

## セフェム系抗生物質 Cefpiramide (SM-1652) に関する細菌学的評価

西野武志・大槻雅子・宮川行正・大藪有子

田頭洋子・西本佳夫・谷野輝雄

京都薬科大学微生物学教室

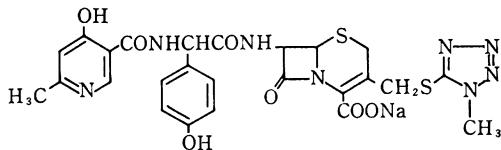
新しい注射用セフェム系抗生物質 Cefpiramide (CPM, SM-1652) の細菌学的評価を既知抗生物質 Cefoperazone, Cefazolin を比較薬として検討し、以下の成績を得た。

Cefpiramide の抗菌スペクトラムは Cefoperazone, Cefazolin と同様、グラム陽性菌、グラム陰性菌に幅広く分布し、その抗菌力はグラム陽性菌で Cefoperazone と同等、グラム陰性菌で Cefoperazone と Cefazolin の中間に位置していた。しかし Cefpiramide の *P. aeruginosa* に対する抗菌力は Cefoperazone に比べ優れていた。Cefpiramide の抗菌作用型式は殺菌的で *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* に対して作用濃度に応じた殺菌作用を示した。

マウス実験の感染症に対する Cefpiramide の治療効果は *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens* で Cefazolin より優れていたが、Cefoperazone より少し劣っていた。しかし *P. aeruginosa* では、Cefpiramide の効果は Cefazolin よりも優れていた。

Cefpiramide (CPM, SM-1652) は新しい注射用セフェム系抗生物質で、その化学構造式を Fig. 1 に示した。化学名は Sodium (6R,7R)-7-[*(R*)-2-(4-hydroxy-6-methyl-3-pyridyl-carboxamido)-2-(*p*-hydroxyphe-nyl) acetamido]-3-{[(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl) thio]methyl}-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate で、分子式  $C_{25}H_{23}N_8NaO_7S_2$ 、分子量 634.62 の白色ないし淡黄色の粉末である<sup>1)</sup>。

Fig. 1 Chemical structure of CPM



本薬は好気性および通性嫌気性のグラム陽性菌、陰性菌に幅広い抗菌スペクトラムを有し、緑膿菌を含むブドウ糖非発酵性グラム陰性菌の多くに強い抗菌力を示すことが特徴とされている。

今回、われわれは Cefoperazone<sup>2)</sup> (CPZ), Cefazolin<sup>3,4)</sup> (CEZ) を比較薬として CPM の細菌学的評価を検討したので報告する。

### I. 実験材料および実験方法

#### 1. 使用薬

CPM, CPZ, CEZ および Carbenicillin (CBPC) のいずれも力値の明らかな標準品を用いた。

#### 2. 使用菌株

教室保存の標準株および臨床分離株を用いた。

### 3. 感受性測定法

前培養に Tryptosoya broth (TSB ; ニッスイ)、感受性測定用培地に Heart infusion agar (HIA ; ニッスイ) を用い、日本化学会最小発育阻止濃度測定法<sup>5)</sup>に従って行った。なお *Streptococcus* 属、*C. diphtheriae* には 10% 馬脱纖維血液を添加した HIA を測定用培地とし、37°C 20 時間培養後の MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) を求めた。*Clostridium* 属には TGC 培地 (ニッスイ)、*Neisseria* 属には 1% の割合に Supplement を加えた *Gonococcus* medium (栄研) を用い、いずれも 37°C、48 時間培養後の MIC を求めた。ただし、*Neisseria* 属の培養にはローソク培養法を用いた。

### 4. 抗菌作用に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす培地 pH、馬血清添加、接種菌量の影響を、HIA を用いる寒天平板希釀法と Heart infusion broth (HIB ; ニッスイ) を用いる液体希釀法により検討した。すなわち、培地中の pH を 5.5, 7.0, 8.5 としたときの、培地中の馬血清量を 0, 10, 25, 50% としたときの、また培地中に接種する菌数を種々の割合に調整したときの MIC をそれぞれ測定し、その変動の有無により判断した。

また HIB 中で増殖させた対数期の菌に薬を作用させ、以後の生菌数の変化を測定することにより、菌量と殺菌効果の関連性を検討した。

#### 5. 殺菌作用

TSB で 37°C、18 時間培養した培養液を HIB で希釀し、振とう培養を行なった。対数期途上で種々の濃度の

薬を添加し、4時間までの生菌数の変化を測定した。

#### 6. マウス実験的感染症に対する治療効果

ddY系雄性マウス(体重18±1g)1群10匹を用い、6%gastric mucin(Orthana-Kemisk-Fabrik A/S)と等量混合した菌液の0.5mlをマウス腹腔内に接種し、接種2時間後に1回皮下治療を行なった。7日間マウスの生死を観察し、7日目の生存率からLITCHFIELD-WILCOXON法<sup>6)</sup>によりED<sub>50</sub>値およびその95%信頼限界値を算出し、治療効果として示した。

菌液調整はK. pneumoniae KC-1の場合Nutrient broth(NB;ニッスイ)で37°C、18時間静置培養し、他の菌株の場合はNBで37°C、14時間振とう培養した培養液を、同培地を用いて希釈後6%gastric mucinと等量混合した。

## II. 実験結果

### 1. 抗菌スペクトラム

教室保存のグラム陽性菌、陰性菌に対する試験管内抗菌力について検討した結果をTable 1~4に示した。Table 1, 2は10<sup>8</sup>cells/ml、Table 3, 4は10<sup>6</sup>cells/ml接種時の成績でCPMはCPZ、CEZと同様グラム陽性菌、陰性菌に幅広い抗菌スペクトラムを有していた。CPMの抗菌力を他薬と比較すると、グラム陽性菌ではCEZに比べ若干感受性が劣るようであったが、CPZとほぼ同程度の抗菌力を有していた。しかし、10<sup>6</sup>cells/ml

Table 1 Antibacterial spectrum Gram-positive bacteria (10<sup>8</sup>cells/ml)

Organism	CPM	CPZ	CEZ
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0.78	1.56	0.19
<i>Staphylococcus aureus</i> SMITH	3.13	3.13	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> TERAJIMA	3.13	3.13	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> NEUMANN	3.13	3.13	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	1.56	1.56	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 80(PC-R)	6.25	6.25	3.13
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3.13	3.13	0.78
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23	0.1	0.1	0.19
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	0.19	0.19	0.19
<i>Streptococcus faecalis</i>	25	50	100
<i>Streptococcus viridans</i>	50	100	>100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> I	0.05	0.1	0.19
<i>Streptococcus pneumoniae</i> II	0.1	0.1	0.19
<i>Streptococcus pneumoniae</i> III	0.05	0.1	0.19
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.78	0.19	0.78
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.39	0.78	0.19
<i>Bacillus anthracis</i>	1.56	3.13	0.19
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1.56	3.13	0.39
<i>Clostridium tetani</i>	0.39	0.39	0.39
<i>Clostridium perfringens</i>	6.25	6.25	6.25

MIC (μg/ml)

接種時のS. faecalisあるいは*Streptococcus viridans* groupに対するCEZのMICが25μg/mlのとき、CPMのMICは1.56μg/mlと良好であった。

一方、グラム陰性菌ではCPMはCEZとCPZの中間的な抗菌力を示し、10<sup>6</sup>cells/ml接種でCEZが100あるいは>100μg/mlのMICを示す*E. aerogenes*, *H. alvei*, *P. morganii*, *P. aeruginosa*に対して1.56~12.5μg/mlで増殖を阻止した。10<sup>6</sup>cells/ml接種と10<sup>8</sup>cells/ml接種時の抗菌力を比較すると10<sup>6</sup>cells/mlでCPZ, CEZは2倍程度、CPMは2~4倍程度抗菌力が良好となった。

### 2. 臨床分離株に対する感受性分布

臨床的に分離された*S. aureus* 53株、*E. coli* 66株、*K. pneumoniae* 32株、*Enterobacter* spp. 16株、*S. marcescens* 53株、*P. mirabilis* 24株、*P. vulgaris* 27株、*P. morganii* 27株、*P. rettgeri* 13株、*P. aeru-*

Table 2 Antibacterial spectrum Gram-negative bacteria (10<sup>8</sup>cells/ml)

Organism	CPM	CPZ	CEZ
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0.025	0.012	0.39
<i>Neisseria meningitidis</i>	0.1	0.05	0.78
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	1.56	0.19	1.56
<i>Escherichia coli</i> NIH	0.78	0.1	3.13
<i>Escherichia coli</i> K-12	0.39	0.05	1.56
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	6.25	0.39	>100
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.39	0.19	3.13
<i>Salmonella typhi</i> O-901	0.39	0.1	3.13
<i>Salmonella paratyphi</i> A	1.56	0.19	3.13
<i>Salmonella paratyphi</i> B	0.78	0.19	1.56
<i>Salmonella enteritidis</i>	6.25	0.78	3.13
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.78	0.1	3.13
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.78	0.05	3.13
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.78	0.1	3.13
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.78	0.05	1.56
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	0.78	0.1	3.13
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	3.13	0.39	6.25
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	3.13	0.39	>100
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1.56	0.1	>100
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	6.25	0.39	>100
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	25	1.56	>100
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	25	1.56	>100
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	0.78	0.05	>100
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	6.25	0.39	50
<i>Proteus morganii</i> Kono	>100	12.5	>100
<i>Proteus rettgeri</i> NIH 96	0.1	0.003	50
<i>Proteus inconstans</i> NIH 118	3.13	0.78	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	3.13	6.25	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 5	3.13	12.5	>100

MIC (μg/ml)

Table 3 Antibacterial spectrum Gram-positive bacteria ( $10^6$ cells/ml)

Organism	CPM	CPZ	CEZ
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0.39	0.78	0.1
<i>Staphylococcus aureus</i> SMITH	1.56	1.56	0.19
<i>Staphylococcus aureus</i> TERAJIMA	1.56	1.56	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> NEUMANN	1.56	1.56	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	1.56	1.56	0.19
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 80(PC-R)	3.13	3.13	0.78
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.56	3.13	0.78
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23	0.05	0.1	0.19
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	0.1	0.1	0.19
<i>Streptococcus faecalis</i>	1.56	3.13	25
<i>Streptococcus viridans</i>	1.56	3.13	25
<i>Streptococcus pneumoniae</i> I	0.05	0.05	0.05
<i>Streptococcus pneumoniae</i> II	0.05	0.1	0.05
<i>Streptococcus pneumoniae</i> III	0.05	0.05	0.05
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.19	0.1	0.39
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.19	0.39	0.19
<i>Bacillus anthracis</i>	1.56	3.13	0.1
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1.56	1.56	0.19

MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )

*ginosa* 75 株, *A. calcoacticus* 30 株に対する感受性分布, 累積分布を  $10^8$ cells/ml と  $10^6$ cells/ml 接種について検討した。

#### a) *S. aureus* の場合

Fig. 2, 3 に示す成績が得られた。 $10^8$ cells/ml 接種の場合 CEZ は  $0.78\mu\text{g}/\text{ml}$  に, CPM, CPM は  $3.13\mu\text{g}/\text{ml}$  にピークを有する 1 峰性の分布を示した。 $10^6$ cells/ml 接種時には CEZ, CPM の MIC 値が 2 倍程度良好となったが, 累積分布のパターンは  $10^8$ cells/ml 接種時と同様であった。

#### b) *E. coli* の場合

Fig. 4, 5 に示すように  $10^8$ cells/ml 接種の場合 CPM は  $0.1 \sim >100\mu\text{g}/\text{ml}$  に幅広い分布を示し,  $>100\mu\text{g}/\text{ml}$  の MIC を示す株は約 26% 存在した。 $>100\mu\text{g}/\text{ml}$  を示す株は CPZ で 18%, CEZ で 8% 程度認められたが, MIC 値が低いところでは CPZ, CPM, CEZ の順に, MIC 値の高いところでは CEZ, CPZ, CPM の順に良好な感受性を示した。 $10^6$ cells/ml 接種では  $>100\mu\text{g}/\text{ml}$  の MIC を示す菌株は消失し, いずれの薬においても感性化が認められた。

#### c) *K. pneumoniae* の場合

Fig. 6, 7 に示すように,  $10^8$ cells/ml 接種の場合, CPM は  $1.56 \sim >100\mu\text{g}/\text{ml}$  に分布し,  $3.13\mu\text{g}/\text{ml}$  と  $>100\mu\text{g}/\text{ml}$  にピークを有する 2 峰性の分布を示した。

Table 4 Antibacterial spectrum Gram-negative bacteria ( $10^6$ cells/ml)

Organism	CPM	CPZ	CEZ
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0.025	0.006	0.39
<i>Neisseria meningitidis</i>	0.05	0.05	0.39
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	1.56	0.19	0.78
<i>Escherichia coli</i> NIH	0.19	0.025	1.56
<i>Escherichia coli</i> K-12	0.19	0.025	0.78
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	1.56	0.39	1.56
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.39	0.1	1.56
<i>Salmonella typhi</i> O-901	0.39	0.1	1.56
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.78	0.19	3.13
<i>Salmonella paratyphi</i> B	0.78	0.19	1.56
<i>Salmonella enteritidis</i>	3.13	0.39	1.56
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.39	0.1	1.56
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.39	0.05	1.56
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.19	0.025	1.56
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.19	0.05	0.78
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	0.19	0.1	1.56
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	0.78	0.05	1.56
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	0.78	0.1	50
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.39	0.05	6.25
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	1.56	0.19	100
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	6.25	0.78	>100
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	12.5	0.78	100
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	0.025	0.025	6.25
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.78	0.1	6.25
<i>Proteus morganii</i> Kono	12.5	1.56	>100
<i>Proteus rettgeri</i> NIH 96	0.05	0.003	0.39
<i>Proteus constans</i> NIH 118	3.13	0.39	6.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	1.56	6.25	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 5	3.13	6.25	>100

MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )

CPM と CPZ では  $>100\mu\text{g}/\text{ml}$  の MIC を示す株が 35% 近く認められた。 $10^6$ cells/ml 接種の場合には 3 薬剤とも感性化が認められた。

#### d) *Enterobacter* spp. の場合

Fig. 8, 9 に示すように *Enterobacter* の 80~94% が CEZ に  $>100\mu\text{g}/\text{ml}$  の MIC を示した。 $10^8$ cells/ml 接種の場合, CPM は  $3.13 \sim >100\mu\text{g}/\text{ml}$  に分布し, 12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  と  $>100\mu\text{g}/\text{ml}$  にピークを有する 2 峰性の分布を示した。 $>100\mu\text{g}/\text{ml}$  の MIC を示す株は CPZ, CPM でそれぞれ 12.5%, 37.5% であった。 $10^6$ cells/ml 接種の場合には CPZ, CPM で感性化が認められた。

#### e) *S. marcescens* の場合

Fig. 10, 11 に示すように CEZ はいずれの場合にも  $>100\mu\text{g}/\text{ml}$  の MIC を示した。 $10^8$ cells/ml 接種の場合, CPM は 12.5~ $>100\mu\text{g}/\text{ml}$  に分布を示し,  $10^6$ cells/ml 接種の場合に感性化が認められたが, CPZ が

良好な感受性を示した。

f) *P. mirabilis* の場合

Fig. 12, 13 に示すように  $10^8 \text{ cells/ml}$  接種の場合, CPM は CEZ と同様  $6.25 \sim >100 \mu\text{g/ml}$  に分布し,  $12.5 \mu\text{g/ml}$  にピークを示した。CPZ が最も良好な MIC を示し,  $10^6 \text{ cells/ml}$  接種の場合も同様な傾向がみられた。

g) *P. vulgaris* の場合

Fig. 14, 15 に示す成績が得られた。 $10^8 \text{ cells/ml}$  接種時に CPM は  $0.39 \sim >100 \mu\text{g/ml}$  に分布を示した。CPM, CPZ, CEZ で  $>100 \mu\text{g/ml}$  の MIC を示す株がそれぞれ 33%, 19%, 67% 存在したが,  $10^6 \text{ cells/ml}$  接種時には CPM, CPZ でこれらの  $>100 \mu\text{g/ml}$  の MIC を示す株は消失し, 感性化がみられた。

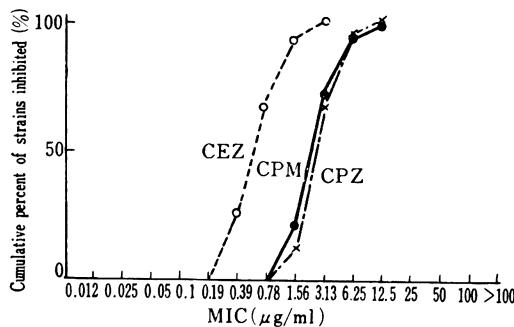
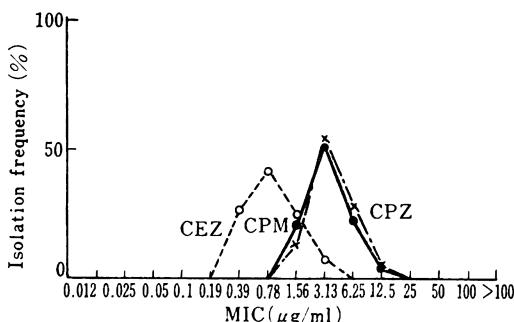
h) *P. morganii* の場合

Fig. 16, 17 に示すように  $10^8 \text{ cells/ml}$  接種の場合, CPM では  $12.5 \sim >100 \mu\text{g/ml}$  に分布し,  $25 \mu\text{g/ml}$  にピークが存在した。CEZ では 96% が  $>100 \mu\text{g/ml}$  の MIC を示し, CPM は CEZ と CPZ の中間に分布していた。 $10^6 \text{ cells/ml}$  接種の場合も類似した傾向を示した。

i) *P. rettgeri* の場合

Fig. 18, 19 に示すように  $10^8 \text{ cells/ml}$  接種で CPM は  $3.13 \sim >100 \mu\text{g/ml}$  に分布し, CEZ とほぼ同様であった。

Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates, *S. aureus* 53 strains ( $10^8 \text{ cells/ml}$ )



$10^8 \text{ cells/ml}$  接種の場合にもほぼ同様な傾向を示した。

j) *P. aeruginosa* の場合

Fig. 20, 21 に示すように CEZ はいずれの菌量においても  $>100 \mu\text{g/ml}$  の MIC を示した。 $10^8 \text{ cells/ml}$  接種の場合, CPM は  $1.56 \sim 100 \mu\text{g/ml}$  に分布し,  $6.25 \sim 12.5 \mu\text{g/ml}$  にピークを示し, CPZ に比べ良好な分布を示した。 $10^6 \text{ cells/ml}$  接種の場合には CPM と CPZ の差が明らかとなった。

k) *A. calcoaceticus* の場合

Fig. 22, 23 に示すように  $10^8 \text{ cells/ml}$  接種で CPM では  $12.5 \sim >100 \mu\text{g/ml}$  に分布を示したが, CPZ, CEZ とあまり変わらない分布であった。 $10^6 \text{ cells/ml}$  接種の場合, CPM で感性化が認められた。

3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

a) 培地 pH の影響

Table 5 に示すように CEZ の場合は *P. aeruginosa* を除き, 酸性で, CPM, CPZ の場合には *S. aureus* 209-PJC 株では酸性側で, その他の菌株では CPZ の *K. pneumoniae* KC-1 を除き, アルカリ側で抗菌力が増強された。

b) 馬血清添加の影響

Table 6 に示すように培地中の血清添加量が増しても CPM, CPZ, CEZ の抗菌力は若干変化したが, 大きな変動は起らなかった。

Fig. 3 Sensitivity distribution of clinical isolates, *S. aureus* 53 strains ( $10^6 \text{ cells/ml}$ )

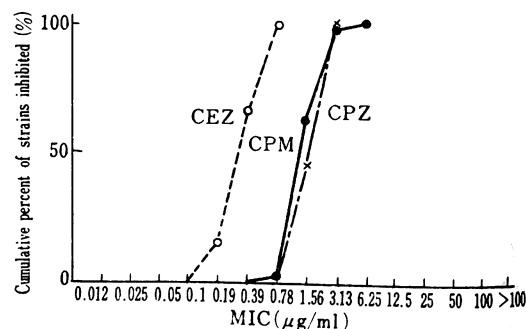
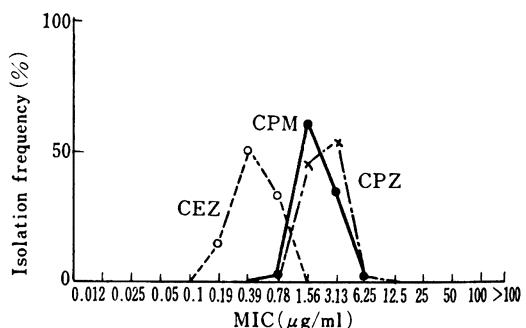


Fig. 4 Sensitivity distribution of clinical isolates, *E. coli* 66 strains ( $10^8$  cells/ml)

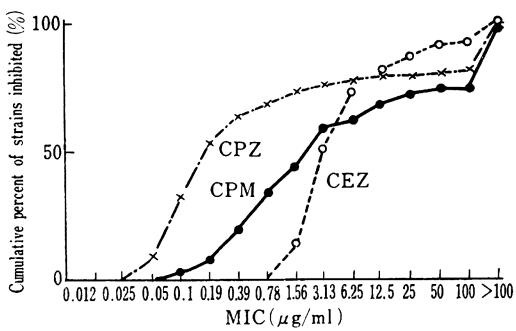
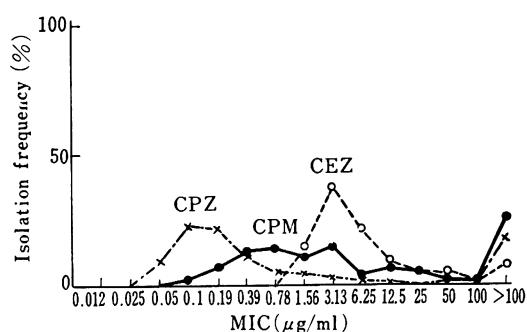


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates, *E. coli* 66 strains ( $10^8$  cells/ml)

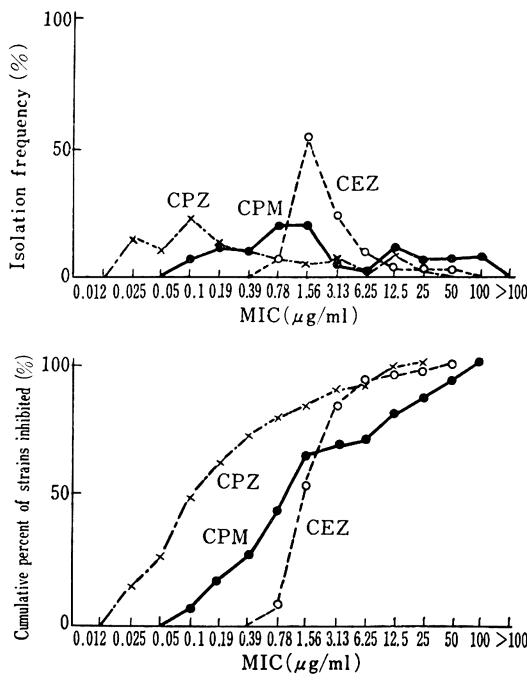


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates, *K. pneumoniae* 32 strains ( $10^8$  cells/ml)

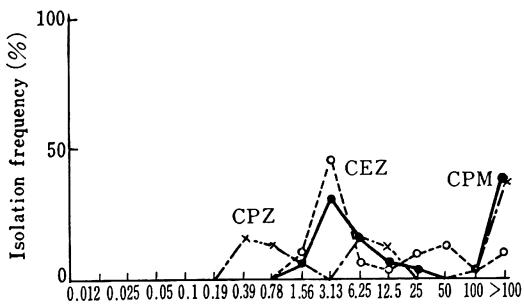


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates, *K. pneumoniae* 32 strains ( $10^8$  cells/ml)

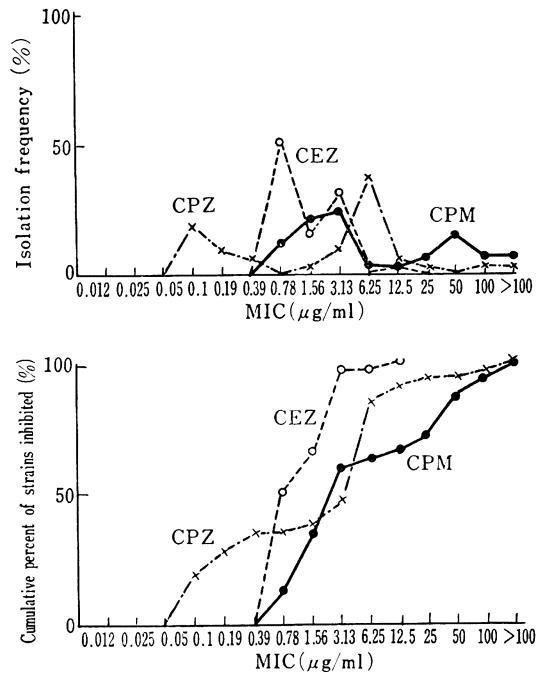


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates, *Enterobacter* spp. 16 strains ( $10^6$  cells/ml)

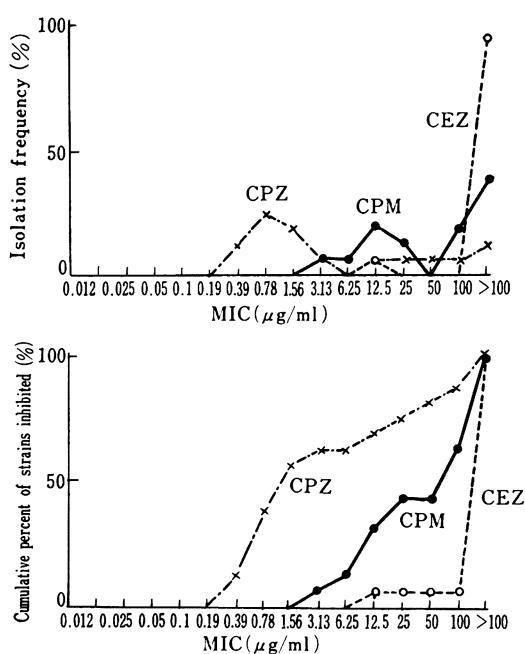


Fig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates, *Enterobacter* spp. 16 strains ( $10^6$  cells/ml)

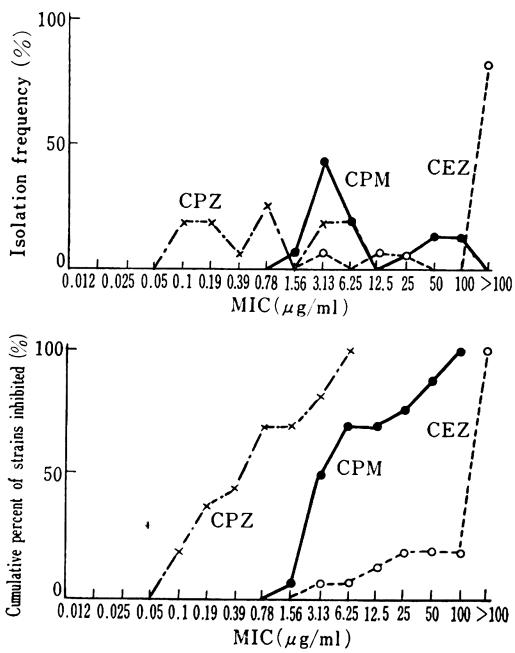


Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates, *S. marcescens* 53 strains ( $10^6$  cells/ml)

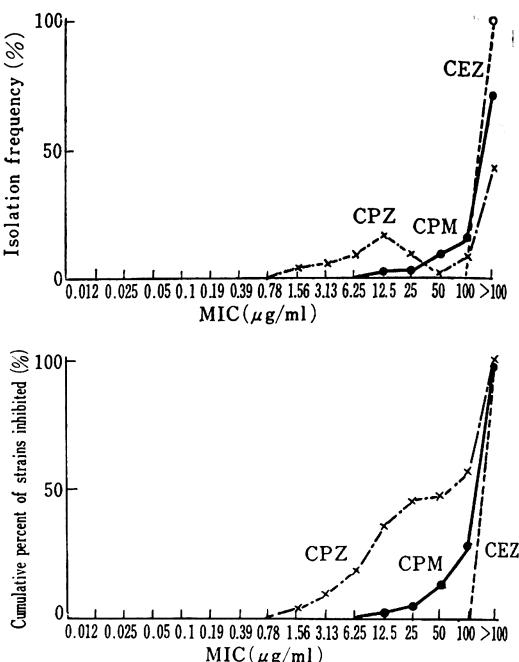


Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates, *S. marcescens* 53 strains ( $10^6$  cells/ml)

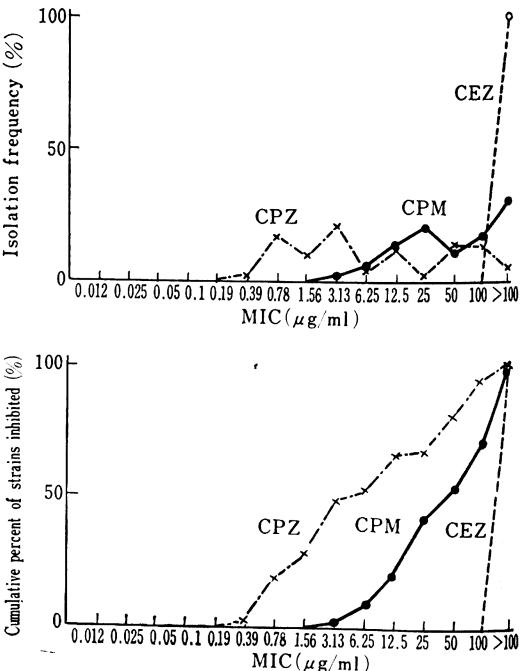


Fig. 12 Sensitivity distribution of clinical isolates, *P. mirabilis* 24 strains ( $10^6$  cells/ml)

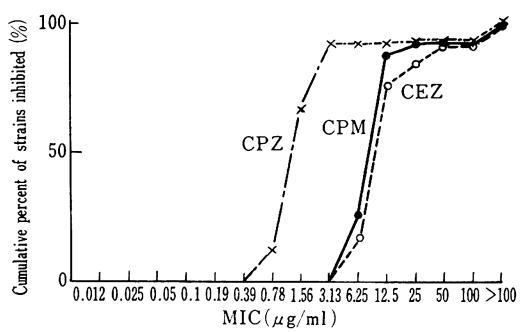
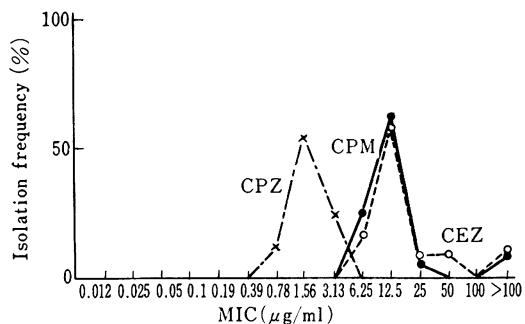


Fig. 13 Sensitivity distribution of clinical isolates, *P. mirabilis* 24 strains ( $10^6$  cells/ml)

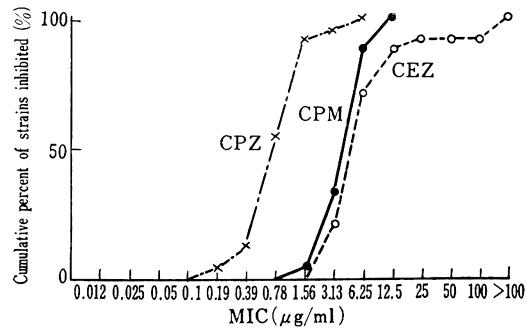
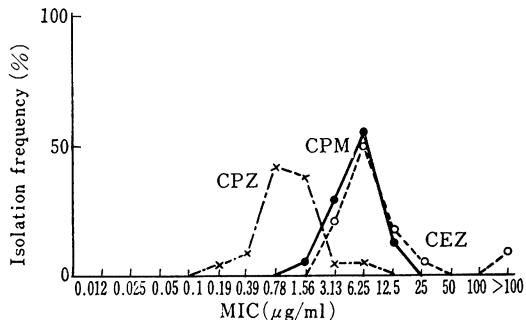


Fig. 14 Sensitivity distribution of clinical isolates, *P. vulgaris* 27 strains ( $10^6$  cells/ml)

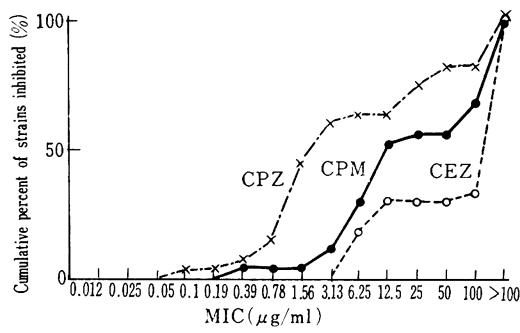
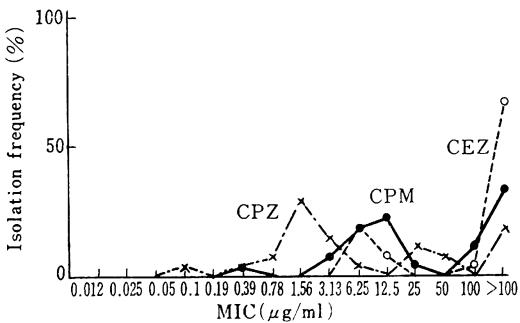


Fig. 15 Sensitivity distribution of clinical isolates, *P. vulgaris* 27 strains ( $10^6$  cells/ml)

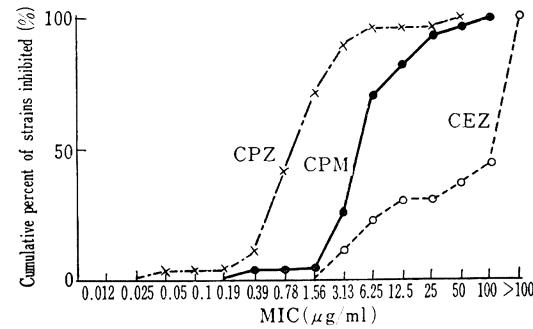
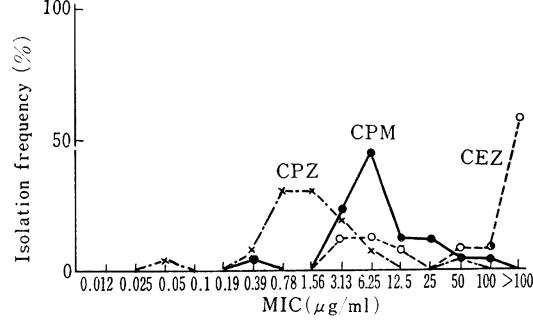


Fig. 16 Sensitivity distribution of clinical isolates, *P. morganii* 27 strains ( $10^6$  cells/ml)

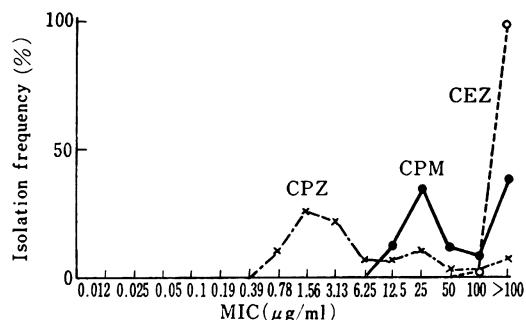


Fig. 18 Sensitivity distribution of clinical isolates, *P. rettgeri* 13 strains ( $10^6$  cells/ml)

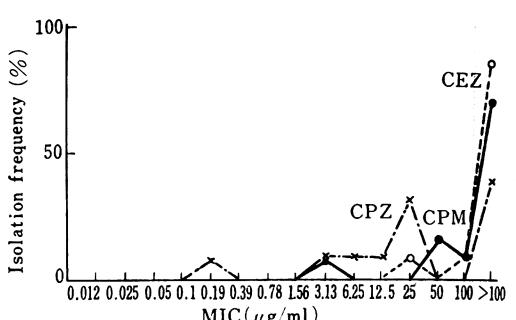


Fig. 17 Sensitivity distribution of clinical isolates, *P. morganii* 27 strains ( $10^6$  cells/ml)

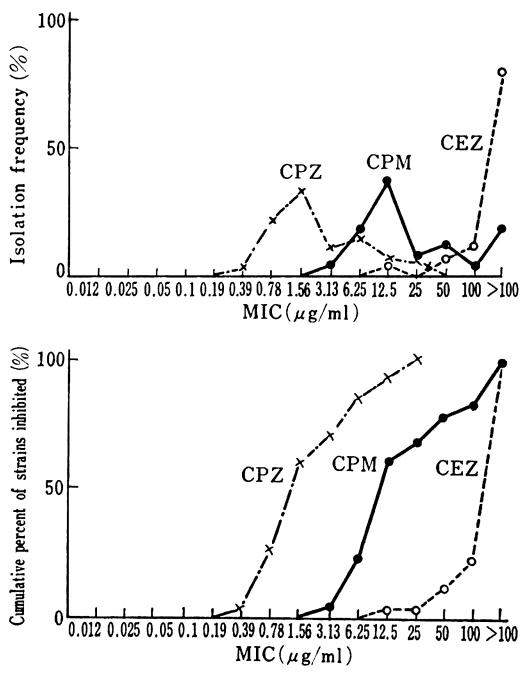


Fig. 19 Sensitivity distribution of clinical isolates, *P. rettgeri* 13 strains ( $10^6$  cells/ml)

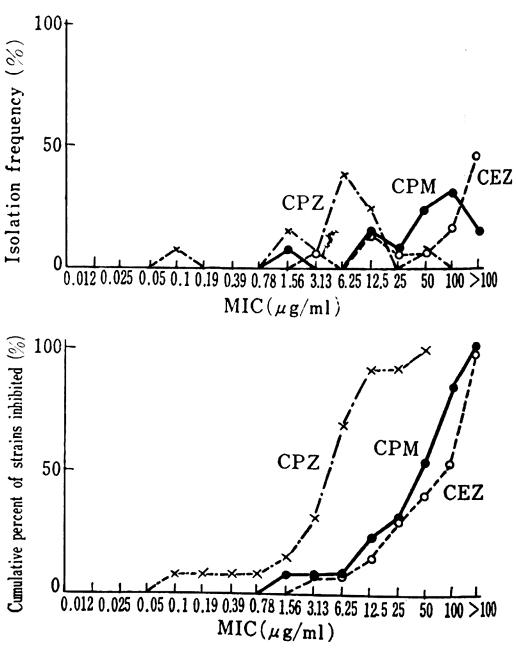


Fig. 20 Sensitivity distribution of clinical isolates, *P. aeruginosa* 75 strains ( $10^6$  cells/ml)

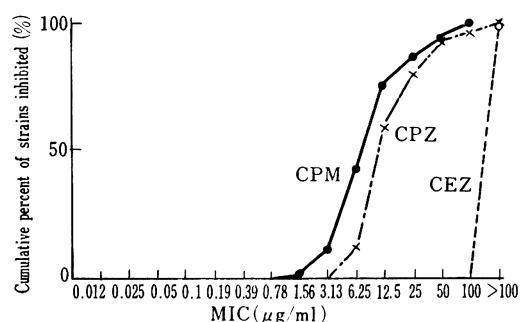
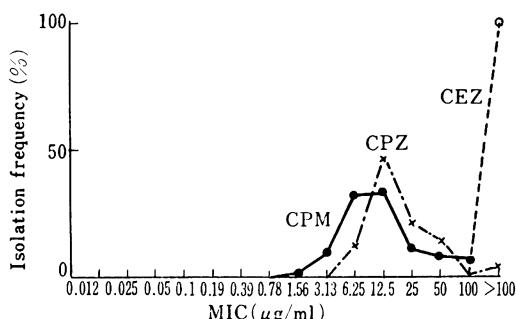


Fig. 21 Sensitivity distribution of clinical isolates, *P. aeruginosa* 75 strains ( $10^6$  cells/ml)

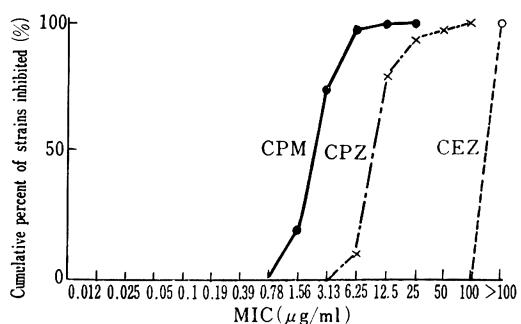
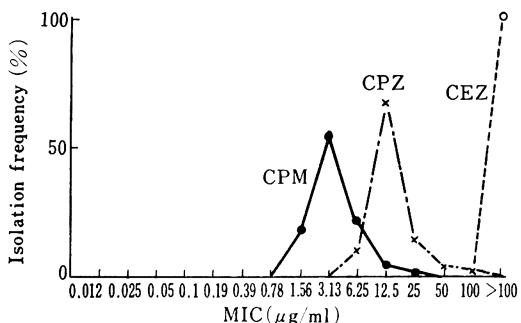


Fig. 22 Sensitivity distribution of clinical isolates, *A. calcoaceticus* 30 strains ( $10^6$  cells/ml)

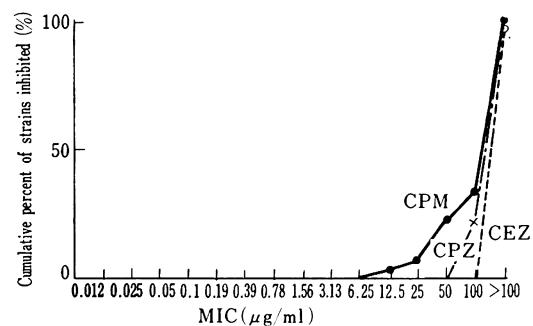
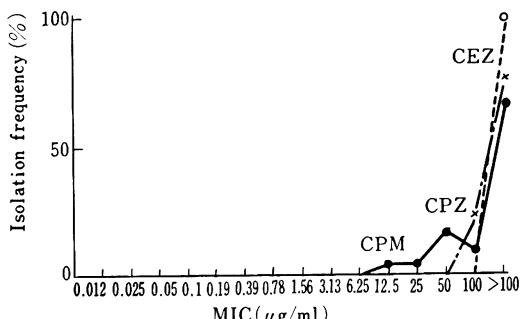


Fig. 23 Sensitivity distribution of clinical isolates, *A. calcoaceticus* 30 strains ( $10^6$  cells/ml)

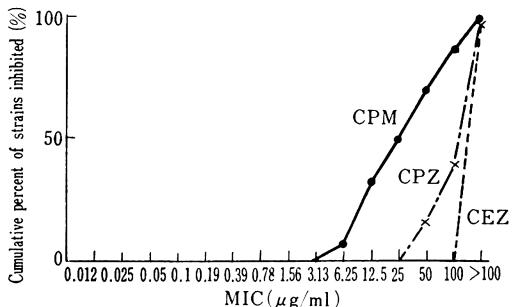
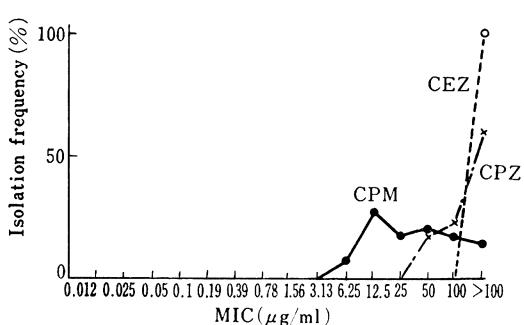


Table 5 Influence of pH on the antibacterial activity

Organism	pH	CPM	CPZ	CEZ
<i>S. aureus</i> 209-P JC	8.5	1.56	1.56	0.39
	7.0	0.78	1.56	0.39
	5.5	0.1	0.19	0.1
<i>E. coli</i> NIH JC-2	8.5	1.56	0.19	3.13
	7.0	3.13	0.39	1.56
	5.5	6.25	0.78	1.56
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	8.5	0.78	0.39	6.25
	7.0	1.56	0.39	3.13
	5.5	6.25	0.39	3.13
<i>P. aeruginosa</i> No. 12	8.5	1.56	6.25	>100
	7.0	3.13	6.25	>100
	5.5	25	25	>100

MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )

Medium : Heart infusion agar

Table 6 Influence of horse serum on the antibacterial activity

Organism	Horse serum (%)	CPM	CPZ	CEZ
<i>E. coli</i> NIH JC-2	0	1.56	0.19	1.56
	10	1.56	0.39	1.56
	25	3.13	0.78	1.56
	50	3.13	0.78	3.13
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	0	1.56	0.1	1.56
	10	1.56	0.19	1.56
	25	3.13	0.19	1.56
	50	6.25	0.19	3.13

MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )

Medium : Heart infusion broth

## c) 接種菌量の影響

培地に接種する菌量が増すと Table 7 に示すように若干 MIC 値が変化したが、この方法では大きな変化は見られなかった。そこで、*E. coli* KC-14, *K. pneumoniae* KC-1, *P. aeruginosa* E-2 を用いて接種菌量と殺菌作用の関係を検討した結果、Fig. 24~26 に示す結果を得た。増殖途上の種々の時点で 5 MIC に相当する濃度の薬剤を添加し、その後の殺菌効果を生菌数の変化で示したものである。*E. coli* の場合  $10^6 \text{ cells/ml}$  と  $10^8 \text{ cells/ml}$

Table 7 Influence of inoculum size on the bacterial activity

Organism	Inoculum size (cells/ml)	CPM	CPZ	CEZ
<i>S. aureus</i> 209-P JC	$1.2 \times 10^8$	0.78	1.56	0.39
	$1.2 \times 10^7$	0.78	0.78	0.19
	$1.2 \times 10^6$	0.78	0.78	0.19
	$1.2 \times 10^5$	0.78	0.78	0.19
<i>E. coli</i> NIH JC-2	$1.1 \times 10^8$	3.13	0.39	1.56
	$1.1 \times 10^7$	3.13	0.19	1.56
	$1.1 \times 10^6$	1.56	0.19	0.78
	$1.1 \times 10^5$	1.56	0.19	0.78
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	$2.4 \times 10^8$	1.56	0.39	1.56
	$2.4 \times 10^7$	0.78	0.39	1.56
	$2.4 \times 10^6$	0.78	0.19	1.56
	$2.4 \times 10^5$	0.78	0.1	1.56
<i>P. aeruginosa</i> No. 12	$4.6 \times 10^8$	3.13	12.5	>100
	$4.6 \times 10^7$	3.13	6.25	>100
	$4.6 \times 10^6$	3.13	3.13	>100
	$4.6 \times 10^5$	1.56	3.13	>100

MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )

Medium : Heart infusion agar

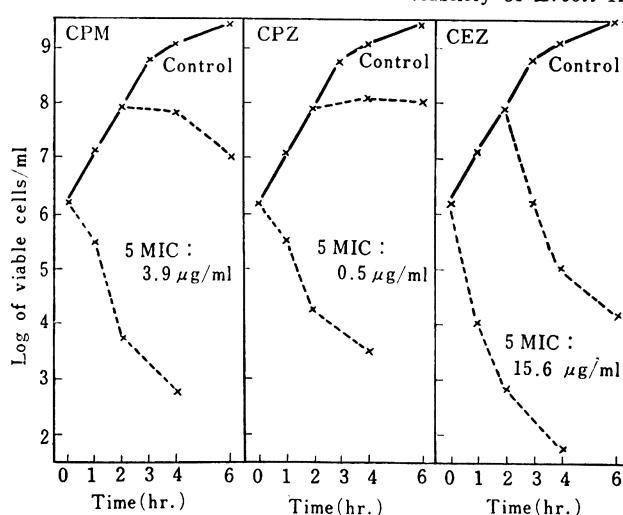
Fig. 24 Effect of CPM, CPZ and CEZ on viability of *E. coli* KC-14

Fig. 25 Effect of CPM, CPZ and CEZ on viability of *K. pneumoniae* KC-1

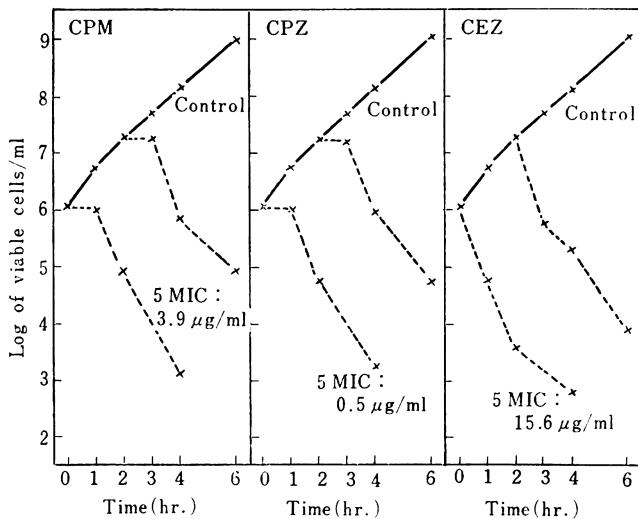
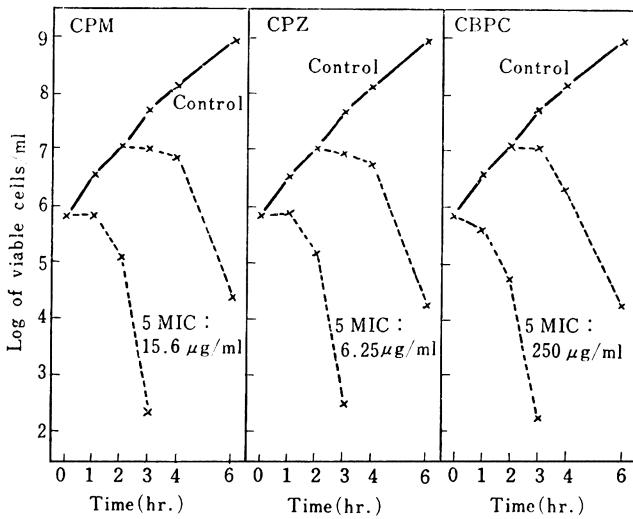


Fig. 26 Effect of CPM, CPZ and CBPC on viability of *P. aeruginosa* E-2



cells/ml で薬剤を作用させているが、CPM, CPZ では菌量が少ない場合には 1 時間目より殺菌作用が現われているが、菌量が多くなると静菌的な作用しか認められなかった。一方、CEZ はいずれの菌量で作用させても CPM や CPZ よりも強い殺菌作用が認められた。*K. pneumoniae* では CPM と CPZ が殺菌作用を現わすまでに 1 時間の lag time を必要とするのに CEZ では 1 時間目より殺菌作用が現われ *P. aeruginosa* を用いた場合にも CPM は CPZ と同様の効果を示し、CBPC に比べ、菌量が多くなると lag time の延長が認められた。CPM の殺菌効果は CPZ 同様、薬剤添加時の菌数によって異

なるという結果を得た。

#### 4. 殺菌作用

*E. coli* K-12 株を用いた成績は Fig. 27 で、 $10^6$  cells/ml で CPM, CPZ, CEZ を作用させると作用濃度に応じた殺菌効果が認められた。CPM, CPZ の場合、MIC および 1/2 MIC 濃度作用で静菌的な効果を示した。*K. pneumoniae* KC-1 を用いた成績は Fig. 28 で、CPM, CPZ, CEZ 作用時には作用濃度に応じた殺菌効果が認められたが、CPM, CPZ の 1/2 MIC 濃度作用では静菌的な効果を示した。1 時間目の殺菌効果は CEZ が優れ、CPM と CPZ は同程度であった。*P. aeruginosa*

Fig. 27 Effect of CPM, CPZ and CEZ on viability of *E. coli* K-12

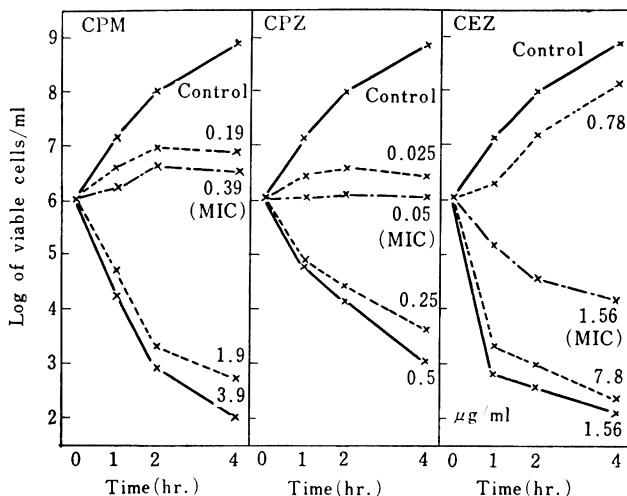
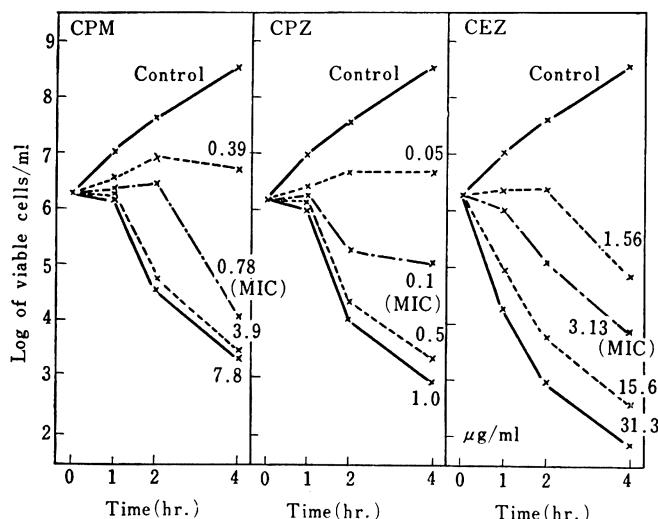


Fig. 28 Effect of CPM, CPZ and CEZ on viability of *K. pneumoniae* KC-1



E-2 株を用いた成績は Fig. 29 で CPM, CPZ, CBPC 作用時には MIC 濃度で 1 時間の lag time の後に殺菌作用が認められた。5 MIC 濃度以上ではその殺菌効果に大きな差は認められず、頭打ちの傾向がみられた。

##### 5. マウス実験的感染症に対する治療効果

CEZ 感性菌および耐性菌に対する CPM の治療効果を Table 8 に示す 6 菌株を用いて検討した。治療効果は ED<sub>50</sub> 値およびその 95% 信頼限界値で示した。*E. coli* KC-14, *K. pneumoniae* KC-1 では CPM は CEZ の 2~4 倍優れた効果を示したが、CPZ と比較すると 4~6 倍程度劣るようであった。*S. marcescens* T-55 で

は CEZ は >16 mg/mouse と治療効果が得られなかつたが、CPM は CPZ の効果に 3 倍程度劣るようあり、*P. aeruginosa* E-2 では逆に CPM は CBPC の 19 倍、CPZ の 6.5 倍程度優れた効果を示した。*P. mirabilis* 181 では CPM, CPZ, CEZ は MIC 値の差にもかかわらずほぼ同程度の治療効果を示し、*P. morganii* 101 では CPM は CEZ とほぼ同等、CPZ の 0.3 倍の効果を示した。

##### III. 考 察

新しいセフェム系抗生物質 CPM の細菌学的評価を既知抗生物質 CPZ, CEZ を比較薬として検討した。

Fig. 29 Effect of CPM, CPZ and CBPC on viability of *P. aeruginosa* E-2

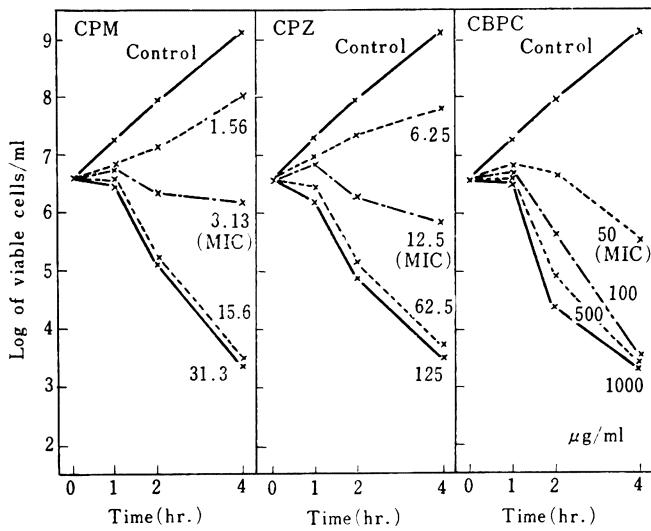


Table 8 Protecting effect of CPM on experimental infection in mice

organism	Challenge dose (cells/mouse)	Antibiotic	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)		MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	
			10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
<i>E. coli</i> KC-14	1,000LD <sub>50</sub>	CPM	0.022	(0.015~0.031)	0.78	0.78
	2.0×10 <sup>4</sup>	CPZ	0.0034	(0.0023~0.0049)	0.1	0.1
		CEZ	0.094	(0.065~0.14)	3.13	0.78
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	5,000LD <sub>50</sub>	CPM	1.4	(0.79~2.5)	0.78	0.19
	6.5×10 <sup>3</sup>	CPZ	0.35	(0.23~0.53)	0.1	0.1
		CEZ	3.2	(2.5~4.1)	3.13	1.56
<i>S. marcescens</i> T-55	75LD <sub>50</sub>	CPM	4.2	(2.5~7.1)	100	25
	5.0×10 <sup>6</sup>	CPZ	1.3	(0.69~2.3)	6.25	3.13
		CEZ	>16		>100	>100
<i>P. mirabilis</i> 181	50LD <sub>50</sub>	CPM	0.24	(0.14~0.42)	6.25	6.25
	6.5×10 <sup>6</sup>	CPZ	0.21	(0.13~0.33)	0.78	0.39
		CEZ	0.40	(0.23~0.69)	12.5	6.25
<i>P. morganii</i> 101	5,000LD <sub>50</sub>	CPM	9.2	(6.3~13)	12.5	6.25
	3.0×10 <sup>6</sup>	CPZ	2.8	(2.2~3.6)	1.56	0.78
		CEZ	7.8	(5.4~11)	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> E-2	5,000LD <sub>50</sub>	CPM	1.2	(0.60~2.3)	3.13	1.56
	1.5×10 <sup>4</sup>	CPZ	7.8	(4.6~13)	12.5	6.25
		CBPC	23	(12~44)	50	25

( ) : 95% confidence limits

抗菌スペクトラムを検討した結果、CPM は CPZ, CEZ 同様好気性および通性嫌気性のグラム陽性菌、陰性菌に幅広く抗菌力を示し、グラム陽性菌に対する抗菌力は CPZ とほぼ同等で、グラム陰性菌に対しては CPZ と CEZ の中間に位置する抗菌力を有していた。*P. aeruginosa* に対しては CPM の抗菌力が CPZ に比べ優れ

ているのが特徴であった。CEZ が抗菌力を示さなかった *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus* に CPM が抗菌力を示すのは本薬の  $\beta$ -lactamase 特に cephalosporinase に対する安定性が良いことに起因しているのかも知れないが、外膜の透過性やペニシリン結合蛋白質に対する親和性など他の要因も関与している可能性が考えられ、今

後さらに検討する必要があるようと思われる。

また CPM は CPZ 同様、接種菌量の影響を受け、菌量が高い場合に抗菌力が低下する傾向にあることが種々の実験で認められた。現在のところ接種菌量により抗菌力が変動するのは何に起因しているかは不明であり、検討を要する課題の一つと思われる。

殺菌作用の検討では CPM は CPZ とほぼ同様の殺菌パターンを示した。CPM の作用濃度を増してもある濃度以上ではその殺菌作用に差がないことが認められ、*in vivo*において CPM が最も効果を発揮するための投与法を考えることが必要と思われる。

マウス実験的感染症に対する治療効果の検討では、*E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens* に対して CPM は CPZ と CEZ の中間的な治療効果を、また *P. aeruginosa* に対しては CBPC, CPZ に比べ優れた治療効果を示すことが認められたが、このような治療効果の差は、これら菌株の MIC 値と相関しているように思われる。

## 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 2。SM-1652, 1981
- 2) 西野武志、大槻雅子、宮川行正、大井麻実子、平野葉子、谷野輝雄：セファロスボリン系抗生物質 Cefoperazone (T-1551) に関する細菌学的評価。Chemotherapy 28 (S-6) : 45~67, 1980
- 3) 中沢昭三、小野尚子、大槻雅子、井沢武年：合成セファロスボリン Cefazolin の細菌学的評価。Chemotherapy 18 : 512~521, 1970
- 4) NISHIDA, M.; T. MATSUBARA, T. MURAKAWA, Y. MINE, Y. YOKOTA, S. GOTO & S. KUWABARA: Cefazolin, a new semisynthetic cephalosporin antibiotic. II. *In vitro* and *in vivo* antimicrobial activity. J. Antibiotics 23 : 137~148, 1970
- 5) 日本化学療法学会 MIC 測定法改定委員会：最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改訂について。Chemotherapy 22 : 1126~1128, 1974
- 6) LITCHFIELD, J. T. & F. WILCOXON: A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharmacol. Exp. Ther. 96 : 99~113, 1949

## BACTERIOLOGICAL EVALUATION OF CEPPIRAMIDE (SM-1652), A NEW CEPHEM ANTIBIOTIC

TAKESHI NISHINO, MASAKO OHTSUKI, YUKIMASA MIYAGAWA, YUKO OHYABU,  
YOKO TAGASHIRA, YOSHIO NISHIMOTO and TERUO TANINO

Department of Microbiology, Kyoto College of Pharmacy

The bacteriological evaluation of cefpiramide (CPM, SM-1652), a new cephem antibiotic, was studied in comparison with that of cefoperazone and cefazolin. The following results were obtained. Cefpiramide showed a broad antibacterial spectrum against gram-positive and gram-negative bacteria as well as cefoperazone and cefazolin. The antibacterial activity of cefpiramide against gram-positive bacteria was almost equal to that of cefoperazone and its antibacterial activity against gram-negative bacteria was superior to that of cefazolin, while it was slightly inferior to that of cefoperazone. However, the antibacterial activity of cefpiramide against *P. aeruginosa* was superior to that of cefoperazone.

Cefpiramide was rapidly bactericidal and showed a dose response bactericidal activity against *E. coli*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa*. Therapeutic effect of cefpiramide on experimental infections in mice was superior to that of cefazolin with *E. coli*, *K. pneumoniae* and *S. marcescens*, but the effect was slightly inferior to that of cefoperazone. On the other hand, the therapeutic effect of cefpiramide on *P. aeruginosa* was superior to that of cefoperazone.