

## Ceftizoxime의 장내세균에 대한 시험관내 및 생체내 항균효과

영남대학교 의과대학 진단방사선과학교실  
변우목 · 장재천 · 박복환

영남대학교 의과대학 미생물학교실  
김희선 · 김성광

### 서 론

장내균이 여러항생제에 대한 내성을 나타내고 있어 항생제 내성의 전반적인 특성에 대한 요약은 쉬운 일이 아니다. 특히 Gram음성 장내세균은 매우 많은 균이 혐기성 및 호기성 균종으로 이루어져 있으며 또한 약제 내성을 갖는 유전인자들이 *Escherichia coli*(이하 *E.coli*)를 비롯한 균종들간에 무분별하게 옮겨 다니는 성질이 있기 때문이다.<sup>1)</sup>

세균감염증의 치료에서 페니실린계, 세파로스포린계 및 아미노글루코시드 등의 수많은 항생물질이 수행한 역할은 크지만 오래전부터 장내세균의 지표인 *E.coli*를 비롯한 병원성 세균들이 두종류 이상의 항생제 내성을 나타내는 다제내성균주의 출현증가 현상은 숙주생체측의 인자들이 복잡하게 관여하여 감염증에 대한 화학요법의 성과를 저하시켜 그 대책이 문제되어 왔다.

이는 항생제의 남용과 장기간의 투여 원인균에 대한 항생제 자체의 선택적 작용 결여에 기인된 것 뿐 만아니라 세균에 대한 작용범위가 너무 넓은 약제들이 개발되어 이들 약제들이 기존 질환을 가지는 노인과 숙주 저항성이 감약한 환자에서

정상균총에 영향을 미쳐 장내에서는 균 교대증에 따른 정상균총의 변화 내지는 파괴에 따른 opportunistic infection을 유발시키고 있는 성질을 여러 연구자들이 보고하여 왔다.<sup>2-5)</sup>

이에 저자는 최근 출현 항생제중 broad spectrum을 갖고 있는 것으로 세포벽 합성저해 작용을 갖고 있는 cephalosporin계 항생물질인 ceftizoxime의 항균력을 시험관내 실험으로 수종의 항생제의 비교 관찰하고 동물실험을 통한 Gram음성 장내세균 감염에서의 항균 효과 및 장내 정상균총에 미치는 영향을 관찰 하고져 본 실험을 시행하였다.

### 재료 및 방법

#### A. 재 료

##### 1. 시험균주

영남대학교 의과대학 부속병원 외래 및 입원환자들로 부터 임상병리과 세균검사실에서 임상가검물로 부터 분리한 장내세균주로 동정된 *E. coli* 15주와 *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* 및 *Enterobacter cloacae* 각 한주씩 모두 18주를 분양 받아 본실험을 사용하였다.

## 2. 배지

시험균주의 증식 및 보전을 위한 배지로서는 Brain Heart Infusion(BHI; Difco, U. S. A.)액체 및 사면 배지를 사용하였고, 항생제의 시험관내 감수성 검사를 위한 배지로는 Muller-Hinton 한천 평판 배지를 사용하였다. 또한 실험균주의 생화학적 정상 배지로서는 Kligler Iron Agar(KIA; Difco, U.S.A)배지 및 Nutrient Broth(NB; Difco, U.S.A.) 기본배지에 각종 시약 첨가 배지를 사용하였다.

## 3. 항생제

Ceftizoxime(Sodium(6R, 7R)-[<z>-2-methoxyimino-2-(2-imino-4-thiazoline-4-yl)-acetamide]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4,2,0]oct-2-ene-2-carboxylate)은 일본 Fujisawa 약품에서 합성된 것으로 분말 상태로 공급되었다(Fig. 1).

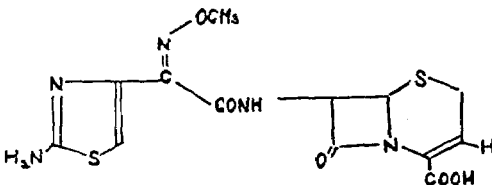


Fig. 1. Chemical structure of the ceftizoxime.

그외 ampicillin, tetracyclin, gentamicin 및 cephalosporin 계열의 cefadroxil은 분말상태로 부여받아 사용하였다.

## 4. 실험동물

몸무게가  $25 \pm 1$  gm의 자성 ICR마우스를 동물 실험실을 통하여 구입하여 1주일 사육한후에 이상유무를 확인한 후에 사용하였다.

### B. 실험방법

#### 1. 생물화학적 성상시험

장내세균 분양균주 18주의 생물화학적 성상시

험을 위해서는 Gram 염색상 및 균의 운동성( $36^\circ\text{C}$ )과 KIA 배지상의 반응 정상과 IMViC시험을 시행하였다.

#### 2. 항균제 최저 저지농도 측정

Washington II<sup>6)</sup>가 제시한 방법에 따라 각 균주의 BHIA 배지에 각 농도별 항균제를 가한후 McFarland 0.5농도의 균액  $1.5 \times 10^8$  ml을 wood stick의 spot 접종법으로 접종한 후  $37^\circ\text{C}$ 에서 24 시간 배양하여 균의 증식 여부에 따라 판별하였다. 최저 저지농도(MIC)의 측정에 따른 다제 내성 균주의 출현 여부도 판정하였다.

#### 3. Ceftizoxime내성 균주의 출현 여부 조사

Slocome<sup>7)</sup>의 방법에 따라 2배수 희석된 항생제가 포함된 BHI 액체배지에 시험균주를 0.02ml씩을 접종하여  $37^\circ\text{C}$ 에서 18시간 배양한 후 세균의 증식이 있는 시험관 중 가장 높은 농도의 항생제가 들어있는 시험관의 균을 다시 2배수 희석된 항생제가 포함된 액체 배지에 접종하여 세균의 증식 여부를 관찰하였다. 이 방법을 5회 반복하여 ceftizoxime 내성균주의 출현여부를 조사하였다.

#### 4. Plasmid의 분리

실험균주의 plasmid 분리는 Maniatis<sup>8)</sup>의 rapid small-isolation 법에 준한 Birnboim and Doly<sup>9)</sup>의 방법을 변형한 alkaline lysis method를 이용하였다.

냉동실에서 일야 정치시킨 배양균액을 원심분리로 cell을 모은 후 lysozyme 4mg/ml를 가한 50 mM glucose, 10mM EDTA, 25mM Tris, Cl(PH 8.0)의 용액을 첨가하고 0.2N. NaOH, 0.1% SDS 용액과 potassium acetate용액을 차례로 가한후 냉각조내에 5분간 방치하여 원심분리 후 상층액을 phenol/chloroform(V/V)과 혼합하여 단백질을 제거시키고 다시 원심분리하여 ethanol로 DNA를 농축시킨후 재원심분리하여 DNA를 추출하였다.

Plasmid의 분리상은 0.7% agarose type II를 이용하여 120V 40mA에서 약 1시간 반 동안 전기영동을 실시한 후 0.5 $\mu$ g/ml의 etidium bromide로 15분 염색후 관찰하였다.

### 5. Ceftizoxime의 투여가 마우스 장내 정상균총에 미치는 영향

Ceftizoxime을 매일 25mg/kg씩 5일간 정맥내로 주사하여 약제 투여하기 전, 약제투여 후 3일째, 5일째 각각 2마리씩 도살하여 맹장에서 변100mg씩 취하여 멸균 식염수에 부유시킨 후 10배수 희석하여 혈액 한천배지에 0.1mg씩 접종하고 37 $^{\circ}$ C 48시간 내지 72시간 호기성 및 혐기성 배양하여 균 집락수를 산정하였다. 혐기성 배양은 Gas Pak (BBL ; U.S.A.)를 사용하였다.

## 성 적

### 1. 항생제에 대한 최저 저지농도 측정

Ceftizoxime과 4종에 대한 최저 저지농도 측정 성적은 제1표와 같다. Ceftizoxime의 최저 저지농도는 0.5 $\mu$ g/ml이내에서 공시균주 모두가 발육 억제 되었으며 *E. coli* 15주중 9주와 *Enterobacter cloacae* (YM 17)가 AM의 256 $\mu$ g/ml의 고농도, tetracyclin에 대해서는 *E. coli*는 5주가 256 $\mu$ g/ml에서, 2주가 128 $\mu$ g/ml에서 고농도의 내성을 나타내었으며 *Shigella dysenteria*도 128 $\mu$ g/ml에서 내성을 나타내었다. Cefadroxil에 대해서는 *Enterobacter cloacae* 1주와 *E. coli*1주가 256 $\mu$ g/ml 및 128 $\mu$ g/ml에서 내성을 나타내었으며, gentamicin에 대해서는 *E. coli* 1주를 제외하고 모든 주가 감수성을 나타내었다(Fig. 2).

### 2. 항균제에 대한 다제 내성 성적

공시균주 18주중 *Salmonella typhi* 및 *E. coli* 2주가 시험 항균제 모두에 감수성을 나타내었으나 AM 및 TC에 대해서는 *E. coli*15주중 5주(30.0%)가 AM 및 CD에 대해서는 *Enterobacter cloacae*가

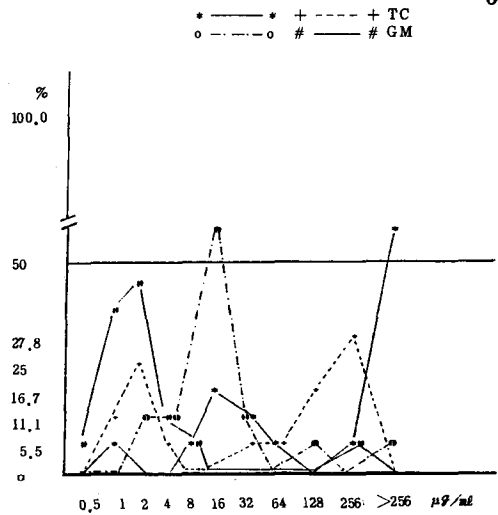


Fig. 2. Antibacterial activity of AM,TC,GM and CD against the isolated *E. coli*.  
% : isolation frequency.

다제 내성을 나타내었다. AM,GM 및 TC에 대해서는 *Shigella dysenteriae*가 다제 내성을 나타내었으며 ceftizoxime을 제외한 AM, CD, GM 및 TC에 대한 내성균주도 *E. coli*1주가 있었다(Table 2).

### 3. Ceftizoxime 내성균주의 출현

시험관 내에서 ceftizoxime 내성균주의 출현여부를 조사한 성적은 제3표에서 보는 바와 같이 *E. coli*15주중 1주와 *Salmonella typhi* 1주가 MIC 측정시험에서 공시약제 5제에 감수성을 나타내었고 최저 저지농도가 원래 0.5 $\mu$ g/ml에서 16 $\mu$ g/ml로 증가하는 것을 볼 수 있었다.

### 4. 다제 내성균주들의 Plasmid 검색

다제내성상이 각기 다른 9균주의 DNA를 Bam HI로 처리된 DNA와 함께 전기영동한 결과 감수성 검사에 실시된 5종 전 항생제에 감수성을 띤 YM 18, YM14(AM,TC), YM17(AM,CD)는 plasmid가 분리되지 않았으며 이외 plasmid의 분리상은 그림3과 같다.

단약제 내성상인 YM 8(AM), YM 10(TC)의 경우 여러개의 band가 관찰되었으며 YM 12(AM,

Table 1. Antibacterial activity of AM, TC, GM, CD and CTZ against the isolated strains

Strains NO.	Minimal Inhibitory Concentration(MIC) ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )				
	AM	TC	GM	CD	CTZ
YM 1	>256	128	1	16	0.25
2	>256	2	4	16	0.25
3	>256	256	2	128	0.5
4	16	1	2	16	0.125
5	>256	256	2	16	0.25
6	>256	2	1	16	0.125
7	8	64	1	4	0.25
8	32	2	2	16	0.25
9	32	32	4	16	<0.125
10	16	64	1	4	0.25
11	>256	256	2	16	0.25
12	>256	256	1	32	0.25
13	16	2	2	8	0.25
14	>256	128	2	16	0.25
15	>256	256	256	32	0.25
16	64	128	8	8	<0.125
17	256	4	0.5	>256	0.5
18	1	1	1	16	<0.125

AM : ampicillin    TC : tetracycline    GM : gentamicin  
 CD : cefzdroxyl    CTZ : ceftizoxime    YM : yeungham microbiology

GM, TC)과 YM 13(all susceptible)은 chromosomal DNA보다 느린 motility가 근사한 band가 관찰되었다.

다제내성상을 가진 YM 15(AM,CD,GM,TC)와 YM 16(AM,GM,TC)등 특히 YM 16은 여러개의 band가 관찰되나 내성약제들은 code하는 plasmid로는 연관시킬 수 없고 이를 위해서는 이들

parent strain의 curing에 의한 plasmid 소실유무는 계속 조사되어야 한다.

##### 5. Ceftizoxime 투여가 마우스 장내 정상균총에 미치는 영향

약제 투여전 정상 마우스의 장내세균은 변 100 mg당 호기성 세균은  $2.0 \times 10^9 / \text{ml}$ , 혐기성 세균은

Table 2. Detection multiple resistant strains against antibiotis

Antibiotics combination	Resistant strains
AM,CD,GM,TC	YM15
AM,CD,TC	YM3,YM12
AM,GM,TC	YM16
AM,CD	YM17
AM,TC	YM1,YM5,YM9, YM11, YM14
AM alone	YM2, YM6, YM8
TC alone	YM7,YM10

All susceptibe strains : YM4, YM13, YM18

Table 3. *In vitro* emergence of resistant strains against ceftizoxime

Organisms	NO.of strains tested	Mutant strains	MIC( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	
			Original strains	Mutant strains
<i>Escherichia coli</i>	15	1	0.25	16
<i>Shigella dysenteriae</i>	1	0	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	0	-	-
<i>Salmonella typhi</i>	1	1	<0.125	16
Total	18	2(11.1%)		

Table 4. Effect of ceftizoxime on the population of normal flora in mouse intestine

Treatment	Cultures (37°C)		Total
	Aerobic	Anaerobic	
Normal	$2.0 \times 10^9$	* $3.4 \times 10^9$	$5.4 \times 10^9$
3 <sup>rd</sup> day after	$2.0 \times 10^7$	$1.1 \times 10^8$	$1.3 \times 10^8$
5 <sup>rd</sup> day after	$1.6 \times 10^7$	$6.6 \times 10^8$	$6.8 \times 10^8$

\* : Average No. of bacteria/100mg of feces

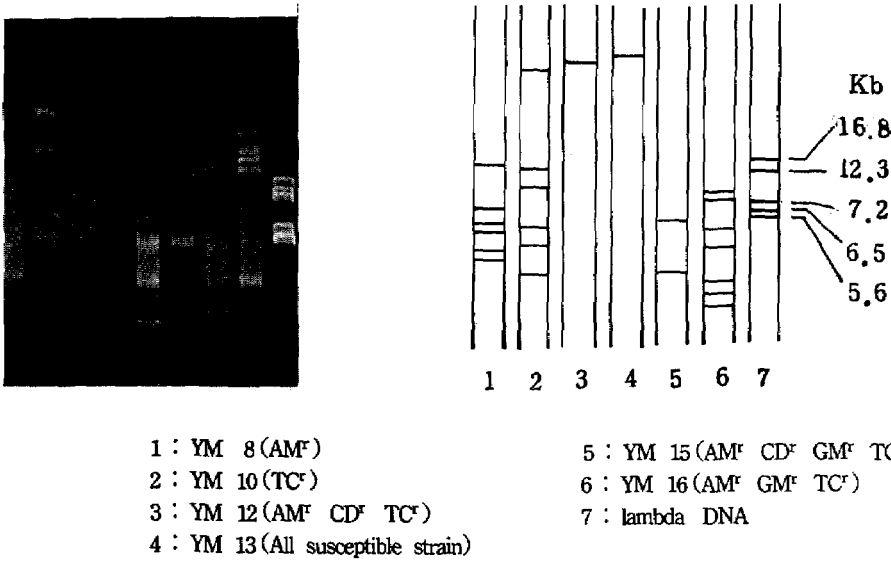


Fig. 3. Plasmid profile.

$3.4 \times 10^9$  /ml로 총균수는  $5.4 \times 10^9$  /ml이었다. Ceftizoxime을 매일 25mg/kg씩 5일간 투여한 후 3일째에는 호기성 세균은  $2.0 \times 10^7$  /ml, 혐기성 세균은  $1.1 \times 10^8$  /ml로서 총균수는  $1.3 \times 10^8$  /ml이었다. 약제 투여후 5일째에는 호기성 세균  $1.6 \times 10^7$  /ml, 혐기성 세균  $6.6 \times 10^8$  /ml로서 총균수  $6.8 \times 10^8$  /ml이었다. 따라서 ceftizoxime 처리전과 처리 후 혐기성 세균은 별 차이가 없었으며 전체적으로는 약제 투여 후 3일째에 다소 감소현상을 나타내었지만 5일째에는 별 차이가 없었다 (Table 4).

## 고 찰

항생물질이 세균 감염성 질환의 치료제로서의 목적은 숙주내의 정상세균총에 대해서는 크다란 영향을 미치지 않으면서 기생성인 원인균에 대해서는 높은 항균력을 나타내는 것이라고 하겠다. 이러한 목적에 사용되어 왔던 항생물질이 감염성 질환의 치료에 지대한 공헌을 하고 있지만 항생물질의 남용과 오용에서 내성균의 출현 뿐만 아니라 무분별한 항생제의 사용으로 인한 다제 내성균의 출현은 대단히 심각한 문제로 대두되어

오고 있다.

Ceftizoxime은 새로운 반합성 세파로스포린 유도체로서  $\beta$ -lactamase에 대하여 강한 저항성을 나타내는 것이 특징적이며 화학구조는 다른 cephalosporine계 약제와는 다르게 모핵 3위에 측쇄를 갖지 않고 모핵과 aminothiasol핵의 사이에 N-OCH<sub>3</sub>기를 갖고 있는 것이 특징으로 세균의  $\beta$ -lactamase에 대해 매우 높은 안정성을 나타낸다고 하였다<sup>10)</sup>.

세균의  $\beta$ -lactamase에 대해 높은 안정성을 나타내는 것은 ceftizoxime이 세균의 효소에 대해 친화력이 적을뿐 아니라 어떠한 효소 기질 복합체에 대해서도 가수분해가 잘 일어나지 않기 때문이라 하였다.

본 연구에서 15주의 *E.coli*와 *Enterobacter cloacae*, *Salmonella typhi* 및 *Shigella dysenteriae* 각 1주에 대해서 ampicillin 및 tetracycline에 대해서 감수성을 나타내는 균주는 18주중 5주(27.8%)와 6주(33.3%)이었고, 나머지 13주(72.2%) 및 12주(66.7%)는 내성을 나타내었으나 ceftizoxime에 대해서는 18주 전주가 0.5 $\mu$ g/ml 이하의 농도에 감수성을 나타내었다. Mitsuhashi<sup>11)</sup>의 보고에 의하면 ceftizoxime은 모든 장내 세균에 대해 매우

높은 항균력을 나타내며 이때의 최저 저지 농도는 5 $\mu$ g/ml 이하였다는 것이 본 연구와도 일치하였다.

Slocombe 등<sup>7)</sup>도 환자에서 새로이 분리된 균주에 대한 ampicillin 및 tetracycline에 내성인 *E. coli* 균주에 94% 이상이 ceftizoxime 2 $\mu$ g/ml의 최저 저지농도를 나타내었다고 하였는데 본 연구에서도 0.5 $\mu$ g/ml 이하의 농도에서 감수성을 나타내었다.

Ceftizoxime과 cefadroxyl의 항균력을 비교해보면 공시균주 18주 모두가 0.5 $\mu$ g/ml에서 감수성을 나타내는 반면 cefadroxyl에 대해서는 *Enterobacter cloacae*는 256 $\mu$ g/ml에서 *E. coli* 1주도 128 $\mu$ g/ml의 높은 농도에서 내성을 나타냄으로써 ceftizoxime이 Gram 음성 장내세균에 대해서는 이들 항생제보다 월등히 높은 항균력을 가지고 있음을 알 수 있었다.

$\beta$ -lactam 항생제가 다른 항균제들에 비하여 강한 항균력 때문에 널리 사용되어 왔기에  $\beta$ -lactamase를 생산하는 내성균주가 출현하므로 그 사용에 제한이 생기게 되었고,  $\beta$ -lactamase를 생산하는 세균에 대하여 안정성이 높은 cephalosporine 유도체의 항생제가 개발이 되었다. 항생제의 장기간 투여와 남용에 의한 문제점은 새로운 내성균주의 출현이라 하겠다.

본 저자의 연구에서도 ceftizoxime에 대한 내성균주의 출현 여부를 관찰하기 위하여 ceftizoxime 첨가한 배지에 세균을 계대배양해가면서 공시 균주에 대한 최저 농도를 측정해 보았다.

이중에서 *E. coli* 15번주와 *Salmonella typhi* 18번 각 1주가 원래 최저 저지농도 0.5 $\mu$ g/ml에서 16 $\mu$ g/ml로 증가하는 것을 볼 수 있었다. 그러나 Sutherland<sup>12)</sup>는 ceftizoxime에 대한 내성균주의 최저 저지농도를 64 $\mu$ g/ml 이상으로 보고하고 있어서 이에 준한다면 본 실험의 결과를 ceftizoxime에 대한 내성균주의 출현이라고는 판정할 수 없으면 단지 최저 저지농도의 양적인 증가는 인정되지만 내성균주의 출현이 있다고 하더라도

매우 서서히 단계적으로 일어남을 예견할 수 있었다.

공시된 항균제에 대한 다제 내성균주와 ceftizoxime 16 $\mu$ g/ml에 발육되는 *E. coli*와 *Salmonella typhi* 각 1주의 plasmid의 출현 여부를 본 성적에서도 *Salmonella typhi*는 plasmid의 출현이 없었으며 *E. coli* 15번주에서는 2개의 plasmid band가 출현되었으나 ceftizoxime 내성전달 plasmid의 판독은 parent strain의 plasmid curing 과정을 통하여 계속 추적하여야 할 것으로 사료된다.

마우스 장내의 정상 세균총은 99%가 혐기성 세균이고 1% 미만이 호기성 세균으로 구성되어 있으며 이러한 1% 미만의 호기성 세균이 병원성 미생물에 속하여 있다.

따라서 장내세균의 대다수를 차지하는 혐기성 세균이 호기성 세균의 정착(colonization)을 억제하므로서 호기성 세균이 증식하는 것을 막아 주는 역할을 하고 있다. 본 연구에서도 ceftizoxime이 장내 정상 균총에 미치는 영향을 보면 약제 투여후 3일째도 호기성 세균이나 혐기성 세균이 다소 감소되는 듯하나 5일째는 거의 정상으로 되돌아 감을 볼 수 있었다.

본 실험에서는 ceftizoxime 투여후에 각 균종별 장내 세균의 증감을 조사하지 않았으나 이 문제는 좀더 추구해 보아야 할 것으로 생각된다.

특히 ceftizoxime 투여후 마우스의 장내 정상 균총에 현저한 변화가 없었던 것은 ceftizoxime의 투여 방법, 투여량 및 투여기간에 대한 영향을 고려해 보아야 할 것이나 본 실험에서의 정맥내 투여가 장내의 정상균총에 영향을 미치지 못하였는지도 모르겠다. Gurney와 Jackson<sup>14)</sup>은 ceftizoxime이 매우 낮은 독성을 나타내며 마우스에 대한 LD값은 -2500, -5000 mg/kg라고 보고하였고 Rat, 원숭이 등에 ceftizoxime을 계속 투여하여도 선천적인 기형이나 임신에 별다른 영향을 미치지 않는다고 하였다.

## 요 약

반합성  $\beta$ -lactam 항생제로서 여러 세균에  $\beta$ -lactamase에 대해 높은 안정성을 나타내는 ceftizoxime의 임상 분리 장내 세균 18주에 대한 시험관내 및 생체내 항균효과와 내성균의 출현여부를 조사하고 ampicillin, tetracycline, gentamicin 및 cefadroxyl와의 항균력을 시험관내 실험으로 비교하였으며 또한 마우스 장내 정상균총에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Ceftizoxime은 그람음성 장내 세균에 대하여 시험관내에서 높은 항균력을 나타내었으며 이러한 항균력은 ampicillin, tetracycline, gentamicin보다 높았으며  $\beta$ -lactamase 산생 내성균주의 치료제로 알려진 cefadroxyl보다도 높았다.

2. 시험관내 다제 내성균주는 ampicillin, cefadroxyl, gentamicin 및 tetracycline에 대한 내성주는 *E. coli* 1주, ampicillin, cefadroxyl 및 tetracycline에 대한 내성주는 *E. coli* 2주, ampicillin, gentamicin 및 tetracycline에 대한 내성주는 *Shigella dysenteriae* 이었으며, ampicillin 및 tetracycline에 대한 내성주는 *Enterobacter cloacae*였고 ampicillin 및 tetracycline에 대한 내성주는 *E. coli* 5주이었다.

3. Ceftizoxime에 대한 내성균주의 출현율은 매우 낮았다.

4. 서로 다른 내성을 보인 9균주 (*E. coli* 6 strains, *Shigella dysenteriae*, *Enterobacter cloacae*, and *Salmonella typhi*) 중 plasmid 분리는 6균주에서 관찰되었으며 이는 *E. coli* 5주와 *Shigella dysenteriae* 1주 있었다. 그러나 항생제에 대한 저항의 marker로서는 결정할 수 없으므로 이를 위해서는 curing experiment를 사용하여야 한다.

5. Ceftizoxime은 마우스 장내 정상균총에는 현저한 영향을 미치지 않았다. 이상의 결과에서 ceftizoxime은 그람음성 장내 세균에 대하여 높은

항균력을 나타내며 장내세균 감염치료에 선택적 항생제로 이용될수 있을 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

1. 김의종 : 그람음성 간균의 약제내성. 대한 화학요법 학회지, 5(1) : 1-4, 1987.
2. 황민철 · 이봉기 · 심우남 · 이원영 · 김주덕 : Temocellin(BRL 17421)의 그람음성 장내 세균에 대한 시험관내 및 생체내 항균 효과 연재의대 논문집, 16(2) : 400-411, 1983.
3. 이상열 · 정운섭 · 김상인 · 석종성 · 김기홍 · 정화순 · 박종윤 · 김중명 · 김재식 : 임상검체에서 1982년에 분리된 세균의 항생제에 대한 감수성. 대한의학협회지, 26(8) : 747-762, 1983.
4. 석종성 · 김상인 · 조한익 · 이상열 · 정운섭 · 김기홍 · 김춘원 · 김중명 · 김재식 : 1983년에 분리된 병원성 세균의 항생제에 대한 감수성. 대한의학협회지, 28(1) : 59-76, 1985.
5. 홍석일 · 권태희 · 박창선 · 석종선 · 김상인 : 서울대학병원에서 분리된 각종 병원균의 감수성 경향에 대한 검색. 대한 임상병리 학회지, 4(2) : 149-162, 1984.
6. Washington II, J.A : Susceptibility tests : Agar dilution. Manual of clinical microbiology, 4th ed. 1984.
7. Slcombe, B. : BRL 17421, a novel  $\beta$ -lactam antibiotic, highly resistant to beta-lactamase, giving high and prolonged serum levels in humans., Antimicrobial agents and chemotherapy, 20 : 38, 1981.
8. Maniatics, T., Fritsch, E.T. and Sambrook, J. : Molecular cloning, a laboratory manual, Cold spring Harbor, Newyork, 1982, pp. 368.
9. Birboin, H.C. and Doly, J. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombi-



- nant plasmid DNA. Nucleic acid, 7 : 1513, 1979.
10. Murao, M., Terai, T., Abe, S. and Osaki, Y. : Clinical evaluation of new cephalosporin, ceftizoxime for respiratory infection. Chemotherapy, 28(5) : 109-121, 1980.
  11. Mitsuhashi, S. : In vitro and in vivo antibacterial activity of ceftizoxime. Chemotherapy, 28(5) : 96-101, 1980.
  12. Sutherland R. : BRL17421 : antibacterial sensitivity testing I. Tentative MIC breakpoints and zone size interpretative standards for the 30 $\mu$ g BRT 17421 sensitivity disc in the I.C.S. standardized method. Beecham pharmaceuticals. Research division, 1981.
  13. Finland, M. and Weistine, L. : Complications induced by antimicrobial agents. N.Engl.J. Med., 248 : 220, 1953.
  14. Gurney, J.D. and Jackson, D. : Pharmacokinetics of BRL 17421, a novel semisynthetic beta-lactam antibiotic. New antibiotics chemotherapeutic agents, 325, Beecham pharmaceuticals, 1980.

-Abstract-

## Antibacterial Activity of Ceftizoxime Against Gram Negative Enteric Bacteria *in vitro* and *in vivo*

Woo Mok Byun, Jae Chun Chang and Bok Hwan Park

*Department of Diagnostic Radiology  
College of Medicine, Yeungnam University*

Hee Sun Kim and Sung Kwang Kim

*Department of Microbiology  
College of medicine, Yeungnam University  
Taegu, Korea*

Ceftizoxime sodium is a new synthetic  $\beta$ -lactam antibiotic combining potent antibacterial activity with high stability to a wide range of bacterial  $\beta$ -lactamase.

This experiment was achieved to evaluate the antibacterial activities of ceftizoxime sodium against Gram negative enteric bacteria isolated from in outpatient visiting Yeungnam university hospital and to study the emergence of drug induced bacterial variants which resist to ceftizoxime *in vitro*. The antibacterial activity of the ceftizoxime was compared with that of antibiotics and its effect on population of normal intestinal flora in mice was observed.

The results are summarized as follows :

1. Highly effective antibacterial activity of ceftizoxime against Gram negative enteric bacilli was demonstrated and this antibacterial activity was superior to that of ampicillin.
2. Several test strains shows multiple antibiotic resistance. Among 15 strains of *Escherichia coli*, 1 strain was resistant to ampicillin, cefadroxyl, gentamicin, tetracycline, and 2 strains were resistant to ampicillin, cefadroxyl, tetracycline, five strains of *Escherichia coli* and *Enterobacter cloacae* was resistant to ampicillin, tetracycline and *Shigella dysenteriae* was resistant to ampicillin, gentamicin, tetracycline.
3. The frequency of *in vitro* emergence of resistant variants among ceftizoxime sensitive bacteria in the presence of increasing concentrations of the compound was found to be low.
4. Plasmid was isolated in 6 of 9 strains(6 strains of *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Enterobacter cloacae* and *Salmonella typhi*) That showed different antibiotic resistance. They were 5 strains of *Escherichia coli* and 1 strain of *Shigella dysenteriae*.  
However, plasmid could not be considered as a hallmark for antibiotic resistance by this. Further studies with curing experiment are to be accomplished for this purpose.
5. Changes in the bacterial count of normal intestinal flora following 25mg/kg/day administration of ceftizoxime over 5 consecutive days were not significant.

In conclusion, ceftizoxime appeared to be a drug of choice in the treatment of Gram negative enteric bacilli infection.