzae 13059에 대하여 CTRZ/CV는 1.56 $\mu\text{g/ml}$ (1/2 \times MIC) 이상의 농도에서 생균수를 감소시켰으며, 1.56 $\mu\text{g/ml}$ (1/2 \times MIC)에서는 2시간 후에 재증식이 관찰되었다. CTRZ/CV의 살균작용은 AMXCCV와 CRXM과 유사하였고, CCLO보다 우수하였다(Fig. 3).

M. catarrhalis 6012에 대하여 CTRZ/CV는 0.78 $\mu\text{g/ml}$ (1 \times MIC) 이상의 농도에서 생균수를 감소시켰다. CTRZ/CV의 살균작용은 AMXCCV와 유사하였고, CRXM과 CCLO보다 우수하였다(Fig. 4).

β -Lactamase 생산균주로 유발시킨 복강내 감염증에 대한 치료효과

E. coli EB13로 감염시킨 실험군에 대한 CTRZ/CV의

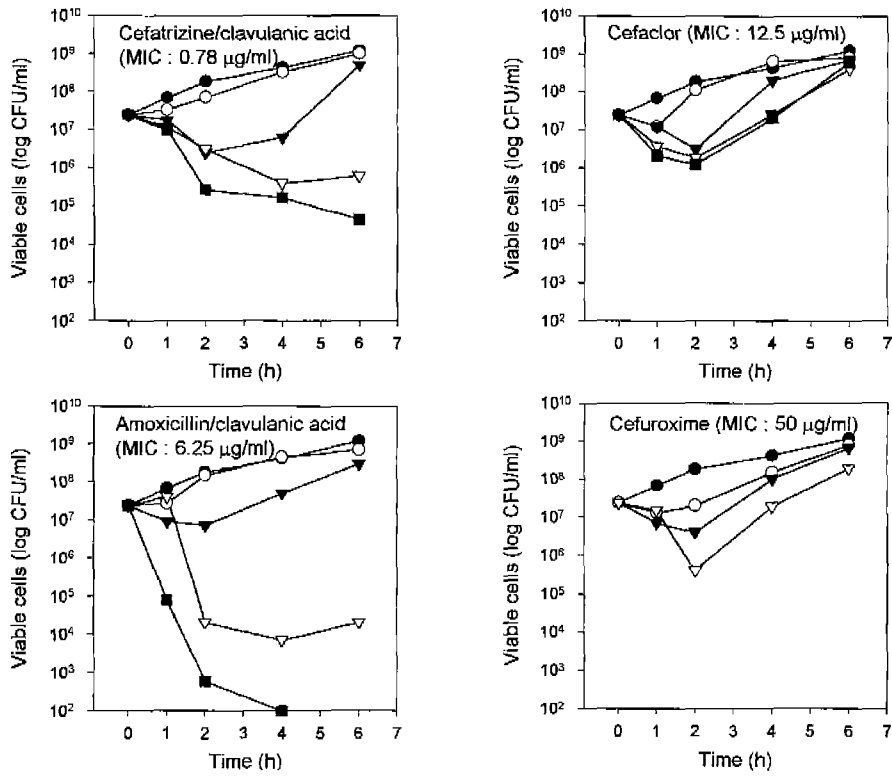


Fig. 1. Killing curve of cefatrizine/clavulanate and other antibiotics against *E. coli* EB13. Control (●), 1/2 MIC (○), 1 MIC (▼), 2 MIC (▽), 4 MIC (■).

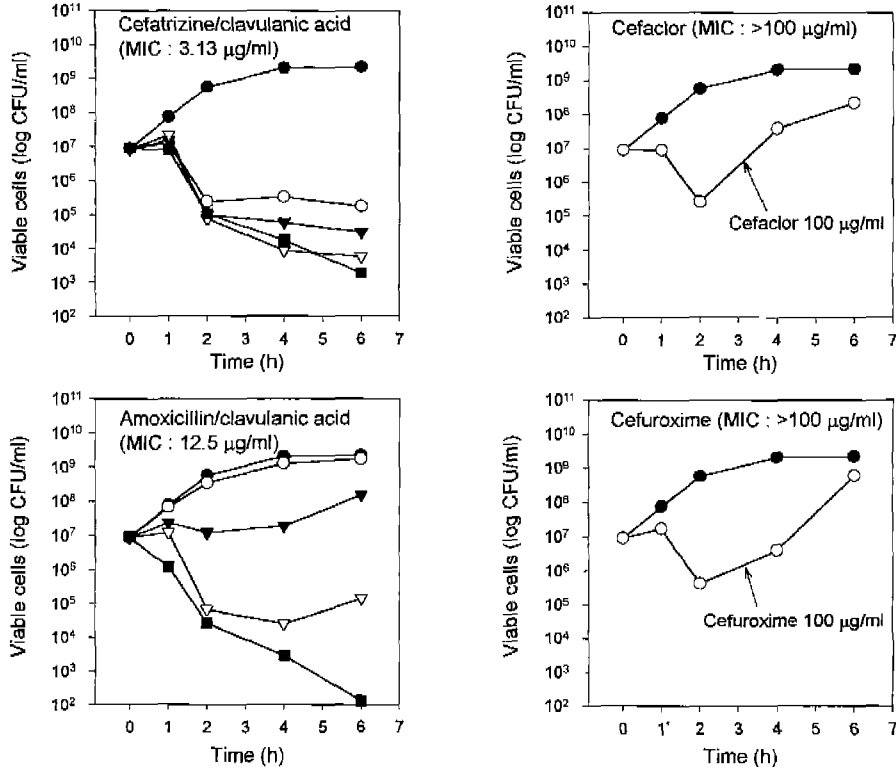


Fig. 2. Killing curve of cefatrizine/clavulanate and other antibiotics against *K. pneumoniae* EB40. Control (●), 1/2 MIC (○), 1 MIC (▼), 2 MIC (▽), 4 MIC (■).

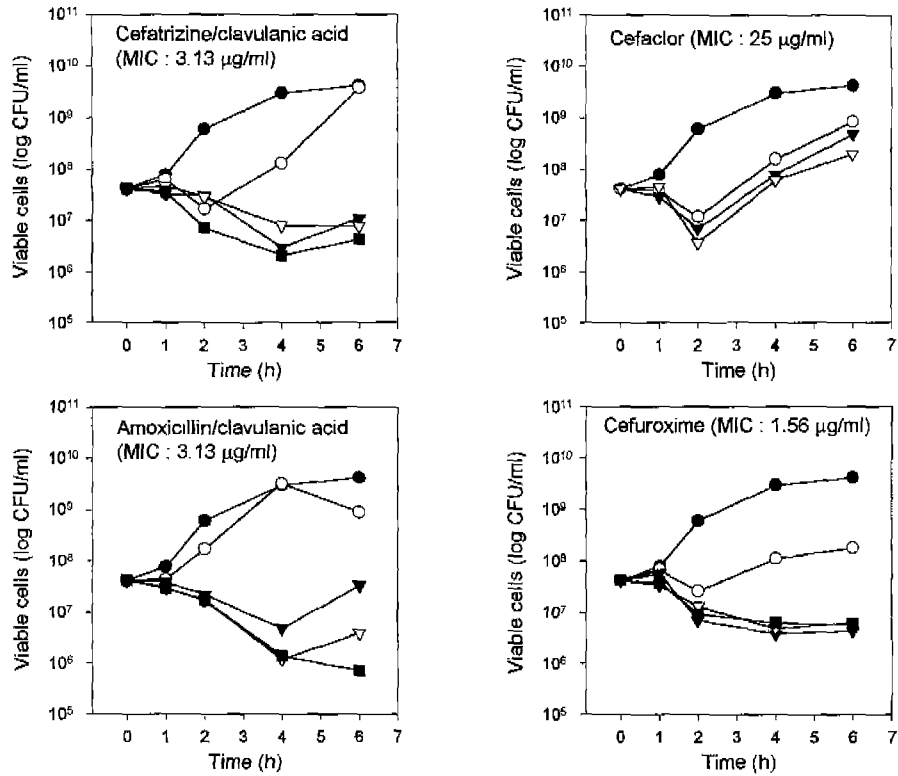


Fig. 3. Killing curve of cefatrizine/clavulanate and other antibiotics against *H. influenzae* 13059. Control (●), 1/2 MIC (○), 1 MIC (▼), 2 MIC (▽), 4 MIC (■).

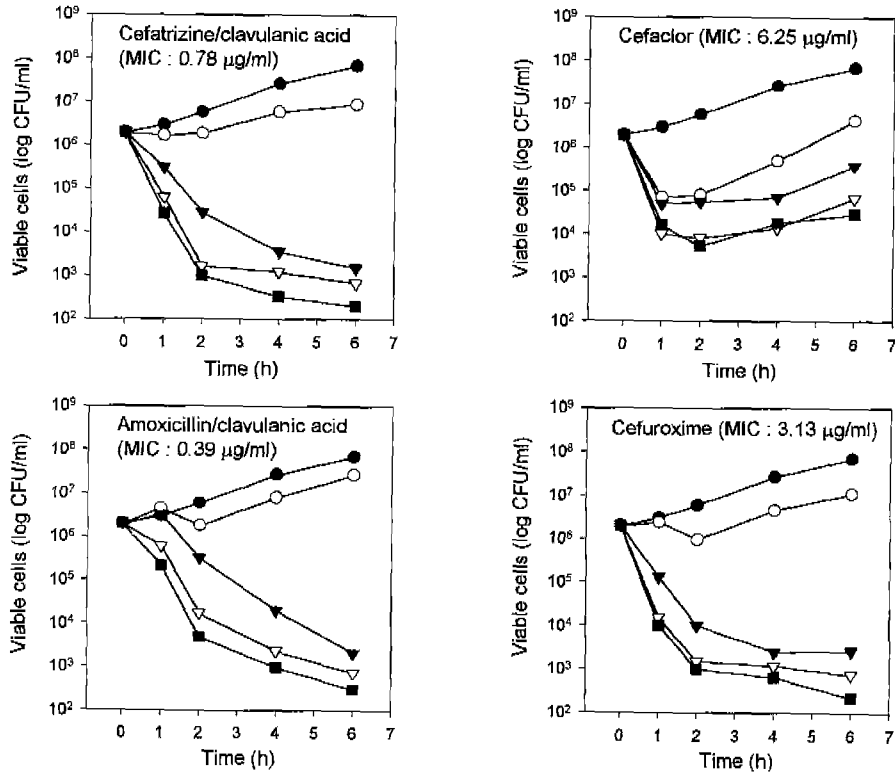


Fig. 4. Killing curve of cefatrizine/clavulanate and other antibiotics against *M. catarrhalis* 6012. Control (●), 1/2 MIC (○), 1 MIC (▼), 2 MIC (▽), 4 MIC (■).

Table III. Therapeutic effect of cefatrizine/clavulanic acid and other antibiotics on intraperitoneal infection due to β -lactamase producing bacteria in mice

Strains	Infective dose (CFU/mouse)	Antibiotic ^a	MIC (μ g/ml)	ED ₅₀ (mg/kg)
E. coli EB13	6.5 × 10 ⁵	CTRZ/CV	0.78	2.3
		CTRZ	12.5	34.7
		CCLO	12.5	50.0
		CRXMA	50	>200
		AMXCCV	6.25	190.1
K. pneumoniae EB40	2.4 × 10 ⁴	CTRZ/CV	3.13	22.1
		CTRZ	100	>200
		CCLO	>100	>200
		CRXMA	>100	>200
		AMXCCV	12.5	>200
P. vulgaris 5	2.5 × 10 ⁶	CTRZ/CV	3.13	9.4
		CTRZ	>100	>200
		CCLO	>100	>200
		CRXMA	>100	>200
		AMXCCV	3.13	75.0

^aCTRZ/CV, cefatrizine/clavulanic acid; CTRZ, cefatrizine; CCLO, cefaclor; CRXMA, cefuroxime axetil; AMXCCV, amoxicillin/clavulanic acid.

ED₅₀는 2.3 mg/kg으로 CCLO, CRXMA 및 AMXCCV의 50.0, >200, 190.1 mg/kg 보다 매우 낮았다. *K. pneumoniae* EB40에 대하여 CTRZ/CV의 ED₅₀는 22.1 mg/kg으로 CCLO, CRXMA 및 AMXCCV의 >200 mg/kg 보다 낮았다. *P. vulgaris* 5에 대해 CTRZ/CV의 ED₅₀는 9.4 mg/kg으로 CCLO, CRXMA 및 AMXCCV의 >200, >200 및 75.0 mg/kg 보다 매우 낮았다(Table III).

β -Lactamase 비생산균주로 유발시킨 복강내 감염증에 대한 치료효과

Staphylococcus aureus Smith로 유발시킨 감염증에 대해 CTRZ/CV의 ED₅₀는 0.3 mg/kg으로 CCLO 및 AMXCCV의 0.7, 0.3 mg/kg과 비슷하였고, CRXMA는 5.2 mg/kg으로 ED₅₀가 높았다. *S. pneumoniae* Type III에 대해 CTRZ/CV의 ED₅₀는 1.9 mg/kg으로 CRXMA 1.4 mg/kg과 비슷하였으나 CCLO 15.2 mg/kg 보다는 낮았다. 그러나 AMXCCV가 0.4 mg/kg으로 가장 낮았다. *E. coli* KC-14에 대해 CTRZ/CV의 ED₅₀는 1.0 mg/kg으로 CCLO 1.5 mg/kg과 비슷하였으나 CRXMA 8.0 mg/kg과 AMXCCV 15.2 mg/kg 보다 매우 낮았다. *E. coli* 444, *K. pneumoniae* 1, *P. mirabilis* 4 및 *E. cloacae* 417로 유발시킨 감염증에 대하여 CTRZ/CV의 ED₅₀는 각각 1.3, 2.2, 5.8 및 1.3 mg/kg으로 CCLO, CRXMA 및 AMXCCV 보다 낮았다(Table IV).

복강내 혼합감염증에 대한 치료효과

β -Lactamase 생산균주와 비생산균주를 혼합하여 유발시킨 복강내감염증에 대한 치료효과는 Table V와 같다.

ESBL 생산균주인 *E. coli* EB13과 β -lactamase 비생산균주인 *K. pneumoniae* 1을 1/100 및 1/10 MLD(Minimum

Lethal Dose)의 균량으로 혼합 접종하여 감염시킨 실험군에 대한 CTRZ/CV의 ED₅₀는 1.6 mg/kg으로 CTRZ, CCLO, CRXMA 및 AMXCCV의 3.8, 8.6, 33.2 및 35.8 mg/kg 보다 낮았다. *E. coli* EB13과 *K. pneumoniae* 1을 각각 1/10 MLD의 균량으로 접종하여 유발시킨 감염증에 대해 CTRZ/CV의 ED₅₀는 1.5 mg/kg으로 CTRZ, CCLO, CRXMA 및 AMXCCV의 9.3, 12.5, 115.8 및 50 mg/kg에 비해 가장 낮았다.

β -Lactamase 생산균주인 *H. influenzae* 13059와 *K. pneumoniae* 1으로 유발시킨 감염증에 대해 CTRZ/CV 투여군의 ED₅₀는 3.7 mg/kg으로 CTRZ, CCLO, CRXMA 및 AMXCCV의 7.4, 47.1, 89.7, >100 mg/kg 보다 낮았다.

β -Lactamase 생산균주인 *M. catarrhalis* 6012와 *K. pneumoniae* 1으로 유발시킨 감염증에 대해 CTRZ/CV 투여군의 ED₅₀는 2.6 mg/kg으로 CTRZ, CCLO, CRXMA 및 AMXCCV의 5.9, >50, >100, 41.4 mg/kg 보다 낮았다.

호흡기감염증 치료효과

K. pneumoniae EB40으로 유발시킨 호흡기감염증에 대해 CTRZ/CV의 생존률은 71%로 CCLO, CRXMA 및 AMXCCV의 43, 14 및 14% 보다 높았다(Table VI). β -Lactamase 비생산균주인 *K. pneumoniae* 221로 유발시킨 호흡기감염증에 대해 CTRZ/CV와 CCLO, CRXMA 및 AMXCCV 투여군의 폐내 생균수는 8시간까지 감소하였으나 항균제간의 유의한 차이는 없었다(Fig. 5).

상행성 요로감염증 치료효과

E. coli EB13으로 요로감염증을 유발시킨 생쥐의 균점종 4일 후 신장내 생균수를 조사한 결과는 Fig. 6과 같다. CTRZ/

Table IV. Therapeutic effect of cefatrizine/clavulanic acid and other antibiotics on intraperitoneal infection in mice

Strains	Infective dose (CFU/mouse)	Antibiotic ^a	MIC (μg/ml)	ED ₅₀ (mg/kg)
<i>S. aureus</i> Smith	2.5 × 10 ⁷	CTRZ/CV	0.78	0.3
		CTRZ	0.78	0.4
		CCLO	1.56	0.7
		CRXMA	1.56	5.2
		AMXCCV	0.2	0.3
<i>S. pneumoniae</i> Type III	2.4 × 10 ⁴	CTRZ/CV	0.39	1.9
		CTRZ	0.39	1.4
		CCLO	1.56	15.2
		CRXMA	0.05	1.4
		AMXCCV	≤0.025	0.4
<i>E. coli</i> 444	6.4 × 10 ⁷	CTRZ/CV	0.78	1.3
		CTRZ	1.56	1.9
		CCLO	3.13	8.6
		CRXMA	0.78	10.5
		AMXCCV	3.13	37.5
<i>E. coli</i> KC-14	1.3 × 10 ⁶	CTRZ/CV	0.78	1.0
		CTRZ	1.56	0.8
		CCLO	1.56	1.5
		CRXMA	1.56	8.0
		AMXCCV	3.13	15.2
<i>K. pneumoniae</i> 1	8.3 × 10 ⁵	CTRZ/CV	0.78	2.2
		CTRZ	0.78	1.3
		CCLO	0.78	7.8
		CRXMA	3.13	>100
		AMXCCV	1.56	>100
<i>P. mirabilis</i> 4	3.1 × 10 ⁷	CTRZ/CV	1.56	5.8
		CTRZ	1.56	9.2
		CCLO	3.13	20.4
		CRXMA	3.13	21.3
		AMXCCV	1.56	21.9
<i>E. cloacae</i> 417	2.4 × 10 ⁴	CTRZ/CV	0.39	1.3
		CTRZ	0.78	1.3
		CCLO	0.78	4.4
		CRXMA	1.56	9.6
		AMXCCV	1.56	26.7

^aCTRZ/CV, cefatrizine/clavulanic acid; CTRZ, cefatrizine; CCLO, cefaclor; CRXMA, cefuroxime axetil; AMXCCV, amoxicillin/clavulanic acid.

CV와 CRXMA를 투여한 생쥐의 신장에서는 10²~10³ CFU/kidneys의 균이 분리되었으며 CCLO와 AMXCCV를 투여한 생쥐의 신장에서는 10²~10⁷ CFU/kidneys의 균이 분리되었다.

고 찰

CTRZ/CV의 표준균주에 대한 항균력은 CTRZ, CCLO, CRXM 및 AMXCCV와 비슷하였다(Table I, II). ESBL을 생산하는 균주와 *K. oxytoca*, *P. vulgaris* 5 및 *P. rettgeri* 937

에 대해서 CTRZ/CV의 항균력은 CTRZ보다 16배 이상 우수하였는데, 이 결과는 이들 균주에서 생산되는 β-lactamase를 CV가 강력하게 저해하기 때문으로 생각된다.

살균곡선 평가시험에서 CTRZ/CV의 살균작용은 dose response가 관찰되었다. *E. coli* EB13, *K. pneumoniae* EB40에 대한 CTRZ/CV의 살균작용은 CCLO, CRXM 및 AMXCCV보다 우수하였고, *H. influenzae* 13059 및 *M. cattarhalis* 6012에 대한 CTRZ/CV의 살균작용은 AMXCCV와 비슷하였다(Fig. 1~4).

ESBL을 생산하는 *E. coli* EB13, *K. pneumoniae* EB40 및

Table V. Therapeutic effect of cefatrizine/clavulanic acid and other antibiotics on intraperitoneal infection in mice

Strains	Infective dose (CFU/mouse)	Antibiotic ^a	ED ₅₀ (mg/kg)
<i>E. coli</i> EB13 +	5.4 × 10 ³ (1/100 MLD)	CTRZ/CV	1.6
		CTRZ	3.8
<i>K. pneumoniae</i> 1 (1/10 MLD)	7.6 × 10 ⁴	CCLO	8.6
		CRXMA	33.2
		AMXCCV	35.8
		CTRZ/CV	1.5
<i>E. coli</i> EB13 +	4.9 × 10 ⁴ (1/10 MLD)	CTRZ	9.3
		CCLO	12.5
<i>K. pneumoniae</i> 1 (1/10 MLD)	7.0 × 10 ⁴	CRXMA	115.8
		AMXCCV	50.0
		CTRZ/CV	3.7
		CTRZ	7.4
<i>H. influenzae</i> 13059 +	3.8 × 10 ⁶	CCLO	47.1
		CRXMA	89.7
<i>K. pneumoniae</i> 1	9.5 × 10 ⁴	AMXCCV	>100
		CTRZ/CV	2.6
		CTRZ	5.9
		CCLO	>50
<i>M. catarrhalis</i> 6012 +	2.0 × 10 ⁷	CRXMA	>100
		AMXCCV	41.4

^aCTRZ/CV, cefatrizine/clavulanic acid; CTRZ, cefatrizine; CCLO, cefaclor; CRXMA, cefuroxime axetil; AMXCCV, amoxicillin/clavulanic acid.

MIC (μg/ml)	<i>E. coli</i> EB13	CTRZ/CV: 0.78	CTRZ: 12.5	CCLO: 12.5	CRXM: 50	AMXCCV: 6.25
	<i>K. pneumoniae</i> 1	CTRZ/CV: 0.78	CTRZ: 0.78	CCLO: 0.78	CRXM: 3.13	AMXCCV: 1.56
	<i>H. influenzae</i> 13059	CTRZ/CV: 3.13	CTRZ: 6.25	CCLO: 25	CRXM: 1.56	AMXCCV: 3.13
	<i>M. catarrhalis</i> 6012	CTRZ/CV: 0.78	CTRZ: 6.25	CCLO: 6.25	CRXM: 3.13	AMXCCV: 0.39

Table VI. Therapeutic effect of cefatrizine/clavulanic acid and other antibiotics against experimental respiratory tract infection due to *K. pneumoniae* EB13 in neutropenic mice

Antibiotic ^a	No. of tested	No. of survival (%)
Control	14	2 (14)
CTRZ/CV	14	10 (71)
CCLO	14	6 (43)
CRXMA	14	2 (14)
AMXC/CV	14	2 (14)

^aCTRZ/CV, cefatrizine/clavulanic acid; CCLO, cefaclor; CRXMA, cefuroxime axetil; AMXC/CV, amoxicillin/clavulanic acid.

Ambler class A β-lactamase를 생산하는 *P. vulgaris* 5로 유발시킨 복강내 감염증에 대하여 CTRZ/CV의 치료효과가 CCLO, CRXMA 및 AMXCCV 보다 월등히 우수하였다 (Table III). 이 같은 결과는 CTRZ와 CV의 병합 시 β-lactamase 생산균주에 대한 시험관내 항균력 상승작용이 세균 감염증에도 적용되어 CTRZ/CV가 ESBL을 포함한 β-lactamase 생산세균 감염증 치료에 효과적일 것임을 의미한다. β-Lactamase 비생산균주로 유발시킨 복강내감염증에 대한 CTRZ/CV의 치료효과는 CCLO, CRXMA 및 AMXCCV와

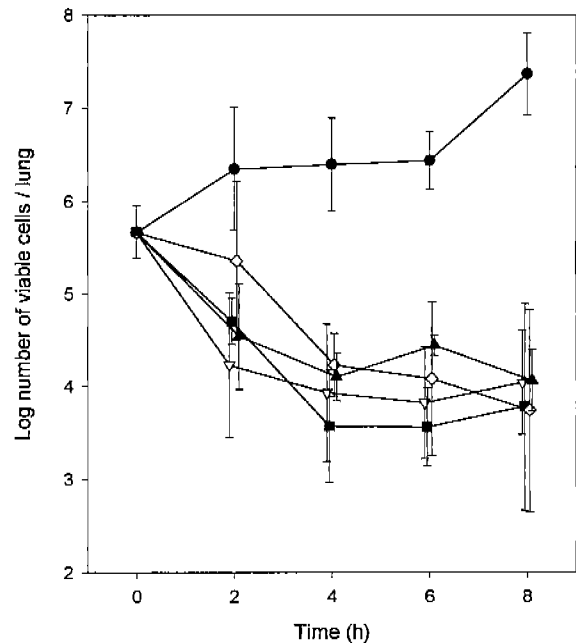


Fig. 5. Therapeutic effect of cefatrizine/clavulanic acid and other antibiotics on respiratory tract infection due to *K. pneumoniae* 221. Control (-●-), cefatrizine/clavulanic acid (-▽-), cefaclor (-■-), cefuroxime axetil (-◇-), amoxicillin/clavulanic acid (-▲-).

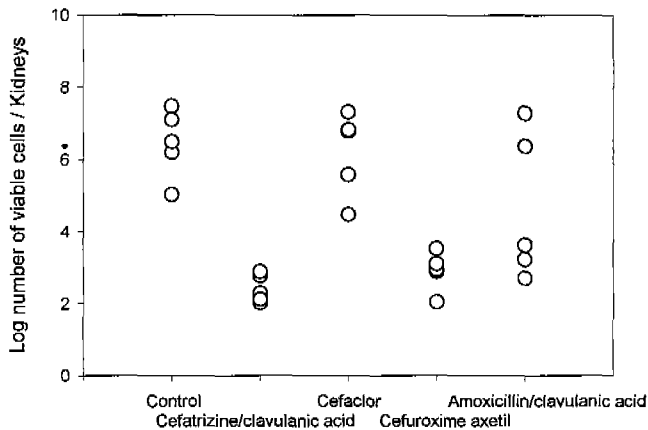


Fig. 6. Therapeutic effect of cefatrizine/clavulanic acid and other antibiotics against experimental urinary tract infection due to *E. coli* EB13.

비슷하였다(Table IV).

β -Lactamase 생산균인 *H. influenzae* 13059와 β -lactamase 비생산균주인 *K. pneumoniae* 1으로 유발시킨 복강내 감염증과 β -lactamase 생산균인 *M. catarrhalis* 6012와 *K. pneumoniae* 1으로 유발시킨 복강내감염증에 대한 CTRZ/CV의 치료효과는 CTRZ 보다 개선되었으며, CCLO, CRXMA 및 AMXCCV 보다 월등히 우수하였다. *E. coli* EB13과 *K. pneumoniae* 1의 혼합감염시 *E. coli* EB13의 균량이 10배 증가하였을 때 CCLO, CRXMA 및 AMXCCV의 ED₅₀는 높아졌으나 CTRZ/CV는 변화하지 않았다(Table V).

K. pneumoniae EB40으로 유발시킨 호흡기감염에 대한 CTRZ/CV의 치료효과는 CCLO, CRXMA 및 AMXCCV 보다 우수하였으며(Table VI), β -lactamase 비생산균주인 *K. pneumoniae* 221로 유발시킨 호흡기감염에 대해(Fig. 5), CTRZ/CV와 비교물질의 초기 살균력과 살균력 지속효과가 비슷하여 CTRZ/CV가 호흡기감염증에 효과적인 치료수단으로 사용될 수 있을 것이다. *E. coli* EB13으로 유발시킨 요로감염증에 대해 CTRZ/CV와 CRXMA는 유의성(*vs* control, *p*<0.01) 있는 치료효과를 나타내어 CTRZ/CV가 요로감염증에도 효과적인 치료수단으로 사용될 수 있을 것으로 생각된다. CCLO와 AMXCCV는 유의성 있는 생균수 감소가 없었다(Fig. 6).

ESBL을 포함한 β -lactamase 생산균주 및 β -lactamase 비생산균주로 감염시킨 복강내, 호흡기 및 요로감염 모델에서 CTRZ와 CV 2:1 병합 투여 실험군의 우수한 치료효과는 시험관내 항균력이 생체 내에도 잘 반영된 것이므로 임상영역에서도 ESBL을 포함한 β -lactamase 생산세균 감염증에 유효한 치료수단으로 이용될 수 있을 것이다.

감사의 말씀

본 연구는 1997년도 보건복지부의 보건의료기술연구 지원에 의하여 수행된 것으로 깊이 감사드립니다.

참고문헌

- Bliss, C. I. (Ed.). (1985). *Statistics in Bioassay*. Academic Press.
- Goto, S., Miyazaki, Y., Miyazaki, S., Tsuji, A and Kaneko, Y. (1992). *In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of ME-1207: a new oral cephem antibiotic. *Chemotherapy*. (Tokyo) **40**(S-2), 16-29.
- Hardy, D. J. (1991). *In vitro* activity of temafloxacin against gram-negative bacteria: an overview. *Am. J. Med.* **91**(S-6A), 19-23.
- Jacoby, G. A. and Medeiros, A. A. (1991). More extended-spectrum β -lactamases. *Antimicro. Agents & Chemother.* **35**, 1697-1704.
- Japan Society of Chemotherapy (日本化學療法學會, 1981) 最小發育阻止濃度 (MIC) 測定法. *Chemotherapy* **29**, 76-79.
- Kim, J. Y., Kim, G. W., Choi, S. H., Kim, W. B., Chong, Y. S. and Lee, K. W. (1998). Synergistic antibacterial activity of cefatrizine and clavulanic acid combination against extended-spectrum β -lactamase-producing strains. *J. Korean Soc. Chemother.* **16**(3), 231-238.
- Noguchi, J. K. and Gill, M. A. (1988). Sulbactam: a β -lactamase inhibitor. *Clin. Pharm.* **7**, 37-51.
- Tsuji, A., Matsuda, H. and Goto, S. (1993). *In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of S-1108: a new ester form oral cephem antibiotic. *Chemotherapy*. (Tokyo) **41**(S-1), 13-29.
- Yokota, T., Sekiguchi, R. and Azuma, E. (1982). Mode of inhibitory action of clavulanic acid against β -lactamases and the synergistic antibacterial activity with β -lactamase-susceptible β -lactams. *Chemotherapy*. (Tokyo) **40**(S-2), 11-19.