

Cefpiramide (SM-1652) の嫌気性菌に対する抗菌作用

磯野美登利・山田 寿・青木 誠

沢 赫代・渡辺邦友・上野一恵

岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設

新しく開発された cephalosporin 系抗生剤である Cefpiramide (CPM, SM-1652) の嫌気性菌に対する抗菌力を検討した。

本剤の嫌気性菌に対する抗菌力及び抗菌スペクトラムは、CPZ とほぼ同等であった。即ち、 β -lactamase 産生性の *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron* および *E. lentum* には抗菌作用はほとんど認められなかったが、*B. fragilis* group 以外の *Bacteroides*, 嫌気性の球菌, *C. ramosum*, *C. clostridiiforme* に対しては強い抗菌作用をみとめた。

臨床分離株の cephem 系抗生剤 (CFX, CMZ, LMOX, CTT, CTX, CZX, CMX, CEZ, CMD, CPZ) に対する感受性分布を CPM と比較した。*B. fragilis* (136 株) では、CPM の MIC₅₀ は 8 μ g/ml, MIC₉₀ は >128 μ g/ml を示し、抗菌力の強さは LMOX>CTT>CFX>CMZ>CZX>CTX $\approx$ CMX>CPM $\approx$ CPZ>CEZ>CMD の順であった。*B. thetaiotaomicron* (29 株) では、CPM の MIC₅₀ は 64 μ g/ml, MIC₉₀ は 128 μ g/ml を示し、他の cephem 系 10 剤とほぼ同等であった。*Fusobacterium* sp. (24 株) では CPM の MIC₅₀ は 0.031 μ g/ml, MIC₉₀ は 1 μ g/ml を示し、CMX より大きく CMZ, CTX と同等であり、その他の薬剤よりはすぐれた抗菌力を示した。*C. perfringens* (13 株), *P. magnus* (18 株), *Peptococcus* sp. (21 株) においても CPM の MIC₅₀ は 0.125~2.0 μ g/ml, MIC₉₀ は 1.0~8.0 μ g/ml で優れた抗菌力を示した。*C. difficile* (34 株) では CPM の MIC₅₀ は 16 μ g/ml, MIC₉₀ は 32 μ g/ml で cephamycin 系, oxime-cephalosporin 系抗生剤より若干優れた抗菌力を示した。Cephalosporin 系抗生剤のうちでは CEZ=CMD>CPM>CPZ の順に抗菌力が優れていた。

CPM は *B. fragilis* の産生する β -lactamase に不安定であった。その加水分解速度は CEZ を 100 とした場合 40~50 であった。

対数増殖後期の β -lactamase 産生性の *B. fragilis* (10⁸ cfu/ml) に 1/2 MIC, 1 MIC および 2 MIC の本剤を接触させると、2 MIC 濃度においても静菌の効果しかみられず、3 時間後には再増殖がみられた。

B. fragilis は本剤含有培地の継代培養で step by step に耐性を獲得し、13 代継代後には 4~8 倍 MIC 値が上昇した。

ICR 系マウスに本剤を 1 日 2 mg, 7 日間皮下注射したところ、盲腸内に *C. difficile* の異常増殖をみとめた。

新しく開発された cephalosporin 系抗生剤である Cefpiramide (CPM, SM-1652) は、幅広い抗菌スペクトラムを有し、特に緑膿菌を含むブドウ糖非発酵性グラム陰性桿菌に対して強い抗菌力を示すのが特徴である¹⁾。著者らは本剤の嫌気性菌に対する抗菌力と本剤投与マウスの盲腸内における *C. difficile* の異常増殖性について検討した。

実験材料と方法

1. 供試菌株

研究室保存の代表菌株および当研究室で臨床材料から

分離した嫌気性菌を用いた。臨床分離株は各種生化学的性状とブドウ糖の終末代謝産物としての低級脂肪酸をガスクロマトグラフィーによる分析結果から同定されたものである。これらの菌株は 20% スキムミルクを保護剤として -80°C の超低温庫で保存された²⁾。

2. 供試培地

増菌用には GAM ブロース (ニッスイ), 薬剤感受性測定には GAM 寒天培地 (ニッスイ) と 5% 血液加 Brucella 寒天培地を用いた。

3. 嫌気性培養法

各種薬剤の抗菌作用の測定には、anaerobic glove box (N_2 80%, CO_2 10%, H_2 10%) を用いて嫌気性培養を行なった。

4. 供試薬剤

実験に用いた cephem 系抗生剤は、いずれも力価の明らかな、下記の薬剤を用いた。

Cefpiramide (CPM) 902 μ g (力価)/mg: 山之内製薬

Cefazolin (CEZ) 954 μ g (力価)/mg: 藤沢薬品

Cefamandole (CMD) 940 μ g (力価)/mg: 塩野義製薬

Cefoperazone (CPZ) 930 μ g (力価)/mg: 富山化学

Cefotaxime (CTX) 912.8 μ g (力価)/mg: ヘキスト

Ceftizoxime (CZX) 863 μ g (力価)/mg: 藤沢薬品

Cefmenoxime (CMX) 945 μ g (力価)/mg: 武田薬品

Cefoxitin (CFX) 980 μ g (力価)/mg: 日本メルク万有

Cefmetazole (CMZ) 940 μ g (力価)/mg: 三共

Cefotetan (CTT) 909 μ g (力価)/mg: 山之内製薬

Latamoxef (LMOX) 924 μ g (力価)/mg: 塩野義製薬

5. 薬剤の最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

原則として日本化学療法学会の定める方法に従ったが、薬剤濃度は培地の最終濃度が 128 μ g/ml $\sim$ 0.031 μ g/ml になるように2倍希釈法で希釈した。接種菌量は被検菌の GAM ブイオン 24 時間培養菌を 10^8 cfu/ml に希釈し、ミクロプランターにて接種した。Anaerobic glove box (N_2 80%, CO_2 10%, H_2 10%) 内で 37°C 24 時間嫌気培養後、MIC を測定した³⁾。

6. 薬剤含有培地の継代による耐性上昇

薬剤を 0.2, 0.39, 0.78, 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200, 400, 800 μ g/ml 含有する系列の GAM 半流動高層寒天培地を作製し、この1系列の培地に被検菌株の GAM ブイオン、24 時間嫌気培養した菌液の夫々1白金耳量を接種した。24 時間培養後、対照の薬剤非含有培地の発育とほぼ同程度に発育した最高薬剤含有培地の発育菌を上記の新しい各種薬剤濃度含有培地の1系列に、再び白金耳で移植した。

使用菌株は β -lactamase 産生性の強い *B. fragilis* GAI 0536 株と β -lactamase 産生性の極めて弱い *B. fragilis* GAI 0548 株を用いた。前者は、後述する菌由来の粗酵素液で CPM を強く加水分解し、後者はほとんど分解しない菌株である。

使用した薬剤は CPM と比較薬剤として CEZ および LMOX を用いた。

7. *B. fragilis* GAI 0548 株の増殖曲線に及ぼす影響

GAM ブイオンに β -lactamase 産生性の極めて弱い *B. fragilis* GAI 0548 株を接種して嫌気培養、対数増殖後期に CPM の 1/2 MIC, 1 MIC, 2 MIC 濃度を加

え、1 時間、3 時間、24 時間後の菌数の変動を定量培養法によって検討した。対照薬剤として CFX を用い比較検討した。本実験における培養操作は、すべて anaerobic glove box 内の嫌気性環境下で実施した。

8. *B. fragilis* の形態変化

β -Lactamase 産生性の強い *B. fragilis* GAI 0562 株と β -lactamase 産生性の弱い *B. fragilis* GAI 0548 株を用いた。各種薬剤の 0.1, 0.2, 0.39, 0.78, 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 μ g/ml 含有の GAM ブイオンに被検菌を接種、37°C、24 時間嫌気培養後に、各薬剤濃度のところの発育菌について形態を位相差顕微鏡で観察した。

CPM のほか、比較薬剤として CEZ, Ceftazidime (CAZ), T-1982, LMOX を用いた。

9. *B. fragilis* の β -lactamase に対する安定性

β -Lactamase 産生性の *B. fragilis* 5 株を用いて CPM, CEZ, CPZ, CAZ, CTX, T-1982 に対する β -lactamase 活性を macroiodometry によって測定した。

B. fragilis は GAM ブイオンにて 37°C、24 時間培養した菌体を用いた。集菌後、超音波にて菌体を破壊、高速遠心機にて 4°C で遠心、上清液を粗酵素液として用いた。

10. CPM 投与マウス盲腸内容物中における *C. difficile* の異常増殖

ICR マウス、18g $\pm$ 1g, 1 群 5 匹を用いて各種 cephem 系抗生剤を 2mg 1 日 1 回、7 日間皮下注射した。投薬終了 1 日後にマウスを屠殺し、盲腸内容物中の *C. difficile* の菌数を定量培養法により検討した。*C. difficile* の選択培地は小林による変法 CCFA 培地を用いた⁴⁾。培養操作はすべて anaerobic glove box 内で実施した。

CPM の比較薬剤として CTX, CMX, CXM, CTM, CEZ, CPZ, CER, CET, CFX, CMZ, LMOX, CTT, T-1982 を用いた。

実験成績

1. 抗菌スペクトラム

研究室保存の嫌気性菌に対する CPM の抗菌力を CPZ, CFX, LMOX, ABPC, CP-45899 と比較した成績を Table 1 に示した。

CPM は *B. fragilis*, *B. thetaotaomicron*, *E. lentum* のうち β -lactamase 産生株に対して LMOX, CFX, ABPC よりやや大きい、CPZ とほぼ同程度の MIC 値を示した。しかし β -lactamase 非産生性の *Bacteroides* をはじめ、*Clostridium*, *Propionibacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, 嫌気性の *Streptococcus* の各被検菌株には LMOX, CFX, ABPC, CPZ, CP-45899 と同等の MIC 値を示し、極めて優れた抗菌

Table 1 Antibacterial spectra of CPM and other antimicrobials against anaerobes

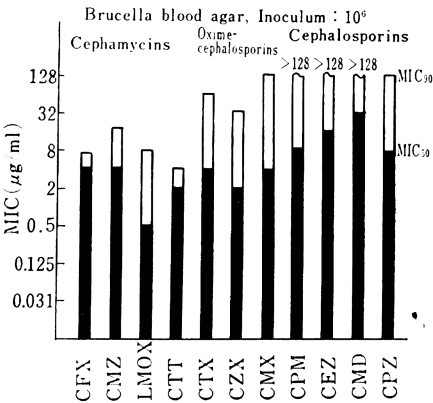
Organisms	MIC (μg/ml)					
	CPM	CPZ	CP-45899	CFX	LMOX	ABPC
<i>B. fragilis</i> GAI-1861	100	50	25	100	1.56	12.5
<i>B. fragilis</i> GAI-1552	6.25	50	25	12.5	0.78	12.5
<i>B. thetaiotaomicron</i> GAI-1669	100	100	12.5	12.5	6.25	100
<i>B. thetaiotaomicron</i> GAI-1562	25	25	12.5	6.25	12.5	12.5
<i>B. bivius</i> GAI-1708	0.20	0.39	1.56	0.20	0.20	0.05
<i>B. bivius</i> GAI-1917	3.13	6.25	1.56	0.39	1.56	50
<i>B. melaninogenicus</i> GAI-1766	0.39	0.39	3.13	0.20	0.10	0.05
<i>E. lentum</i> GAI-1505	100	100	100	12.5	100	3.13
<i>C. clostridiiforme</i> GAI-1511	0.39	0.39	100	6.25	1.56	0.78
<i>C. ramosum</i> GAI-1512	0.20	0.39	25	25	12.5	0.39
<i>P. acnes</i> GAI-1939	0.025	0.025	0.20	0.025	0.05	0.025
<i>P. magnus</i> GAI-1508	0.025	0.025	0.39	0.20	0.10	0.025
<i>P. prevotii</i> GAI-1667	0.78	1.56	50	0.39	3.13	0.20
<i>P. asaccharolyticus</i> GAI-1684	0.39	0.20	6.25	0.20	0.10	0.05
<i>P. micros</i> GAI-1678	3.13	0.025	12.5	0.78	3.13	0.10
<i>P. anaerobius</i> GAI-1507	0.78	1.56	12.5	0.39	3.13	0.10
<i>S. morbillorum</i> GAI-1415	0.39	0.20	1.56	0.05	0.20	0.05
<i>S. intermedius</i> GAI-1115	0.78	0.39	50	3.13	6.25	0.20

力をみとめた。

2. 臨床分離株に対する抗菌力

Cephamycin 系抗生剤のうち CFX, CMZ, CTT, oxacephem 系である LMOX, oxime-cephalosporin 系の CTX, CZX, CMX, cephalosporin 系の CEZ, CMD, CPZ を比較薬剤として用い CPM と抗菌力を比較検討し, 50% および 90% の菌株の発育を阻止する MIC 値を Fig. 1~7 に示した。

Fig.1 *In vitro* activity of CPM and other antibiotics against *B. fragilis* (136 strains)



最近, 臨床材料から分離した *B. fragilis* 136 株の成績は Fig. 1 に示す如く, cephamycin 系の抗生剤が最も優れ, ついで oxime-cephalosporin 系抗生剤である。Cephalosporin 系抗生剤では CPM と CPZ はほぼ同等の MIC 値で CEZ, CMD より優れており, 両剤の MIC₅₀ はともに 8μg/ml であったが MIC₉₀ は CPM で >128 μg/ml, CPZ で 128μg/ml を示した。

B. thetaiotaomicron 29 株の成績を Fig. 2 に示した。

Fig.2 *In vitro* activity of CPM and other antibiotics against *B. thetaiotaomicron* (29 strains)

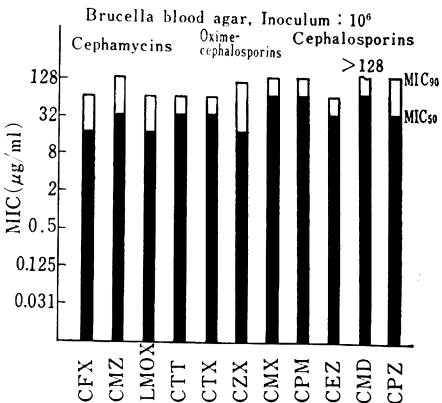


Fig. 3 *In vitro* activity of CPM and other antibiotics against *Fusobacterium* sp. (24 strains)

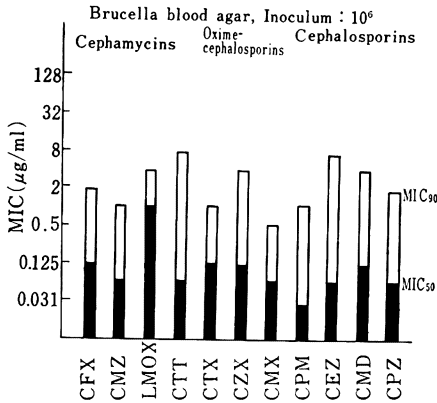


Fig. 4 *In vitro* activity of CPM and other antibiotics against *P. magnus* (18 strains)

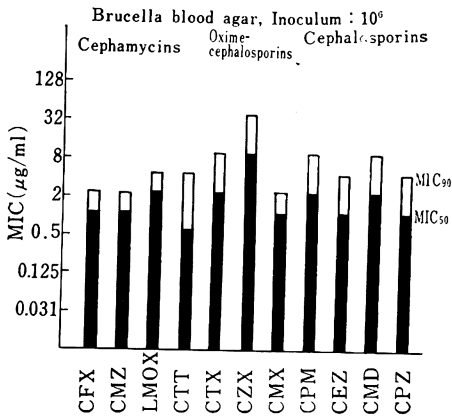
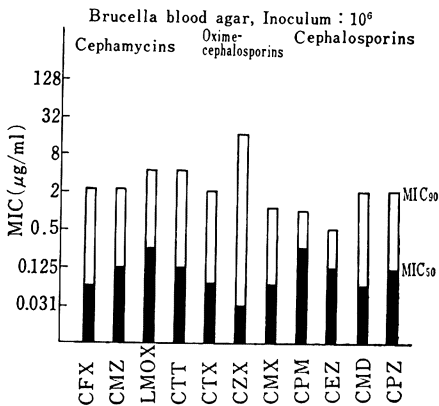


Fig. 5 *In vitro* activity of CPM and other antibiotics against *Peptococcus* sp. (21 strains)



Cephameycin 系, oxime-cephalosporin 系, cephalosporin 系抗生剤も *B. thetaiotaomicron* に対しては,

Fig. 6 *In vitro* activity of CPM and other antibiotics against *C. perfringens* (13 strains)

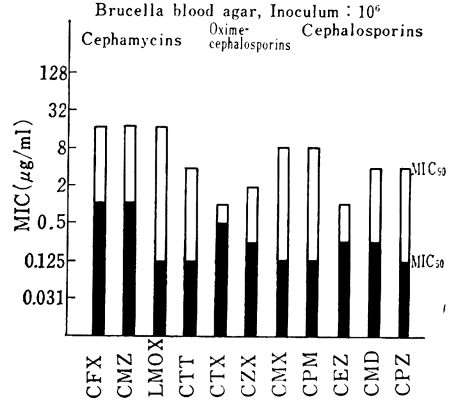
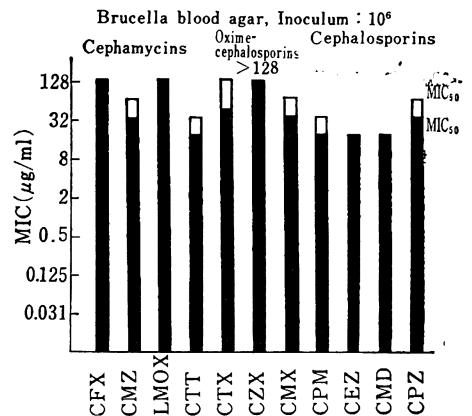


Fig. 7 *In vitro* activity of CPM and other antibiotics against *C. difficile* (34 strains)



ほぼ同程度の抗菌力を示した。CPM は CMD より優れ、CMX, CPZ とほぼ同等の MIC 値を示した。

Fusobacterium sp. 24 株の成績を Fig. 3 に示した。*Fusobacterium* sp. とは *F. nucleatum*, *F. necrophorum*, *F. varium*, *F. mortiferum*, *F. rassii* を含んでいる。*Fusobacterium* sp. は cephem 系のいずれの薬剤に対しても極めて感受性である。とくに CPM の MIC₅₀ は最も優れており 0.031 $\mu\text{g/ml}$, MIC₉₀ においても 1 $\mu\text{g/ml}$ を示し、本剤は *Fusobacterium* sp. に対しては比較薬剤中もっとも抗菌力が強いことがみとめられた。

P. magnus 18 株の成績を Fig. 4 に示した。*P. magnus* は cephem 系抗生剤に対して優れた感受性を示すが、CPM の MIC₅₀ は 2 $\mu\text{g/ml}$, MIC₉₀ は 8 $\mu\text{g/ml}$ で、抗菌力の強いことがみとめられ、CMD, CTX とほぼ同等の抗菌力を示した。その他の *Peptococcus* sp. 21 株

の成績を Fig. 5 に示した。 *Peptococcus* sp. とは *P. prevotii*, *P. asaccharolyticus*, *P. saccharolyticus* などを含んでいる。嫌気性の球菌は cephem 系抗生剤に極めて強い感受性を示した。CPM の MIC₅₀ は 0.25 $\mu\text{g/ml}$, MIC₉₀ は 1 $\mu\text{g/ml}$ を示した。

C. perfringens 13 株の成績を Fig. 6 に示した。CPM は *C. perfringens* に対して強い抗菌力を示し, MIC₅₀ は 0.125 $\mu\text{g/ml}$, MIC₉₀ は 8 $\mu\text{g/ml}$ で CMX と同等, MIC₅₀ においては LMOX, CTT と同程度であった。

C. difficile 34 株の成績を Fig. 7 に示した。Cephem 系抗生剤はすべて *C. difficile* に対する抗菌力が弱い。なかでも CPM は CEZ, CMD, CTT と同様に, 他の cephem 剤よりは抗菌力があり, MIC₅₀ は 16 $\mu\text{g/ml}$ を示した。

3. 薬剤含有培地継代による耐性の上昇

β -Lactamase 産生性の強い *B. fragilis* GAI 0536 株と β -lactamase 産生性の弱い *B. fragilis* GAI 0548 株ともに CPM と比較薬剤である CEZ, LMOX に対して step by step に耐性が上昇したが耐性上昇の程度はそれ程強くなかった (Fig. 8)。 *B. fragilis* GAI 0536 株は CPM に対して13代継代後に 200 $\mu\text{g/ml}$ から 1,600 $\mu\text{g/ml}$ に上昇した。しかし *B. fragilis* 0548 株では CPM に対しては 13 代継代後で 50 $\mu\text{g/ml}$ から 200 $\mu\text{g/ml}$ まで発育可能となったが, CEZ に対しては 14 代継代後に 6.25 $\mu\text{g/ml}$ から 400 $\mu\text{g/ml}$ まで発育可能となり耐性上昇率は他剤より高かった。LMOX では 14 代継代によって 0.2 $\mu\text{g/ml}$ から 1.25 $\mu\text{g/ml}$ まで増殖可能となり, CPM と同様に 3 管耐性が上昇したのみであった。

4. *B. fragilis* の増殖曲線に及ぼす影響

β -Lactamase 産生性の弱い *B. fragilis* GAI 0548 株の対数増殖後期に CPM と比較薬剤の CFX を 1/2 MIC, 1 MIC, 2 MIC 量添加して, その後の菌増殖に及ぼす影響を生菌数の変動から検討した成績を Fig. 9, 10 に示した。

CFX では 1 MIC 濃度以上の添加で殺菌効果がみとめられたが, CPM では 2 MIC 濃度添加でも殺菌効果はみとめられなかった。CPM の 1/2, 1, 2 MIC 濃度の添加によって, 生菌数は一旦減少するが 3 時間以後再増殖がみとめられた。

5. 薬剤培地中での *B. fragilis* の形態変化

CPM と比較薬剤として CEZ, CAZ, T-1982, LMOX の各種濃度を含有した GAM ブイオン中に β -lactamase 産生性の強い *B. fragilis* GAI 0562 株, β -lactamase 産生性の弱い *B. fragilis* GAI 0548 株を夫々接種し, 37°C 24 時間嫌気培養後に発育した菌の形態を観察し, Fig. 11, 12 に示した。

Fig. 8 Development of resistance of *B. fragilis* (GAI-0548 & GAI-0536) to CPM, CEZ and LMOX in vitro

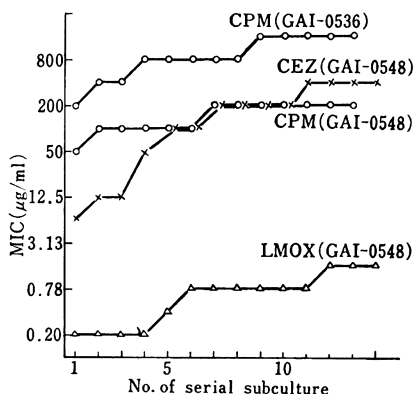


Fig. 9 Effect of CPM on growth curve of *B. fragilis* GAI-0548

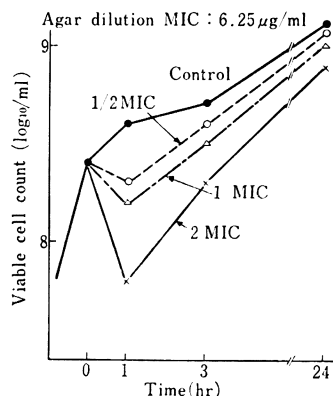
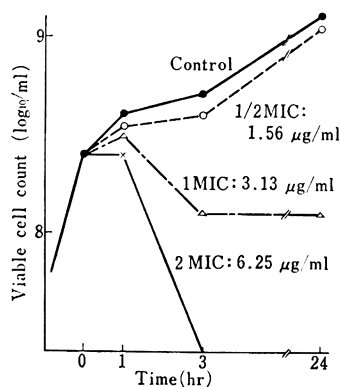


Fig. 10 Effect of CFX on growth curve of *B. fragilis* GAI-0548



β -Lactamase 産生性の強い *B. fragilis* GAI 0562 株の成績は Fig. 11 に示した。いずれの薬剤においても寒天培地での MIC 値とブイオン培地での MIC 値に差が

みとめられたが、CPM, CEZ, CAZ は T-1982, LMOX より差が著しい。

また CPM, CEZ, CAZ はフィラメント形成が著しいのに対し、T-1982, LMOX ではスフェロプラスト形成がみられた。

一方、 β -lactamase 産生性の弱い *B. fragilis* GAI 0548 株の成績を Fig. 12 に示した。 β -lactamase 産生性の強い *B. fragilis* よりも寒天培地での MIC 値とブイヨン培地での MIC 値の差が大きいことが認められた。とくに CPM において著しい。さらに β -lactamase 産生性の弱い菌株では CPM の環境下ではスフェロプラ

スト形成と溶菌が起こるのが特徴的であった。

6. *B. fragilis* の β -lactamase に対する安定性、CPM の *B. fragilis* の β -lactamase に対する安定性を CEZ, CPZ, CAZ, CTX, T-1982 を比較薬剤として検討し Fig. 13~17 に示した。CPM は *B. fragilis* の β -lactamase によって加水分解されることがみとめられ

Fig. 13 β -Lactamase activity of *B. fragilis* (GAI-0830)

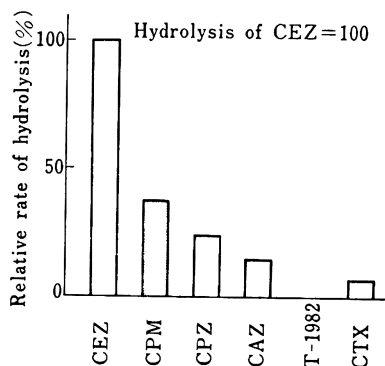


Fig. 14 β -Lactamase activity of *B. fragilis* (GAI-0548)

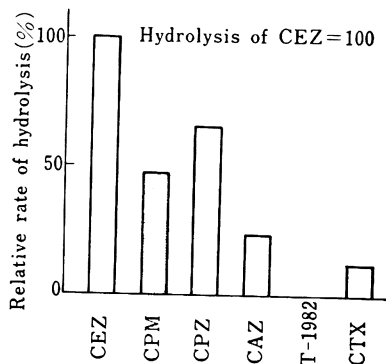


Fig. 15 β -Lactamase activity of *B. fragilis* (GAI-0511)

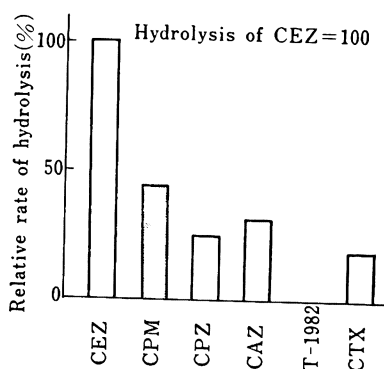


Fig. 11 Morphological changes at various concentration of CPM, CEZ, CAZ, T-1982 and LMOX

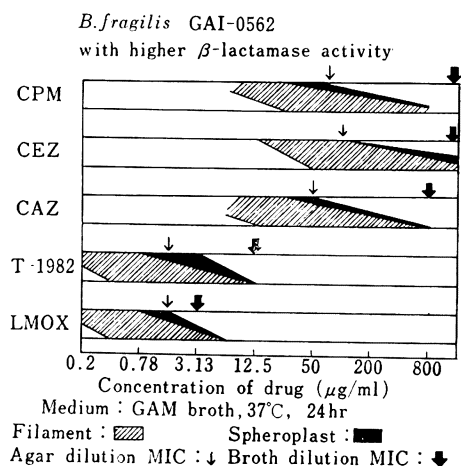


Fig. 12 Morphological changes at various concentration of CPM, CEZ, CAZ, T-1982 and LMOX

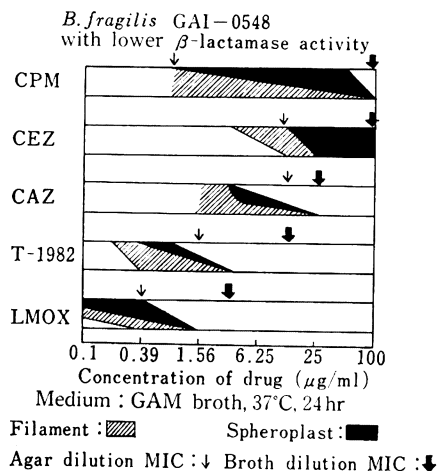
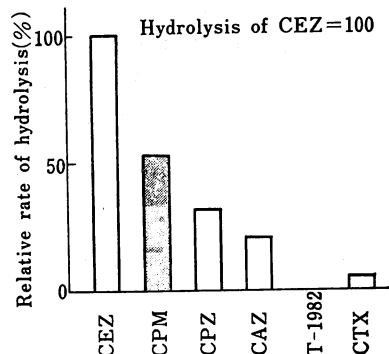
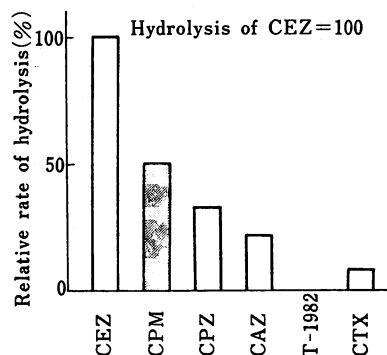


Fig. 16 β -Lactamase activity of *B. fragilis* (GAI-0763)Fig. 17 β -Lactamase activity of *B. fragilis* (GAI-0556)

た。CEZ よりは安定であるが、T-1982, CTX, CAZ より不安定で CPZ よりも若干不安定か、同等の成績を示した。

7. CPM 投与マウス盲腸内容物中における *C. difficile* の異常増殖

CPM をはじめ各種の cephem 系抗生剤投与によるマウス盲腸内容物中の *C. difficile* の異常増殖を Fig. 18 に示した。CPM は CTX, CMX, LMOX, CXM, CTM と同様に *C. difficile* の異常増殖がみとめられた。

考 察

CPM は住友化学工業株式会社と山之内製薬株式会社により共同開発された新しい cephalosporin 系抗生物質で、好気性菌に対してはグラム陽性球菌に CEZ よりは若干劣るが、CPZ, CMZ と同程度の抗菌力である¹⁾。好気性のグラム陰性菌に対しては、CEZ よりは優れているが、CPZ, CTX, CMZ より若干劣っている。しかし、*Pseudomonas* 属、*Acinetobacter* 属には優れた抗菌力を持っている¹⁾。好気性菌の β -lactamase のうち典型的なセファロスポリナーゼに対しては極めて安定で

Fig. 18 Appearance of *C. difficile* in caecum content of mice administered various cephem-antibiotics

Drug	Recovery of <i>C. difficile</i>					Rate of Appearance of <i>C. difficile</i> (%)				
	4+	3+	2+	1+	-	20	40	60	80	100
CPM	5									
CTX	5									
CMX	5									
LMOX	5									
CXM	4	1								
CTM	5									
CFX	2	3								
CEZ			1	4						
T-1982				4	1					
CPZ	1		2	2						
CMZ			3	2						
CER			2	3						
CET			1	4						
CTT					5					

Medication: Dose 2mg/ml/day, Route s.c., Term 7 days

*4+: 10^4 or more/plate, 3+: $10^3 \sim 10^4$ /plate, 2+: $10^2 \sim 10^3$ /plate, 1+: $10^1 \sim 10^2$ /plate, -: no growth

あるが、*S. marcescens* のセファロスポリナーゼに対しては若干加水分解される。セフロキシム水解型セファロスポリナーゼに対しても若干不安定である。ペニシリンナーゼに対しては I 型に多少不安定であるが、他の型には安定である¹⁾。

著者らは上記のような特徴をもっている CPM の嫌気性菌に対する抗菌力を cephamycin 系, oxime-cephalosporin 系, cephalosporin 系の各種抗生剤を比較薬剤として検討した。

B. fragilis は臨床材料から最も多く分離される嫌気性菌であって、多くの菌株は β -lactamase を産生する。本剤はこの *B. fragilis* には CPZ とほぼ同程度の抗菌力をもっていて、cephamycin 系, oxime-cephalosporin 系抗生剤より多少抗菌力が劣っている。しかし、その他の嫌気性菌においては他剤と殆んど同等の抗菌力を示した。近年、産婦人科領域の感染症からは *B. biviaus* が高頻度に分離され、*B. biviaus* はこの領域の感染症の重要な原因菌の 1 つとして注目されてきた²⁾。*B. biviaus* は *B. fragilis* と異なった β -lactamase 産生株が多いが、CPM はこの *B. biviaus* に対しても ABPC, CPZ より抗菌力が優れていた。

一方、近年抗生剤投与による副作用の 1 つである偽膜性腸炎や下痢の原因として *C. difficile* の腸内異常増殖により産生される enterotoxin が注目されてきた³⁾。一般に cephem 系抗生剤は *C. difficile* に対して抗菌力が弱い⁴⁾が、なかでも cephamycin 系, oxime-cephalosporin 系抗生剤は cephalosporin 系抗生剤より抗菌力が劣る。CPM はこの *C. difficile* に対して比較的よい抗菌力を

示した。しかし、マウスへの CPM の投与実験では *C. difficile* の異常増殖がみとめられたことは注意する必要がある。 *C. difficile* 腸炎の発症機序は不明な点が多く、使用薬剤の抗菌力のみでは説明されず、薬剤の吸収、排泄、とくに本剤の如き注射剤では胆汁排泄も重要であり、かつ腸内細胞叢のなかの *C. difficile* に拮抗的に作用している細胞数の減少なども考えなければならぬであろう。

CPM は *B. fragilis* の産生する β -lactamase に不安定で加水分解されるが、その程度は CEZ の加水分解を 100 とするとき CPM は 37~53 で、CPZ は 24~65, CTX は 6~19, CAZ は 15~31, T-1982 は零であった。

B. fragilis の CPM, CEZ, CAZ, T-1982, LMOX 含有培地中での形態変化は、 β -lactamase 産生株と非産生株とでは著しく異なり、前者の菌株ではフィラメント形成が主体であるが、後者の菌株ではフィラメント形成とスフェロプラスト形成が強くみとめられた。とくに CPM において強くみとめられた。

CPM の *B. fragilis* の増殖曲線に及ぼす影響では、本剤はあまり強い殺菌作用はみとめられなかった。

以上のことから CPM は嫌気性菌に対して *B. fragilis*

以外の菌には比較薬剤として用いた CFX, CMZ, CTT, LMOX, CTZ, CZX, CMX, CEZ, CMD, CPZ, ABPC と同等に強い抗菌力をみとめた。*B. fragilis* にはこれらの比較薬剤のうち CPZ とほぼ同等の抗菌力を示した。

これらの結果から CPM は嫌気性菌感染症の治療剤として十分期待できるものと考ええる。

文 献

- 1) 第 29 回日本化学療法学会西日本支部総会, 新薬シンポジウム II. SM-1652, 広島, 1981
- 2) 鈴木祥一郎, 上野一恵監修: 臨床嫌気性菌マニュアル, 日水製薬, 1979
- 3) 嫌気性菌 MIC 測定法検討委員会: 嫌気性菌の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法。Chemotherapy 27: 559~560, 1979
- 4) 小林とよ子, 上野一恵: *Clostridium difficile* とその外毒素の証明。Medical Technology 10: 214~218, 1982
- 5) SNYDMAN, D. R.; F. P. TALLY, R. KNUPPEL, J. LANDRIGAN, S. L. GORBACH & J. G. BARTLETT: *Bacteroides bivius* and *Bacteroides disiens* in obstetrical patients: Clinical findings and antimicrobial susceptibilities. J. Antimicrob. Chemoth. 6: 519~525, 1980

IN VITRO AND IN VIVO ACTIVITY OF CEFPIRAMIDE (SM-1652) AGAINST ANAEROBIC BACTERIA

MIDORI ISONO, HISASHI YAMADA, MAKOTO AOKI, KAYO SAWA,

KUNITOMO WATANABE and KAZUE UENO

Institute of Anaerobic Bacteriology, School of Medicine, Gifu University

We studied the antibacterial activity against anaerobes of cefpiramide (CPM, SM-1652), a newly developed cephalosporin-type antibiotic. The antibacterial activity and spectra of cefpiramide against anaerobes were almost the same as those of CPZ. Strong antibacterial actions were not observed against bacteria of the β -lactamase producing strains including *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron* and *E. lentum* but strong antibacterial actions were observed on such anaerobes as *Bacteroides* outside the *B. fragilis* group, anaerobe cocci *C. ramosum* and *C. clostridiiforme*.

We compared the distribution of susceptibility of clinical isolates to cefpiramide with those to other cephem-type antibiotics, CFX, CMZ, LMOX, CTT, CTX, CZX, CMX, CEZ, CMD and CPZ.

Against *B. fragilis* (136 strains) the MIC₅₀ of cefpiramide was 8 μ g/ml and the MIC₉₀ was above 128 μ g/ml, thus the order of activity was LMOX > CTT > CFX > CMZ > CZX > CTX $\div$ CMX > CPM $\div$ CPZ > CEZ > CMD. Against *B. thetaiotaomicron* (29 strains) the MIC₅₀ of cefpiramide was 64 μ g/ml and the MIC₉₀ was 128 μ g/ml so that it was on par with the 10 other cephem-type drugs. Against *Fusobacterium* sp. (24 strains) cefpiramide displayed an MIC₅₀ of 0.031 μ g/ml and an MIC₉₀ of 1 μ g/ml, thus cefpiramide displayed the best antibacterial activity of all 11 drugs tested. Against *C. perfringens* (13 strains), *P. magnus* (18 strains) and *Peptococcus* sp. (21 strains) the MIC₅₀ of cefpiramide ranged from 0.125 to 2.0 μ g/ml and the MIC₉₀ ranged from 1.0 to 8.0 μ g/ml so that it displayed an excellent antibacterial action. Against *C. difficile* (34 strains) the MIC₅₀ of cefpiramide was 16 μ g/ml and the MIC₉₀ was 32 μ g/ml so that it showed a somewhat superior antibacterial action to cephamycin type and oxime-cephalosporin type drugs. And among cephalosporin type drugs the order of the antibacterial activities was CEZ = CMD > CPM > CPZ.

Cefpiramide proved to be unstable against β -lactamase produced by *B. fragilis*. If the activity level of CEZ is set as 100, then the activity level of cefpiramide ranged from 40 to 50.

When 1/2 MIC, 1 MIC and 2 MIC of cefpiramide was placed in with 10⁸/ml of β -lactamase-producing *B. fragilis* during the late logarithmic proliferation period, even at a concentration of 2 MIC only bacteria-static effect was observed and regrowth was observed after 3 hours.

When *B. fragilis* was added to successive cultures with a culture medium containing cefpiramide, it acquired step-by-step resistance and after the 13th generation culture the MIC value had increased by 4 to 8 times.

When cefpiramide was subcutaneously administered at 2 mg daily over a period of 7 days to ICR mice, an abnormal proliferation of *C. difficile* was observed in the caecum.