

1 モデル実験系における Cefotaxime の抗菌力

笠井 一 弘・新井 進・宮本 政樹・坂口 孝

ヘキストジャパン株式会社 総合開発研究所

in vitro のモデル実験系において、経時的に薬剤の濃度を変化させ、できるだけ生体内血中濃度推移に近似した条件下で、*E. coli* と *K. pneumoniae* に対する Cefotaxime (CTX) と Cefazolin (CEZ) の殺菌作用を比較検討した。

1. 1 回投与モデル実験：培養液が Antibiotic medium 3 のとき、*E. coli* に対しては、Cefotaxime, CEZ のいずれも菌の生育を完全に阻止したが、*K. pneumoniae* では、*E. coli* の場合に比べその殺菌効果は両薬剤とも劣り、薬物を不活化することにより、菌の増殖がみられた。培養液が Consera の場合、Cefotaxime の両菌種に対する殺菌効果は、いずれも CEZ に比べ強く、CEZ の殺菌効果が培養開始後 5 時間から 9 時間の間で消失したのに対し、Cefotaxime の作用はひきつづき 9 時間後も持続しており培養液中に β -lactamase を添加することにより Cefotaxime を不活化した後、はじめてこれらの菌の増殖がみとめられた。

2. Consera を用いた 2 回反復投与モデル実験：Consera 中の *E. coli* および *K. pneumoniae* に対し、Cefotaxime を 2 回反復処理したところ、これらの菌の生育は完全に阻止され、 β -lactamase 処理により Cefotaxime を不活化させた後においても、再増殖は全くみられなかった。

抗生物質の抗菌力は、*in vitro* における MIC, MBC によって表わされるのが一般的である。しかし、これらの方法では同一濃度の薬剤が 18 から 20 時間菌と接触しており、薬物濃度が経時的に変化している生体内での条件とかならずしも一致しているということとはできない。そこで最近 *in vitro* の実験においても、経時的に血中濃度推移に対応して薬剤の濃度を変化させ、できるだけ生体内に近似した条件下で抗生物質の作用を検討することが試みられている¹⁾。今回著者らは、Cefotaxime (HR 756, CTX) の抗菌作用を同様の方法により Cefazolin (CEZ) と比較検討したので以下に報告する。

I. 実験材料および方法

1 薬剤

Cefotaxime (CTX, Hoechst AG. Roussel-Uclaf), Cefazolin (CEZ, 藤沢薬品) を用いた。

2 試験菌および MIC

臨床分離株 *E. coli* (Ec-14) および *K. pneumoniae* (Kp-26) を用いた。これらの菌に対する MIC は、日本化学療法学会 MIC 測定標準法²⁾に従って行なった結果 Cefotaxime の場合 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$, CEZ は 3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

3 培養液 Antibiotic medium 3[®]

(Difco 以下 ABM と略す) およびヒト凍結乾燥血清 Consera[®] (日水) を培養液とし、37°C で振とう培養した。

4 薬物濃度 [1 回投与モデル実験]

Cefotaxime 濃度は、健康ボランティア 9 名に 2g/2h 点滴静注したときに得られた血清濃度の推移にもとづいて設定した。各時点における薬物濃度は、高濃度の薬物水溶液または薬物を含まない培養液を加えることにより調整した。CEZ の場合は、村川ら³⁾の 2g/2h 点滴静注時の実験成績にもとづき調整した。

Cefotaxime の場合 Fig. 1 に示したごとく、投与後 9 時間には血中からほとんど消失するので、今回の *in vitro* におけるモデル実験では、37°C で振とう培養後 9 時間目に、*P. vulgaris* から得た β -lactamase を加えることにより、Cefotaxime の抗菌活性を完全に無くした。一方、CEZ については、村川らの実験成績³⁾において 9 時間後もなお MIC 以上である 4.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (推定値) を維持しているため MIC 以下になるであろうと推測される 12 時間後に β -lactamase 処理を加え不活化した。

[2 回連続投与モデル実験] この実験には Cefotaxime のみを使用し、Fig. 6 に示したように初回投与の血中濃度推移は、1 回投与モデル実験と同じ推移をとると想定し、第 2 回目投与は初回投与 9 時間後に行われるものと想定した。すなわち最初の薬物処理より 9 時間後に再び初回と同様の操作をくり返し、薬物の不活化は、2 回目処理 9 時間後に行った。

5 生菌数の測定

経時的に採取した培養液に β -lactamase を加え、37°C で 5 分間作用させた後、希釈液 (NaCl 8.5g, KH₂PO₄)

Fig. 1 Human serum levels of cefotaxime(CTX) and CEZ in 2 g drip infusion for 2 hr

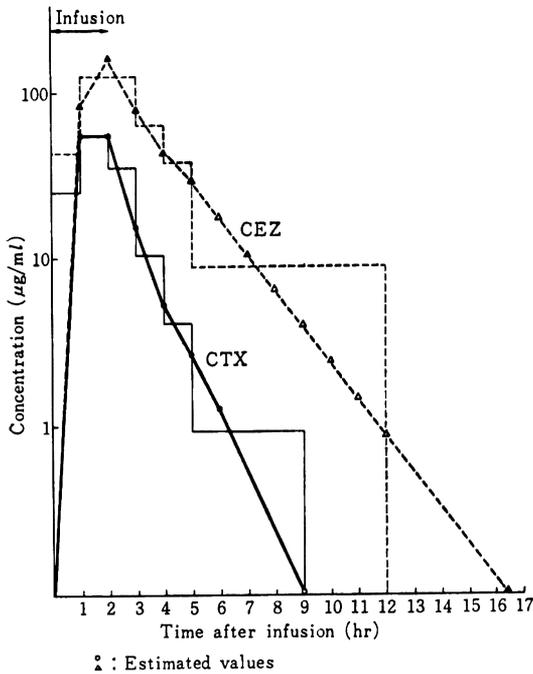
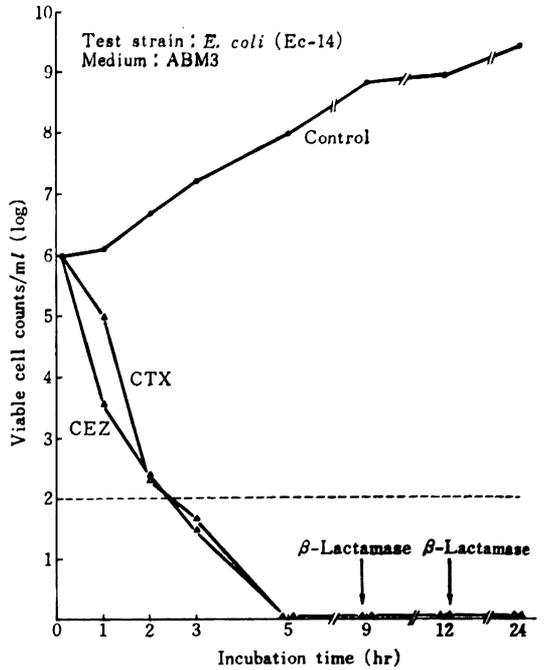


Fig. 2 Bactericidal activities of cefotaxime(CTX) and CEZ at medium levels simulating human serum levels after drip infusion



0.3 g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 0.6 g, gelatine 0.1 g, 蒸留水 1,000 ml) を用い 10 倍段階希釈系列をつくり, その 0.1 ml をドリガルスキー改良培地 (BTB 栄研) の表面に均一に塗抹し, 37°C で 24 時間培養後, コロニーの数を計測した。

II. 実験成績

[1 回投与モデル実験]

1) 培養液を ABM とした場合 Fig. 2 のごとく, 培養 1 時間後における *E. coli* の生菌数は, Cefotaxime, CEZ でそれぞれ 1.0×10^5 , 4.3×10^3 cells/ml であったが, 2 時間以後の生菌数には, 両薬剤間で差がみられなかった。両薬剤処理により培養 5 時間後には *E. coli* の生菌数は 10 cells/ml 以下となり, この状態は β -lactamase 添加後も変化なく, 菌増殖は全くみとめられなかった。

K. pneumoniae に対する殺菌効果は Fig. 3 に示したごとく, Cefotaxime, CEZ いずれにおいてもほとんど差がなかった。しかし両薬剤とも, 今回の実験においては *E. coli* に対する効果に比べ, その抗菌効果はやや劣り, 生菌数が 10 cells/ml 以下になるまでに 9 時間を要した。この場合, β -lactamase 添加後, 菌は再び急激に増殖した。

2) 培養液が Consera の場合

培養 1 時間後の *E. coli* の生菌数は Cefotaxime, CEZ 処理とも培養開始時の菌数 1.5×10^6 cells/ml と差

Fig. 3 Bactericidal activities of cefotaxime(CTX) and CEZ at medium levels simulating human serum levels after drip infusion

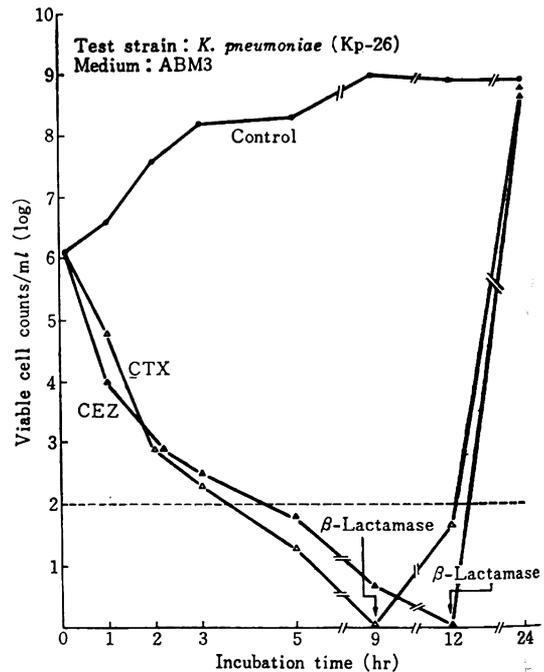


Fig. 4 Bactericidal activities of cefotaxime(CTX) and CEZ at medium levels simulating human serum levels after drip infusion

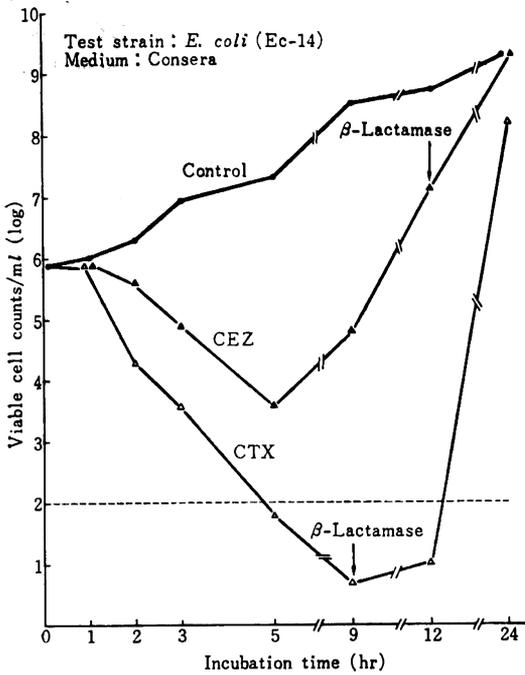


Fig. 6 Human serum level of cefotaxime(CTX) in each of 2-hr drip infusion of 2 g

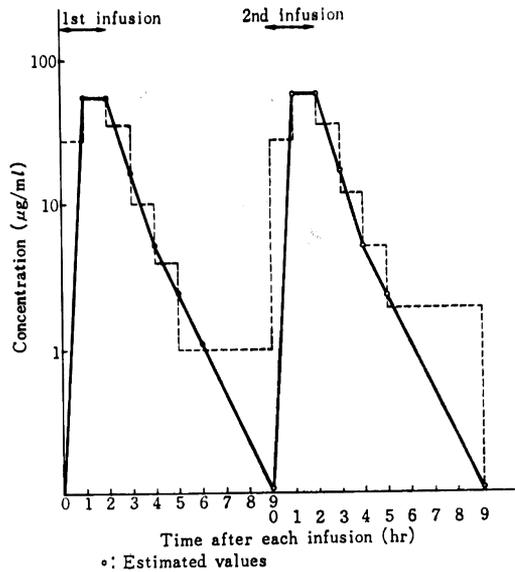
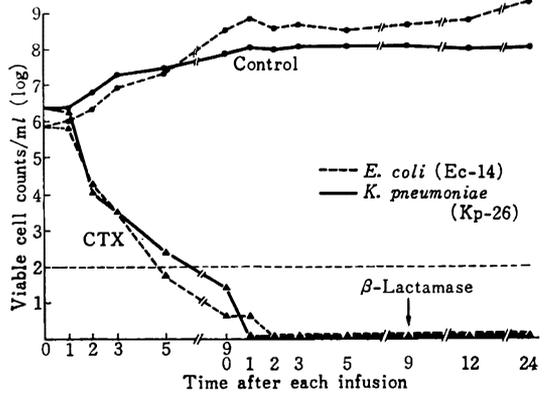
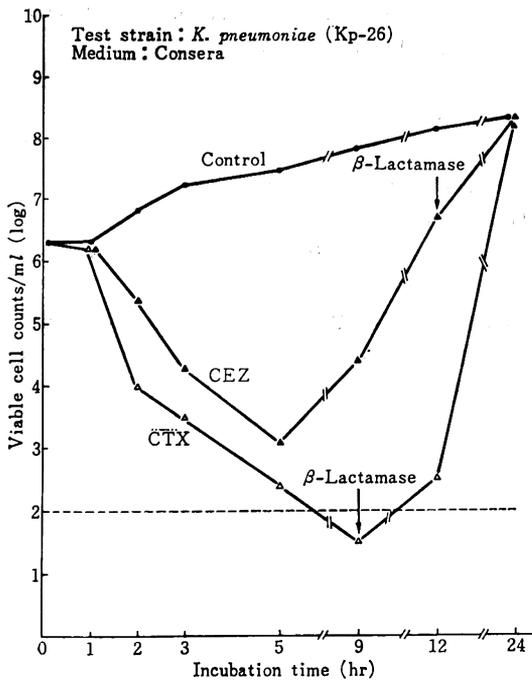


Fig. 7 Bactericidal activities of cefotaxime(CTX) consera levels simulating human serum level after each drip infusion

Fig. 5 Bactericidal activities of cefotaxime(CTX) and CEZ at medium levels simulating human serum levels after drip infusion



がなく、2時間後からはじめて減少した (Fig. 4)。しかしいずれのサンプリング時においても、CEZ 処理に比べ生菌数は Cefotaxime 処理で少く、また Cefotaxime では培養 12 時間後すなわち β -lactamase 添加 3 時間後から、再び菌の増殖がみられたのに反し、CEZ では培養 5 時間後の菌数 1.8×10^4 cells/ml が最も少く、12 時間後ではすでに 3.4×10^6 cells/ml と増加していた。

K. pneumoniae に対しては、Fig. 5 に示したごとく、*E. coli* と同様、両薬剤とも培養 2 時間後より生菌数の減少がみとめられた。しかし、Cefotaxime では培養 9 時間後、すなわち β -lactamase 添加によりその抗菌活性を無くした後、はじめて菌の増殖が認められたのに

対し、CEZでは*E. coli*の場合と同様、培養5時間後よりCEZの存在にもかかわらず菌増殖がみとめられた。

[2回連続投与モデル実験]

Cefotaximeの*E. coli*, *K. pneumoniae*に対する殺菌効果はFig 7, に示したようにきわめて顕著で、第2回処理9時間後に β -lactamaseを加えても、菌の再増殖は全くみとめられなかった。

III. 考 察

今回 *in vitro* のモデル実験系を用い、経時的に薬剤の濃度を変化させ、できるだけ生体内血中濃度推移に近似した条件下で、*E. coli* と *K. pneumoniae* に対する Cefotaxime と CEZ の殺菌効果を比較した。その結果再者の殺菌効果は培養液が ABM のときは同等であったが、ヒト血清に近い Consera のときは、*E. coli*, *K. pneumoniae* に対していずれも Cefotaxime が CEZ よ

りすぐれた効果を示し、Cefotaxime のこの効果は2回反復処理により一層顕著となった。

このように、Consera の場合に Cefotaxime と CEZ の効果が異った事実は、血清蛋白結合率が両者で異なるという著者らの前報²⁾での実験成績 (Cefotaxime 60%, CEZ 92.5%) から、Consera 中の蛋白との結合率の相違によるものと想像できる。

文 献

- 1) 村川武雄, 上村利明, 岡田直彦, 坂本 博, 横田好子, 西田 実: 生体内濃度に Simulate した *in vitro* model system における Cephalosporin 類の殺菌作用。Chemotherapy 25: 585~589, 1977
- 2) MIC 測定法改訂委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改訂について。Chemotherapy 22: 1126~1128, 1974
- 3) 笠井一弘, 新井 進, 宮本政樹, 坂口 孝: Cefotaxime (HR 756) の基礎的検討。Chemotherapy 28: 89~97, 1980

IN VITRO BACTERICIDAL ACTIVITY OF CEFOTAXIME AT SIMULATED HUMAN SERUM LEVELS

KAZUHIRO KASAI, SUSUMU ARAI, MASAKI MIYAMOTO
and TAKASHI SAKAGUCHI

Development Laboratories, Hoechst Japan Limited

In vitro bactericidal activity of cefotaxime (HR 756, CTX) was compared with that of cefazolin (CEZ) against *E. coli* Ec-14 and *K. pneumoniae* Kp-26 by making the time-course of levels of each antibiotic in medium approximate that in human serum during and after 2-hr drip infusion of 2 g.

Cefotaxime and CEZ were singly dropped into antibiotic medium 3 and Consera. In the former medium, the two antibiotics completely inhibited the growth of *E. coli* Ec-14. They were, however, less active against *K. pneumoniae* Kp-26, the strain regrowing as a result of inactivation of cefotaxime and CEZ by addition of β -lactamase, respectively, after 9- and 12-hr incubation. In Consera, cefotaxime had more potent bactericidal effect than CEZ against both the test strains; while the effect of CEZ was abolished between 5- and 9-hr incubation, that of cefotaxime lasted until it was inactivated by addition of β -lactamase after 9-hr incubation.

Cefotaxime was twice dropped into Consera at the interval of 9 hr. The two treatments completely inhibited the growth of *E. coli* Ec-14 and *K. pneumoniae* Kp-26; namely, no regrowth of the strains was caused by inactivation of cefotaxime by β -lactamase.