

各種セフェム系抗生物質のモルモット新鮮血清 との協力的殺菌作用

浅野 泰 司

科研製薬株式会社東京研究所

横 田 健

順天堂大学医学部細菌学教室

(昭和60年10月23日受付)

種々のセフェム系抗生物質を用いて、モルモット新鮮血清存在下での大腸菌に対する協力的殺菌作用を、24時間培養後の生菌数を指標として比較検討した。その結果、*Escherichia coli* NIHJ JC-2では、1%血清存在下でCBPZは1/4 MIC、CMZ、CMXおよびCZXは1/2 MICで協力的殺菌作用を示したが、CTX、LMOX、CTZ、CPZおよびCTTは1/2 MICで菌の再増殖が認められた。次に、CBPZおよびCTXを用いてMIC以下の濃度(sub-MICs)で、時間を変えて*E. coli* NIHJ JC-2を前処理し血清に対する感受性を検討した結果、2時間の前処理により、明らかな感受性の亢進が認められ、その効果はCBPZがより優れていた。一方、モルモット新鮮血清に対し耐性を示す*E. coli* KC-14では、10%血清存在下でCBPZは1/4 MIC、CTXは1/2 MICで協力的殺菌作用を示したが、CPZは1/2 MICで菌の再増殖が認められた。次に、CBPZを用いてsub-MICsで*E. coli* KC-14を時間を変えて前処理し、菌体の補体活性化能を検討した結果、2時間の前処理により、明らかに補体の消費量が増加した。また、非働化血清によっては以上の薬物との協力的殺菌作用が消失することから補体の関与が考えられた。

感染治療実験において、抗生物質投与後生体内で薬剤がMIC以上の濃度を維持するのは、一般的に数時間以内であろうと考えられる。それ以後は薬剤を再投与しない限り、菌は生体内でMIC以下の薬物に接触していることとなり、再増殖するか、生体防御機構の作用を受け処理されるか、いずれかの経過をたどるものと考えられる。 β -lactam抗生物質の作用点が細胞壁合成酵素阻害にあることから、sub-MICsにおいても菌体表面構造の変化をひきおこし食菌作用などの生体防御機構の影響を受け易くするといわれる¹⁻³⁾。これらのことから、抗生物質の生体内効果を考えるときには、MIC以下の薬剤の影響と生体防御機構との関係を詳細に検討する必要がある。DUTCHER⁴⁾は蛋白合成阻害剤を用いて、また、四辻⁵⁾は β -lactam抗生物質を用いて、sub-MICsに及ぼす血清の影響について報告している。我々は、セフェム系抗生物質と血清の協力的殺菌作用を比較検討するとともに、薬剤による前処理菌の血清に対する感受性あるいは補体活性化能の亢進について検討を加えたので報告する。

I. 材料および方法

1. 使用菌株

科研製薬東京研究所保有の*Escherichia coli* NIHJ JC-2および京都薬科大学西野博士より分与を受けた臨床分離株*E. coli* KC-14を使用した。

2. 使用薬剤

実験に使用したセフェム系抗生物質は、Cefbuperazone (CBPZ: 科研製薬)、Cefmetazole (CMZ: 三共)、Cefotetan (CTT: 山之内製薬)、Latamoxef (LMOX: 塩野義製薬)、Cefmenoxime (CMX: 武田薬品工業)、Cefotaxime (CTX: ヘキストジャパン)、Cefoperazone (CPZ: 富山化学工業)、Ceftazolidime (CTZ: 中外製薬)で、それぞれ力価の明らかな標準品を用いた。

3. 使用血清

健全なHartley系モルモット雄性、600~700gから採血し、37°Cで1時間放置後、3,000rpm、10min遠心分離して新鮮血清を得た。1mlずつtubeに分注し、-80°Cで凍結保存し、用時融解し使用した。なお、基礎実験において、1か月の凍結保存中補体価の変動は認められなかった。また、血清の一部は56°C 30min加熱

し、非働化血清として使用した。

4. 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定

薬剤の被験菌に対する MIC は液体希釈法によって測定した。すなわち培地としては、感受性測定用ブイオン (Mueller-Hinton Broth: 日水製薬) を用い、各種薬剤濃度は 100 µg/ml を基点として倍々希釈で添加しこれに最終菌濃度が 10⁸ CFU/ml になるように菌を接種して、37°C で 24 時間培養後肉眼判定により、菌による混濁が認められない最小濃度を MIC とした。なお、MIC 測

定は実験ごとに行なった。

5. 血清存在下における殺菌作用

各種薬剤の *E. coli* NIHJ JC-2 および *E. coli* KC-14 に対する殺菌作用を、ブイオンおよび 1 または 10% 血清添加ブイオンを用いて検討した。薬剤濃度は各種薬剤のブイオン中での MIC 値の 1, 1/2, 1/4 および 1/8 とした。薬剤添加ブイオン 3 ml に被験菌を 0.3~1 × 10⁸ CFU/ml になるよう接種し、37°C で振盪培養した。以上の培養液の一部を経時的に採取し希釈後、生菌数を

Table 1 Change of viable cell numbers of *E. coli* NIHJ JC-2 in the presence of cephem antibiotics with or without the fresh guinea pig serum

Antibiotics (MIC: µg/ml) ^{a)}	Dose (MIC)	Incubation period (hr)									
		0% serum					1% serum				
		0	2	4	6	24	0	2	4	6	24
Expt 1 Control		4.77 ^{b)}	5.87	7.72	8.97	9.41	4.77	3.26	5.08	7.04	9.32
CBPZ (0.78)	1/2		3.08	2.23	3.38	6.90	0	0	0	0	0
	1/4		3.58	4.20	5.65	7.41		1.18	0	0	0
	1/8		4.99	6.83	7.72	8.53		1.90	3.41	5.08	8.04
Expt 2 Control		5.15	6.08	7.88	8.91	9.43	5.15	2.71	4.18	6.40	9.28
LMOX (0.78)	1/2		3.45	0	1.18	6.92		1.56	0	0	0.70
	1/4		4.56	2.23	2.82	8.54		2.04	1.85	0	3.76
	1/8		5.20	4.78	6.52	8.69		1.90	2.66	4.15	8.04
CMZ (3.13)	1/2		4.20	2.90	4.00	8.56		1.40	0	0	0
	1/4		5.32	6.11	7.15	9.11		2.08	3.40	5.15	8.91
	1/8		5.96	7.68	8.20	9.11		2.84	4.58	6.48	9.04
Expt 3 Control		4.41	5.32	6.94	8.48	9.41	4.41	3.08	4.75	6.41	9.32
CMX (0.2)	1		4.04	3.53	3.15	1.70		1.30	0	0	0
	1/2		4.08	3.56	3.74	6.23		0.70	0	0	0
	1/4		4.15	4.89	6.48	6.99		0.85	3.15	4.68	8.04
CTX (0.1)	1		4.00	3.60	3.15	1.60		1.00	0	0.70	2.38
	1/2		4.15	3.76	4.20	7.68		1.18	0.70	1.54	6.58
	1/4		4.53	5.76	7.26	7.90		2.08	2.70	5.15	7.67
CPZ (0.39)	1		4.08	3.54	3.46	7.26		1.18	0	0	0
	1/2		4.15	3.72	4.38	7.98		1.40	0	1.00	6.20
	1/4		4.72	6.30	7.52	7.90		1.95	3.26	4.82	7.54
Expt 4 Control		5.04	6.11	7.90	8.66	9.32	5.04	4.18	5.72	7.54	9.26
CTZ (1.56)	1		3.28	1.85	1.60	5.26		1.70	0	0	0
	1/2		4.62	4.60	5.40	9.26		2.96	3.30	5.57	5.72
	1/4		5.81	7.58	8.40	9.28		3.87	5.57	7.28	9.38
CZX (0.1)	1		3.83	1.90	1.00	0		1.65	0	0	0
	1/2		3.88	2.95	3.76	8.60		2.00	1.18	0	0
	1/4		4.99	6.41	7.52	8.71		3.20	4.76	6.34	6.68
CTT (1.56)	1/2		2.00	1.54	1.74	1.98		1.30	0.70	0	1.90
	1/4		3.72	3.52	3.65	7.76		1.40	0.70	0	3.88
	1/8		4.36	4.75	5.70	7.97		2.40	3.51	4.64	7.71

^{a)} MIC was determined by liquid dilution method.

^{b)} Number of cells (log) per ml.

平板塗抹法で測定した。

6. 薬剤前処理菌の血清に対する感受性

1/2 または 1/4 MIC の薬剤を含むブイオンに、*E. coli* NIHJ JC-2 を 1×10^8 CFU/ml になるように接種し、37°C で 0.5, 1 および 2 時間振盪培養した。以上の培養液を 3 ml ずつ採取し、3,500 rpm 20 min 遠心分離して菌体を集め、滅菌生理食塩液で 2 回洗浄を繰り返した後、1% 血清添加ブイオン 3 ml に再浮遊した。さらに、37°C で振盪培養し、経時的に培養液の一部を採取し希釈後、生菌数を平板塗抹法で測定した。

7. 薬剤前処理菌の補体活性化能

1/2, 1/4 または 1/8 MIC の薬剤を含むブイオンに、*E. coli* KC-14 を 1×10^7 CFU/ml になるように接種し、37°C で 1 および 2 時間振盪培養した。以上の培養液の増殖濁度を、光電比色計 (Photoelectric colorimeter AE-11, エルマ光学) を用いて 530 nm で測定した。培養液は、3,500 rpm 20 min 遠心分離して菌体を集め、滅菌生理食塩液で 2 回洗浄を繰り返した後、3% 血清添加 Gelatin Veronal Buffer (GVB²⁺) で 1×10^8 CFU/ml になるように再浮遊し、37°C で 15, 30 および 60 分間振盪培養した。各時点の菌浮遊液は、3,500 rpm 20 min 遠心分離し、菌体を除去後、上清中に残存する血清補体を補体価測定用試薬 (Mayer 法の 1/2.5 法, デンカ生研) を用いて測定した。なお、対照は無処理の菌体および菌体無添加の 3% 血清添加 GVB²⁺ を用いて同様の条件下で測定した。

II. 成績

1. *E. coli* NIHJ JC-2 に対する血清との協力的殺菌作用

使用した 1% 血清添加ブイオン中の補体価は、CH 50

2.2 U/ml であった。

9 種類のセフェム系抗生物質 CBPZ, LMOX, CTT, CMZ, CMX, CTX, CPZ, CTZ および CZX の sub-MICs における血清との協力的殺菌作用の結果を、Table 1 に示した。使用薬剤間に程度の差はあったが、血清添加による殺菌力増強がいずれの場合も認められた。薬剤単独では、培養開始 4 時間後に生菌数が最少になるのに対し、血清との併用では、その殺菌作用は増強され 2~4 時間後に生菌数は最少になった。特に協力的殺菌作用が顕著に認められたのは CBPZ であり、1/4 MIC まで、次いで CMZ, CMX および CZX は 1/2 MIC まで 24 時間菌の再増殖はなかった。一方、LMOX, CTT, CTX および CPZ では 1/2 MIC で血清との協力的殺菌作用が認められたが、24 時間後には菌は再増殖した (Table 1)。

2. *E. coli* KC-14 に対する血清との協力的殺菌作用
使用した 10% 血清添加ブイオン中の補体価は、CH 50 24.8 U/ml であった。*E. coli* KC-14 は、90% 血清存在下においても増殖する血清に対して耐性な菌株である。

CBPZ, CPZ および CTX の sub-MICs における血清との協力的殺菌作用の結果を Table 2 に示した。使用薬剤間に程度の差があったが、いずれの薬剤においても血清添加による殺菌力増強が認められた。また、その効果は培養開始 4~6 時間後に顕著に現われ、薬剤単独による殺菌効果発現時期とはほぼ一致していた。特に CBPZ は 1/4 MIC まで、CTX では 1/2 MIC まで 24 時間菌の再増殖はなかった。一方、CPZ は 1/2 MIC で血清添加による抗菌活性の増強を認めたが、24 時間後には菌は再増殖した (Table 2)。

3. 非働化血清との協力的殺菌作用

Table 2 Change of viable cell number of *E. coli* KC-14 in the presence of cephem antibiotics with or without the fresh guinea pig serum

Antibiotics (MIC: $\mu\text{g/ml}$) ^{a)}	Dose (MIC)	Incubation period (hr)									
		0% serum					10% serum				
		0	2	4	6	24	0	2	4	6	24
Control		5.03 ^{b)}	6.31	8.09	9.03	9.36	5.03	6.46	8.15	9.04	9.57
CBPZ (0.39)	1/2		2.29	1.48	0	2.18		2.15	1.30	0	0
	1/4		2.35	1.60	0.70	7.31		2.62	1.54	0	0
	1/8		3.35	3.28	5.02	8.32		2.98	1.70	2.30	8.34
CPZ (0.1)	1/2		4.45	2.96	4.64	7.18		2.46	1.40	0.70	1.81
	1/4		4.75	5.08	6.11	8.61		4.00	3.20	4.74	8.26
CTX (0.05)	1/2		2.34	1.93	1.85	8.73		2.40	1.48	0	0
	1/4		3.97	3.85	5.57	8.57		4.67	2.98	3.23	8.18

^{a)} MIC was determined by liquid dilution method.

^{b)} Number of cells (log) per ml.

次に、これら新鮮血清添加時に認められるセフェム系抗生物質との協力的殺菌作用が、血清中の何に起因するのか追及するため、非働化血清を用いて検討した。その結果を Table 3 に示した。*E. coli* NIHJ JC-2 および *E. coli* KC-14 のいずれに対しても、非働化血清では新鮮血清添加時に認められた顕著な協力的殺菌作用は認められなかった。しかし、*E. coli* KC-14 は、1/4 MIC の CBPZ と 10% 非働化血清存在下で 24 時間後には薬剤単独時と比較すると生菌数が明らかに減少しており協力的作用を受けたと考えられた (Table 3)。

4. 薬剤前処理菌の血清に対する感受性

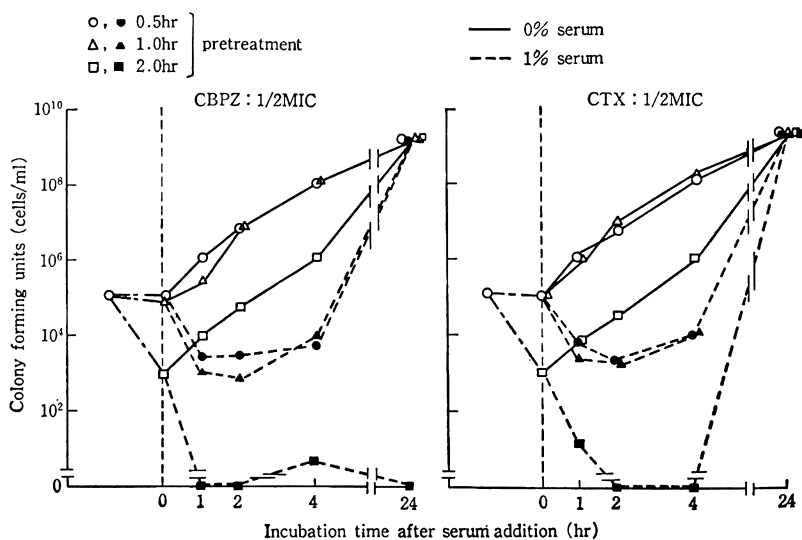
E. coli NIHJ JC-2 に対して種々のセフェム系抗生物質を用いて血清との協力的殺菌作用を比較検討した結果、CBPZ が最も強く、CTX が最も弱かった。そこで、CBPZ および CTX を用いて菌の前処理を行ない、血清に対する菌の感受性の変化を検討した。その結果を、Fig. 1 に示した。1/2 MIC の CBPZ で *E. coli* NIHJ JC-2 を 2 時間前処理すると、血清添加 1 時間後に既に生存菌は認められず、24 時間後も菌は再増殖しなかった。一方、1/2 MIC の CTX では、血清添加後 2 時間後

Table 3 Change of viable cell numbers of *E. coli* NIHJ JC-2 or *E. coli* KC-14 in the presence of CBPZ with or without inactivated serum of guinea pigs

Strains	Antibiotics	Dose (MIC)	Incubation period (hr)				
			0	2	4	6	24
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	Control		5.15 ^{a)}	6.11	8.36	9.08	9.46
	CBPZ	1/2		3.00	2.94	3.63	7.83
		1/4		3.96	5.04	6.28	8.54
	CBPZ + 1% inactivated serum	1/2		2.96	2.49	2.85	7.95
1/4			3.75	4.68	5.75	8.86	
<i>E. coli</i> KC-14	Control		5.03	6.31	8.09	9.03	9.36
	CBPZ	1/2		2.29	1.48	0	2.18
		1/4		2.35	1.60	0.70	7.31
	CBPZ + 10% inactivated serum	1/2		2.63	1.78	1.18	1.18
1/4			3.26	1.95	1.30	2.76	

^{a)} Number of cells (log) per ml.

Fig. 1 Bactericidal effect of 1% fresh serum of guinea pigs on cells of *E. coli* NIHJ JC-2 pretreated with 1/2 MIC of CBPZ



に 10^1 CFU/ml 以下に減少したが、24 時間後には菌の再増殖が認められた。また Fig. 2 に示したように、両薬剤とも $1/4$ MIC で 2 時間前処理しても、血清添加による完全な殺菌作用は認められなかった。しかし、両薬剤の前処理効果を比較すると、CBPZ では前処理時間に応じた血清に対する感受性の亢進が認められたのに対し、CTX では、感受性の亢進は認められなかった (Fig. 1 および Fig. 2)。

5. 薬剤前処理菌の補体活性化能

sub-MICs の CBPZ を用いて *E. coli* KC-14 を時間

を変えて前処理し、菌体の補体消費量を検討した。その結果、Table 4 に示したように、補体消費量は 1 時間の前処理では無処理の菌体と比較して差はなかったが、2 時間の前処理により、 $1/2$ MIC で約 3.4 倍、 $1/8$ MIC で約 2.6 倍の増加が認められた (Table 4)。

III. 考 察

今回我々は、生体内効果が良好であるとされる CBPZ を中心に、種々のセフェム系抗生物質を用いて、sub-MICs の薬剤共存下における大腸菌のモルモット新鮮血清による殺菌の状況を比較検討した。その結果、血清と

Fig. 2 Bactericidal effect of 1% fresh serum of guinea pigs on cells of *E. coli* NIHJ JC-2 pretreated with $1/4$ MIC of CBPZ

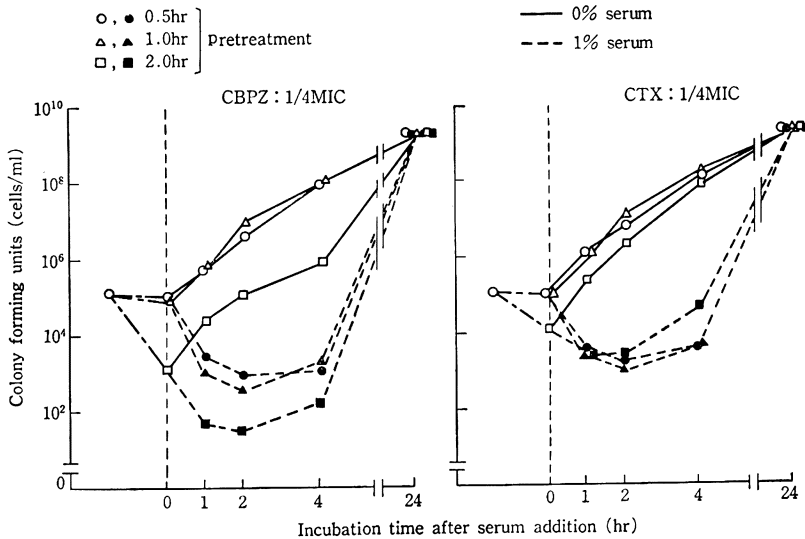


Table 4 Complement consumption by cells of *E. coli* KC-14 grown in the presence or absence of CBPZ

Pretreatment conditions	Preincubation period (hr)	Complement consumption after (min)		
		15	30	60
Expt 1 No antibiotic	1	12.7	NT	20.6
CBPZ $1/2$ MIC	1	11.3	NT	19.9
$1/4$ MIC	1	10.2	NT	24.3
$1/8$ MIC	1	11.9	NT	16.8
Expt 2 No antibiotic	2	7.2	8.5	13.1
CBPZ $1/2$ MIC	2	14.3	24.7	44.1
$1/4$ MIC	2	17.8	25.5	43.7
$1/8$ MIC	2	10.6	22.3	34.0

The fresh guinea pig serum was used at a concentration of 3% in GVB⁺⁺

The concentration of *E. coli* KC-14 was 10^8 CFU/ml.

NT: not tested.

の協力的殺菌作用は使用した薬剤間で差が認められ、その強さは、*E. coli* NIHJ JC-2 に対しては CBPZ > CMX, CZX, CMZ > LMOX, CTT > CPZ, CTZ > CTX の順であり、*E. coli* KC-14 に対しては、CBPZ > CTX > CPZ の順であった。また、56°C, 30 分間加熱処理した非働化血清によっては、新鮮血清添加によって認められた顕著な相乗的殺菌作用が出現しないことから、DUTCHER⁴⁾が指摘するように補体の関与が強く示唆された。一方、KIYTA⁹⁾によると、凍結乾燥補体と非働化人血清を用いた実験で、*E. coli* NIHJ JC-2 に対し優れた協力的殺菌作用が認められたのは CZX および CMX で、CBPZ は劣っていたと報告している。我々の基礎実験においても、凍結乾燥補体と非働化人血清では、CBPZ の殺菌作用が著しく減退することを認めており（未発表）、補体源の相違によって生じる協力的殺菌作用の程度の変動が何によるものか検討を要すると考える。

β -lactam 剤のペニシリン結合蛋白質 (PBPs) 親和性と抗菌活性に関しては種々の報告がなされている。奥村¹⁾や横田^{2,3)}は、PBPs との親和性の強弱、特に lbs および la との親和性は抗菌活性とともに生体内効果の良否に関連性があるとし、PBP lbs を強く抑える β -lactam 抗生物質は、MIC 以下であっても補体の殺菌作用を受け易くなるように菌体表面構造を変化させると考察している。また、DUTCHER⁴⁾は、人血清存在下における蛋白合成阻害剤の抗菌活性増強について考察し、Streptomycin あるいは Tetracycline で認められた抗菌活性の増強は、補体によって生じた菌体外層の侵襲の修復が、薬剤の蛋白合成阻害作用によって妨げられ、薬剤の外膜透過性が亢進することによるものと報告している。

セフェム系抗生物質においても、血清に対し感受性な *E. coli* NIHJ JC-2 では、薬剤単独時と血清併用時の殺菌力の最大発現時期を比較すると、血清併用時の方がやや早く発現しており、また、sub-MICs の薬剤に補体活性化能が認められないこと（未発表）などから、薬剤の外膜透過性が亢進している可能性がうかがわれる。しかし、セフェム系抗生物質には蛋白合成阻害作用がないことから、補体によって生じる菌体外層の侵襲は修復されると考えられる。さらに、血清に対し耐性な *E. coli* KC-14 においても、10% 血清存在下で顕著な抗菌活性の増強が認められ、また、薬剤単独あるいは血清併用時の殺菌力の最大発現時期は、培養開始 4~6 時間後とほぼ一致していたことなどから、セフェム系抗生物質の血清との協力的殺菌作用を、薬剤の外膜透過性亢進のみで説明するのは困難と考えられた。一方、我々は、*E. coli* NIHJ JC-2 の薬剤前処理菌に血清に対する感受性亢進

を認め、さらに、*E. coli* KC-14 では薬剤前処理菌の方が、無処理の菌よりも約 3 倍以上の補体活性化能を生じているのを認めた。現在、菌体表面構造の変化については、形態学的な検討を行なっているが、これらセフェム系抗生物質において認められる血清との協力的殺菌作用の発現は、薬剤の外膜透過性の亢進とともに、菌が血清、特に補体の作用を受け易くなっていることもその原因の一つであろうと推察された。また、血清中には、補体以外の殺菌性因子¹⁰⁾、 β -Lysin, Lysozyme, Transferrin などが存在することが知られている。*E. coli* KC-14 で、10% 非働化血清存在下で CBPZ の抗菌活性が弱いながらも増強されていることから、これらの因子との関連性についても検討を加える必要がある。また、CBPZ は、他剤に比べ生体内効果が良好とされており、その理由のひとつとして血清との協力的殺菌作用が考えられるが、他の生体防御因子、特に食細胞系との関連性についても詳細に検討を行なう必要がある。

文 献

- 1) 奥村和夫, 横田 健, 加藤日出子, 遠 彦二: 血清または多形核白血球共存下における Cefroxime の殺菌効果について。Chemotherapy 27 (S-6): 76~83, 1979
- 2) 横田 健, 関口玲子, 東 映子: Cefmenoxime (SCE-1365) の各種 β -lactamase およびペニシリン結合蛋白質に対する親和性とその抗菌力との関係。Chemotherapy 29 (S-1): 32~41, 1981
- 3) 横田 健, 関口玲子: Ceftizoxime (CZX) の大腸菌およびコレラ菌 penicillin 結合蛋白質に対する親和性と殺菌力との関係。Chemotherapy 28 (S-5): 44~49, 1980
- 4) DUTCHER, B. S.; A. M. REYNARD, M. E. BECK & R. K. CUNNINGHAM: Potentiation of antibiotic bactericidal activity by norma human serum. Antimicrob. Agents Chemother. 13: 820~826, 1978
- 5) 四辻 彰, 田井 賢, 笹倉かの子, 柿澤裕美, 岡本直子, 保田 隆, 才川 勇, 上田 泰: β -Lactam 系抗生剤の Sub-MIC に関する研究 (第 1 報) ヒトおよび各種動物血清中での殺菌作用。Chemotherapy 31(11): 1047~1054, 1983
- 6) KIYTA, H.; R. SEKIGUCHI, T. MACHIDA & T. YOKOTA: Synergy of bactericidal effects of the complement and macrophages with sub inhibitory concentration of antibiotics. 13th international congress of chemotherapy, 1983
- 7) TAMAKI, S.; S. NAKAJIMA & M. MATSUHASHI: Thermosensitive mutation in *Escherichia coli* simultaneously causing defects in penicillin binding protein-lbs and in enzyme activity for peptidoglycan synthesis *in vitro*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74: 5472~5476, 1977
- 8) 松橋通生: ペニシリン結合蛋白質。最新医学 34:

- 1466~1470, 1979
- 9) 松橋通生, 野口 浩, 玉城成夫: ペニシリン結合蛋白—理論と実際—。Chemotherapy 27: 827~840, 1979
- 10) 富岡茂雄, 高瀬一郎, 松橋通生: 細菌感染に対する非特異的液性防御因子。生体防御 2: 207~215, 1985
- 11) 才川 勇, 保田 隆, 四辻 彰, 福岡義和, 高畑 正裕, 西田享子, 笹倉かの子: T-1982 の実験的感染症に対する有効性。Chemotherapy 30 (S-3): 131~138, 1982
- 12) SUZUKI, I.; H. SENDA & T. YOKOTA: *In vivo* activity of cefbuperazone (T-1982) against various experimental infections in mice. J. Antibiotics 38: 249~258, 1985

SYNERGY OF BACTERICIDAL EFFECT OF THE FRESH GUINEA PIG SERUM WITH SUBINHIBITORY CONCENTRATIONS OF CEPHEM ANTIBIOTICS

TAIJI ASANO

Tokyo Research Laboratories, Kaken Pharmaceutical Co., Ltd.

TAKESHI YOKOTA

Department of Bacteriology, School of Medicine, Juntendo University

We studied synergy of bactericidal effect on *E. coli* between CBPZ and fresh serum of guinea pigs, and compared with those of 9 cephem antibiotics.

Bactericidal effects of the fresh serum in the presence of sub-MICs of cephem antibiotics were determined by counting survival bacterial cells at various incubation periods. Synergy of bactericidal effect on *E. coli* NIHJ JC-2 cells was observed between 1% fresh serum and cefmetazole, cefmenoxime at 1/2 MIC and cefbuperazone up to 1/4 MIC, whereas latamoxef, cefotetan, cefoperazone and cefotaxime didn't kill all the cells at 1/2 MIC in 1% fresh serum. Synergy of bactericidal effect on *E. coli* KC-14 cells was observed between 10% fresh serum and cefotaxime at 1/2 MIC and cefbuperazone up to 1/4 MIC, whereas cefoperazone didn't kill all the cells at 1/2 MIC in 10% fresh serum.

Sensitivity of *E. coli* NIHJ JC-2 to the fresh serum was found to be increased by pretreatment with sub-MICs of cefbuperazone and cefotaxime for various periods from 0.5 to 2 hours. This effect of cefbuperazone was stronger than that of cefotaxime. Growing cells of *E. coli* KC-14 treated with cefbuperazone at sub-MICs were capable of greater complement activation than the normal cells.

Synergy of bactericidal activity of the any cephem antibiotics with the inactivated serum was inferior than with the fresh serum, suggesting that relevancy of the complement etc. is important.