

## 肺炎桿菌性マウス実験肺炎を場とする Cefazolin による化学療法 of 解析

松本慶蔵・宇塚良夫・永武毅  
 穴戸春美・鈴木寛・野口行雄  
 玉置公俊・井手政利・渡辺貴和雄  
 長崎大学熱研内科

(昭和53年8月18日受付)

## 緒言

学療法の進展を始めとする医学の進歩は、それらの  
 らした人口の加令化や各種の免疫不全状態患者の増  
 よって、重症グラム陰性桿菌性肺炎の増加という新  
 問題を提起している<sup>1)</sup>。これらの重症肺炎は今後ま  
 ず増加すると考えられ、これに対し、新抗生物質が  
 的に開発されているとはいえ、これらの薬剤を有効  
 に用いるための新しい化学療法理論の確立が求めら  
 れる。しかしながら、このためにこういう重症肺炎を多  
 めて試行錯誤することは許されず、臨床例に近い実  
 デルによって検討することが、それに近づく最良の  
 方法であると考えられる。そこで我々はまずマウスを用  
 いた均一なグラム陰性桿菌性肺炎モデルを作ることを検  
 討し、3種の菌による肺炎モデルを報告<sup>2)</sup>した。この  
 うな100%致死性の *Klebsiella pneumoniae* B-54 株  
 による肺炎は、こういう重症肺炎のモデルに適切である  
 と考え、本実験系を用い、今日肺炎桿菌に最も有効で多  
 量に用いられる Cefazolin を選んで投与スケジュールによる肺  
 内細菌数変動と死亡率を主なマーカーとして、化学療法  
 の効果を検討を行ない、いくつかの示唆にとむ新知見を得たの  
 を報告する。

## 実験方法および材料

## 肺炎作製法

著<sup>2)</sup>に述べた噴霧感染法により肺炎を作製した。以  
 下を要点を記すと、

動物：ddy マウス・オス、体重 15g 前後 (12~17g)  
 実験に約 100 匹使用。

菌：糖尿病に合併した重症肺炎患者血中から分離し  
*Klebsiella pneumoniae* B-54 株血清型 I 型。MIC  
 は日本化学療法学会標準法に準じて 10<sup>6</sup>/ml の接種  
 濃度で行ない CEZ に対する感受性は MIC 1.56 μg/ml  
 であることを確かめてある。本実験系における LD<sub>50</sub> は  
 10<sup>7</sup>/マウス肺である。

噴霧感染：我々の噴霧感染装置に約 100 匹のマウスを  
 入れ、2×10<sup>9</sup> colony forming units/ml (以下 CFU/ml  
 各す) に調整した菌類 10 ml を噴霧吸入させ、全マ

ウスに約 500 LD<sub>50</sub> の菌をテイクさせる。噴霧終了後直  
 ちに1つのケージに3匹ずつ無作為に割り振り、1群、  
 2群、3群、……と番号を付し、以下の肺内生菌数測定  
 および注射はこの順に行なうこととした。

## 2. 肺内生菌数測定法と生死判定

1回に1群3匹を解剖台に固定し、体表面を酒精綿に  
 てよく清拭した後、腋窩を開き、鎖骨下動脈を切断して  
 脱血屠殺する。再び胸廓を清拭した後、開胸して、汚染  
 しないように肺を摘出し、化学天秤にて重量を測定す  
 る。滅菌乳鉢にて肺をよく摩砕し、9倍量の滅菌生理食  
 塩液を加えてホモジナイズした後10倍希釈系を作製し、  
 0.01 ml ずつ Trypticase Soy Agar <BBL> に接種し  
 定量培養を行なった。なお菌数が減少している検体は全  
 量を培地に接種した。1群3匹のマウス肺当りの菌数を  
 測定した後この3つの値の幾何平均を求めて各時点にお  
 ける肺内生菌数とした。

治療中止後の生死判定は、CEZ 投与中止後7日まで  
 観察を続け、7日後までの死亡率で判定した。死亡した  
 マウスは、すべて直ちに剖検して各臓器を観察し肺炎死  
 であることを確認するとともに、肺内生菌数の測定を行  
 なった。

## 3. 抗生物質投与方法

Cefazolin sodium (以下 CEZ) を滅菌生理食塩液に  
 溶解し 10mg/ml の溶液を投与直前に調製し、マウス体  
 重を測定して 0.005 ml/g、すなわち 50 mg/kg をマウ  
 スの腎部皮下に注射する。ただし、最初の 200 mg/kg、  
 800 mg/kg 投与実験においては、40 mg/ml、160 mg/ml  
 の溶液を作製し注射液量が同じになるようにした。薬剤  
 投与は、すべて肺内細菌が増殖し、肉眼的肺炎病巣形成  
 の始まる感染 12 時間後から行なうこととした。

## 4. 抗生物質血清・肺内濃度測定法

鎖骨下動脈を切断して血液を採取し、血清を分離して  
 血中濃度測定用の検体とした。脱血屠殺後摘出した肺を  
 滅菌乳鉢で摩砕した後、2倍量の滅菌生理食塩液を加え  
 てホモジナイズし、その一部を定量培養して菌数を測定  
 し、残りを肺内濃度測定用検体とした。

Fig. 1 Growth of *Klebsiella pneumoniae* B-54 in lungs of mice after exposure to aerosols of bacteria

...○... and —●— : geometric means,  
—○— (vertical) : range, + : dead mouse

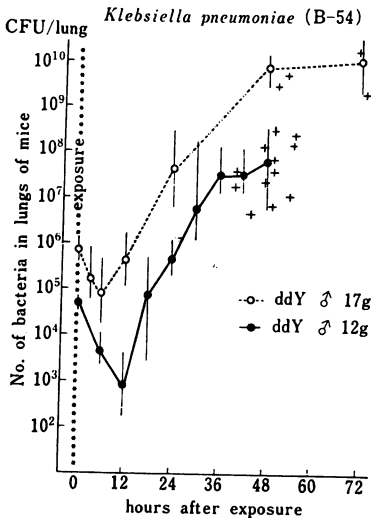
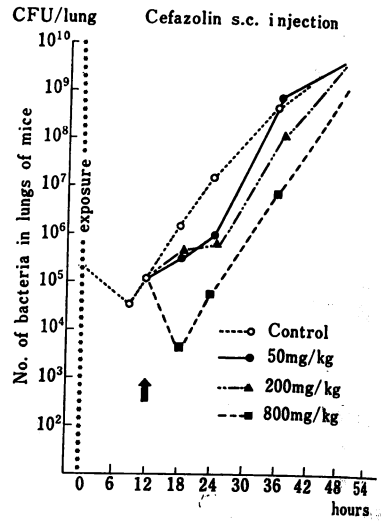


Fig. 2 Effects of single dose of cefazolin on the growth of *Klebsiella pneumoniae* in lungs of mice



濃度測定は、*Bacillus subtilis* ATCC 6633 を検定菌とする薄層カップ法と Agar well 法を用い、標準曲線はマウスプール血清希釈液で作製した。薄層カップ法での検出限界は  $0.2 \mu\text{g/ml}$  であるが、1 カップ当り  $0.3 \text{ml}$  の検体を要するため 1 群 10 匹をプールして検体とした。Agar well 法では、直径  $3 \text{mm}$  の孔を作り、1 孔当り  $10 \mu\text{l}$  の検体を用いたが、検出限界は  $1.0 \mu\text{g/ml}$  であった。

成 績

1. 無治療マウスにおける肺炎の経過

$500 \text{LD}_{50}$  および  $8,000 \text{LD}_{50}$  テイク後の肺内生菌数の経過の代表的 1 例を Fig. 1 に示す (Fig. 1 だけ前著に既に示したが、本論文の必要上再度掲載したことをお断わりしておく)。詳細は前著<sup>2)</sup>に記したが、6~12 時間の initial clearance の後、肺内細菌は急速に増殖し、12 時間から肉眼的肺炎病巣の形成が始まり、36 時間以後多発性肺膿瘍形成を認め、42~72 時間でマウスは全数肺炎死する。なお、マウス体重とテイク菌量により肺内生菌数曲線が変化するので、以後の実験はすべてコントロール群を加え、肺内生菌数の経過を追跡し、かつ全数肺炎死することを確認している。

2. CEZ 1 回投与実験成績

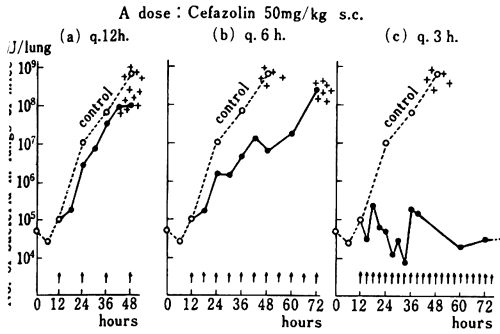
Fig. 2 に示すとおり、12 時間後肺内生菌数  $1.1 \times 10^5 \text{CFU/マウス肺}$  において、CEZ 50, 200, 800 mg/kg を

それぞれ 1 回だけ皮下注射すると、50, 200 mg/kg では、菌数増加はコントロールよりも抑えられるが、36 時間ではコントロールの  $4.6 \times 10^8 \text{CFU/マウス肺}$  に類似し、それぞれ  $7.0 \times 10^8$  および  $1.2 \times 10^8 \text{CFU/マウス肺}$  程度等しくなった。800 mg/kg 投与では 18 時間で  $4.3 \times 10^3 \text{CFU/マウス肺}$  まで減少するがその後はコントロールと平行する急速な菌増殖を示し、3 群ともすべて 50 時間内に肺炎死した。

次に、50 mg/kg 1 回投与後 6 時間までの肺内生菌数の変動と、CEZ の血中および肺内濃度をより詳細に検討した。この実験は、噴霧菌量、テイク菌量とも多かったため、治療開始時肺内生菌数は  $4.1 \times 10^6 \text{CFU/マウス肺}$  であったが、CEZ 投与後 15 分で  $6.5 \times 10^5$ 、30 分で  $4.1 \times 10^5$  と菌数が減少するが、1 時間で  $1.4 \times 10^6 \text{CFU/マウス肺}$  と再び菌数増殖が始まり、2 時間  $3.2 \times 10^6$ 、3 時間  $6.7 \times 10^6$  と 2, 3 時間で薬剤投与前の菌数に達した。6 時間後はコントロールの  $1.0 \times 10^8$  に対して  $5.9 \times 10^7 \text{CFU/マウス肺}$  とほとんど差がなかった。CEZ 濃度については、血中では投与後 15 分でピーク値  $175 \mu\text{g/ml}$  に達し、その後速やかに減少し、90 分で  $5.0 \mu\text{g/ml}$ 、120 分で検出不能であり、肺内濃度は、15 分ピーク値  $59 \mu\text{g/ml}$ 、60 分で  $4.0 \mu\text{g/ml}$ 、90 分で検出不能であった。

先述のように、本実験で用いた B-54 株に対する CEZ の MIC は  $1.56 \mu\text{g/ml}$  であり、この臓器内濃度をもとに、ヒトにおける投与量を考慮し、1 回量を 50 mg/kg

Fig. 3 Effects of repeated injections of cefazolin on the number of viable bacteria in lungs of mice. Injections were started 12 hours after exposure.



きめて以後の連続投与と実験を行なうこととした。

CEZ 50 mg/kg 連続投与と実験成績

2 時間毎, 6 時間毎, 3 時間毎, 2 時間毎の投与実験で治療開始時の肺内生菌数を同一菌数(約 $1.0 \times 10^5$  CFU/マウス肺)になるように調整した。

(1) 12 時間毎投与 : Fig. 3 (a) に示すとおり, 菌増殖は僅かに抑制されるが, コントロールとほぼ平行増殖曲線を示し, コントロールと同じく 40~50 時間全数死亡する。すなわち, 12 時間毎投与は無効である。

(2) 6 時間毎投与 : Fig. 3 (b) のとおり, 菌増殖は際抑制されるものの, 72 時間で  $2.8 \times 10^8$  CFU/マウス肺に達し, 72~84 時間で大部分が死亡し, 121 時間全例死亡した。従って 6 時間毎投与は延命効果だけが見られた。

(3) 3 時間毎投与 : Fig. 3 (c) のとおり, 治療開始菌数はほぼ  $10^4$  台に抑えられており, 42 回投与し 138 時間で  $5.0 \times 10^4$  CFU/マウス肺で, この間マウスはすべて生存した。しかしながら, 138 時間でも肉眼的に肺炎巣は明瞭に存在し, 治療中止後約 48 時間で死亡した。従って, 3 時間毎投与中は死亡は免がれるが, 135 時間での治療では治癒しなかった。

(4) 2 時間毎投与 : Fig. 4 に示す。  $1.0 \times 10^5$  から時  $5.6 \times 10^5$  CFU/マウス肺に菌数が増加しているが, 時間で  $10^4$  CFU/マウス肺となった後 96 時間まで肺内生菌数はほぼ一定の値に止まっている。この間 22 回投与(肺内生菌数  $2.2 \times 10^4$  CFU/マウス肺)で治療を中すと全数 38 時間後までに死亡した。投与を続けたのでは, 96 時間で  $3.6 \times 10^3$  CFU/マウス肺であった, 138 時間では肺から菌は検出されなくなり, 肉眼的も組織学的にも肺炎病巣はほぼ消失していた。67 回

Fig. 4 Effects of repeated injections of cefazolin q.2h. The mice injected 22 times did not survive, but those injected 67 times were cured.

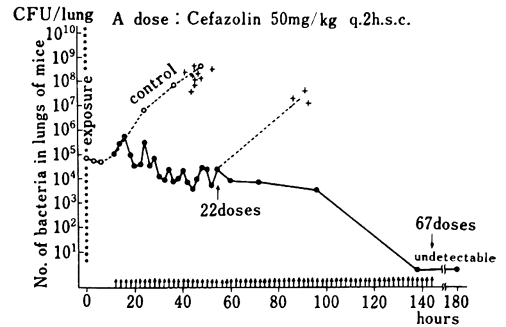
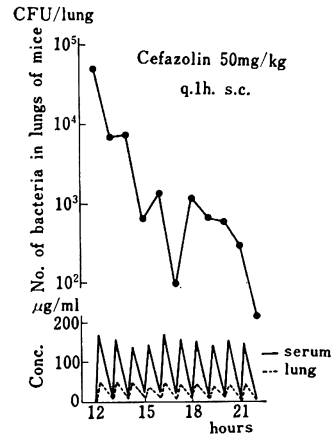


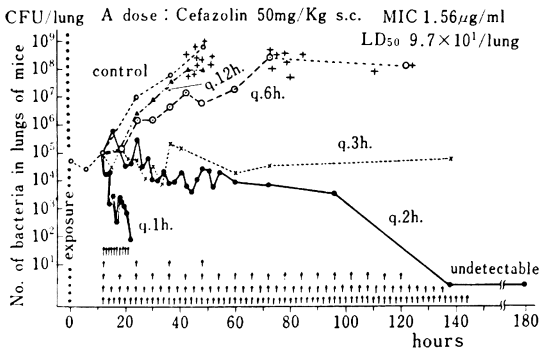
Fig. 5 Effects of repeated injections of cefazolin every 1 hour on the number of bacteria in lungs, and concentrations of cefazolin in serum and lungs. All of the mice injected 10 times were cured.



投与 (144 時間) で治療を中止したが, 180 時間においても肺炎の再発はなく, 肺から菌は検出されなかった。

(5) 1 時間毎投与 : 肺内生菌数の経過と, CEZ の血中および肺内濃度の推移を Fig. 5 に示す。治療開始後の肺内生菌数減少は速やかで,  $4.5 \times 10^4$  CFU/マウス肺から 5 回の投与で一時的に  $9.7 \times 10^1$  に減少したが, 6~8 回目の投与では約  $10^3$  CFU/マウス肺台となり, 9, 10 回目の投与で再び菌は減少した。10 回で投与を中止し, 1 時間後になお肺内には  $3.7 \times 10^1$  CFU/マウス肺の菌が残存していたが, 治療中止 7 日後まで 6 匹全例が生存し, 肺から菌は消失していた。1 時間毎の頻回投与であることから蓄積の有無を知る目的で CEZ 濃度を投与 15

Fig. 6 Effects of repeated injections of cefazolin on number of bacteria in lungs of mice. Comparison of intervals of injections.



分および 60 分後に測定したが、Fig. 5 下段に示すとおり血中にも肺内にも蓄積は認められなかった。肺内濃度は、15 分後のピークが 51~59  $\mu\text{g/ml}$ 、最少となる 60 分後で 3.6  $\mu\text{g/ml}$  以上であり、10 回の投与期間中常に MIC の 1.56  $\mu\text{g/ml}$  を越えていた。

(6) 連続投与成績の総括：以上、CEZ 12 時間毎投与から 1 時間毎投与までの成績を Fig. 6 にまとめて示す。すなわち、CEZ 50 mg/kg を 1 回投与量とすると、12 時間毎投与は無効であり、6 時間毎では延命効果だけで治療中にも拘らず死亡する。3 時間毎投与では、治療中は生存するが、138 時間でも治癒しない。2 時間毎では、96 時間以後に肺炎は治癒に向かい、144 時間までで治癒する。1 時間毎では 10 回投与 23 時間で肺内に  $3.7 \times 10^1$  CFU/マウス肺の菌が残存するが、この時点で治療を中止しても治癒する。

なお、各マウスの肺から再分離した菌株はすべて接種菌と同一であり、さらに菌株から適宜選んで MIC を測定したが、CEZ による治療中も MIC の上昇は 1 株も認めなかった。

## 考 察

実験肺炎研究の歴史を振り返ってみると、化学療法剤の登場によって、急性肺炎の多くが治癒し得る疾患となって以来、それまでワクチンと抗血清による治療法の確立を目的としてなされてきた研究の多くが中断されてしまった感が濃い。その間にあって一部の実験肺炎研究は、化学療法剤による肺炎治癒過程の追求へと移っていった。なかでも WOOD と SMITH<sup>3)</sup>による 1941 年から 1956 年に亘る一連の報告は、後述するように *in vitro* と *in vivo* における化学療法剤の作用の違いの解析にも及ぶ優れたものであった。ラット肺炎球菌および肺炎桿菌性肺炎を用いて行なった化学療法の検討成績と肺炎治癒過程の組織学的解析は、今回の我々の研究から

見ても頷ける成績であり、極めて示唆に富んでいる。しかしながら、当時応用することが出来た薬剤は PCG と少数のサルファ剤に限られ、今日から見れば化学療法学的にはその検討が不充分であることはやむを得なかった。WOOD 以後の実験肺炎による研究は、前報<sup>2)</sup>に触れたとおり、気道防御能に関する研究や全体的宿主防御能低下時にみられる肺炎の研究に中心が移り、肺炎の化学療法を目的とするものはほとんどみられていない。

最近土屋ら<sup>6)</sup>は、噴霧感染によるマウスの肺炎桿菌性肺炎を場として、各種抗生物質の薬剤間の効力比較を中心とした検討を行なっているが、その肺炎モデルと我々のモデルでは初期クリアランスの有無を始め、細菌増殖パターン等の違いがあることは前報<sup>2)</sup>に指摘したとおりである。しかし、未だその成績の詳細に接していないので、詳細な比較は今回は行なわないこととした。

我々がここに示した研究は、臨床例に近似の経過をたどる肺炎モデルを確立し、起炎菌に有効な薬剤を用い、投与スケジュールによる治療効果を長期に亘って徹密に検討し、100% 致死から 100% 治療までに亘る投与方法を明確にした点に最大のポイントがある。さて、先述の WOOD ら<sup>3)</sup>によるラット肺炎桿菌性肺炎を用いた実験系は、エーテル麻酔下に左主気管支にゾンデを挿入し、ムチン添加菌液を接種するもので、接種菌数は 10~1,000 個と幅広く、無処置で死亡率 98.2% であるが、臨床例に近似する様な肺炎とはいいながら、我々の肺炎モデルと比較すると、全身麻酔の影響、ムチン添加、接種量のばらつきなどの難点を残している。さらに用いた主要な薬剤は Sulfadiazine と Sulfamerazine で、薬剤の作用上、CEZ を用いた我々の実験と異なり、薬剤効果だけで菌数を減少させ治癒させることが不可能な実験系であった。そのため病巣中での効果解析は複雑で、治癒の主体を貪食能に帰する結果となっている。その後、同著者ら<sup>5)</sup>が行なった PCG によるラット肺炎球菌性肺炎の治癒過程に関する研究において、病巣部位により菌が増殖期か静止期かの差があるため、PCG の殺菌作用発現が著しく異なることを *in vitro* の成績をふまえて説明し、さらに膿中で PCG の殺菌作用が低下することを示した。すなわち病巣部位によって治療効果に及ぼす薬剤の作用が異なることを明らかにした。しかしながら、それ以前に行なった肺炎桿菌についてみると、有効な薬剤がなかったため、肺炎桿菌の病巣内での増殖形態が肺炎球菌とは著しく異なること、従って化学療法効果も異なるであろうことを示唆するに止まっている。

この度の我々の研究は、肺炎桿菌 B-54 株に対し数回的に作用する CEZ を用い、マウスの肺内における CEZ 濃度の経時的変化とそれによって肺内生菌数がどのよう

化するかを精細に追求した点で特異的である。すなわち肺炎においてこのように菌数変動から化学療法効果を示した報告は僅かで、今回我々が見出した後述のよき特異的な菌数減少パターンに言及した論文は見当らぬ。さらに同時に今度は肺全体としての生菌数変動を示したが、その成績を検討すると、WOOD ら<sup>9)</sup>が組織学的成績から指摘したような肺内での薬剤の分布お効効果の不均一性をも明白にすることが出来た。すなわち、CEZ 50 mg/kg 皮下注後の肺内 CEZ 濃度は 60 分後にも 2 MIC 以上の値を保つにも拘らず、60 分後には肺内細菌の再増殖が始まっており、しかも菌の耐性認められないので、病巣の一部では既に CEZ が有度以下に低下したか、または薬効の発現しない状態に成されているかが考えられるが、このことは肺内における分布の不均一性を示しているものと考えられる。が用いているマウスの肺の大きさと生物学的定量のから部分的な濃度の決定は困難であるが、家兎実験においては、病巣部と健全部で薬剤移行が非常に異なるとは既に報告<sup>7)</sup>した。殊にこの度の本マウス肺炎においては、無治療では 30 時間以後明瞭に多発性肺膿形成しており、こういう病巣中には薬剤移行が低率であろうと推定される。

化学療法による肺炎治癒過程を肺内生菌数変動から追った報告は、前述のとおり極めて少なく、WOOD ら<sup>9)</sup>肺炎球菌性肺炎を油性プロカインペニシリン 3,000 12~24 時間毎投与で治療し、72 時間まで一様に菌減少することを示している。しかし、我々の成績で CEZ 50 mg/kg. 2 時間毎投与で、96 時間までほぼ肺内生菌数を保ち、以後速やかに消失・治癒し従って、100 時間(感染 5 日目)以後、菌の環境が大きく変わるものと思われ、免疫学的機序も考えられるこれについては現在検討をすすめている。さらに、間毎投与においても、肺内 CEZ 濃度が 11 時間にて MIC を凌駕するにも拘らず、肺内生菌数は一様減少を示さず、途中で一時菌数減少がストップする現象認められたことは初めての観察結果で甚だ興味深いがある。時間的経過を考慮すると、この系では免疫機序によるものとは考え難く、2 時間毎投与の菌数減少時期との関連において、さらに検討を要しよう。

EZ 50 mg/kg 1 回投与で一度減少した肺内生菌数 1 時間以後再増加し、2~3 時間で薬剤投与前の菌数に達する事実をふまえると成績は、3 時間毎投与にして治療中の肺炎死を阻止し、さらに、2 時間以内の間隔で肺炎を治癒させる事実を説明しているものとなっている。また、治癒させるためには、2 時間毎投与に 60 回以上の投与が必要で、1 時間毎では 10 回の

投与で達成しうることから、より有効な化学療法とは、投与間隔を短縮して、短時間・少数回投与する方法ということになる。この際、どのような時期に化学療法を中止するかについては、必ずしも肺内生菌数が 0 になるまで続ける必要はないことが実験的に証明されており、現在のところ我々は LD<sub>50</sub> 値を 1 つの目安として想定しているが、さらに検討を要するものと考えている。

今回の実験成績からヒトにおける肺炎の化学療法を考えるとどうなるであろうか。化学療法効果発現の基礎となる病巣中薬剤濃度のヒトとマウスにおける差を考慮しなければならぬ。ヒトにおいては急性肺炎病巣中での薬剤濃度は血中濃度に平行する<sup>8)</sup>ものと考えられるが、ヒトにおける皮下もしくは筋注 50 mg/kg 投与でのデータはみられず、皆無であるので、投与方法が異なるが、我々が以前報告<sup>9)</sup>した約 50 mg/kg (3g) を 3 時間で点滴静注した場合の成績をみると、ピーク値は 60~90 µg/ml で、点滴終了後 6 時間で約 5 µg/ml であった。ピーク値が今回のマウスにおける値の 1/2~1/3 にはあるが、マウスにおける MIC 値以上の血中濃度持続時間が約 90 分であるのに対し、ヒトでは約 9 時間と 6 倍の時間であった。従って、投与方法などの違いを無視して単純に有効濃度持続時間から今回の成績を見ると、マウスにおける 50 mg/kg 1 時間毎投与と同様の効果を得るには、ヒトに 50 mg/kg 3 時間での点滴静注を 6 時間毎、つまり 1 日 4 回行なえば良いことになる。しかし、この投与方法を厳密に考えてみると臨床投与量としてはまだ多量に過ぎ絶対的なものとは考え得ないが、要は、肺炎桿菌性肺炎の早期に、副作用を考慮可能な量で、投与間隔を短縮することが、効率かつ適正な化学療法に連なるものと期待される。

## 結 論

重症グラム陰性桿菌性肺炎のモデルとして噴霧感染による肺炎桿菌性マウス肺炎を場として、CEZ による化学療法の検討を行ない、以下の結論を得た。

1. 1 回だけの投与では、800 mg/kg 投与でも僅かの延命効果を示すに過ぎない。
2. 50 mg/kg 皮下注にて肺内濃度は 15 分で 51~59 µg/ml, 60 分で 3.6 µg/ml の値を示し、排泄は極めて速やかである。
3. 50 mg/kg 投与で肺内菌数は 30 分まで減少し、60 分から再増殖して、2~3 時間後に投与前の値に戻る。
4. 50 mg/kg の投与間隔を 3 時間として初めて肺内菌数増殖は阻止されるが、治癒させるには、2 時間毎で 60 回以上、1 時間毎で 10 回の投与が必要であり、投与間隔を短縮すると化学療法の効率が上がる。

5. 肺内菌数を或る値以下に低下させれば、治療を中止しても肺炎は治癒する。

6. 化学療法中の肺内生菌数は一様な減少速度を示さず、途中で減少の停止する時期が存在する。

#### 文 献

- 1) 松本慶蔵, 宇塚良夫, 野口行雄, 今岡 誠, 本田一陽, 木村久男, 西岡きよ: 最近の肺炎 107 例の解析。日本医事新報 No. 2699: 27~31, 1976
- 2) 松本慶蔵, 宇塚良夫, 永武 毅, 宍戸春美, 鈴木寛, 野口行雄, 玉置公俊, 羅 士易, 井手政利: 噴霧吸入感染によるグラム陰性桿菌性肺炎モデル。日本胸部疾患学会雑誌 16(8): 掲載予定
- 3) SALE, L. Jr. & W. B. WOOD, Jr.: Studies on the mechanism of recovery in pneumonia due to FRIEDLÄNDER's *bacillus*. I. The pathogenesis of experimental FRIEDLÄNDER's *bacillus* pneumonia. J. Exp. Med. 86: 239~247, 1947
- 4) SALE, L. Jr.; M. R. SMITH & W. B. WOOD, Jr.: Studies on the mechanism of recovery in pneumonia due to FRIEDLÄNDER's *bacillus*. II. The effect of sulfonamide chemotherapy upon the pulmonary lesion of experimental FRIEDLÄNDER's *bacillus* pneumonia. J. Exp.

Med. 86: 249~255, 1947

- 5) SMITH, M. R. & W. B. WOOD, Jr.: An experimental analysis of the curative action of penicillin in acute bacterial infections. III. The effect of suppuration upon the antibacterial action of the drug. J. Exp. Med. 103: 509~521, 1956
- 6) 西 武, 土屋皖司: *K. pneumoniae* による実験的マウス気道感染症について。Chemotherapy 25: 614~615, 1977
- 7) 松本慶蔵, 西岡きよ, 荒井澄夫, 宇塚良夫, 嶋正玄: 抗生物質の体液内濃度測定の問題点と其意義. I. 肺 (追加発言)。最新医学 28: 395~400, 1973
- 8) 松本慶蔵, 横山紘一, 荒井澄夫, 西岡きよ, 中隆, 唐牛 襄, 小野里融, 斎藤順治, 芦川敏一, 五十嵐卓, 林 雅人, 高橋荘祐: Cefazolin に對する基礎的臨床的検討と呼吸器感染症を中心とした細菌感染症に対する効果について。Chemotherapy 18: 552~558, 1970
- 9) MATSUMOTO, K.; K. YOKOYAMA & T. NAKI-MURA: Chemotherapy of chronic respiratory infections using cephaloridine. Postgrad. Med. J. 46: 123~128, 1970

EXPERIMENTAL ANALYSIS OF CEFAZOLIN  
THERAPY OF MURINE PNEUMONIA DUE  
TO *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

KEIZO MATSUMOTO, YOSHIO UZUKA, TSUYOSHI NAGATAKE,  
HARUMI SHISHIDO, HIROSHI SUZUKI, YUKIO NOGUCHI,

KIMITOSHI TAMAKI, MASATOSHI IDE and KIWAO WATANABE

The Department of Internal Medicine, Institute for Tropical Medicine,  
Nagasaki University  
(12-4, Sakamoto-machi, Nagasaki, Japan)

The therapeutic effects of cefazolin on the murine pneumonia due to *Klebsiella pneumoniae* have been studied, utilizing the method for quantitating both intrapulmonary viable bacteria and drug concentrations.

*Klebsiella pneumoniae* B-54 inhaled and deposited in the lungs of mice diminished during about 6 hours (initial clearance), and then grew rapidly, making pneumonia throughout the lungs, and killed all of the mice within 72 hours. ( $LD_{50}$ :  $9.7 \times 10$  C.F.U./lung). Cefazolin therapy was started 12 hours after infection. M.I.C. of cefazolin against this bacteria is  $1.56 \mu\text{g/ml}$ . Single injection of 500-800 mg/kg of cefazolin was not a curative dose. After s.c. injection of 50 mg/kg, the drug levels in murine lungs maintained more than 2 M.I.C.s during 1 hour, however, the bacteria in the lungs started to grow at 1 hour after injection, exceeding the number of bacteria before injection 2 to 3 hours after injection.

Then repeated s.c. injections of 50 mg/kg of cefazolin were examined. Neither injections q. 12 h. or q. 6 h. were curative. Injections q. 3 h. suppressed the bacterial growth in the lungs, but pneumonia did not cured. Injections both q. 2 h. more than 69 times and q. 1 h. 10 times saved all the mice from pneumonia. The number of viable bacteria in lungs did not decrease gradually, but showed a stationary phase despite of continuous chemotherapy.

The significance of experimental pneumonia, as compared with the reports by WOOD *et al.* (1941~1956), in relation to chemotherapy utilizing the bactericidal antibiotic, cefazolin, was discussed.

On the basis of these results, it may be concluded that administration of antibiotics should be started as early as possible, and that a dose and the administration frequency of those antibiotics should be increased as high as possible considering side effects.