

抗 *Pseudomonas aeruginosa* 作用のある Cephalosporin
系新誘導体 Cefpiramide (SM-1652) の *in vitro*,
in vivo 抗菌力に関する細菌学的検討

五島瑳智子・小川正俊・宮崎修一・辻 明良・桑原章吾

東邦大学医学部微生物学教室

新 cephalosporin 剤 Cefpiramide (CPM, SM-1652) の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用を Cefazolin, Cefotiam, Cefoxitin, Ceftizoxime, Cefotaxime, Latamoxef と比較検討し, 次の結果を得た。

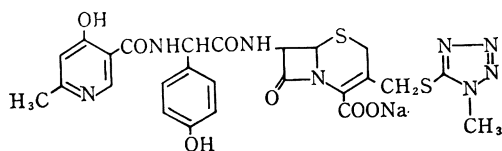
Cefpiramide はグラム陽性菌, グラム陰性菌に広い抗菌スペクトルを有し, 特に *P. aeruginosa* に強い抗菌力を示した。

既存の cephalosporin 剤に感受性の低い *P. cepacia*, *P. maltophilia*, *A. calcoaceticus*, *A. faecalis*, *A. xylosoxidans*, *F. meningosepticum*, *B. fragilis* に抗菌力を有することが認められた。

マウス実験感染における Cefpiramide の治療効果は *E. coli* 感染では Cefotiam と同程度であった。*P. aeruginosa* 感染に対しては, Cefazolin, Cefoxitin, Cefotiam, Ceftizoxime, Cefotaxime は無効であり, Cefpiramide は Cefsulodin より劣るが, Cefoperazone, Latamoxef より高い治療効果が得られた。

Cefpiramide (CPM, SM-1652) は化学名を Sodium (6R, 7R)-7-[(R)-2-(4-hydroxy-6-methyl-3-pyridyl-carboxamido)-2-(*p*-hydroxyphenyl) acetamido]-3-[[(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl) thio] methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo [4. 2. 0] oct-2-ene-2-carboxylate と称する。構造式は下記に示す。

Fig 1. Chemical structure of CPM



Molecular formula: $C_{25}H_{23}N_8NaO_7S_2$
Molecular weight: 634.62

本剤は広域の抗菌スペクトルを有し, 特に *P. aeruginosa* を含むブドウ糖非発酵性グラム陰性桿菌に対し, 強い抗菌力を示す。また殺菌力が強く, *in vivo* におけるマウス実験感染防御効果が優れ, 動物における血中濃度は既存のセフェム系抗生剤より持続的であるといわれている。

本報告は Cefpiramide の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用を従来の cephalosporin 剤である Cefazolin,

Cefotiam, Cefoxitin (cephamycin 系), Ceftizoxime, Cefotaxime, Latamoxef (oxacephem 系) と比較し, 基礎的検討成績からその特徴を明らかにした。

I. 実験材料および実験方法

1. 使用菌株

教室保存株および臨床材料より分離されたグラム陽性菌, グラム陰性菌の多数株を用いた。

2. 使用薬剤

Benzylpenicillin (PCG, 665 μ g/mg, 萬有製薬)
Ampicillin (ABPC, 911 μ g/mg, 藤沢薬品)
Carbenicillin (CBPC, 790 μ g/mg, 藤沢薬品)
Sulbenicillin (SBPC, 887 μ g/mg, 武田薬品)
Mezlocillin (MZPC, 925 μ g/mg, 吉富製薬)
Apalcillin (APPC, 854 μ g/mg, 住友化学)
Piperacillin (PIPC, 915 μ g/mg, 富山化学)
Ticarcillin (TIPC, 791 μ g/mg, 藤沢薬品)
Cloxacillin (MCIPC, 900 μ g/mg, 東洋)
Cephaloridine (CER, 910 μ g/mg, 塩野義製薬)
Cephalexin (CEX, 900 μ g/mg, 萬有製薬)
Cefatrizine (CFT, 843 μ g/mg, 萬有製薬)
Cefaclor (CCL, 960.6 μ g/mg, 塩野義製薬)
Cefroxadine (CXD, 881 μ g/mg, 日本チバガイギー)
Cefazolin (CEZ, 944 μ g/mg, 藤沢薬品)

Cefamandole (CMD, 960 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 塩野義製薬)
 Cefuroxime (CXM, 971 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 新日本実業)
 Cefotiam (CTM, 820 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 武田薬品)
 Cefsulodin (CFS, 904 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 武田薬品)
 Cefoxitin (CFX, 938 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 第一製薬)
 Cefmetazole (CMZ, 953 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 三共)
 Cefoperazone (CPZ, 947 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 富山化学)
 Cefotaxime (CTX, 925 $\mu\text{g}/\text{mg}$, ヘキストジャパン)
 Ceftizoxime (CZX, 857 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 塩野義製薬)
 Cefmenoxime (CMX, 945 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 武田薬品)
 Cefpiramide (CPM, 884 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 住友化学)

3. 感受性測定法

日本化学療法学会標準法に準じて行なった¹⁾。測定用培地として Muller hinton medium(Difco)を用いた。

嫌気性菌に対しては、嫌気性菌 MIC 測定法検討委員会での方法に準じて行なった²⁾。

4. 殺菌作用

E. coli C11 株を用い、Muller hinton broth に接種し、菌数が約 10^8 cells/ml になったとき、CPM の 1/4 MIC, 1/2 MIC, MIC, 2 MIC, 4 MIC 量を添加し、37°C で振盪培養した。添加後 1, 2, 4, 6, 9 および 24 時間目の生菌数を測定した。同時に CEZ, CPZ, CTM, CFX, CZX, CTX, LMOX についても実験を行ない、比較した。

5. 各菌種の不活化酵素に対する安定性

1) 菌株および酵素液の調製

E. coli 35, *E. coli* ML 1410 RGN 238, *E. coli* ML 1410 RGN 823, *E. coli* 121, *K. pneumoniae* GN 69, *C. freundii* GN 346, *E. cloacae* No. 91, *P. mirabilis* GN 79, *P. vulgaris* GN 76, *P. vulgaris* No. 9, *P. rettgeri* GN 624, *P. inconstans* GN 627, *S. marcescens* No. 78, *P. aeruginosa* No. 47, *P. aeruginosa* No. 11, *B. fragilis* No. 19, *B. fragilis* No. 32, *B. fragilis* No. 48, *B. fragilis* No. 69, *B. fragilis* GM 7000, *B. fragilis* GM 7002, *B. fragilis* GM 7004 の 11 菌種 22 菌株を用い、37°C 一夜培養後集菌し、超音波破壊後、遠心上清を酵素液として使用した。

各基質は 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とし、37°C で 4 時間反応させ、100°C 1 分の加熱処理後、残存力価を bioassay にて測定した。なお CPM は *B. subtilis* ATCC 6633 株を検定菌として用いた。

2) 使用薬剤

PCG, ABPC, CBPC, SBPC, MZPC, APPC, PIPC, TIPC, MCIPC, CER, CEX, CFT, CXD, CCL, CEZ, CMD, CFX, CMZ, CXM, CTM, CFS, CTX, CPZ, CZX, LMOX, CMX, CPM.

3) 酵素活性の測定 (bioassay)

各薬剤液を 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とし、37°C で酵素液と反応させ 1, 4, 時間作用させた後、100°C 1 分間の加熱処理を行ない、残存活性を薄層ディスク法にて測定した。

6. マウス実験感染における防御効果

マウスは ICR 系, 雄, 体重 19 ± 1 g を用い、*E. coli* C11, *E. coli* No. 94, *S. marcescens* No. 2, *P. aeruginosa* PI-67, *P. aeruginosa* E7 を感染菌とした。感染に際しては、これらの菌株を普通寒天斜面培地で 1 夜培養後、集菌し、Table 3~7 に示す菌量に生理食塩液で希釈し、腹腔内に接種した。感染 1 時間後に皮下投与にて、CPM, CEZ, CFX, CTM, CPZ, LMOX, CZX, CTX, CFS による治療を行なった。観察は感染後 5 日間行ない、マウスの生死により ED₅₀ を算出した。

7. マウス血清中濃度

実験感染に用いた同条件のマウスを使用した。薬剤は CPM, CEZ, CTM, CFX, CZX, CTX および LMOX を用い、1.0 mg/mouse, 0.5 mg/mouse を皮下投与したのち、5 分, 15 分, 30 分, 1 時間, 2 時間後に断頭採血 (1 匹当たり 0.4 ml) 後、直ちに血清を採取、各群 9 匹の血清をプールし、CPM, CEZ, CFX, CZX は *B. subtilis* ATCC 6633 株, CTM は *P. mirabilis* ATCC 21100 株, LMOX は *E. coli* 7437 株を検定菌とする薄層ディスク法にて血清中濃度を測定した。

II. 実験成績

1. 抗菌スペクトル

グラム陽性菌、腸内細菌科およびブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌の感受性を CPM, CEZ, CTM, CFX, CZX, CTX, LMOX の 7 薬剤について比較した成績を Table 1~2 に示した。

接種菌量 10^8 cells/ml において gram 陽性菌に対する CPM の抗菌力は、CTM より弱く、CEZ と同程度の抗菌力を示し、CFX, CZX, CTX, LMOX よりも強い。

E. coli, *K. pneumoniae* に対して、CEZ, CFX と同程度の抗菌力を示すが、CTM, CZX, CTX, LMOX に比べ弱い。またインドール陽性の *Proteus* や *Serratia* に対しては CEZ, CTM, CFX より優れた抗菌力を示すが、CTX, CZX, LMOX より劣る。しかし、*P. aeruginosa* をはじめとするブドウ糖非発酵菌に対しては CZX, CTX, LMOX とほぼ同程度の抗菌力を示し、CEZ, CTM, CFX より強い。

2. 感受性分布

1) 臨床分離株の感受性分布 (Fig. 2~23)

S. aureus 30 株, *S. epidermidis* 20 株, *S. pneumoniae* 20 株, *S. faecalis* 20 株, *S. pyogenes* 20 株,

Table 1 Antibacterial spectrum

Organisms	MIC (μg/ml)						
	CPM	CEZ	CTM	CFX	CZX	CTX	LMOX
<i>S. aureus</i> 209-P	1.56	1.56	0.39	1.56	6.25	1.56	6.25
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	3.12	0.78	0.39	0.78	0.2	0.39	6.25
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.78	0.39	0.39	1.56	50	6.25	12.5
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	6.25	1.56	0.39	6.25	0.025	0.05	0.2
<i>K. pneumoniae</i> IFO 3512	25	50	0.1	3.12	0.012	0.012	0.2
<i>K. oxytoca</i> 1004	>100	>100	3.12	12.5	0.78	3.12	6.25
<i>S. flexneri</i> 103R	50	1.56	0.1	3.12	0.05	0.1	1.56
<i>S. typhi</i> S60	12.5	12.5	1.56	25	0.1	0.2	1.56
<i>P. mirabilis</i> 1287	25	3.12	0.39	50	0.2	0.1	1.56
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	100	>100	>100	100	25	25	100
<i>P. morganii</i> IFO 3858	6.25	>100	25	12.5	0.39	0.78	0.78
<i>P. rettgeri</i> IFO 13501	6.25	>100	>100	>100	50	25	25
<i>P. inconstans</i> IFO 12930	25	50	50	12.5	3.12	1.56	12.5
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	12.5	>100	>100	25	1.56	3.12	0.2
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	12.5	>100	>100	>100	>100	100	50
<i>P. fluorescens</i> IFO 3081	3.12	>100	>100	12.5	25	1.56	0.2
<i>P. putida</i> TMS 180	25	>100	>100	>100	100	50	>100
<i>P. maltophilia</i> TMS 227	>100	>100	>100	>100	>100	>100	12.5
<i>P. cepacia</i> TMS 201	25	>100	>100	>100	50	50	50
<i>A. calcoaceticus</i> NCTC 7844	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>A. faecalis</i> NCTC 655	>100	50	25	50	50	>100	>100
<i>A. xylosoxidans</i> TMS 73	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>F. meningosepticum</i> TMS 462	50	100	50	50	12.5	25	25

Inoculum size : 10^8 cells/ml

E. coli 40 株, *K. pneumoniae* 20 株, *K. oxytoca* 10 株, *P. mirabilis* 30 株, *P. vulgaris* 30 株, *P. morganii* 30 株, *P. rettgeri* 30 株, *P. inconstans* 30 株, *S. marcescens* 40 株, *P. aeruginosa* 50 株, *P. cepacia* 12 株, *P. maltophilia* 20 株, *A. calcoaceticus* 20 株, *A. faecalis* 9 株, *A. xylosoxidans* 20 株, *F. meningosepticum* 7 株, *B. fragilis* 15 株に対する CPM の抗菌力を CEZ, CTM, CFX, CPZ, CZX, CTX, LMOX, CFS と比較した成績を Fig. 2~23 に示した。

S. aureus に対する CPM の抗菌力は CEZ, CTM より劣るが, LMOX, CZX, CFX より強く, CPZ, CTX とほぼ同程度で, MIC のピークは $1.56 \mu\text{g/ml}$ であった。

S. epidermidis に対して, CPM は CEZ, CPZ より抗菌力は弱い, LMOX, CFS, CTX より強く, $3.12 \mu\text{g/ml}$ の濃度で全株発育を阻止した。

S. pneumoniae では, CPM の抗菌力は強く, 全株が $0.025 \mu\text{g/ml}$ で発育を阻止し, CTM, CPZ, CTX, CZX と同程度で CFS, LMOX, CFX より優れていた。

S. faecalis に対して, CFX, CZX, LMOX, CFS は

ほとんどの菌株が $100 \mu\text{g/ml}$ 以上を示すのに対し, CPM は全株が $25 \mu\text{g/ml}$ で阻止され, CPZ と同程度の抗菌力を示した。

S. pyogenes では CPM は CEZ, CTM, CZX と同様, 強い抗菌力を示し全株 $0.012 \mu\text{g/ml}$ 以下で発育を

Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates, *S. aureus* 30 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

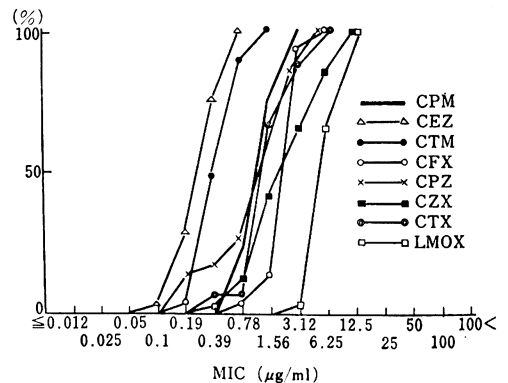


Table 2 Antibacterial spectrum

Organisms	MIC ($\mu\text{g/ml}$)						
	CPM	CEZ	CTM	CFX	CZX	CTX	LMOX
<i>S. aureus</i> 209-P	1.56	1.56	0.2	1.56	6.25	1.56	6.25
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	0.1	0.1	0.012	0.78	0.012	0.025	0.025
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.39	0.1	0.39	1.56	6.25	1.56	6.25
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	1.56	1.56	0.1	1.56	≤ 0.006	0.012	0.12
<i>K. pneumoniae</i> IFO 3512	1.56	1.56	0.1	1.56	≤ 0.006	≤ 0.006	0.1
<i>K. oxytoca</i> 1004	6.25	6.25	0.1	3.12	0.025	0.05	0.1
<i>S. flexneri</i> 103R	1.56	0.78	0.1	3.12	0.025	0.05	0.39
<i>S. typhi</i> S60	6.25	1.56	0.1	1.56	0.025	0.1	0.2
<i>P. mirabilis</i> 1287	1.56	1.56	0.1	1.56	≤ 0.006	≤ 0.006	0.1
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	0.1	50	0.2	6.25	0.025	≤ 0.006	0.05
<i>P. morganii</i> IFO 3858	0.1	50	12.5	6.25	0.025	0.2	0.1
<i>P. rettgeri</i> IFO 13501	6.25	>100	>100	>100	50	25	12.5
<i>P. inconstans</i> IFO 12930	3.12	50	0.78	12.5	0.025	0.2	0.05
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	6.25	>100	50	12.5	1.56	0.2	0.1
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	12.5	>100	100	100	25	25	25
<i>P. fluorescens</i> IFO 3081	3.12	>100	100	6.25	12.5	1.56	0.1
<i>P. putida</i> TMS 180	12.5	>100	100	>100	50	50	100
<i>P. maltophilia</i> TMS 227	25	>100	100	>100	>100	>100	6.25
<i>P. cepacia</i> TMS 201	6.25	>100	100	100	6.25	6.25	25
<i>A. calcoaceticus</i> NCTC 7844	>100	>100	100	>100	50	50	6.25
<i>A. faecalis</i> NCTC 655	6.25	12.5	6.25	1.56	12.5	1.56	0.1
<i>A. xylosoxidans</i> TMS 73	0.39	12.5	0.39	1.56	6.25	1.56	6.25
<i>F. meningosepticum</i> TMS 462	6.25	50	6.25	25	0.78	3.12	6.25

Inoculum size : 10^6 cells/ml

阻止した。

E. coli, *K. pneumoniae* に対する CPM の MIC ピークは $1.56\text{ }\mu\text{g/ml}$ で CEZ と同程度の抗菌力を示し, CZX, CTX, LMOX, CTM より弱い^が, CFS, CFX より強^{かった}。また *K. oxytoca* では CPM の抗菌力は

弱^く, LMOX, CZX, CTX, CTM, CFX, CEZ より劣^{っていた}。

P. mirabilis では CPM は CEZ, CFX, CPZ と同程度の抗菌力を示し, MIC ピークは $6.25\text{ }\mu\text{g/ml}$ であった^が, CZX, CTX, LMOX, CTM より劣^{っていた}。イ

Fig.3 Sensitivity distribution of clinical isolates, *S. epidermidis* 20 strains(Inoculum size: 10^6 cells/ml)

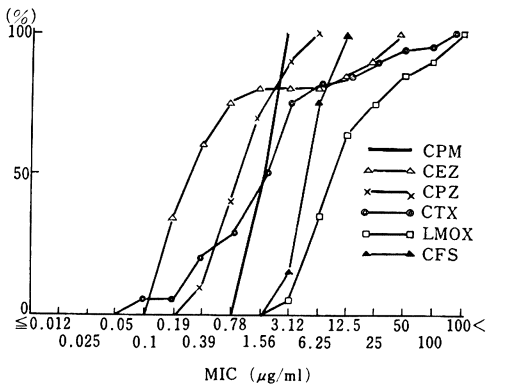


Fig.4 Sensitivity distribution of clinical isolates, *S. pneumoniae* 20 strains(Inoculum size: 10^6 cells/ml)

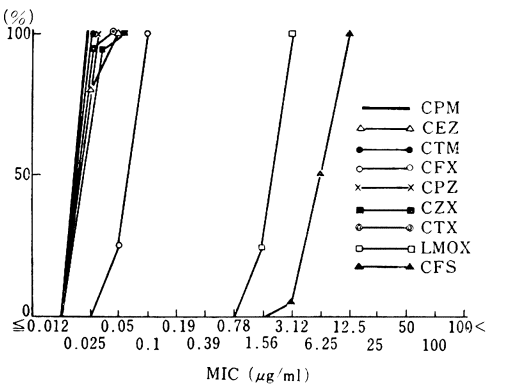


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates, *S. faecalis* 20 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

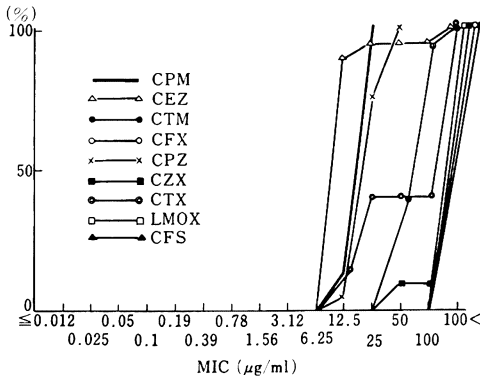


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates, *K. pneumoniae* 20 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

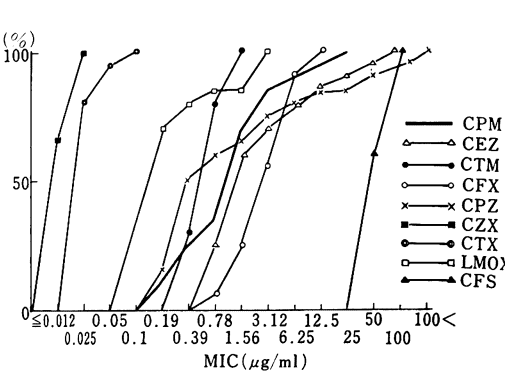


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates, *S. pyogenes* 20 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

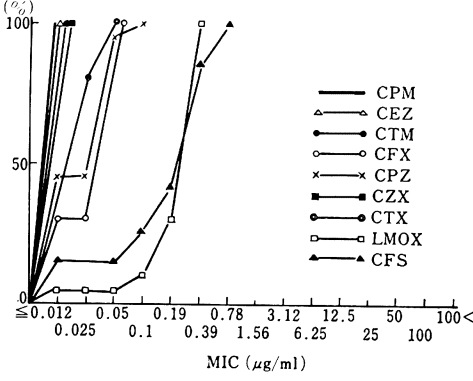


Fig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates, *K. oxytoca* 10 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

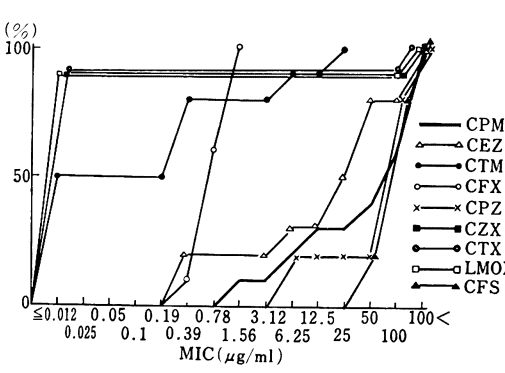


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates, *E. coli* 40 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

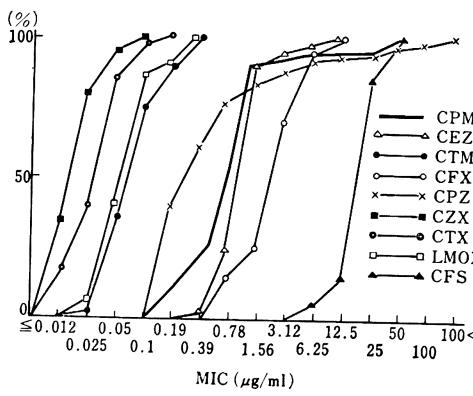


Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates, *P. mirabilis* 30 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

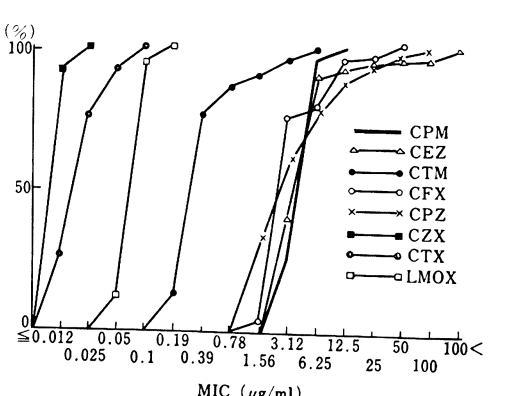


Fig.11 Sensitivity distribution of clinical isolates, *P.vulgaris* 30 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

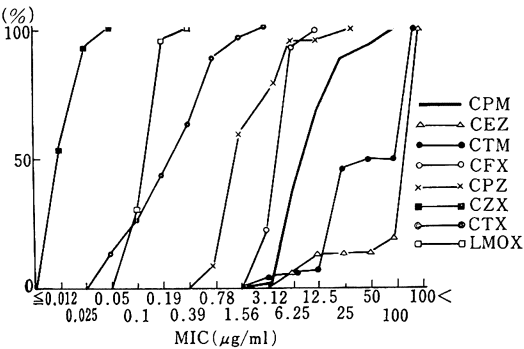


Fig.14 Sensitivity distribution of clinical isolates, *P.inconstans* 30 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

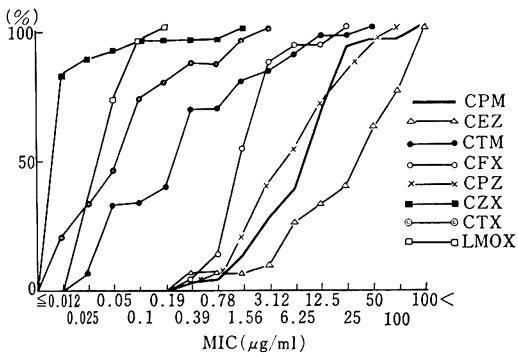


Fig.12 Sensitivity distribution of clinical isolates, *P.morganii* 30 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

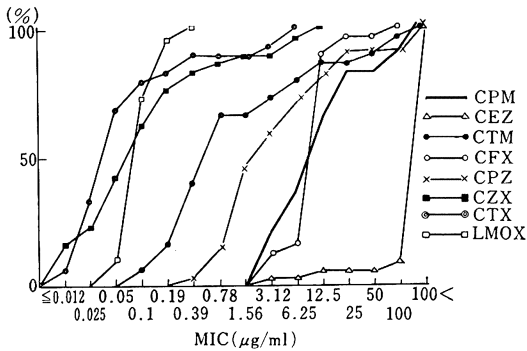


Fig.15 Sensitivity distribution of clinical isolates, *S.marcescens* 40 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

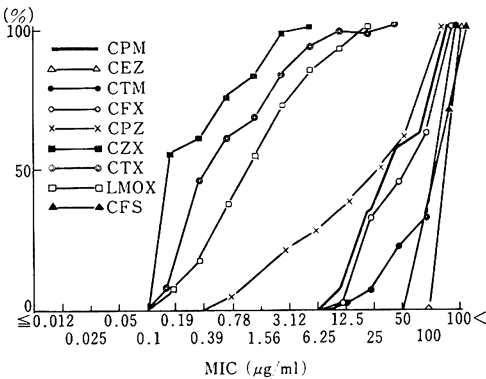


Fig.13 Sensitivity distribution of clinical isolates, *P.rettgeri* 30 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

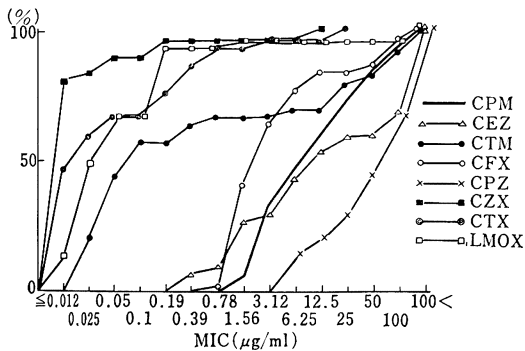


Fig.16 Sensitivity distribution of clinical isolates, *P.aeruginosa* 50 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

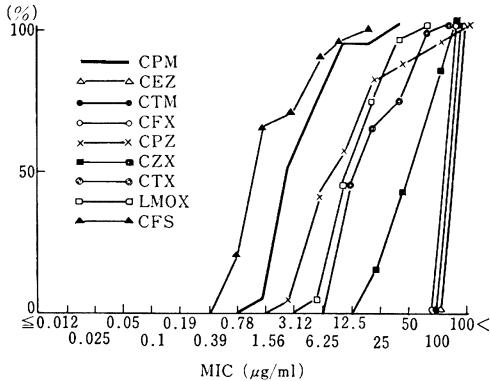


Fig. 17 Sensitivity distribution of clinical isolates, *P. cepacia* 12 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

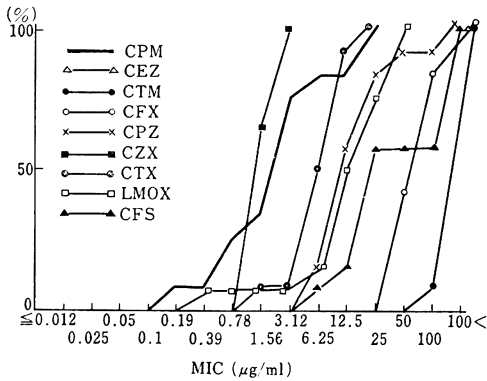


Fig. 18 Sensitivity distribution of clinical isolates, *P. maltophilia* 20 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

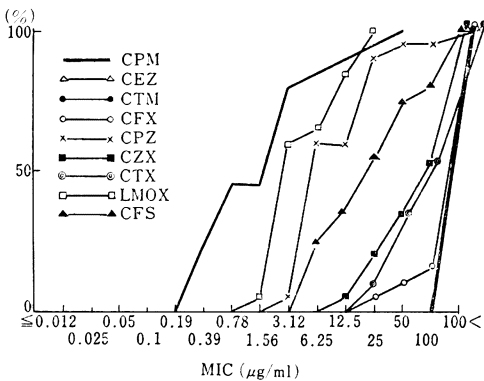


Fig. 19 Sensitivity distribution of clinical isolates, *A. xylosoxidans* 20 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

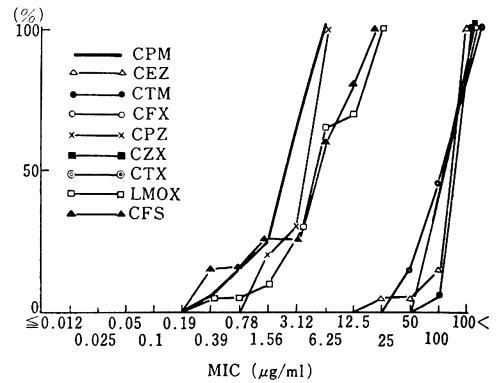
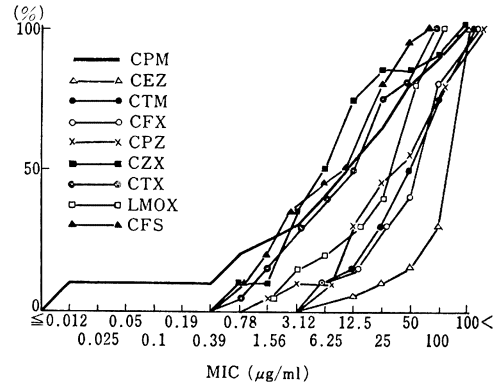


Fig. 20 Sensitivity distribution of clinical isolates, *A. calcoaceticus* 20 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)



ンドール陽性の *Proteus* (*P. vulgaris*, *P. morganii*, *P. rettgeri*, *P. inconstans*) に対する CPM の抗菌力は CZX, LMOX, CTX, CTM より弱く、菌株の 80% を阻止する濃度は 25~50 $\mu\text{g/ml}$ であった。

S. marcescens では CPM の抗菌力はほぼ CFX と同程度で、CEZ, CFX, CTM より優れていた。しかし、その MIC のピークは 25~50 $\mu\text{g/ml}$ で CZX, CTX, LMOX より劣っていた。

P. aeruginosa に対して、CPM は CFS より 1 管程度抗菌力が劣るが、CPZ, LMOX, CTX, CZX, CFX, CTM, CEZ よりすぐれ、MIC のピークは 3.12~6.25 $\mu\text{g/ml}$ であった。

P. cepacia では CPM の抗菌力は CZX よりわずかに劣るが、他の 6 剤より優れ、MIC ピークは 3.12 $\mu\text{g/ml}$ であった。

P. maltophilia, *A. xylosoxidans* に対する CPM の抗菌力は他の 8 剤より優れ、MIC のピークは 3.12 $\mu\text{g/ml}$ であった。

A. calcoaceticus では各薬剤とも幅広い分布を示し、CPM は 0.012 $\mu\text{g/ml}$ ~100 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、CTX, CFS とほぼ同程度の抗菌力を示し、CEZ, CFX, CTM, LMOX, CPZ より優れていた。

A. faecalis においては菌株数が少ないが、CPM は LMOX に比べ抗菌力は劣るが、CFS とほぼ同程度の抗菌力を示し、他の 6 剤より優れていた。

F. meningosepticum に対し、CPM の抗菌力は LMOX, CPZ, CFX とほぼ同程度で、MIC のピークは 25 $\mu\text{g/ml}$ で CZX, CTX より劣っていた。

嫌気性菌の *B. fragilis* に対する CPM の抗菌力は LMOX, CFX, CZX より劣り、CPZ, CTX とほぼ同

Fig. 21 Sensitivity distribution of clinical isolates, *A. faecalis* 9 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

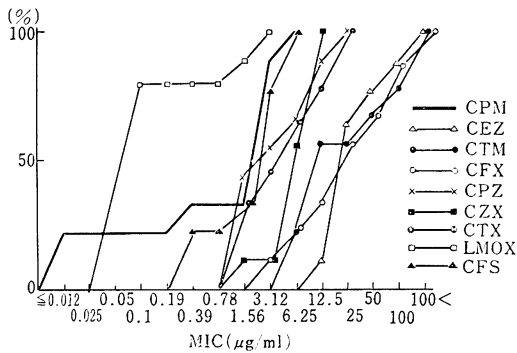


Fig. 22 Sensitivity distribution of clinical isolates, *F. meningosepticum* 7 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

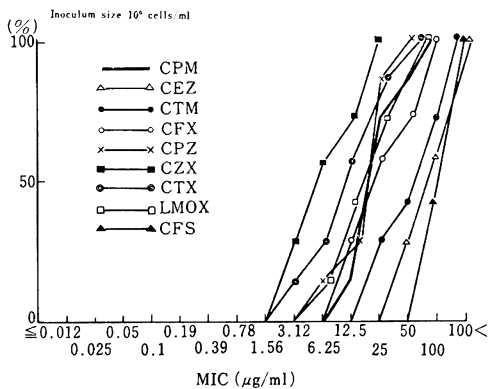
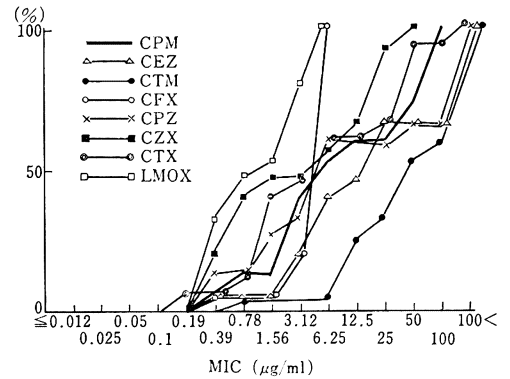


Fig. 23 Sensitivity distribution of clinical isolates, *B. fragilis* 15 strains (Inoculum size: 10^6 cells/ml)



程度で CTM, CEZ より優れていた。

2) 臨床分離株に対する CPM の抗菌力

検討した 22 菌種 523 株に対する CPM の抗菌力の成績を Fig. 24~25 に示した。

接種菌量 10^6 cells/ml において, CPM は *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* に対し強い抗菌力を示し, 全株 0.025 μ g/ml で阻止された。

3.12 μ g/ml 以下で菌株の 80% を阻止できる菌種に *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *A. faecalis*, *K. pneumoniae*, *P. maltophilia* があつた。

6.25 μ g/ml で阻止される菌種は *P. aeruginosa*, *P. cepacia*, *P. mirabilis* にみられ, また 25 μ g/ml を示す菌種は *P. vulgaris*, *P. morganii*, *P. inconstans*, *S. marcescens* に対する抗菌力は弱い。

Fig. 24 *In vitro* activity of CPM against clinical isolates (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

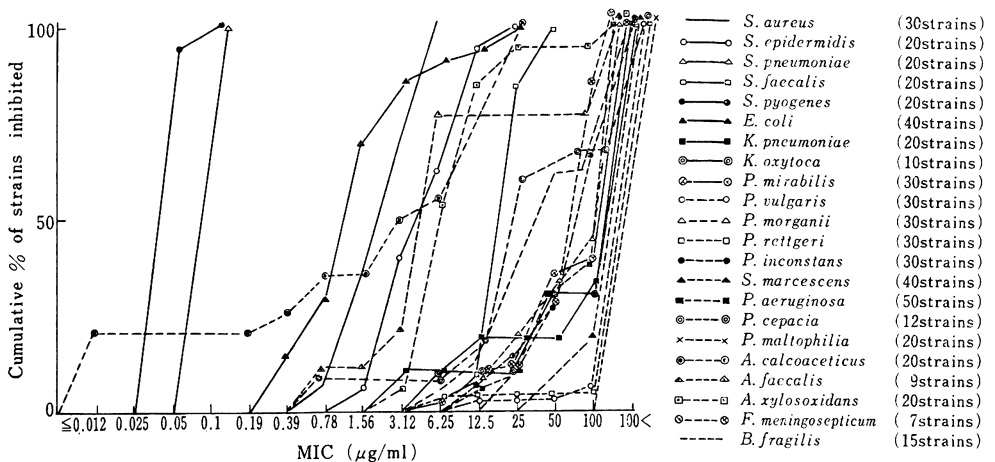
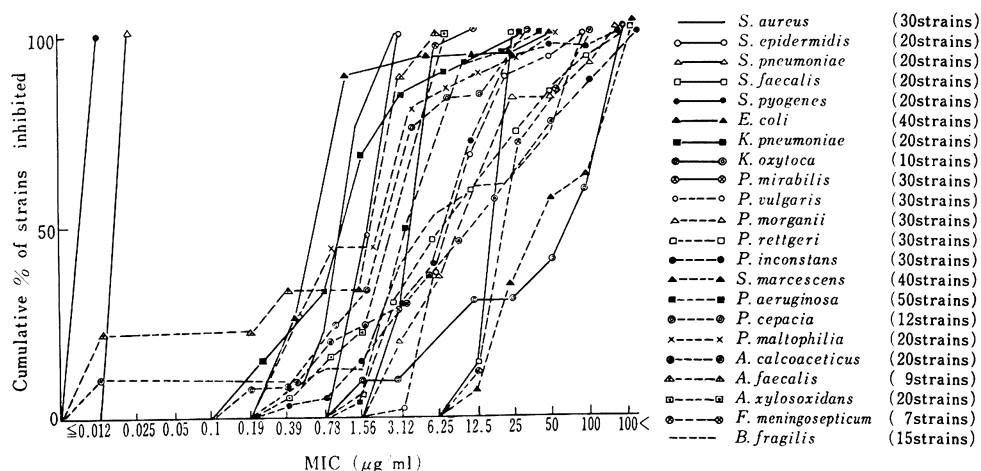


Fig. 25 *In vitro* activity of CPM against clinical isolates (Inoculum size: 10^8 cells/ml)

3. 殺菌作用

E. coli C 11 に対する CPM の殺菌作用を CEZ, CPZ, CTM, CFX, LMOX, CZX, CTX と同時に比較した成績を Fig. 26~29 に示した。

CPM は MIC 添加で, CPZ, CTM と同程度の殺菌作用がみられたが, 9 時間目で再増殖がみられた。しかし 4 MIC 添加では, CPM は添加 24 時間後, 菌は検出されなかった(<10)が, CEZ, CPZ, CTM, CFX, LMOX, CZX, CTX は 4 MIC でも静菌作用のみが認められた。

4. 不活化酵素に対する安定性³⁾

腸内細菌科 9 菌種 13 菌株, *P. aeruginosa* 2 菌株および *B. fragilis* 7 菌株より得られた不活化酵素に対する CPM の安定性を比較した。好気菌では penicillin 系 9 薬剤 cephalosporin 系 14 薬剤, cephamycin 系 2 薬

剤および LMOX と比較した成績を Fig. 30 に, 嫌気菌の *B. fragilis* では penicillin 系 9 薬剤を除いた薬剤と比較した成績を Fig. 31 に示した。

E. cloacae No. 91, *P. vulgaris* GN 76, *P. vulgaris* No. 9, *P. rettgeri* GN 624, *P. aeruginosa* No. 47 に対して CPM は安定であった。しかし, *E. coli* 35, *E. coli* ML 1410 RGN 238, *E. coli* ML 1410 RGN 823, *E. coli* 121, *K. pneumoniae* GN 69, *C. freundii* GN 346, *P. mirabilis* GN 79, *P. inconstans* GN 627, *S. marcescens* No. 78, *P. aeruginosa* No. 11 に対しては不安定で, 作用 4 時間後で約 35% 以上が失活した。また *B. fragilis* の産生する不活化酵素に対して不安定で, LMOX, CZX, CFX, CMZ とくらべて劣っていた。

5. マウス実験感染における防御効果

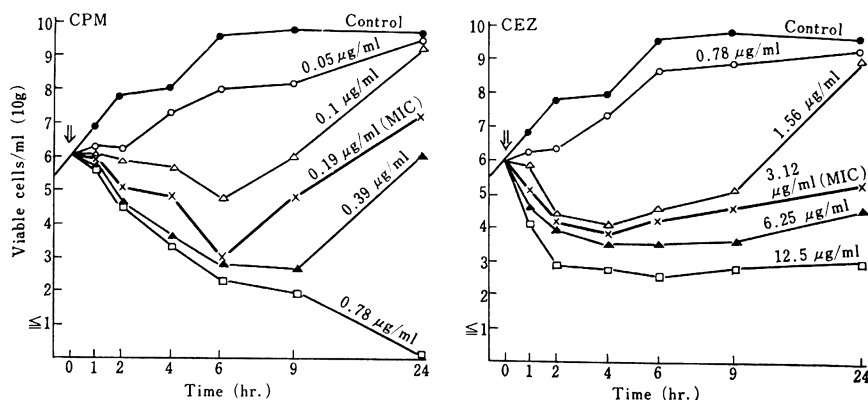
1) *E. coli* 感染Fig. 26 Bactericidal activity of CPM and CEZ against *E. coli* C11

Fig. 27 Bactericidal activity of CPZ and CTM against *E. coli* C 11

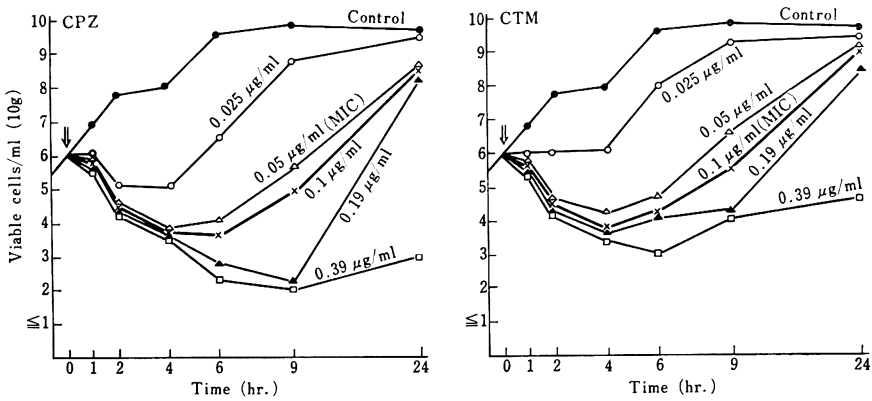


Fig. 28 Bactericidal activity of CFX and LMOX against *E. coli* C 11

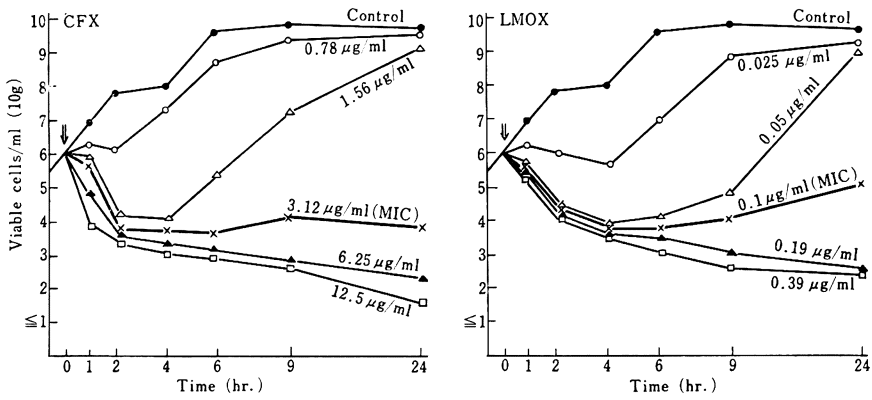
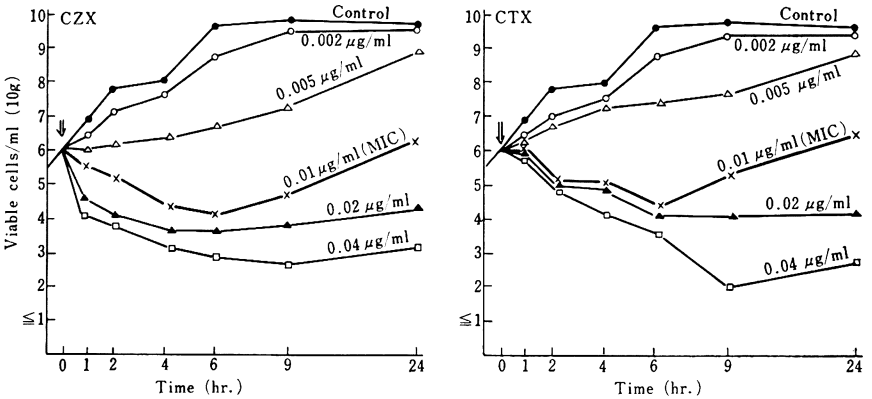


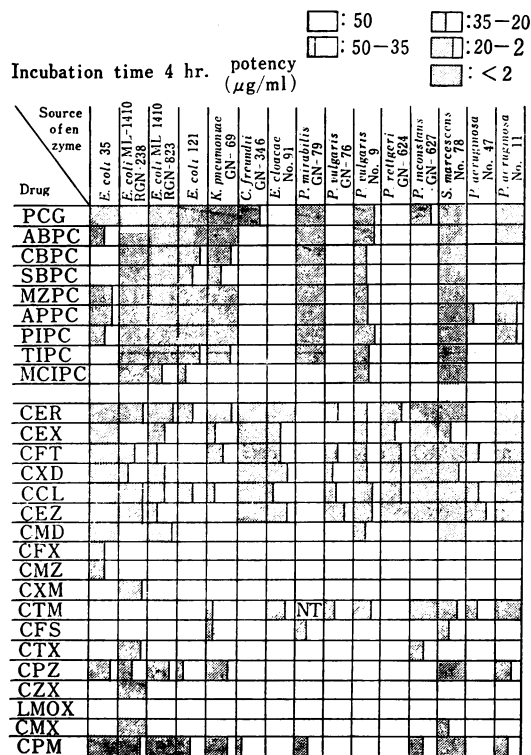
Fig. 29 Bactericidal activity of CZX and CTX against *E. coli* C 11



E. coli C11, *E. coli* No. 94 株を感染菌としたときの
防御効果を ED₅₀ 値で表わし, Table 3~4 に示した。
E. coli C11 株では CPM の ED₅₀ 値は大量菌感染

では, CFX, CPZ, CFS より小さいが, CEZ, CTM,
LMOX, CZX, CTX より大きかった。少量菌感染では
CPM は CTM とほぼ同程度で, CEZ, CFX, CFS よ

Fig. 30 Enzymatic stability of penicillins and cephalosporins



り小さく、CPZ, LMOX, CZX, CTX より大きい ED_{50} 値を示した。

E. coli No. 94 株感染では、CPM の ED_{50} 値は 0.0985 mg/mouse でわずかに CZX より劣るが、他の 7 剤より優れた成績であった。

2) *Serratia* 感染

S. marcescens No. 2 株を感染菌としたときの成績を Table 5 に示した。

大量菌感染、少量菌感染において、CPM は CEZ と同様に治療効果は無効であるが、CTM, CPZ, CFS も ED_{50} 値は大きい値を示した。

3) *P. aeruginosa* 感染

P. aeruginosa PI-67, *P. aeruginosa* E 7 株を感染菌としたときの成績を Table 6, 7 に示した。

P. aeruginosa PI-67 株では、CPM の ED_{50} 値は 1.25mg/mouse を示し、CFS より劣る成績であったが、他の 7 剤より優れた値であった。

P. aeruginosa E 7 株では大量菌感染では、CFS のみが治療効果を示したが、少量菌感染では、CPM は CEZ, CFX, CTM, CPZ, LMOX, CZX, CTX に比べ優れた ED_{50} 値を示し、CFS より、わずかに劣る成績で

Fig. 31 Enzymatic stability of cephalosporins

Incubation time 4 hr. potency ($\mu\text{g/ml}$)

Legend:
 □: 35-20
 □: 20-2
 □: 50
 □: 50-35
 □: < 2

Drug	Source of enzyme							
	<i>B. fragilis</i> No. 19	<i>B. fragilis</i> No. 32	<i>B. fragilis</i> No. 48	<i>B. fragilis</i> No. 69	<i>B. fragilis</i> GM7000	<i>B. fragilis</i> GM7002	<i>B. fragilis</i> GM7004	
CER								
CEX								
CFT								
CXD								
CCL								
CEZ								
CMD								
CFX								
CMZ								
CXM								
CTM								
CFS								
CTX								
CPZ								
CZX								
LMOX								
CMX								
CPM								

あった。

6. マウス血清中濃度

CPM, CEZ, CTM, CFX, CZX, CTX, LMOX をそれぞれ 1mg/mouse, 0.5mg/mouse 皮下投与したマウスの血清中濃度の成績を Fig. 32 に示した。

CPM, CZX はともにピークは投与後 5 分で 1mg 投与により 56 $\mu\text{g/ml}$ が認められた。しかし、他の薬剤すなわち CEZ, CTM, CFX, CTX, LMOX では投与後 15 分がピークとなり、1mg 投与では CEZ 110 $\mu\text{g/ml}$, CTM 50 $\mu\text{g/ml}$, CFX 43 $\mu\text{g/ml}$, CTX 60 $\mu\text{g/ml}$, LMOX 98 $\mu\text{g/ml}$ を示し、特に CEZ, LMOX は高い血中濃度が示された。

CPM の血清中濃度は、ピーク値では CEZ, LMOX, より劣るが、持続性に優れ、投与後 1 時間目でも 16 $\mu\text{g/ml}$ を示し、他の 6 剤より高い濃度が認められた。

III. 考 察

CPM はグラム陽性菌、グラム陰性菌に対し広い抗菌スペクトルを有し、特に *Streptococcus* (*S. pyogenes*, *S. pneumoniae*) に強い抗菌力を示す。また腸内細菌科の菌種に対しては新 cephem 剤である CZX, CTX, LMOX などより劣るが、*P. aeruginosa* に対しては CFS とほぼ同程度の強い抗菌力を示した。他のブドウ糖非発酵菌である *P. cepacia*, *P. maltophilia*, *A. calcoaceticus*, *A. faecalis*, *A. xylosoxidans*, *F. meningosepticum* および嫌気性菌の *B. fragilis* に対し比較的優れた抗菌力がみられ、従来の cephalosporin 剤に比べ

Table 3 Protecting effect of CPM against experimental mice infection *E. coli* C11

Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)	5% mucin	Administration			MIC (μ g/ml)		ED ₅₀ (mg/mouse)
			Route	Number	After the infection	10 ⁸	10 ⁶	
CPM	5 × 10 ⁸	—	S. C.	1	1	6.25	0.39	1.25 (1.04~1.50)
	5 × 10 ⁶	+						0.09 (0.06~0.14)
CEZ	5 × 10 ⁸	—	S. C.	1	1	3.12	1.56	0.992 (0.857~1.157)
	5 × 10 ⁶	+						0.394 (0.334~0.466)
CFX	5 × 10 ⁸	—	S. C.	1	1	12.5	1.56	2.5 (1.46~4.26)
	5 × 10 ⁶	+						0.49 (0.21~1.14)
CTM	5 × 10 ⁸	—	S. C.	1	1	3.12	≤0.19	0.62 (0.28~1.32)
	5 × 10 ⁶	+						0.091 (0.06~0.14)
CPZ	5 × 10 ⁸	—	S. C.	1	1	0.78	≤0.19	1.986 (1.649~2.393)
	5 × 10 ⁶	+						0.078 (0.062~0.097)
LMOX	5 × 10 ⁸	—	S. C.	1	1	6.25	≤0.19	0.625
	5 × 10 ⁶	+						0.039 (0.032~0.048)
CZX	5 × 10 ⁸	—	S. C.	1	1	0.78	≤0.19	0.124 (0.11~0.139)
	5 × 10 ⁶	+						0.062 (0.051~0.075)
CTX	5 × 10 ⁸	—	S. C.	1	1	1.56	≤0.19	0.394 (0.34~0.45)
	5 × 10 ⁶	+						0.0061 (0.0053~0.0071)
CFS	5 × 10 ⁸	—	S. C.	1	1	50	25	12.59 (10.45~15.17)
	5 × 10 ⁶	+						10.0 (8.13~12.3)

ED₅₀ : Van der Waerden method.

Mouse: ICR, 4w, ♂, 19 ± 1g, 6animals/ group

MLD : 3 × 10⁸ cells/mouse; 1 × 10⁸ (+) cells/mouse

Table 4 Protecting effect of CPM against experimental mice infection *E. coli* No. 94

Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)	5% mucin	Administration			MIC (μ g/ml)		ED ₅₀ (mg/mouse)
			Route	Number	After the infection	10 ⁸	10 ⁶	
CPM	8 × 10 ⁷	—	S. C.	1	1	0.39	≤ 0.19	0.0985 (0.0851~0.114)
	8 × 10 ⁵	+						0.0492 (0.0418~0.0579)
CEZ	8 × 10 ⁷	—	S. C.	1	1	1.56	0.78	0.788 (0.702~0.884)
	8 × 10 ⁵	+						1.574 (1.235~2.006)
CFX	8 × 10 ⁷	—	S. C.	1	1	1.56	0.78	0.625
	8 × 10 ⁵	+						3.152 (2.808~3.538)
CTM	8 × 10 ⁷	—	S. C.	1	1	0.78	≤ 0.19	0.198 (0.176~0.222)
	8 × 10 ⁵	+						0.787 (0.653~0.948)
CPZ	8 × 10 ⁷	—	S. C.	1	1	6.25	≤ 0.19	0.312 (0.267~0.365)
	8 × 10 ⁵	+						0.006 (0.005~0.007)
LMOX	8 × 10 ⁷	—	S. C.	1	1	≤ 0.19	≤ 0.19	0.156
	8 × 10 ⁵	+						0.0195 (0.0151~0.025)
CZX	8 × 10 ⁷	—	S. C.	1	1	0.39	≤ 0.19	0.039
	8 × 10 ⁵	+						0.0097 (0.0076~0.0124)
CTX	8 × 10 ⁷	—	S. C.	1	1	0.39	≤ 0.19	0.156
	8 × 10 ⁵	+						0.0195 (0.0162~0.0235)
CFS	8 × 10 ⁷	—	S. C.	1	1	50	25	1.25 (1.07~1.46)
	8 × 10 ⁵	+						2.50 (2.01~3.11)

ED₅₀ : Van der Waerden method.
Mouse : ICR, 4w, ♂, 19 ± 1 g 6animals/group
M.I.D : 2 × 10⁷ cells/mouse; 3.2 × 10 (+) cells/mouse

Table 5 Protecting effect of CPM against experimental mice infection *S. marcescens* No.2

Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)	5% mucin	Administration			MIC (μ g/ml)		ED ₅₀ (mg/mouse)
			Route	Number	After the infection	10 ⁸	10 ⁶	
CPM	6.5×10 ⁸	—	S. C.	1	1	>100	>100	>20
	3.3×10 ⁶	+						>20
CEZ	6.5×10 ⁸	—	S. C.	1	1	>100	>100	>20
	3.3×10 ⁶	+						>20
CFX	6.5×10 ⁸	—	S. C.	1	1	>100	25	>20
	3.3×10 ⁶	+						3.968 (3.08~5.11)
CTM	6.5×10 ⁸	—	S. C.	1	1	>100	25	>20
	3.3×10 ⁶	+						12.592 (10.452~15.17)
CPZ	6.5×10 ⁸	—	S. C.	1	1	>100	3.12	>20
	3.3×10 ⁶	+						12.606 (10.188~15.598)
LMOX	6.5×10 ⁸	—	S. C.	1	1	>100	≤0.19	5.0 (4.28~5.84)
	3.3×10 ⁶	+						0.197 (0.151~0.258)
CZX	6.5×10 ⁸	—	S. C.	1	1	>100	≤0.19	>20
	3.3×10 ⁶	+						0.788 (0.637~0.975)
CTX	6.5×10 ⁸	—	S. C.	1	1	>100	0.39	>20
	3.3×10 ⁶	+						1.25 (1.038~1.506)
CFS	6.5×10 ⁸	—	S. C.	1	1	>100	>100	>20
	3.3×10 ⁶	+						7.936 (6.414~9.819)

ED₅₀ : Van der Waerden method.
Mouse : ICR, 4w, ♂, 19±1g, 6animals/group
MLD : 9×10⁷ cells/mouse; 1×10⁵ (+) cells/mouse

Table 6 Protecting effect of CPM against experimental mice infection *P. aeruginosa* PI-67

Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)	5% mucin	Administration			MIC (μ g/ml)		ED ₅₀ (mg/mouse)
			Route	Number	After the infection	10 ⁴	10 ⁵	
CPM	8 × 10 ⁵	+	S. C.	1	1	>100	3.12	1.25 (1.00~1.55)
CEZ	8 × 10 ⁵	+	S. C.	1	1	>100	>100	>40
CFX	8 × 10 ⁵	+	S. C.	1	1	>100	>100	≥40
CTM	8 × 10 ⁵	+	S. C.	1	1	>100	>100	≥40
CPZ	8 × 10 ⁵	+	S. C.	1	1	>100	3.12	2.504 (1.976~3.172)
LMOX	8 × 10 ⁵	+	S. C.	1	1	>100	12.5	6.303 (5.094~7.799)
CZX	8 × 10 ⁵	+	S. C.	1	1	>100	12.5	>40
CTX	8 × 10 ⁵	+	S. C.	1	1	>100	12.5	>40
CFS	8 × 10 ⁵	+	S. C.	1	1	>100	1.56	0.496 (0.3851~0.6389)

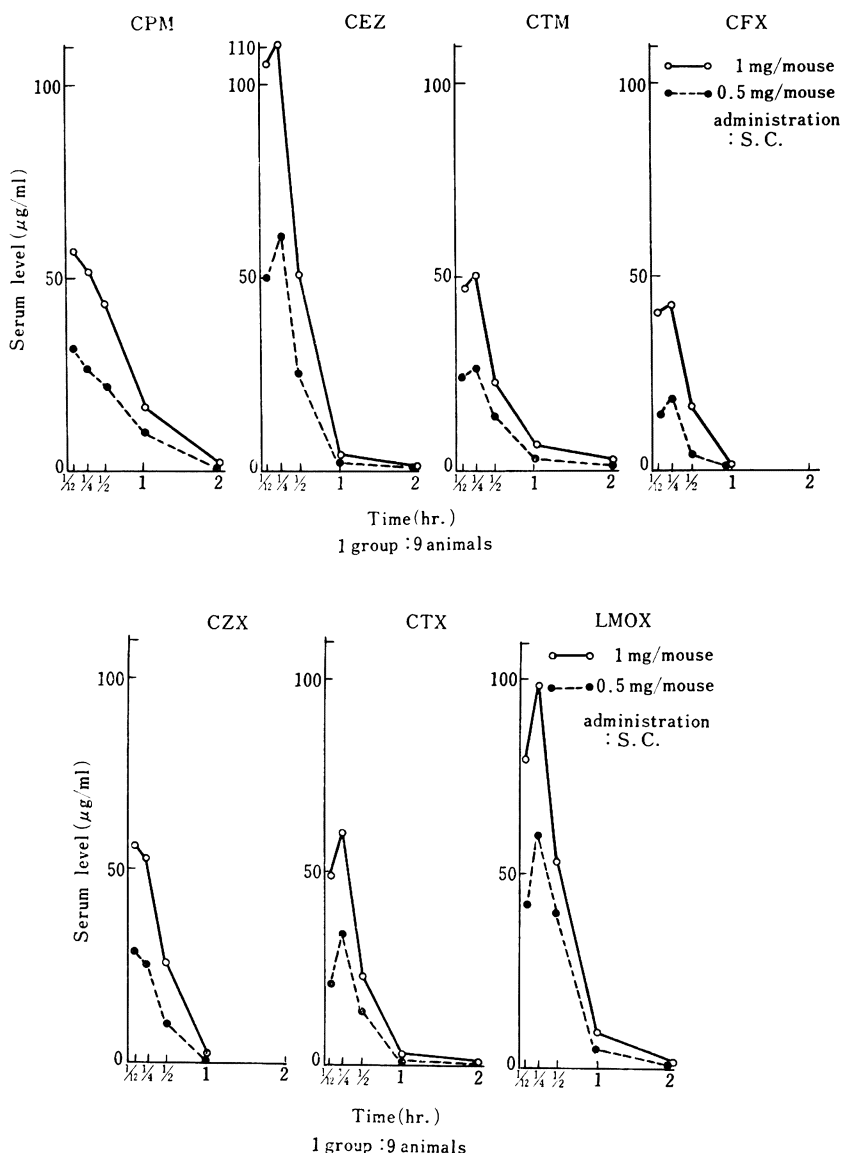
ED₅₀ : Van der Waerden method.
Mouse : ICR, 4w, ♂, 19±1g 6animals/group
MLD : 9 × 10⁴ (+) cells/mouse

Table 7 Protecting effect of CPM against experimental mice infection *P. aeruginosa* E7

Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)	5% mucin	Administration			MIC (μ g/ml)		ED ₅₀ (mg/mouse)
			Route	Number	After the infection	10 ⁸	10 ⁵	
CPM	1.6 $\times$ 10 ⁷	—	S. C.	1	1	>100	6.25	>40
	2.1 $\times$ 10 ³	+						1.25 (0.99~1.56)
CEZ	1.6 $\times$ 10 ⁷	—	S. C.	1	1	>100	>100	>40
	2.1 $\times$ 10 ³	+						>40
CFX	1.6 $\times$ 10 ⁷	—	S. C.	1	1	>100	>100	>40
	2.1 $\times$ 10 ³	+						20
CTM	1.6 $\times$ 10 ⁷	—	S. C.	1	1	>100	>100	>40
	2.1 $\times$ 10 ³	+						>40
CPZ	1.6 $\times$ 10 ⁷	—	S. C.	1	1	>100	12.5	>40
	2.1 $\times$ 10 ³	+						20 (16.9~23.5)
LMOX	1.6 $\times$ 10 ⁷	—	S. C.	1	1	>100	50	20
	2.1 $\times$ 10 ³	+						2.5 (1.93~2.24)
CZX	1.6 $\times$ 10 ⁷	—	S. C.	1	1	>100	100	>40
	2.1 $\times$ 10 ³	+						40
CTX	1.6 $\times$ 10 ⁷	—	S. C.	1	1	>100	50	>40
	2.1 $\times$ 10 ³	+						>40
CFS	1.6 $\times$ 10 ⁷	—	S. C.	1	1	>100	3.12	7.94 (6.46~9.77)
	2.1 $\times$ 10 ³	+						0.788 (0.611~1.015)

ED₅₀ : Van der Waerden method.
Mouse : ICR, 4w, ♂, 19 $\pm$ 1g, 6animals/group
MLD : 5 $\times$ 10⁵ cells/mouse; 5.5 $\times$ 10² (+) cells/mouse

Fig. 32 Serum level of mice (Administration: s.c.)



広域の抗生剤であることが認められた。

マウス実験感染での成績は *in vitro* における MIC と、殺菌作用の成績はほとんどの菌株で相関していたが、*E. coli* C 11 を感染菌とした場合、CPM の *in vitro* 抗菌力が CTM より劣っているが、*in vivo* における ED₅₀ 値は CPM が小さい値を示している。この理由は、*in vitro* における殺菌作用は CPM が CTM より強く、マウス血清中濃度のピークは CPM と CTM とほぼ同程度の成績であるが、投与 1 時間後の血清中濃度は CPM が CTM の 2 倍の高い値を示すことが考えられる。

以上 CPM の *in vitro*, *in vivo* の成績から、従来の cephem 剤に感受性の弱かった *P. aeruginosa* に対し、CFS と同程度の優れた抗菌力を示し、マウスでの血中持続性が他の cephem 剤より優れており、臨床での有用性が期待される。

文 献

- 1) 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法。Chemotherapy 23: 1~2, 1975
- 2) 嫌気性菌 MIC 測定法委員会：嫌気性菌の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法。Chemotherapy 27: 559~560, 1979

- 3) 吉田 勇, 小川正俊, 宮崎修一, 西勝恵子, 五島瑳智子: グラム陰性桿菌の産生する不活化酵素

に対する各種 β -lactam 系薬剤の安定性。Chemotherapy 29: 865~879, 1981

BACTERIOLOGICAL EVALUATION OF CEFPIRAMIDE (SM-1652),
A NEW BROAD-SPECTRUM CEPHALOSPORIN WITH
ANTIPSEUDOMONAL ACTIVITY: *IN VITRO* AND
IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITY

SACHIKO GOTO, MASATOSHI OGAWA, SHUICHI MIYAZAKI,
AKIYOSHI TSUJI and SHOGO KUWABARA

Department of Microbiology, School of Medicine, Toho University

The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of cefpiramide (CPM, SM-1652), a new cephalosporin antibiotic, against gram-positive and gram-negative bacteria were compared with cefazolin, cefotiam, cefoxitin, ceftizoxime, cefotaxime and latamoxef.

Cefpiramide showed a particularly broad antibacterial spectrum against gram-positive and gram-negative bacteria, especially showed a greatest antibacterial activity against *P. aeruginosa*.

Cefpiramide showed a antibacterial activity against *P. cepacia*, *P. maltophilia*, *A. calcoaceticus*, *A. faecalis*, *A. xylosoxidans*, *F. meningosepticum* and *B. fragilis* these were shown low sensibility to other cephalosporins.

In vivo therapeutic effect of cefpiramide in experimental systemic infection in mice due to *E. coli* was similar to cefotiam. In the infections due to *P. aeruginosa* that no therapeutic effect was shown to cefazolin, cefoxitin, cefotiam, ceftizoxime and cefotaxime, cefpiramide was superior to cefoperazone and latamoxef, while it was inferior to cefsulodin.