

Cefamandole の局所刺激性試験

原田 喜男・岡本 孝夫

塩野義製薬株式会社研究所

Cefamandole sodium の筋肉内注射による局所刺激性を、白色家兎を用いて、Cephalothin, Cefazolin および Cephaloridine と比較検討した。投与量は、Cefamandole では 125 mg, 250 mg および 500 mg とし、対照剤では 250 mg とし、家兎の両側の仙棘筋に 1 cm の深さに注射した。局所刺激性の判定は、注射局所の肉眼的観察、刺激部位の体積測定およびその部位の組織学的観察により行なった。

その結果、局所刺激性の強さは、6% 酢酸 > 0.5% 塩酸クロールプロマジン > Cephalothin > Cefamandole > Cefazolin > Cephaloridine > 生理食塩水の順であり、局所刺激性の治癒傾向では、Cephalothin が最も遅く、Cefamandole, Cefazolin および Cephaloridine は早く回復する傾向を示した。

他方、Cefamandole については、その溶解液を生理食塩水、注射用蒸留水および 0.5% 塩酸リドカイン液に変えて局所刺激性を比較したが、溶解液間に差は認められなかった。

緒 言

Cefamandole sodium (以下 CMD) は、米国 Eli Lilly 社で開発された注射用 Cephalosporin 系抗生物質で、幅広い抗菌スペクトラムを有している。化学構造式は下記のとおりである。今回 CMD の局所刺激性について、家兎筋肉を用いる方法により調べたので報告する。

なお、対照薬には類似の Cephalosporin 系抗生物質である Cephalothin sodium (CET), Cefazolin sodium (CEZ) および Cephaloridine (CER) の 3 薬剤を用いた。

実験材料および方法

動物：山県動物より購入の白色雌家兎(体重 2.5~3.5 kg)を飼育環境に馴化 2 週間後実験に供した。なお、実験群は各群 4 羽で構成し、全動物は個別金属ケージに 1 羽ずつ収容し、日本クレア社製の固型飼料(CR-1)を 1 日 200 g、および水道水を自由に与え、恒温(22±1°C)、恒湿(55±10%)、照明時間 12 時間の動物室で飼育した。

薬剤：CMD: Lot. S 68263

対照薬剤として

CET: ケフリン(塩野義製薬) Lot. KF 6016

CEZ: Lot. OBT 33

CER: ケフロジン(塩野義製薬) Lot. KD 6046

溶解液として

生理食塩水(菱山製薬)

注射用蒸留水(菱山製薬)

0.5% 塩酸リドカイン注射液(藤沢薬品)を使用した。

各薬剤は、原則として生理食塩水で 25% (W/V) に

溶解して用いた。なお、この他陽性対照薬として 0.5% Chlorpromazine hydrochloride (CPZ·HCl) または 6% 酢酸 1 ml、陰性対照として生理食塩水を 1 ml 投与した。

投与量：CMD の人臨床用量は、通常静脈内または筋肉内投与 1 回 0.5~1 g を予定されているため、その約 1/4 ないしは同量の 125 mg, 250 mg, 500 mg を筋肉内に投与して CMD の局所刺激性を調べた。CET, CEZ, CER の局所刺激性は、3 薬剤の各臨床用量¹⁾ がほぼ CMD と同量であるため、250 mg を筋肉内に投与して比較をおこなった。

投与方法：家兎を腹位に固定し、電気バリカンで除毛後、両側の仙棘筋に薬物を 1/4 皮下用注射針で 1 cm の深さに投与した。

実験 1) CMD の局所刺激性における用量依存性の検討

6% 酢酸および生理食塩水を対照にして、CMD を 125 mg/site (25%, 0.5 ml), 250 mg/site (25%, 1 ml), 500 mg/site (25%, 2 ml) 筋肉内注射し、2 日、7 日後に注射部位を検討した。

実験 2) CMD と CET, CEZ, CER 各薬物間の局所刺激性の比較

0.5% CPZ·HCl または 6% 酢酸および生理食塩水を対照として、CMD, CET, CEZ, CER の各 250 mg/site (25%, 1 ml) をそれぞれ筋肉内注射し、1 日、2 日、3 日、7 日後に注射部位を検討した。

実験 3) CMD の溶解液を変えた場合の局所刺激性

CMD を生理食塩水、注射用蒸留水または 0.5% 塩酸リドカイン注射液(無痛化を図るため)にそれぞれ 2.5% (W/V) に溶解し、これ等の 250 mg/site (2.5%,

1 ml) を筋肉内注射した。陽性対照として 6% 酢酸を用い、投与 2 日後に注射部位を検討した。

実験 4) 溶解液そのものの局所刺激性

実験 3) で用いた生理食塩水、注射用蒸留水および 0.5% 塩酸リドカイン注射液の各 1 ml/site を筋肉内注射した。陽性対照として 6% 酢酸を用い、投与 2 日後に注射部位を検討した。

局所刺激性の判定方法：実験に用いた家兎は、筋肉内注射後 1~7 日目に Sodium pentobarbital 麻酔下で放血・屠殺をおこない、薬物投与部位の仙棘筋を摘出し、局所刺激性を下記の判定基準による肉眼的評点法、刺激

部位の体積測定およびその部位の組織学的観察をすることにより判定した。

A) 肉眼的判定基準

- 0 : 局所作用がまったく認められない。
- 1 : 軽度の充血および投与部位に判別困難な程度 of 出血斑、わずかな腫脹が認められる。
- 2 : 中等度の充血、小出血斑、わずかに白色変性、軽度の腫脹が認められる。
- 3 : 強度の充血、出血斑、著明な白色変性、腫脹が認められる。
- 4 : 壊死を伴う褐色変性が認められる。

B) 刺激部位の体積測定

摘出した刺激部位を含む筋肉を、10% 中性ホルマリンで 72 時間固定後、縦方向に厚さ約 1~2 mm の筋片に切り出した後、ハサミで正常との境界が明瞭に認められる障害部位を切り取り、Volume meter によりその障害部位の体積を測定した。

C) 組織学的観察

体積を測定した後の筋肉を 10% 中性ホルマリンで再固定し、パラフィン標本を作製後 Hematoxylin-Eosin 染色をおこなって鏡検した。

実験結果

実験 1) CMD の局所刺激性における用量依存性の検討

CMD 投与後経時的に変化を観

Fig. 1 Local irritative activity of CMD injected into the M. sacrospinalis of rabbit

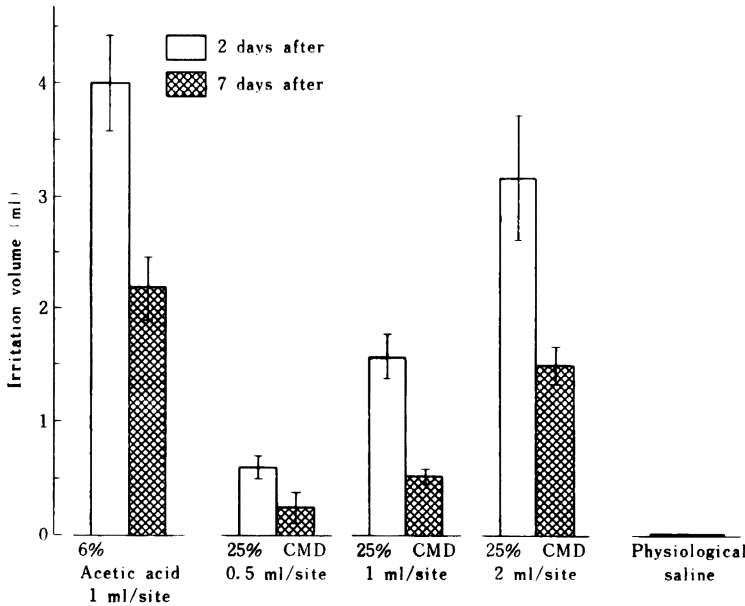


Table 1 Local irritative activity of CMD injected into the M. sacrospinalis of rabbit

Compound		Doses (ml/site)	No. of sites	B. W. (kg)	Irritation score (mean)	Irritation volume (ml)
2 days after	6% Acetic acid	1	4	3.1	4.0	4.01±0.41*
	25% C M D	0.5	4	3.1	1.5	0.58±0.09
	25% C M D	1	4	3.1	2.3	1.58±0.20
	25% C M D	2	4	3.0	3.0	3.17±0.55
	Physiological saline	1	4	3.1	0.5	< 0.1
7 days after	6% Acetic acid	1	4	3.1	4.0	2.18±0.28
	25% C M D	0.5	4	3.3	1.3	0.25±0.14
	25% C M D	1	4	3.1	1.0	0.53±0.05
	25% C M D	2	4	3.1	2.3	1.50±0.18
	Physiological saline	1	4	3.1	0.3	< 0.1

* : Mean ± S. E.

察すると、2日目では各用量群ともに、注射部筋肉に肉眼的に充・出血を伴う強い炎症性変化がみられたが、7日目にはこの炎症もおさまり、筋肉に主に白色変性と極めて軽度の充血が認められた。この様な刺激性の強さの推移は、障害部位の体積測定で明らかに示された (Table 1, Fig. 1)。すなわち、注射後7日目には刺激部の体積は、いずれの用量を投与した場合でも2日目のその約30~40%強に減少すること、および注射による筋肉の刺激性と用量との間に明らかな相関性があることが判った。組織学的観察では、投与後2日目において障害部横紋筋線維の変性・壊死像および間質における浮腫、充・出血、好中球の浸潤、壊死領域の周辺部では組織球による障害筋線維の貪食像などがみられた。しかし、7日目では2日目に多くみられた好中球は障害部からほとんど消退し急性炎症の消退が認められ、壊死領域と正常横紋筋線維との間に中間層ができ、この部に著明な組織球の浸潤、線維芽細胞および障害を受けた筋線維の再生像である筋芽細胞も観察された。

実験 2) CMD と CET, CEZ, CER 各薬物間の局所刺激性の比較

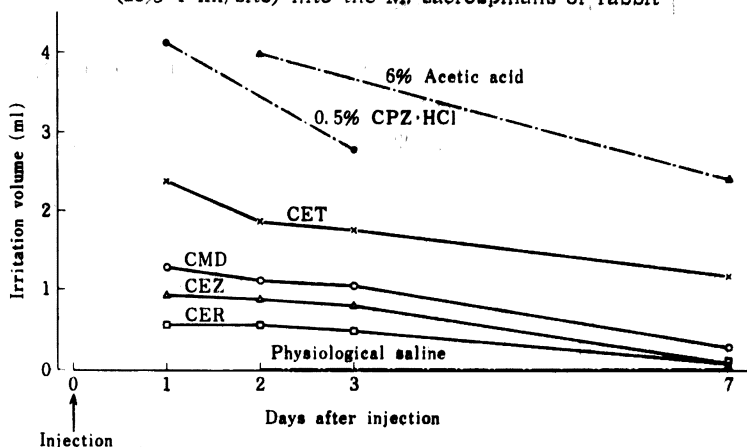
薬物投与後1~7日目の投与部位の縦方向における割面を Photo.1~4 に示した。投与後1~2日目では、肉眼的には各薬物投与群ともに注射部筋肉に筋束の走向に沿って充・出血性的変化と炎症性変化が観察されたが、3日目には白色変性が顕著となるため、肉眼的評点の上では1~3日目にかけて変化がない様である。7日目になると炎症性変化が鎮静するため、障害部の範囲は各薬剤投与群ともに小さくなり、白色変性とわずかな充血が認められた。これを刺激部位の体積測定で表わしてみると、筋肉内注射後1日目が体積が一番大で、その後時間の経過と共に障害部体積が逐次減少して行くことが、Table 2 および Fig. 2に示された。以上の結果、刺激性の強さをランク付けしてみると、6% 酢酸>0.5% CPZ·HCl>CET>CMD>CEZ>CER>生理食塩水の順となった。陽性対照に用いた6% 酢酸および0.5% CPZ·HCl とともに、これら抗生物質の刺激性と比較すると遙

Table 2 Local irritative activity of CMD, CEZ, CET or CER injected into the M. sacrospinalis of rabbit

Compound		Doses (ml/site)	No. of sites	B. W. (kg)	Irritation score (mean)	Irritation volume (ml)
1 day after	0.5% CPZ · HCl	1	4	3.4	3.0	4.14±0.36*
	25% CMD	1	4	3.4	2.3	1.29±0.14
	25% CEZ	1	4	3.5	2.0	0.93±0.15
	25% CET	1	4	3.4	2.5	2.38±0.25
	25% CER	1	4	3.3	1.0	0.57±0.11
2 days after	6% Acetic Acid	1	4	3.1	4.0	4.08±0.52
	25% CMD	1	4	3.2	2.0	1.13±0.06
	25% CEZ	1	4	3.2	2.0	0.88±0.07
	25% CET	1	4	3.2	3.0	1.83±0.21
	25% CER	1	4	3.2	1.5	0.58±0.05
	Physiological saline	1	4	3.2	0.3	0
3 days after	0.5% CPZ · HCl	1	4	3.4	3.8	2.78±0.33
	25% CMD	1	4	3.4	2.3	1.07±0.06
	25% CEZ	1	4	3.5	2.0	0.79±0.09
	25% CET	1	4	3.4	2.5	1.75±0.13
	25% CER	1	4	3.3	1.0	0.48±0.09
7 days after	6% Acetic acid	1	4	3.1	4.0	2.45±0.08
	25% CMD	1	4	3.0	1.0	0.28±0.14
	25% CEZ	1	4	3.1	0.3	< 0.1
	25% CET	1	4	3.1	2.5	1.16±0.13
	25% CER	1	4	3.2	0.3	< 0.1
	Physiological saline	1	4	3.2	0	0

* : Mean ± S. E.

Fig. 2 Local irritative activity of CMD, CEZ, CET or CER injected (25% 1 ml/site) into the M. sacrospinalis of rabbit



かに強い作用が認められ、陰性対照の生理食塩水投与では、投与後 2 日目にわずかな充血を注射部筋肉に認めたのみで、7 日後には筋肉に異常を認めなかった。

組織学的観察では、投与後 1 日、2 日目に、各薬物投与群とともに実験 1) で述べたと同様横紋筋線維の変性

・壊死、細胞浸潤などの炎症反応が広範囲にみられた (Photo. 5, 6)。投与後 3 日目には、前日までに多数みられた好中球は障害部からほとんど消退していたが、筋線維の変性・壊死等の変化は依然残存していた (Photo. 7)。投与後 7 日目では、壊死領域と正常横紋筋線維との間に中間層ができ、著明な組織球の浸潤、線維芽細胞および筋線維の再生像である筋芽細胞が変性筋線維の周辺に観察された (Photo. 8)。

実験 3) CMD の溶解液を変えた場合の局所刺激性

Table 3 に示した肉眼的評点および刺激部位の体積測定の結果、刺激性の強さは生理食塩水、注射用蒸留水あるいは 0.5% 塩酸リドカイン注射液等に溶解液を変えても 3 者間に大きな差異を認めなかった。

組織学的観察においても、実験 1) で述べたと同様の

Table 3 Local irritative activity of CMD injected into the M. sacrospinalis of rabbit

Compound		Vehicle	Doses (ml/site)	No. of sites	B. W. (kg)	Irritation score (mean)	Irritation volume (ml)
2 days after	6% Acetic acid	Physiological saline	1	4	2.7	4.0	4.12±0.30*
	25% C M D	Physiological saline	1	4	2.7	2.0	1.46±0.10
	25% C M D	Distilled water	1	4	2.7	2.0	1.60±0.11
	25% C M D	0.5% Lidocaine hydrochloride	1	4	2.7	2.0	1.56±0.19

* : Mean ± S.E.

Table 4 Local irritative activity of physiological saline, distilled water or 0.5% lidocaine hydrochloride injected into the M. sacrospinalis of rabbit

Material		Doses (ml/site)	No. of sites	B. W. (kg)	Irritation score (mean)	Irritation volume (ml)
2 days after	6% Acetic acid	1	4	2.9	4.0	4.09±0.52*
	Physiological saline	1	4	2.9	1.0	0.14±0.08
	Distilled water	1	4	2.9	1.8	1.64±0.55
	0.5% Lidocaine hydrochloride	1	4	2.9	1.0	0.51±0.10

* : Mean ± S. E.

Macrograph of the M. sacrospinalis injected CMD, CEZ, CET or CER in rabbit

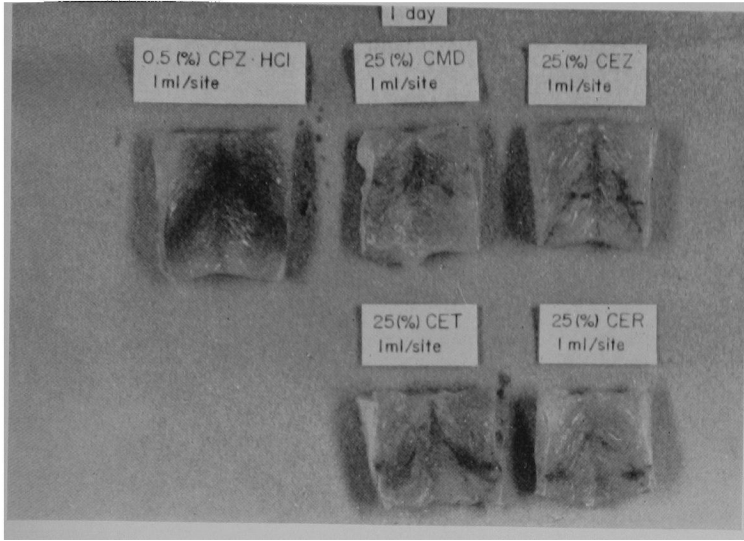


Photo. 1
1 day after single injection
of CMD, CEZ, CET or CER
(25% sol. 1 ml/site)

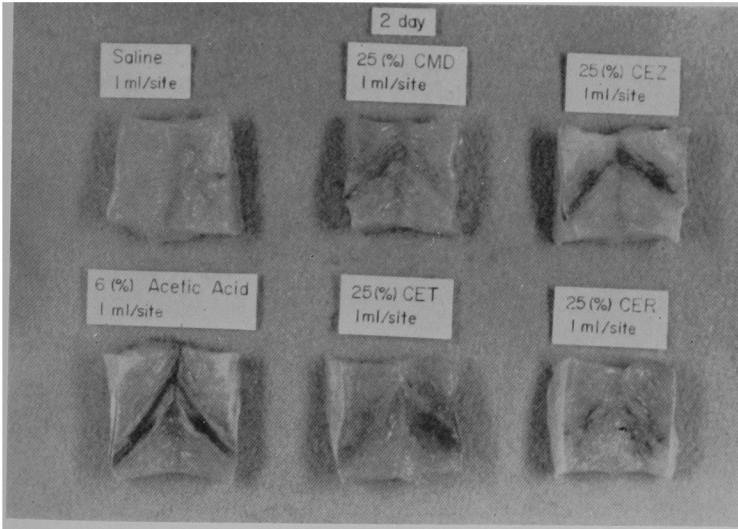


Photo. 2
2 days after single injection
of CMD, CEZ, CET or CER
(25% sol. 1 ml/site)

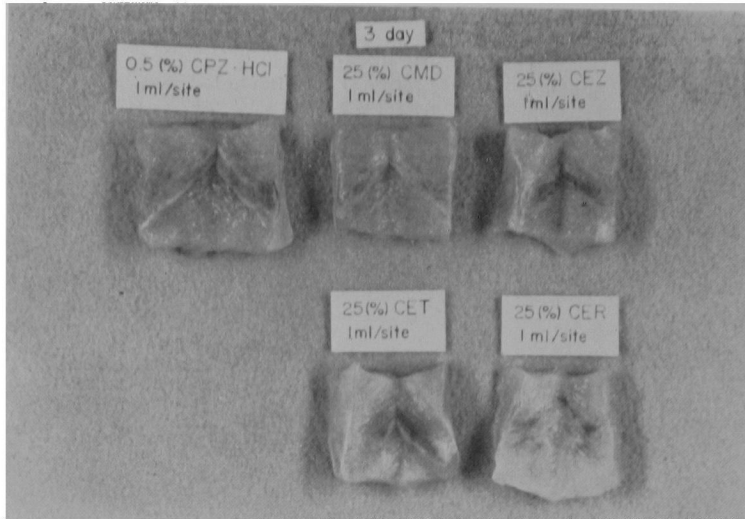


Photo. 3

3 days after single injection of CMD, CEZ, CET or CER (25% sol. 1 ml/site)

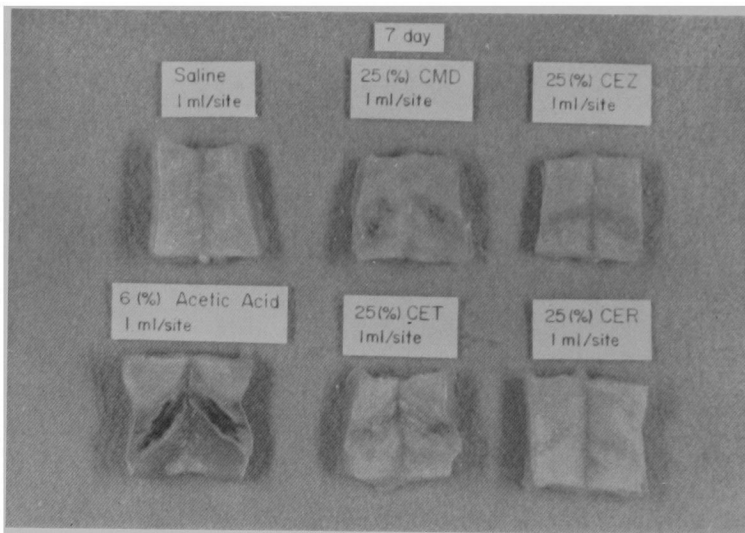


Photo. 4

7 days after single injection of CMD, CEZ, CET or CER (25% sol. 1 ml/site)

Micrograph of the M. sacrospinalis injected CMD in rabbit

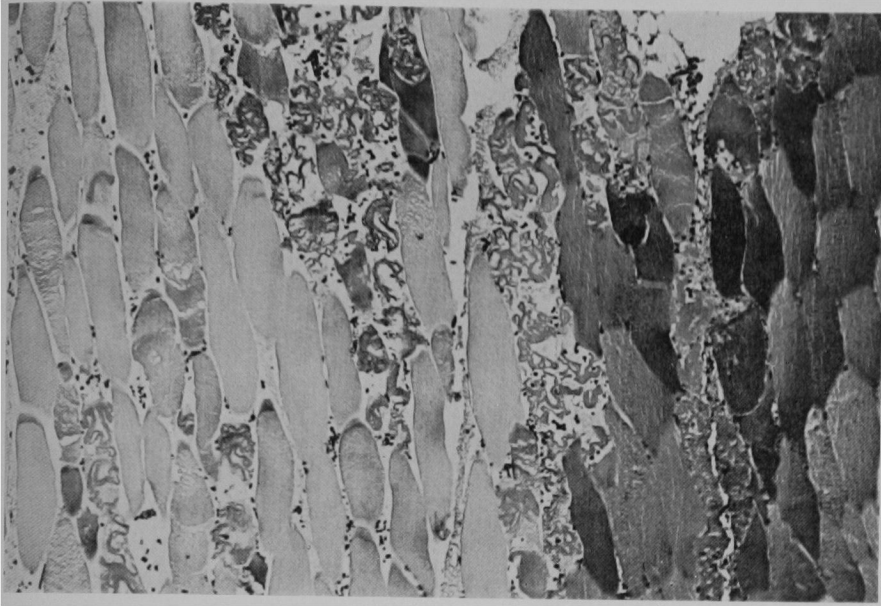


Photo. 5
1 day after
single injection
of CMD
(25% sol. 1
ml/site)

P.E. Stain. $\times 25$

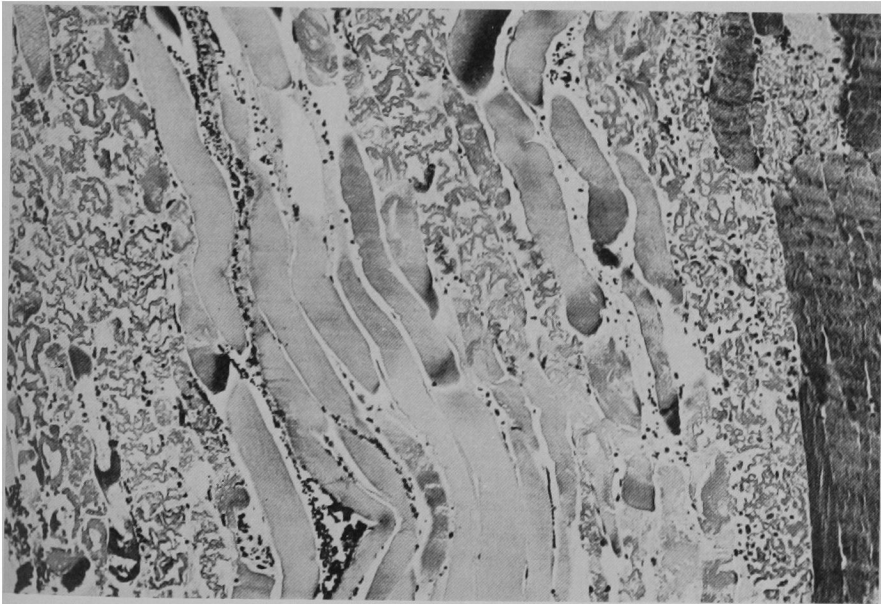


Photo. 6
2 days after
single injection
of CMD
(25% sol. 1
ml/site)

H.E. Stain. $\times 25$



Photo. 7
3 days after
single injection
of CMD
(25% sol. 1
ml/site)

H.E. Stain. $\times 25$

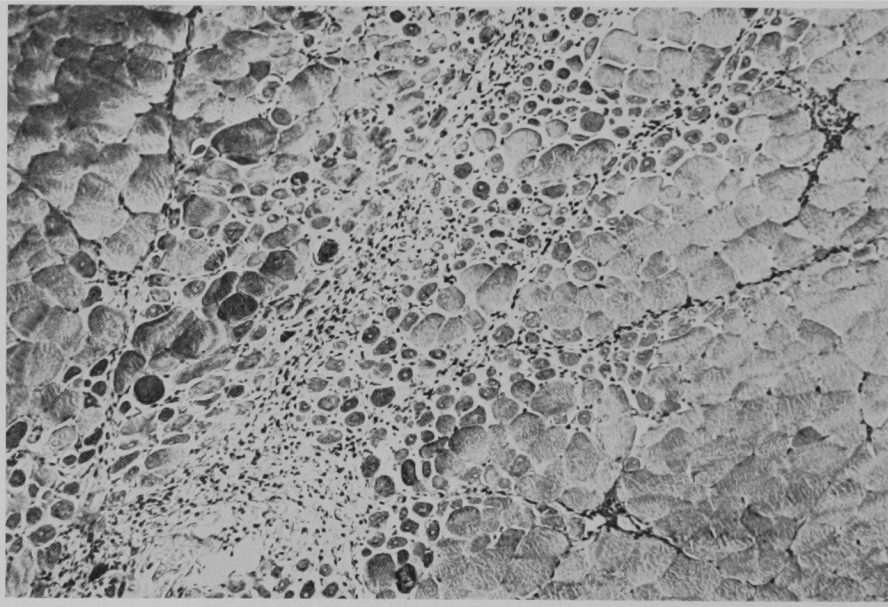


Photo. 8
7 days after
single injection
of CMD
(25% sol. 1
ml/site)

H.E. Stain. $\times 25$

炎症反応がみられ、3群の間に変化を認めなかった。

実験 4) 溶解液そのものの局所刺激性

溶解液そのものの刺激性を比較したところ、Table 4 に示した肉眼的評点および刺激部位の体積測定の結果、刺激性の強さは注射用蒸留水>0.5% 塩酸リドカイン注射液>生理食塩水の順となった。

組織学的観察では、生理食塩水および 0.5% 塩酸リドカイン注射液投与群にわずかな筋線維の変性・壊死像および充・出血、細胞浸潤が観察されたが、注射用蒸留水投与では抗生物質投与時と較べて遙かに程度は弱いが、実験 1) で述べたと同様の炎症反応が広範囲に認められた。

考 察

薬物筋肉内投与による局所刺激性は、主として

- ① 薬物固有のもの
- ② 薬物の pH に起因するもの
- ③ 薬物の浸透圧に起因するもの
- ④ 注射針の組織貫入によるもの

などが組み合わさったものといわれている²⁾。このうち pH と浸透圧について日本薬剤師会調剤技術委員会の調剤指針³⁾によれば、体液や組織に直接の影響をもたらすために、安全性の面から、注射剤の条件として

- ① pH は、出来るだけ血清の pH に近いこと
- ② 浸透圧は、出来るだけ血清と等張であること等があげられている。pH については、注射剤のそれが 3.5 以下または 9.5 以上になると有痛性となるといわれている⁴⁾。次に、浸透圧について赤石ら⁵⁾は、溶血性および組織障害性からみて注射剤の浸透圧比(生理食塩水に対する比)はおおよそ 0.5 から 7~8 ぐらいの範囲が望ましいと述べている。

Table 5 pH and osmotic pressure (OP) ratio of various compound

Compound (Vehicle)	pH	OP ratio*
25% CMD (Physiological saline)	4.8	2.83
25% CMD (Distilled water)	5.0	1.88
25% CMD (0.5% Lidocaine hydrochloride)	4.9	2.76
25% CEZ (Physiological saline)	5.3	2.98
25% CET (Physiological saline)	5.1	3.36
25% CER (Physiological saline)	4.7	1.39
Distilled water	6.3	0
0.5% Lidocaine hydrochloride	6.7	0.96
Physiological saline	5.5	1.00

* Ratio to physiological saline

今回使用した各薬物の pH と浸透圧比を Table 5 に示したが、pH、浸透圧ともにほぼ血清に近似の値でありそれらのみでは筋肉に対して局所刺激性を惹起しないと思われる。また、CMD については、溶解液を生理食塩水、注射用蒸留水、0.5% 塩酸リドカイン注射液に変え筋肉への局所刺激性を調べたが、溶解液単独では局所刺激性に差を認めるのに、CMD を溶解した場合 3 溶解液間での強さに変化がなかった。

以上のことから、CMD および対照薬に用いた CET、CEZ、CER の刺激性は、溶解液本来の刺激性の程度に左右されない薬物本来の性質によるものと思われる。

なお、今回の実験は単回投与のみによる局所刺激性を調べたが、臨床において連続投与される場合を考慮して、現在連続投与による局所刺激性を検討中である。

引用文献

- 1) 薬事日報社：抗生物質。最近の新薬 18: 32~53, 1967
- 2) 青木勝夫：注射剤の疼痛軽減に関する研究(第1報)酸性注射液におけるブドウ糖の効果。武田研究所年報 26: 51~55, 1967
- 3) 日本薬剤師会調剤技術委員会：第5改訂調剤指針, 156頁, 1962
- 4) 岡野定輔：薬理学総論。64頁, 南江堂, 1975
- 5) 赤石 英, 押田茂実, 高橋由美子：薬剤に関する医療事故について。月刊薬事 16: 901~909, 1974

MUSCLE IRRITATION STUDY ON CEFAMANDOLE

YOSHIO HARADA and TAKAO OKAMOTO

Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., LTD.

This study was performed to evaluate the degree of irritative activity resulting from an intramuscular injections of cefamandole sodium, in comparison with those of cephalothin sodium, cefazolin sodium and cephaloridine.

In the first experiment, cefamandole sodium solution, containing 25% cefamandole activity (weight/volume), was prepared in physiological saline and the other cephalosporins were also prepared in the same way. Injections of one ml of the solution were made into the sacrospinal muscle of Japanese white female rabbits weighing 2.5~3.5 kg. The rabbits were sequentially killed 24, 48, 72 hours and 7 days later and the muscle sites were excised and placed in formalin fixative for 72 hours after gross examination. Sectioning of the fixed tissue permitted a measurement of the volume of irritation. A representative section of the irritated area was examined histopathologically.

Histopathological examination as well as gross examination indicated that cephalothin sodium was the most irritative of the cephalosporins studied and cefamandole sodium produced some irritability. However, the irritation volume produced by cefazolin sodium was less than that produced by cefamandole sodium. The irritative activity elicited by cephaloridine was the least, while physiological saline showed no significant change at the injection site.

In the second experiment, irritability produced by 25% cefamandole sodium in physiological saline was compared with that by the compound dissolved either in distilled water or 0.5% lidocaine hydrochloride solution. The data indicated that there was no difference among the irritation volumes in these three vehicles. We, therefore, assumed that the muscular irritation by cefamandole sodium resulted from the potency of the compound itself.