

Cefamandole の *in vivo* 抗菌作用

松浦真三・島岡 登・東山伊佐夫・三和秀明
塩野義製薬株式会社研究所

種々の病原細菌を用いた実験的マウス腹腔内感染症における Cefamandole の治療効果を Cefazolin, Cefoxitin を対照薬として検討した。Cefamandole の治療効果は、グラム陽性菌感染症に対しては Cefazolin とほぼ同等の効果を示し、グラム陰性菌感染症に対しては、今回試験した *E. coli*, *H. influenzae* および *Enterobacter* による感染症に対して Cefazolin や Cefoxitin よりも明らかにすぐれた効果を示した。

なお、Cefamandole の治療効果は、感染菌量の増加にともなって減弱し、短間隔の頻回投与によって著しく増大することが知られた。

緒 言

本報では、マウスを用いた各種実験的細菌感染症に対する Cefamandole sodium (CMD) の治療効果、ならびに、その効果におよぼす諸因子の影響に関し、Cefazolin (CEZ) および Cefoxitin (CFX) を対照薬として比較検討した成績について報告する。

実験材料と方法

1) 使用マウス：JCL-ICR の雌，5 週令，体重 20～24 g を 1 群 10 匹として使用した。

2) 感染菌および感染方法：Table 1 に掲げられたグラム陽性，陰性の 11 菌種 14 菌株を使用した。感染条件をなるべく一定にする目的から，実験期間を通じて同一ロットの凍結保存菌液を用いた。すなわち，寒天斜面で 18 時間培養した菌を 10% 牛血清加 HI broth (栄研) に約 10^9 /ml となるように懸濁させ，小容器に分注して -80°C のフリーザー中に保存した。この方法で各菌株は少なくとも 6 ヶ月間，菌数および毒力に変動を与えずに保存し得た。実験に際しては，凍結菌液を 37°C の温浴中で速やかに融解し，それぞれの毒力に応じて HI broth で適宜希釈した後，*S. pyogenes* C-203 および *K. pneumoniae* SRL-1 についてはその 0.2 ml を腹腔内に接種した。上記の菌株を除く各菌株については，5% ムチン懸濁液 (Type W-1701) として毒力の強弱により 0.2, 0.5 または 1 ml を腹腔内に接種した。

3) 薬物投与および効果の判定：CMD, CEZ および CFX はすべて滅菌蒸留水で溶解希釈し，とくにことわらない限り，接種 1 時間後および 5 時間後の計 2 回皮下投与を行なった。10 倍希釈系列による予備試験の成績からおおよその有効量を推定し，それに基づきそれぞれの 2 倍希釈系列数段階を投与量とした。効果の判

定は，感染後 7 日目の生存率からプロビット法によって ED_{50} および信頼限界 (95%) を算出し，1 回の投与量で表現した。なお，データの解析に際しては，同一実験を少なくとも 2 回以上繰返し，二元配置法によって再現性を確認した上，それらの成績を集計して総合的に行なった。

実験成績

1. 各種細菌感染症に対する治療効果

種々の感染菌を用いた実験的マウス感染症に対する CMD, CEZ および CFX の治療効果 (ED_{50}) を一括して Table 1 に示した。

グラム陽性菌としては，*S. aureus* SMITH および *S. pyogenes* C-203 の 2 菌株が試験された。CMD の ED_{50} は 1 mg/kg 以下の値を示し，今回試験された感染系の中では最も強い効果が得られた。CEZ は CMD とほぼ同等の治療効果を示したが，CFX はそれらよりかなり劣った。

E. coli 感染マウスに対する治療効果は CMD が最もすぐれ，ついで CEZ, CFX の順であった。また，Cephalothin 耐性の *E. coli* 377 感染マウスに対しても CMD は CEZ, CFX とともに有効であった。

P. mirabilis PR-4 および *P. vulgaris* CN-329 感染マウスに対しては，3 種の薬物とも 10～20 mg/kg の ED_{50} を示し，各薬物間の治療効果に有意差は認められなかったが，*P. rettgeri* RET-14 および *P. morgani* MOR-4 に対しては CFX の効果が最もすぐれ，ついで CMD, CEZ の順であった。

H. influenzae 88562 感染マウスに対しては CMD が有意差をもってすぐれた効果を示し，ついで CFX, CEZ の順であった。

K. pneumoniae 感染マウスに対しては，3 種の薬物と

Table 1 Effect of CMD, CEZ and CFX against experimental bacterial infections in mice

Organism	Challenge dose		Mucin	CMD		CEZ		CFX	
	cells/mouse	x LD ₅₀		ED ₅₀ a)	(MIC) b)	ED ₅₀	(MIC)	ED ₅₀	(MIC)
<i>S. aureus</i> SMITH	8 x 10 ⁵	30	+	0.25 [0.23 ~ 0.28]c)	(0.78)	0.24 [0.22 ~ 0.27]	(0.78)	5.3 [4.9 ~ 5.6]	(1.56)
<i>S. pyogenes</i> C-203	2 x 10 ⁵	1,300	-	0.85 [0.71 ~ 1.00]	(0.05)	0.74 [0.62 ~ 0.86]	(0.2)	9.4 [8.1 ~ 11.1]	(1.56)
<i>E. coli</i> EC-14	5 x 10 ⁵	80	+	2.3 [1.8 ~ 2.8]	(0.78)	4.7 [3.9 ~ 5.7]	(1.56)	7.9 [6.6 ~ 9.4]	(3.13)
<i>E. coli</i> 319	3 x 10 ⁵	130	+	3.1 [2.6 ~ 3.7]	(0.78)	6.4 [5.4 ~ 7.6]	(3.13)	10.5 [8.6 ~ 12.7]	(3.13)
<i>E. coli</i> 377 d)	3 x 10 ⁵	250	+	12.9 [8.2 ~ 22.1]	(1.56)	15.1 [10.9 ~ 22.5]	(6.25)	17.9 [12.2 ~ 24.8]	(12.5)
<i>P. mirabilis</i> PR-4	4 x 10 ⁶	460	+	12.6 [11.1 ~ 14.4]	(0.78)	12.2 [10.7 ~ 14.2]	(3.15)	15.7 [14.2 ~ 17.3]	(1.56)
<i>P. vulgaris</i> CN-329	2 x 10 ⁵	10	+	9.8 [7.2 ~ 13.5]	(1.56)	16.4 [12.7 ~ 20.3]	(100)	11.8 [10.0 ~ 13.9]	(3.13)
<i>P. rettgeri</i> RET-14	8 x 10 ⁴	80	+	68.4 [55.5 ~ 82.0]	(1.56)	110 [88 ~ 135]	(>100)	26.3 [23.8 ~ 29.2]	(12.5)
<i>P. morgani</i> MOR-4	3 x 10 ⁸	560	+	40.1 [28.9 ~ 51.4]	(0.78)	118 [105 ~ 133]	(100)	13.0 [11.9 ~ 14.4]	(6.25)
<i>H. influenzae</i> 88562	5 x 10 ⁵	1,700	+	3.0 [2.6 ~ 3.5]	(0.2)	13.0 [11.6 ~ 14.5]	(1.56)	6.2 [5.5 ~ 6.8]	(1.56)
<i>K. pneumoniae</i> SRL-1	6 x 10 ⁴	150	-	128 [105 ~ 155]	(0.39)	151 [128 ~ 179]	(1.56)	103 [87 ~ 120]	(1.56)
<i>K. pneumoniae</i> 24	3 x 10 ⁵	270	+	5.5 [4.5 ~ 6.4]	(0.78)	5.2 [4.7 ~ 5.7]	(1.56)	16.5 [14.0 ~ 19.6]	(3.13)
<i>E. aerogenes</i> TB-510	3 x 10 ⁴	1,500	+	9.6 [6.6 ~ 12.4]	(1.56)	110 [82 ~ 144]	(25)	263 [236 ~ 303]	(>100)
<i>E. cloacae</i> CL-1	5 x 10 ⁵	2,700	+	2.6 [2.2 ~ 3.1]	(1.56)	99 [79 ~ 129]	(>100)	283 [239 ~ 336]	(>100)

a) Antibiotics were administered subcutaneously 1 and 5 hours after challenge.

ED₅₀ is expressed in single injection (mg/kg).b) Agar dilution method (inoculum size: 10⁶/ml) : µg/ml

c) Confidence limits d) Cephalothin-resistant strain

もほぼ同程度の治療効果を示した。

E. aerogenes TB-510 および *E. cloacae* CL-1 感染マウスに対し CMD は 9.6 および 2.6 mg/kg の ED₅₀ 値を示し, 110 および 99 mg/kg の ED₅₀ 値を示す CEZ ならびに 263 および 283 mg/kg の ED₅₀ 値を示す CFX と比較して著しくすぐれた治療効果が認められた。

2. 治療効果におよぼす諸因子の影響

CMD の *in vivo* における作用態度をさらに詳しく特徴づけるために, 以下の検討を行なった。

a) 接種菌量による影響

感染系として *E. coli* EC-14 ならびに *P. morganii* MOR-4 を選び, それぞれ 10³ 個および 10⁶ 個の接種

条件下での治療効果を皮下 2 回投与によって, 検討した。結果は Table 2 に示した。

各薬物とも接種菌量の増加にともなって ED₅₀ 値は増大したが, CMD は CEZ に比してややその影響を受け易かった。CFX は感染菌の種類によって影響の受けかたが異なり, *E. coli* EC-14 では接種菌量が増加しても ED₅₀ 値の変動がほとんどみられないのに対して, *P. morganii* MOR-4 の場合には, 10⁶ 個接種における ED₅₀ 値は 10³ 個接種に比べて約 8 倍の上昇を示し, CEZ, CMD よりもその変動は大きかった。また, *E. coli* EC-14 感染マウスでは, 10³ 個接種の ED₅₀ と 10⁶ cells/ml の MIC との間に相関が認められた。

Table 2 Influence of challenge dose on ED₅₀ of CMD, CEZ and CFX against experimental bacterial infections in mice

Organism	Antibiotic	MIC (μg/ml)		ED ₅₀ (mg/kg)		
		10 ⁶	10 ³	10 ³	10 ⁶	10 ⁶ /10 ³
<i>E. coli</i> EC-14	CMD	0.78	1.56	2.3	11.6	5.0
	CEZ	1.56	1.56	4.7	14.0	3.0
	CFX	3.13	6.25	7.9	12.4	1.6
<i>P. morganii</i> MOR-4	CMD	0.78	3.13	73	236	3.2
	CEZ	100	>100	176	270	1.5
	CFX	6.25	12.5	20	157	7.9

Table 3 Influence of administration-time on ED₅₀ of CMD, CEZ and CFX against experimental *E. coli* EC-14 infections in mice

Administration time (hour)	ED ₅₀ (mg/kg)		
	CMD	CEZ	CFX
0	7.0	8.7	15.1
2	5.6	7.8	15.0
4	7.0	11.3	17.6

Antibiotics were administered as single subcutaneous dose.

Table 4 Effect of multiple administration on ED₅₀ of CMD, CEZ and CFX against experimental *K. pneumoniae* SRL-1 infections in mice

Antibiotic	MIC (μg/ml) 10 ⁸	ED ₅₀ (mg/kg)		Ratio a) / b)
		1,5a)	1, 2, 3, 4, 5b)	
CMD	0.39	256	14	18.3
CEZ	1.56	302	63	4.8
CFX	1.56	206	95	2.2

ED₅₀ is expressed in total doses of multiple administration.

b) 薬物の投与時間による影響

E. coli EC-14 を感染菌として 10^8 個接種直後、2 時間後および 4 時間後の各時間に、薬剤をそれぞれ皮下 1 回投与した場合の治療効果を比較した。成績は Table 3 に示されるとおり、検討した菌接種直後から 4 時間後までの投与では、各薬剤とも治療効果に大きな変動は認められなかった。

c) 薬物の投与回数による影響

K. pneumoniae SRI-1 を感染菌とし、マチン非添加で菌接種後 1 および 5 時間の 2 回投与と、1, 2, 3, 4 および 5 時間の 5 回投与との治療効果を比較した。結果は Table 4 に示されるが、この実験に限り ED_{50} 値は各群の総投与量をもって表した。各薬剤とも 2 回投与に比べて 5 回投与のほうが治療効果は増大したが、その傾向は CMD の場合とくに著しく、5 回投与における ED_{50} 値は 2 回投与の $1/18$ に減少し、CEZ の $1/5$ および CFX の $1/2$ の減少に比べて極めて特徴的であった。しかも、この感染系における MIC と ED_{50} との相関は、事実上、2 回投与よりはむしろ 5 回投与の場合に明瞭に認められた。

考 察

種々の病原細菌を用いた実験的マウス感染症に対する CMD の *in vivo* 抗菌作用に関し、CEZ および CFX を対照薬として検討した結果、その大半の感染系において CMD はこれら対照薬よりもすぐれた効果を示すことが確認された。とくに、*Enterobacter* 感染症に対して著効を示したことは、従来のセファロスポリン系抗生物質の抗菌スペクトラムをさらに拡大したものと注目される。

CMD の *in vitro* 抗菌力が接種菌量による影響を受け易いこと¹⁻³⁾ から感染菌量と治療効果の関係について、 10^8 と 10^6 の接種条件の下で検討を行なった結果、3 薬の中では CMD が最も菌量の影響を受け易いことが、*E. coli* 感染系で明らかとなった。しかしながらいっぽうでは、同じく *E. coli* 感染系を用いた薬剤投与時間において、CMD は他の対照薬と同様、菌接種直後から 4 時間後までの投与では治療効果に有意な変動を示さなかつ

た。 5×10^8 個をマウスに接種した後の腹腔内生菌数は、2 時間後および 4 時間後にはそれぞれ 3×10^4 および 8×10^6 に達するので、この実験は、ある意味では、感染菌量を変えた前述の実験の変形と見なし得る。感染病巣における菌数と薬物の治療効果との関係を類推するために、どちらの実験系が適当であるかは今後の問題として興味がある。

マウス感染症に関する今回の実験成績から、CMD の治療効果が MIC 値から予想される効果に比べてやや劣ることが、数種の感染系において観察された。CMD は CEZ に比較して、マウスでの血中半減期が短く、排泄速度の速やかなこと⁴⁾ が知られている。そこで、検討された感染系の中で MIC 値に比べ比較的高い ED_{50} 値を示した *K. pneumoniae* SRL-1 を感染系として選び、体内の薬物濃度を維持させる目的から短間隔頻回投与方法を採用した結果、治療に要する総投与量を著しく減少せしめ得ることが確認された。同様の観察は、Wick ら⁵⁾ により *S. pneumoniae* の感染系で報告されている。したがって、CMD のすぐれた *in vitro* 抗菌作用を *in vivo* で再現させるためには、体内での薬物濃度を維持し、菌との接触時間を保たせるような投与方法が考慮されるべきであろう。

文 献

- 1) 吉田 正, ほか: Cefamandole の *in vitro* 抗菌作用. *Chemotherapy* 27 (S-5): 70~106, 1979
- 2) Neu, H. C.: Cefamandole, a cephalosporin antibiotic with an unusually wide spectrum of activity. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 6: 177~182, 1974
- 3) Eickhoff, T. C. & J. M. Ehret: *In vitro* comparison of cefoxitin, cefamandole, cephalixin and cephalothin. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 9: 994~999, 1976
- 4) Wick, W. E. & D. A. Preston: Biological properties of three 3-heterocyclic-thiomethyl cephalosporin antibiotics. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 1: 221~234, 1972
- 5) 吉田 正, 木村靖雄, 土肥正善, 中清水 弘, 羽野義博: Cefamandole の動物における体内動態. *Chemotherapy* 27 (S-5): 112~119, 1979

IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CEFAMANDOLE

SHINZO MATSUURA, NOBORU SHIMAOKA,
ISAO HIGASHIYAMA and HIDEAKI MIWA

Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.,

The therapeutic activities of cefamandole in mice infected intraperitoneally with various bacterial strains were compared with those of cefazolin and cefoxitin as control drugs.

Cefamandole was equally active as cefazolin against infections with *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*.

Against infections with *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae* and *Enterobacter* sp. tested, cefamandole was considerably more active than cefazolin or cefoxitin.

In vivo activity of cefamandole decreased with increasing the bacterial challenge dose.

Multiple administration of cefamandole at short intervals increased in its therapeutic activity strikingly.