

Cefazolin に関する基礎的 (*in vitro* 抗菌力, 体液中濃度測定法, 感受性ディスク法) ならびに臨床的検討

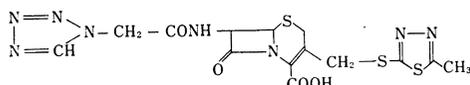
金 沢 裕・倉 又 利 夫

新潟鉄道病院

(昭和 47 年 10 月 2 日受付)

Cefazolin (CEZ) は藤沢薬品工業株式会社中央研究所<sup>1,2)</sup>で開発された新 Cephalosporin C 誘導体で, *Cephalosporium acremonium* が生産する Cephalosporin C からえられる 7-aminocephalosporanic acid の 7 位に tetrazolylacetyl の側鎖を, 3 位には 5-methylthiacliazolyl-thiomethyl 基を誘入された, Fig. 1 のような構造式を有する新規化合物である。今回私どもは本剤についての基礎的検討としての体液中濃度, *in vitro* 抗菌力, ディスクによる感受性測定などについて検討し, 臨床的治療効果についても多少の経験をしたので報告する。

Fig. 1 Cefazolin (CEZ)



薄層平板拡散法による体液中濃度測定法ならびに測定成績

CEZ の体液中濃度測定法として, 私ども<sup>3,4)</sup>がさきにも多くの化学療法剤について試みた薄層平板拡散法を検討した。

#### 実験方法

検定菌: *B. subtilis* PCI 219 株芽胞を  $10^8$ /ml に含有するように調製して用いた。

培地: 感性ディスク用培地 (MUELLER-HINTON 変法培地) 使用時 pH 6.5 に修正。

検定平板作製: 溶解して  $50^\circ\text{C}$  前後に保つた上記寒天培地に検定菌浮遊液を 1% に加えて混和し, 水平におかれた底の平らな規格型ペトリ皿に 5 ml ずつ分注する。

標準ならびに被検体の調製: 血清は pH 6.5 の M/15 リン酸 buffer で 2 倍に希釈, 尿は 50 倍に希釈して測定サンプルとした。標準サンプルとしては, 血清の場合は化学療法剤の投与をうけていない人の血清 (血漿) で検体と同様, buffer の 2 倍希釈液に, 尿の場合は buffer にそれぞれ 20, 5, 1.25, 0.312, 0.078, 0.012  $\mu\text{g/ml}$  の 4 倍希釈系列を作製して用いた。

平板作製ならびに培養: 寒天平板上に cup を立て, 標準ならびに被検体を満たし (一部には直径 8 mm のペーパーディスクにサンプルを含ませて, 余分の水分をのぞいて培地上においた), 冷所に 4 時間放置したのち,

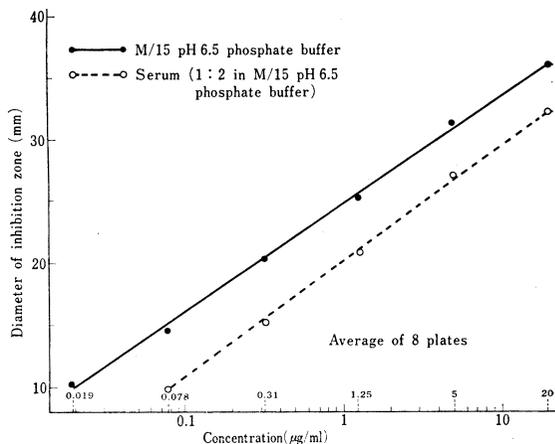
$37^\circ\text{C}$  に 12~16 時間程度培養した。

濃度測定: 現われた阻止円直径を直角 2 方向から 0.5 mm まで測定し, その平均値を求めた。半対数方眼紙上に標準サンプルの測定値の座標をとり, 標準曲線を描き, その上に被検体の阻止円の大きさに相当する濃度を求めて被検体濃度とした。

#### 実験成績

薬剤濃度と阻止円の関係: Fig. 2 に示すように, buffer 希釈血清中および buffer 中の含有薬剤の対数濃度と阻止円直径の間には, ほぼ直線関係が成立することがみられた。最低測定可能下限は pH 6.5 buffer では 0.019  $\mu\text{g/ml}$ , 2 倍希釈血清では 0.078  $\mu\text{g/ml}$  程度であつた。ディスク法でも Fig. 3 に示すように薬剤の対数濃度と阻止円直径の間に, 直線関係が成立したが, その測定下限は 2 倍希釈血清では 0.31  $\mu\text{g/ml}$ , pH 6.5 buffer では 0.078  $\mu\text{g/ml}$  で, cup 法に比し感度が低い傾向がみられた。

Fig. 2 Relation between concentration of cefazolin and diameter of inhibition zone in the thin-layer cylinder-plate method



Sample Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	M/15 pH 6.5 phosphate buffer	Serum (1:2 in M/15 pH 6.5 phosphate buffer)
20	36.25 $\pm$ 0.51	32.50 $\pm$ 0.53
5	31.25 $\pm$ 0.88	27.00 $\pm$ 0.95
1.25	25.65 $\pm$ 0.51	21.00 $\pm$ 0.88
0.312	20.75 $\pm$ 0.51	15.25 $\pm$ 0.51
0.0781	14.87 $\pm$ 0.33	9.87 $\pm$ 0.33
0.0195	10.25 $\pm$ 0.51	—

Fig. 3 Relation between concentration of cefazolin and diameter of inhibition zone in the thin-layer disc-plate method

Disc used : 8 mm in diameter

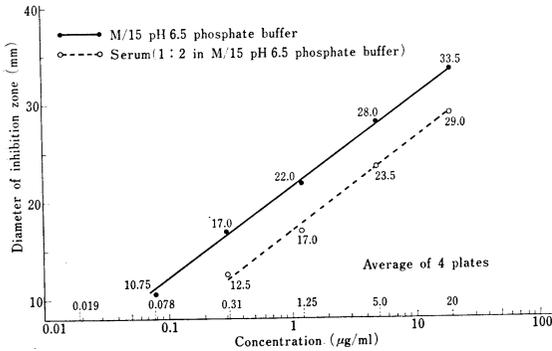
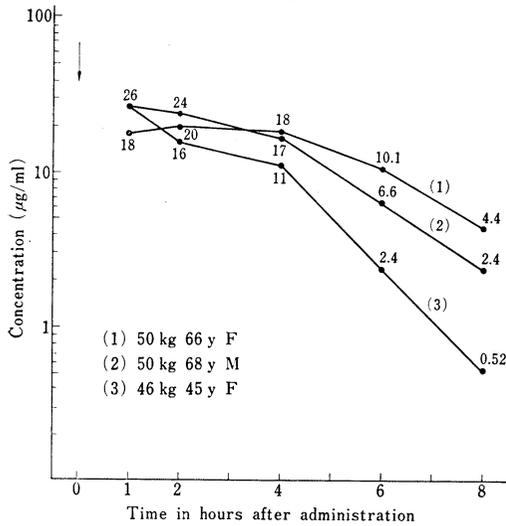


Fig. 4 Serum levels following single intramuscular administration of 500 mg cefazolin in 3 adults



薬剤投与後の血中濃度：成人3名について CEZ 500 mg を筋注し，血中（血清）濃度を上記の方法で測定した。その成績は Fig. 4 に示すようで1~2 時間に20~26 μg/ml 程度のピークを示し，8 時間にわたり 0.52~4.4 μg/ml 以上の有効濃度が測定された。

尿中濃度：成人に 500 mg 筋注した場合の尿中濃度は Fig. 5 に示すように最高 380~1,200 μg/ml に達し，12~16 時間にわたり 20~100 μg/ml 程度の有効濃度を示し，16 時間の尿中回収率は 48~68% であった。

胆汁中濃度：CEZ 500 mg 筋注後の胆汁中濃度を，胆汁嚢採取4 ケース，十二指腸ゾンデ採取1 ケース，摘出胆ノウ1 ケース（経口胆ノウ造影陽性）について測定した。濃度ピークは 2~5 時間で 2.7~20 μg/ml 程度であり，胆汁中にも充分な有効濃度が移行することが証明された (Fig. 6)。

Fig. 5 Urinary levels and urinary recovery following single intramuscular administration of 500 mg cefazolin in 3 adults

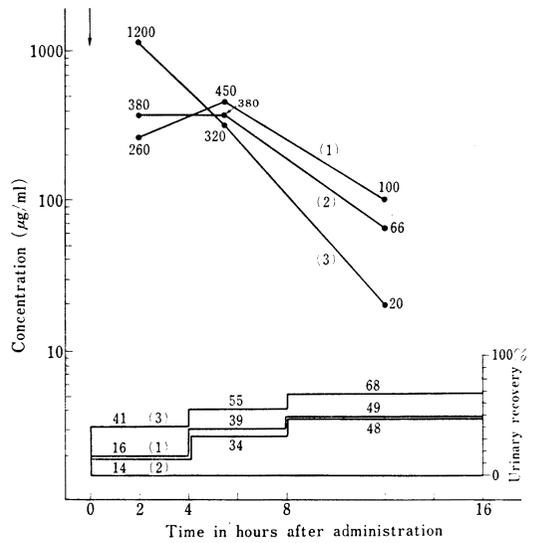
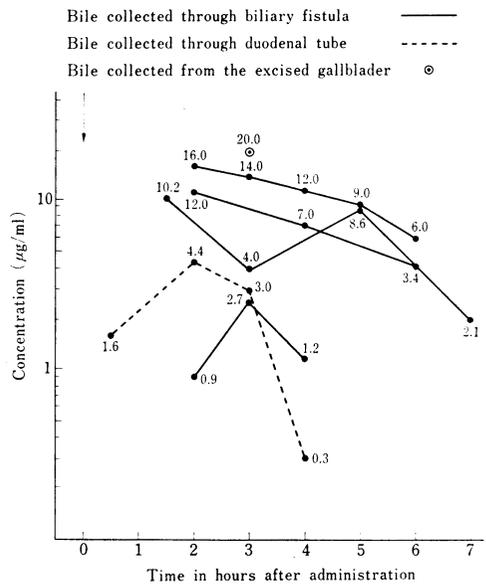
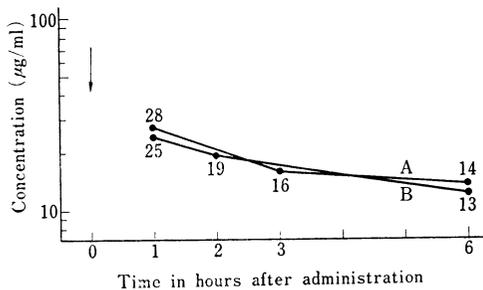


Fig. 6 Microbiologically active levels in bile following single intramuscular administration of 500 mg cefazolin



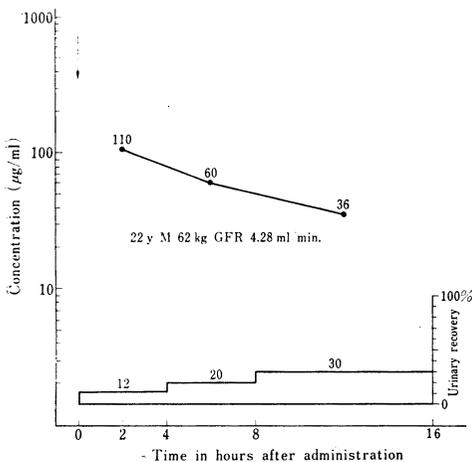
腎不全時の測定成績：つぎに慢性腎不全患者2名について，500 mg 筋注後の血中濃度を測定した。その成績は Fig. 7 に示すように，6 時間後もなお 13~14 μg/ml の高濃度の持続がみとめられた。尿中濃度をうち1名について測定したが，Fig. 8 に示すように 12~16 時間の尿中濃度は 36 μg/ml で低く，16 時間の回収率は 30% であった。すなわち健康人に比し，尿排泄率が低下する

Fig. 7 Serum levels following single intramuscular administration of 500 mg cefazolin in 2 cases of renal failure



	GFR(ml/min.)	S-BUN(mg/dl)
A 22 y M 62 kg	4.28	76
B 42 y M 54 kg	12.6	40

Fig. 8 Urinary levels and urinary recovery following single intramuscular administration of 500 mg cefazolin in a case of renal failure



ので血中濃度持続が長く、その尿中回収率が初期では低い傾向が明らかであった。

**In vitro 抗菌力**

**実験方法**

培地：MUELLER-HINTON 変法 (感性ディスク用) 培地 (pH 7.4) ならびに 5% 血液添加同培地。

供試菌株：日常臨床検査の対象となることの多いと考えられる Fig. 9 の 20 種 113 株について行なった。

実験操作：私ども<sup>9)</sup>が臨床的接種菌量と考えている cm<sup>2</sup> 当り 10<sup>8</sup>~10<sup>5</sup> 程度に菌を接種し、寒天平板 2 倍希釈法を行ない、16 時間後に肉眼的に菌発育を観察し、MIC を測定した。本実験はディスク法における標準曲線調製の基礎的検討も兼ねているので、2 倍希釈法の濃

Table 1. Cefazolin

Influence of adding 5% sheep blood to the test medium on the MIC values by the 2-fold agar dilution method.

Medium used: Modified MUELLER-HINTON (Sensitivity disc) agar pH 7.4

Bacterial strains employed: A total number of 72 strains (Staphylococcus 43, E. coli 10, Klebsiella 6, Salmonella 4, Shigella 5, Enterococcus 4)

Ratio of MIC ( $\frac{\text{With blood}}{\text{Without blood}}$ )	Number of data obtained
2	12
1	49
1/2	11

Geometrical mean = 1.10

度差により、また不連続性により生ずる測定値の変動をある程度小さくするため、6 回くりかえして行なった値の幾何平均を  $\sqrt{2}$  で除して、その数値をその菌に対するもつとも信頼すべき MIC とした。

実験成績：Staphylococcus (Methicillin 耐性 1 株を除く)、 $\alpha$ -Streptococcus、 $\beta$ -Streptococcus、Pneumococcus、Corynebacterium diphtheriae、Neisseria gonorrhoeae、Neisseria meningitidis は MIC 1  $\mu$ g/ml 以下の極めて高い感受性を、Hemophilus influenzae、E. coli、Klebsiella、Shigella、Salmonella は MIC 4  $\mu$ g/ml 以下のかなりの感受性を示した。いつぼう、Enterococcus、Proteus-Providencia の多くは MIC 17  $\mu$ g/ml 以上で感受性が低く、Pseudomonas は MIC 142  $\mu$ g/ml 以上の耐性値を示した。

血液添加の影響：Table 1 に示すような菌株を用いて、メン羊血液を 5% 添加、非添加の際の MIC 値の変動を検し、5% 血液添加で平均 1.01 程度の MIC 値に変動しかみられなかつた。したがって 5% 血液添加の影響は必ずしも著しくないと考えられた。

**感受性ディスク法に関する検討**

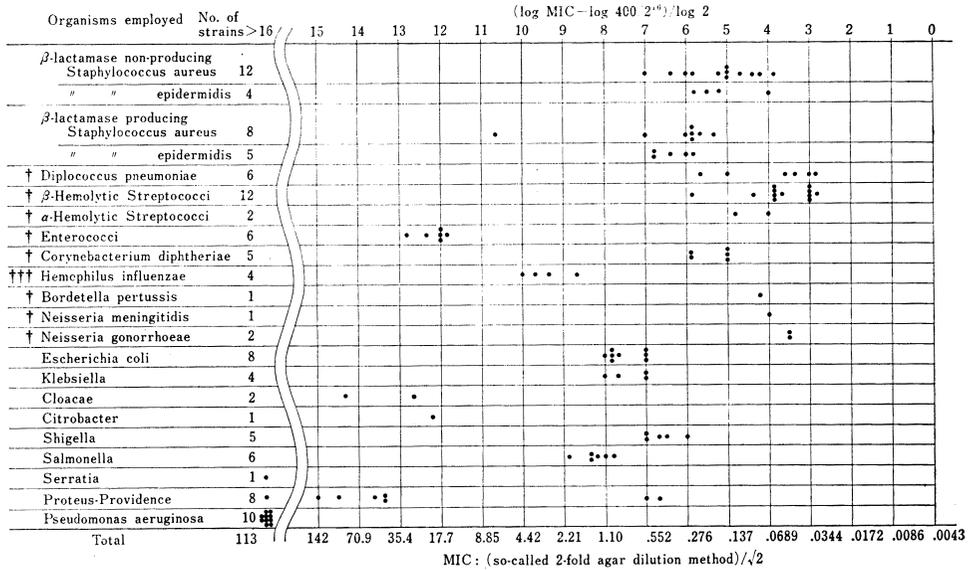
私どもは臨床検査としてのディスク法、とくに 1 濃度法を取りあげ、多くの薬剤についてその適用しうることを証明して来たが、今回は本剤について検討を加えた。

ディスク法の実施：内径 90 mm の規格型プラスチックシャーレに、感性ディスク用培地 (MUELLER-HINTON 変法) を 20 ml ずつ分注して水平に固めた。供試菌コロニー 1~2 白金耳程度を 1 ml の滅菌水または Broth に懸濁し、ブドウ球菌、腸内細菌のばあいはその 1 白金耳を淋菌、ヘモフィルス、レンサ球菌、肺炎球菌などはその 1 滴 (0.03 ml 程度) を 1 枚の寒天平板上におとし、20 コ程度の小ガラス玉を入れ、ゆり動かして均等に拡げる。このさいの接種菌量は前者では cm<sup>2</sup> 当り 10<sup>8</sup>~10<sup>4</sup> 程度、後者では 10<sup>4</sup>~10<sup>5</sup> 程度が確かめられている。

培養：ディスクを置いて直ちに培養し、16 時間後 (簡

Fig. 9 Microorganisms employed for constructing regression lines and their sensitivities to cefazolin expressed in terms of MIC

MIC was obtained by the 2-fold agar dilution method after 16 hours incubation.



易普通法), ならびに 24 時間後 (遅延法) に判定した。さらに, 寒天平板 cm<sup>2</sup> 当り 10<sup>6</sup>~10<sup>7</sup> 程度に濃厚に菌を接種して 4 時間後, 6 時間後に判定した (迅速法)。

ディスク薬剤含有量: CEZ の臨床的耐性下限として 250 mg 1 日 2 回投与時の尿中濃度の下限にあたる 100~50 μg/ml 程度の MIC の菌に対し, 阻止円を生ずるのが適当と考えられた。20, 30, 50 μg CEZ 含有ディスク (直径 8 mm) の阻止円出現の境界濃度を検討し, 30 μg の CEZ 含有ディスクがこの目的にかなうという成績が予備実験でえられたので, 以下 30 μg 含有ディスクを用いることにした。

阻止円の計測: 上述のそれぞれの方法によつて現われた阻止円の直径を直角 2 方向から計測し, 平均値を求めた。また迅速法では 4 時間以内に肉眼的に充分な阻止円の現われた場合と, 6 時間以内の場合の 2 つのグループに分けて阻止円の直径を計測した。

標準曲線の調製: 普通法は 6 回, 迅速法は 2 回に分けて実施し, それぞれの菌株の阻止円の直径の平均値を求めた。ついで片対数方眼紙上に阻止円の直径を整数目盛で, MIC を対数目盛にとり, Cephalosporinase 産生ブドウ球菌および, それ以外の細菌に分けて, 各々の実験条件の下で MIC と阻止円直径の関係を示す標準曲線 (回帰曲線) を求めた (Fig. 10), (Table 2)。

感受性測定法: 普通法 (1) 16 時間培養で測定に充分な阻止円が出現した場合 (簡易法), (2) 16 時間で充分

な阻止円が出現せず, 24 時間で出現した場合は遅延法の曲線を用いて, MIC を推定できるわけである。一般に Cephalosporinase 非産生菌では CEZ の溶菌作用のために, 阻止円が拡大し, いつぼう, Cephalosporinase 産生菌では阻止円が不整となり, 縮小する傾向があるので, 計測に充分な阻止円が現われた場合には, 16 時間以内に測定を完了する注意が必要であろう。

迅速に感受性を知るために 0.1 ml の滅菌水に 2 白金耳程度に菌を濃厚に浮遊し, 濃厚菌液をつくり, その 1 滴を平板上にガラス玉法で接種して 37°C, 4 時間以内に阻止円の出現した場合には, 迅速 3~4 時間の曲線で, 5~6 時間で阻止円の出現した場合には, 迅速 5~6 時間法の曲線で感受性をスクリーニングすることができるわけである。また, 被検体 (膿, 尿など) を直接接種した平板にディスクをおいて感受性試験を行なう Primary culture sensitivity disc 法のさいは, 接種菌量を規定することが時に困難なことがあるので, 測定に充分な阻止円の出現した時間に応じて, 3~4 時間迅速法, 5~6 時間迅速法, 簡易法 (16 時間培養), 遅延法 (24 時間培養) のいずれかを適用して感受性を推定することが可能であろう。

実験誤差について: 本ディスク法の実験誤差を検討するために, 簡易法について行なつたすべての成績の標準曲線からのへだたりの存在範囲を棄却限界の式 (α = 0.05) を適用して計算し, Table 2 の値がえられた。い

Fig. 10 Standard curves representing the relationship between the size of inhibition zone and MIC  
Disc : 8 mm in diameter ; water absorption ;  $0.027 \pm 0.004$

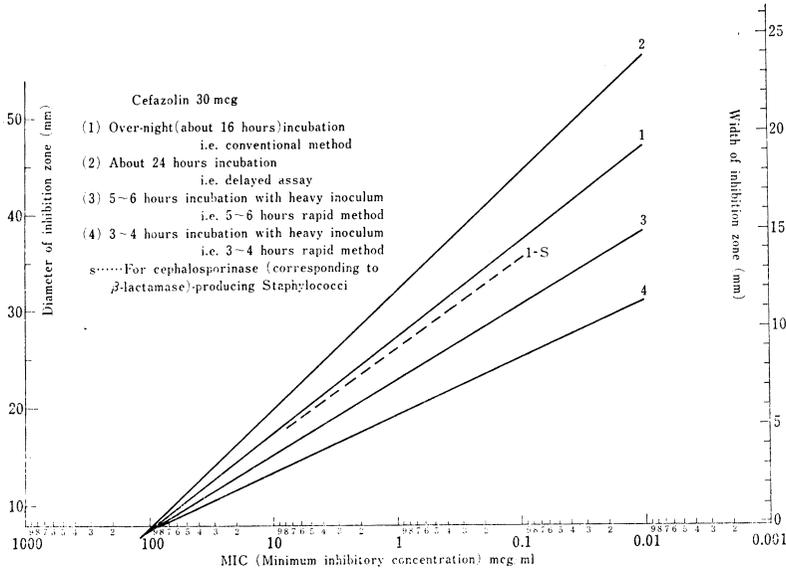


Table 2. Statistical analysis of the relationship between MICs of cefazolin and diameters of inhibition zones

Method (Incubation time in hours)	No. of data obtained	Correlation coefficient	Regression equation	Range of deviation of MICs expressed as rejection limit	
Conventional method	Approx. 16 hrs For cephalosporinase producing <i>Staph.</i>	516	-0.925	$D = 27.3 - 9.8 \log \text{MIC}$	3.1~0.33
	approx. 24 hrs (delayed assay)	78	-0.753	$D = 26.1 - 9.1 \log \text{MIC}$	5.0~0.20
		324	-0.937	$D = 32.1 - 12.0 \log \text{MIC}$	3.2~0.33
Rapid	4 hrs	234	-0.799	$D = 19.3 - 5.8 \log \text{MIC}$	6.3~0.16
	6 hrs	210	-0.814	$D = 22.7 - 7.8 \log \text{MIC}$	5.2~0.19

つぼう, 参考としての寒天平板 2 倍希釈法の実験誤差を検討する意味で, すべての寒天平板 2 倍希釈法による MIC 値を同一菌株について 6 回ずつ行ない, その各菌株ごとの成績を総合して, MIC 値の存在範囲の棄却限界の幅を求め, Table 3 の成績がえられた。

両者は実験条件がすべて同一ではなく, またディスク法評価の基準となる MIC 値が寒天平板 2 倍希釈法の実験誤差を必然的に含んでいるので, 厳密な比較はやや困難と思われるが測定値の存在範囲の幅から推定すると, 本ディスク法の精度は, 寒天平板 2 倍希釈法のそれには劣るが, ある程度近く, 臨床的感受性測定法としては充分用いられると推定された。

黄色ブドウ球菌による被不活性化の検討

臨床分離の *Staph. aureus* 35 株について

著者<sup>8)</sup>のさきに報告した Disc を用いる簡易測定法を用い, CEZ 不活性化性を検討した。その成績は Table 4 に示すようで, その被不活性化は, PC-G, CER よりは弱

Table 3. Range of MIC values obtained by the 2-fold agar dilution method

No. of organisms employed (n)	Rejection limit* ( $\alpha=0.05$ )	No. of data employed
101	2.8~0.36	606
Cephalosporinase producing <i>Staph.</i>		
12	4.4~0.23	72

\* Where sample mean is taken as 1.0,

$$\text{rejection limit} : \pm St 0.05 \sqrt{\frac{n+1}{n}}$$

$$S : \text{for sample standard deviation} \sqrt{\frac{\sum R^2}{n-1}}$$

$$R : \sqrt{\frac{\sum (X-\bar{X})^2}{5}} \quad (\text{sample mean deviation in 6 times repeated experiment for each organism})$$

t : distribution coefficient of Student

Table 4 Abilities of *Staphylococcus aureus* to inactivate benzyl-penicillin and cephalosporins determined by simple method\* using sensitivity disc.

Strains tested: *Staph. aureus* isolated from clinical specimens in 1969

Rate of inactivation Agent	4 +	3 +	2 +	1 +	-	Total
PC-G	13	8	2		2	35
CER			28	5	2	35
CEX				25	10	35
CEZ			17	10	8	35

Figures indicated number of strains by specified grade of inactivating activity

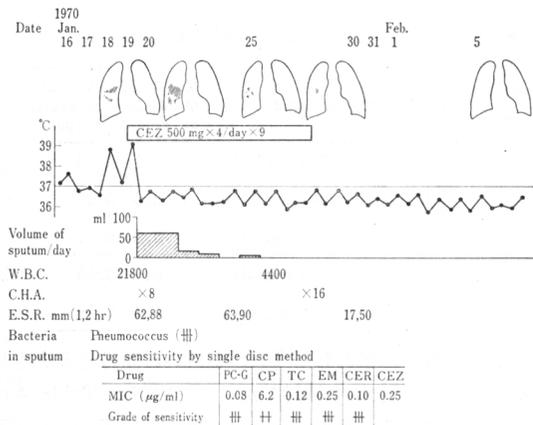
\* (KANAZAWA & KURAMATA  
J. Antibiotics, Ser. A 19(6): 272, 1966)

いが, CEX より強い傾向がみられた。

臨床使用成績

つぎに臨床的に1例の肺炎球菌性の気管支肺炎に使

Fig. 11 Bronchopneumonia 49 y. M



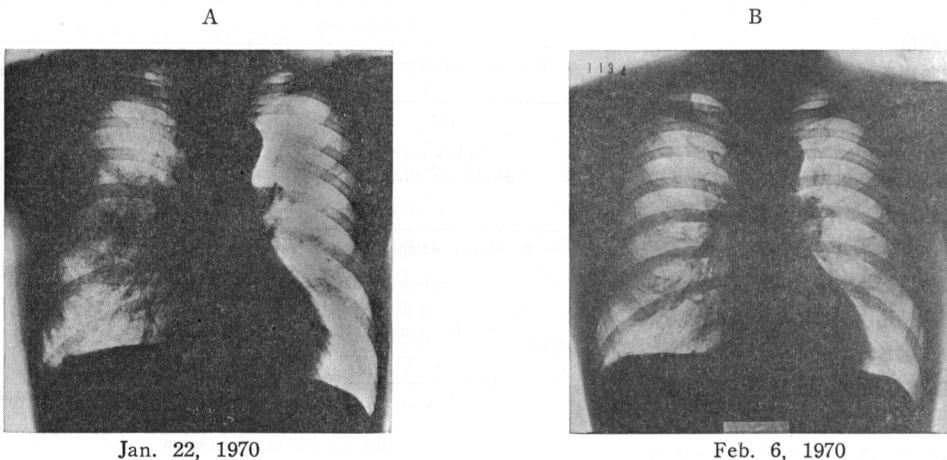
用したので, その経過の概要を示す (Fig. 11, 12)。

症例: 気管支肺炎 (肺炎球菌性), 整形外科に腰痛で入院中の49才の男子。突然発熱38.8°C, 膿性喀痰排出あり, 白血球数21,800, X線上下中野に気管支肺炎様陰影を認めたので, CEZ 1日2,000 mg, 9日間, 計18,000 mg 使用, 使用開始翌日から下熱, 以後順調な経過を示して全治した。なお CEZ の副作用と思われるものは認められなかつた。喀痰中からは肺炎球菌を多数証明し, 上記のディスク法による感受性試験で, CEZ に MIC 0.25 μg/ml の充分な感受性を示した。

考案(おもにディスク法について)

CEZ などのように, 新たに出現した薬剤の臨床的感性, 耐性限界に相当する MIC は, 薬剤投与による臨床効果の多くの集計の上に将来定められるべきものであり, 必ずしも根拠の明らかでない, +, - などの成績だけが検査室から天下り的に臨床家におしつけられるべきものではなく, 適当に規定された実験条件での MIC を

Fig. 12 胸部 X 線像



推定することが臨床的感受性検査の目的と考えられる。この目的に沿う意味で、私ども<sup>5-7)</sup>は単一ディスク(1濃度)測定法による化学療法剤の感受性測定法についてたびたび検討を加えてきたが、今回は CEZ についても本法が適用されることを確かめた。しかし、CEZ では他の薬剤と異なり、単一の基準では本法が適用し難く、Cephalosporinase 産生ブドウ球菌は寒天平板 2 倍希釈法による MIC 値に比してディスク法では阻止円が縮小するので、寒天平板 2 倍希釈法による MIC 値の推定には別個の判定基準を追加する必要がある。これはディスク法では、被検菌がディスクから漸次拡散してくる CEZ に接し、適応酵素としての Cephalosporinase 産生の亢進を示すものと推定され、生体内で病原菌が薬剤に接する様相に類似していると考えられる。したがって、たとえ別個の判定基準によらず、他の菌株と共通な基準で MIC 値を推定しても、Cephalosporinase 産生度の充分加味された値が得られるので、臨床的にはむしろ有利であるとも考えられる。また、さきに報告したように CEZ ディスクに対する阻止円の形状から、ブドウ球菌の  $\beta$ -lactamase に相当する Cephalosporinase 産生を推定することができるので、臨床的感受性試験としてはむしろ希釈法よりも利点をもつとさえ考えられる。

#### 結 語

Cephalosporin C 系新抗生剤 Cefazolin について細菌学的、臨床的検討を行なった。

1) 本剤の体液中濃度は *B. subtilis* PCI 219 芽胞を用いる薄層平板 cup 法で、0.078  $\mu\text{g/ml}$  以上測定可能であった。500 mg 筋注後の血清中濃度は、1~2 時間に 20~26  $\mu\text{g/ml}$  のピークを示し、0.5  $\mu\text{g/ml}$  以上の有効濃度を 8 時間以上持続した。その際の尿中濃度は 380~1,200  $\mu\text{g/ml}$  に達し、16 時間回収率は 48~68% であった。ただし、腎不全患者では血中濃度の低下は遅延し、尿中排泄率が減少する傾向がみられた。筋注後の胆汁中濃度は 2~5 時間で 2.7~20  $\mu\text{g/ml}$  程度で、胆汁移行は比較的良好と考えられた。

2) CEZ に対する各種細菌の感受性を寒天平板希釈法で検した。*Staphylococcus* (Methicillin 耐性株をのぞく)、 $\alpha$ -*Streptococcus*、 $\beta$ -*Streptococcus*、*Pneumococcus*、*Corynebacterium diphtheriae*、*Neisseria gonorrhoeae*、*Neisseria meningitidis* は MIC 1  $\mu\text{g/ml}$  以下の極めて高い感受性を示し、*Hemophilus influenzae*、*E. coli*、*Klebsiella*、*Shigella*、*Salmonella* は MIC 4  $\mu\text{g/ml}$  以下のかんりの感受性を示した。いつぼう、*Enterococcus*、*Proteus-Providencia* の多くは MIC 17  $\mu\text{g/ml}$  以上で感受性は低く、*Pseudomonas* は MIC 142  $\mu\text{g/ml}$  以上の耐性を示した。

3) 本剤についても、単一ディスク法による感受性測定法を適用するために、MIC と阻止円直径の関係を示す図表を(a) 1夜 16 時間培養の普通法、(b) 24 時間後判定の遅延判定法、(c) 濃厚接種による 3~4 時間培養後の 4 時間迅速法、(d) 同様に 5~6 時間培養後判定をおこなう 6 時間迅速法、の各々について調製することができた。しかし Cephalosporinase 産生 *Staphylococcus* では希釈法による MIC に比しディスク法による阻止円が縮小するので、別の判定基準を追加する必要があった。

4) 病巣分離 *Staphylococcus* による被不活化作用は Benzyl-penicillin > Cephaloridin > Cefazolin > Cephallexin の順であった。

5) 1 例の気管支性肺炎(肺炎球菌性)に本剤が著効を呈した。

本研究に際し、胆汁採取に御協力いただいた新潟鉄道病院外科 丸山勇、田辺尚雄、県立ガンセンター外科 加藤清博士、ならびにディスクを調製、御試供いただいた昭和薬品化工 K.K. に厚く感謝の意を表します。

#### 文 献

- 1) KARIYONE, K., H. HARADA, M. KURITA & T. TAKANO: Cefazolin, a new semisynthetic cephalosporin antibiotic. I. Synthesis and chemical properties of cefazolin. *J. Antibiotics* 23(3): 131~136, 1970
- 2) NISHIDA, M., T. MATSUBARA, T. MURAKAWA, Y. MINE, Y. YOKOTA, S. GOTO & S. KUWAHARA: Cefazolin, a new semisynthetic cephalosporin antibiotic. II. *In vitro* and *in vivo* antimicrobial activity. *J. Antibiotics* 23(3): 137~148, 1970
- 3) 宮村定男, 金沢 裕: カップ法による体液中抗生物質濃度測定法について。臨床 4(7): 678~689, 1951
- 4) 金沢 裕, 倉又利夫, 丸山 勇, 河路 清, 田沢和内: 合成 Cephalosporin C 製剤 (Cephaloridine, Cephalothin) の基礎的 (*in vitro* 抗菌力, 併用効果, 体液中濃度, 不活化酵素) 検討ならびに臨床経験。 *J. Antibiotics, Ser. B* 19(2): 122~130, 1966
- 5) 金沢 裕: 細菌の化学療法剤感受性測定法としての感受性ディスク法。 *Chemotherapy* 9(1): 50~67, 1961
- 6) KANAZAWA, Y.: Clinical use of the disc sensitivity test. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 1961: 926~942, 1962
- 7) KANAZAWA, Y.: Single disc method for minimum inhibitory concentration (MIC) determination. *J. Antibiotics, Ser. A* 19(4): 175~189, 1966
- 8) KANAZAWA, Y. & KURAMATA, T.: A simple method to determine the ability of bacteria to

inactivate chemotherapeutics using sensitivity  
disc. J. Antibiotics, Ser. A 19: 272~278, 1966  
9) 金沢 裕, 倉又利夫: 臨床応用を目的とした感受

性ディスク法の研究, 続報: とくに接種菌量なら  
びに直接法に関する検討. J. Antibiotics, Ser. B  
17(5/6), 1964

LABORATORY (IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY,  
MEASUREMENT METHOD OF BODY FLUIDS  
CONCENTRATION, DISC METHOD OF SENSITIVITY) AND  
CLINICAL INVESTIGATIONS ON CEFAZOLIN

YUTAKA KANAZAWA and TOSHIO KURAMATA  
Niigata Railway Hospital

**Abstract**

Bacteriological and clinical investigations have been performed on cefazolin (abbr. CEZ), a new antibiotic of cephalosporin C family.

1) CEZ concentration in body fluids could be measured as more than  $0.078 \mu\text{g/ml}$  by means of the thin-layer cylinder-plate method using *B. subtilis* PCI 219. Serum concentration of CEZ exhibited a peak of  $20\sim 26 \mu\text{g/ml}$  1~2 hours after 500 mg of the antibiotic were injected intramuscularly, and the effective concentration of more than  $0.5 \mu\text{g/ml}$  was maintained for longer than 8 hours. Urinary concentration of CEZ was measured simultaneously, and the value reached to  $380\sim 1,200 \mu\text{g/ml}$ , recovery ratio being 48~68% within 16 hours. In the patient of renal insufficiency, however, the decline of blood concentration delayed, and the excretion ratio in urine tended to decrease. Biliary concentration of CEZ was  $2.7\sim 20 \mu\text{g/ml}$  2~5 hours after the intramuscular injection, and the transfer in bile appeared to be comparatively good.

2) CEZ sensitivity to various bacteria was measured by agar dilution method. *Staphylococcus* (except Methicillin-resistant strain),  $\alpha$ -*Streptococcus*,  $\beta$ -*Streptococcus*, *Pneumococcus*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis* exhibited an extremely high sensitivity less than  $1 \mu\text{g/ml}$  of MIC, while *Hemophilus influenzae*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Shigella* and *Salmonella* a fair sensitivity less than  $4 \mu\text{g/ml}$  of MIC. On the other hand, *Enterococcus* and *Proteus-Providencia* demonstrated mostly a low sensitivity more than  $17 \mu\text{g/ml}$  of MIC, and *Pseudomonas* a resistance more than  $142 \mu\text{g/ml}$  of MIC.

3) For the purpose of applying the CEZ sensitivity measurement method by a single disc method, the standard curves indicating the relationship between MIC and inhibitory diameter could be prepared respectively for the methods as follows: (a) conventional method by which an incubation is made overnight for 16 hours, (b) delayed assay by which a judgment is made after 24 hours, (c) rapid method by which a judgment is made 4 hours after 3~4 hours incubation with heavy inoculum, (d) rapid method by which a judgment is made 6 hours after 5~6 hours incubation similarly. In the case of *Staphylococcus* producing Cephalosporinase, however, an another judgment standard was supplemented necessarily, as the inhibition zone is more reduced with disc method than the MIC with dilution method.

4) Inactivating actions of *Staphylococcus* isolated from lesion ranged in order as Benzyl-penicillin > Cephaloridin > Cefazolin > Cephalixin.

5) CEZ presented a remarkable effectiveness in a case of bronchopneumonia due to *Pneumococcus*.