

新cephem系抗生剤Cefpiromeの細菌学的評価

五島堯智子・笠井一弘・宮崎修一・辻 明良・金子康子

東邦大学医学部微生物学教室*

新注射用cephem剤cefpirome sulfate(CPR)の*in vitro*抗菌力をcefazolin(CEZ), cefotaxime(CTX), cefmenoxime(CMX), cefoperazone(CPZ), ceftizoxime(CZX), latamoxef(LMOX), ampicillin(ABPC), methicillin(DMPPC)と比較した。また*in vivo*実験にはcefsulodin(CFS), ceftazidime(CAZ), gentamicin(GM)を加え、菌種により薬剤を選択して各薬剤の抗菌力を比較した。

CPRは、グラム陽性菌、グラム陰性菌に広域のスペクトルを有し、特にMRSAを含む*Staphylococcus*属、腸内細菌科の各菌種に対し、比較した第3世代cephem剤より強い抗菌力を有した。さらに、*Pseudomonas aeruginosa*を含むブドウ糖非発酵菌に対し、CAZより若干弱い、他の第3世代cephem剤より強い傾向を示した。

菌の産生する薬剤不活化酵素に対してCPRは、CSase type, CXase type, PCase typeいずれの酵素にも安定であった。

マウス単独全身感染モデル(*Staphylococcus aureus*と*Escherichia coli*各2株および*Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *P. aeruginosa*各1株)および*E. coli*と*P. aeruginosa*との混合感染モデルにおいても良好な治療効果を示した。

Key words : Cefpirome sulfate, *in vitro*抗菌力, *in vivo*抗菌力

Cefpirome sulfate(CPR)は、Hoechst-Rousel社で共同開発された、3位の側鎖に2,3-cyclopentenopyridin基、7位の側鎖に2-2-amino-4-thiazolyl-2-methoximino基を持つ、新しい半合成の注射用cephem剤である。

本剤は、グラム陰性菌に強い抗菌力を示すとともに、従来の第三世代のcephem剤の抗菌力が弱かった*Staphylococcus aureus*等のグラム陽性菌にも抗菌力を有すること、 β -lactamaseに対しても安定であることが報告されている¹⁻⁸⁾。

本報告では、CPRの*in vitro*と*in vivo*の抗菌作用、 β -lactamase安定性および体内動態を他の抗菌剤と比較した成績を報告する。

I. 実験材料および方法

1. 使用菌種

試験菌は、教室保存の標準株および臨床材料から分離したグラム陽性菌、グラム陰性菌の多数株を使用した。

2. 試験抗菌剤

Cefpirome(CPR, 786 μ g/mg, Hoechst-Rousel)
Cefazolin(CEZ, 944 μ g/mg, 藤沢薬品)
Cefsulodin(CFS, 930 μ g/mg, 武田薬品)
Cefmetazole(CMZ, 949 μ g/mg, 三共)
Cefotaxime(CTX, 925 μ g/mg, ヘキストジャパン)
Cefoperazone(CPZ, 949 μ g/mg, 富山化学)
Ceftizoxime(CZX, 857 μ g/mg, 藤沢薬品)

Cefmenoxime(CMX, 946 μ g/mg, 武田薬品)
Latamoxef(LMOX, 924 μ g/mg, 塩野義製薬)
Ceftazidime(CAZ, 845 μ g/mg, 新日本実業)
Ampicillin(ABPC, 909 μ g/mg, 明治製薬)
Methicillin(DMPPC, 904 μ g/mg, 萬有製薬)
Cloxacillin(MCIPC, 904 μ g/mg, 明治製薬)
Gentamicin(GM, 520 μ g/mg, 塩野義製薬)

3. 感受性測定法

MICの測定は、日本化学療法学会標準法⁹⁾に準じ寒天平板希釈法にて行った。

4. 殺菌作用

S. aureus Smith株を用いた。37℃一夜培養した菌液を、Mueller Hinton broth(Difco)中に最終濃度 10^5 CFU/mlになるように接種した。37℃1時間振盪培養後、CPR, CEZおよびABPCをそれぞれ1/4, 1/2, 1, 2, 4 MICになるように添加した。添加1, 3, 5, 8時間後に培養液を採取してそれぞれの時点での生菌数を測定した。

5. 菌の産生する不活化酵素に対する安定性

1) 酵素液の調整

Citrobacter freundii GN346 (Richmond I a), *Escherichia coli* 35 (Richmond I b), *Proteus vulgaris* GN76 (Richmond I c), *Pseudomonas aeruginosa* 11 (Richmond I d), *E. coli* 121 (Richmond II), *E. coli* ML1410 RGN823 (Richmond III), *Klebsiella pneumoniae* GN69

* 〒143 東京都大田区大森西5-21-16

(Richmond IV) および *E. coli* ML1410 RGN238 (Richmond V) を普通ブイヨン(栄研)で37°C 4時間振盪培養し、6,000 rpm 30分遠心した後、菌体を0.05 M PBSで2回洗いPBS 3 mlに懸濁、超音波で菌体を破壊し、その遠心上清を粗酵素液とした¹⁰⁾。

2) 酵素による不活化率の測定

薬剤は、CPR, CEZ, CMZ, CTX, CPZ, CZX, CMX, LMOX, CAZを用い、それぞれpenicillinase typeの酵素はPCG, cephalospolinase typeの酵素はCER, cefuroximase typeの酵素はCXMの水解を100として β -lactamaseに対する安定性をspectrophotometric法により測定し、それぞれの薬剤の β -lactamaseに対する安定性を比較した。

6. マウス実験感染における感染防御効果

マウスは、ICR系雄20 \pm 1gを1群6匹とした。

S. aureus Smith, *S. aureus* TMS228, *E. coli* CII, *E. coli* ML1410 RGN823, *K. pneumoniae* 3K25, *C. freundii* GN346, *P. aeruginosa* E7をそれぞれHeart Infusion寒天平板(Difco)で一夜培養後、生理食塩液で所定の濃度になるように調整し、さらに最終濃度5%になるようにムチン液を添加し、マウス腹腔内に接種した。接種1時間後にCPR, CTX, CEZ, CMX, CPZ, CAZ, CFS, ABPCをそれぞれ皮下投与した。観察は感染後5日間行い、マウスの生死からED₅₀をVAN DER WEARDEN法¹¹⁾により算出した。

7. マウスの血清中濃度測定

ICR系雄20 \pm 1 gを1群5匹を用い、CPR, CTX, CEZおよびCAZをそれぞれ1 mg/mouse, 0.5 mg/mouse皮下投与し、5分, 15分, 30分, 1時間, 2時間後に麻酔下で一匹あたり0.5 ml採血し、1群をプールした血清中の抗菌剤濃度をbioassay法で測定した。なお検定菌として*Micrococcus luteus* ATCC9341を使用した。

II. 実験成績

1. 抗菌スペクトル

グラム陽性菌9株, グラム陰性菌34株に対するCPRおよび対照薬剤の抗菌力(接種菌量10⁸ cells/ml)を測定した成績をTable 1.2に示した。グラム陽性菌に対するCPRの抗菌力は強く、特に*S. aureus*に対するCPRのMICは、0.39~0.78 μ g/mlであり、ABPCより若干弱い、CEZとはほぼ同等で、CTX, CMX, LMOX, DMPPCより強い抗菌力が認められた。また*Enterococcus faecalis* 216に対してもCPRは、12.5 μ g/mlのMICを示し、ABPCより弱いが他剤より強い抗菌力を示した。

一方、グラム陰性腸内細菌科の菌株(*Morganella morganii* IF03848, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047を除く)に対するCPRの抗菌力は、CMX, LMOX, ABPC,

DMPPCより強く、CEZ, CTXと同等かやや強かった。ブドウ糖非発酵菌群の中で*Pseudomonas*属, *Alcaligenes faecalis* NCTC 655および*Flavobacterium meningosepticum* KM 1113に対するCPRのMICは、3.13~12.5 μ g/mlを示し、全般的にCMXよりやや弱く、他剤より強い抗菌力を示した。

2. 臨床分離株に対する抗菌力

臨床材料より分離した*S. aureus* 73株, methicillin耐性*S. aureus* 65株, *Staphylococcus epidermidis* 59株, *E. faecalis* 32株, *E. coli* 46株, *K. pneumoniae* 46株, *E. cloacae* 46株, *Serratia marcescens* 46株, *P. aeruginosa* 92株, *Xanthomonas maltophilia* 29株, *Acinetobacter calcoaceticus* 23株の感受性分布を調べ、主としてCTX, CPZ, CZX, CMX, LMOX, CAZと比較した成績をTable 3~6に示した。

10⁸ cells/ml接種時の成績では、*S. aureus*に対するCPRのMIC₅₀およびMIC₉₀はともに0.78 μ g/mlであり、CEZとはほぼ同等で、CTX, CMX, CPZ, CAZ, ABPC, DMPPCより小さいMIC値を示した。

Methicillin耐性*S. aureus* (MRSA)に対するCPRの抗菌力(MIC₅₀: 50 μ g/ml, MIC₉₀: 100 μ g/ml, range: 3.15~100 μ g/ml)は、CER, CMZ, ABPCと同等で、CEZ, MCIPC, DMPPCより強かった。

*S. epidermidis*に対して、CPRのMIC₅₀とMIC₉₀は、それぞれ0.39 μ g/mlと25 μ g/mlであり、rangeは0.10~25 μ g/mlであった。本剤の抗菌力はCPZおよびABPCと同等であり、他の比較薬剤よりも強かった。

*E. faecalis*に対する各薬剤のMIC₅₀は、CPR: 50 μ g/ml, ABPC: 1.56 μ g/ml, CEZ, CTX, CMX, CPZおよびCAZ: >100 μ g/mlであった。本剤は、ABPCより弱い、他剤より強い抗菌力を示した。

*E. coli*に対して、CPRの抗菌力は、MIC₅₀: \leq 0.03 μ g/ml, MIC₉₀: 0.10 μ g/ml, Range: \leq 0.03~0.10 μ g/mlで、比較した薬剤中最も強い抗菌力を示した。

*K. pneumoniae*に対するCPRの抗菌力(MIC₅₀: 0.05 μ g/ml, MIC₉₀: 0.10 μ g/ml)は、CZXよりやや弱い、他の比較薬剤と同等かやや強かった。

*E. cloacae*に対するCPRのMIC₉₀は0.78 μ g/mlであるのに対し、比較薬剤のMIC₉₀は、6.25~100 μ g/mlを示し、本剤が最も強い抗菌力を示した。

*S. marcescens*に対して、CPRの抗菌力(MIC₅₀: 0.20 μ g/ml, MIC₉₀: 0.78 μ g/ml, range: \leq 0.03~6.25 μ g/ml)は、*E. cloacae*の場合同様対照薬剤より強かった。

*P. aeruginosa*に対して、CPRはCFS, CAZよりやや弱く、CPZと同等の抗菌力(MIC₅₀: 12.5 μ g/ml, MIC₉₀: 50 μ g/ml)を示した。またGM耐性69株に対してCPRの

Table 1. Antibacterial spectra of cefpirome and other antibiotics against Gram-positive bacteria

Test strain	MIC ($\mu\text{g/ml}$)						
	CPR	CFZ	CTX	CMX	LMOX	ABPC	DMPPC
<i>S. aureus</i> 209p	0.39	0.20	1.56	1.56	6.25	0.05	0.78
<i>S. aureus</i> ATCC25923	0.39	0.20	0.78	0.78	3.13	0.10	1.56
<i>S. aureus</i> Neuman	0.78	0.39	3.13	3.13	6.25	0.39	1.56
<i>S. aureus</i> Smith	0.39	0.39	3.13	1.56	6.25	0.10	1.56
<i>S. aureus</i> Terajima	0.78	0.78	3.13	3.13	6.25	0.20	3.13
<i>S. epidermidis</i> ATCC12228	0.10	0.39	0.39	0.39	3.13	0.10	0.39
<i>E. faecalis</i> 216	12.5	>100	>100	>100	>100	0.78	50
<i>B. subtilis</i> ATCC6633	0.78	0.78	3.13	6.25	6.25	<0.03	0.10
<i>M. luteus</i> ATCC9341	0.05	0.78	0.05	<0.03	0.39	<0.03	0.10

Inoculum size: 10^6 cells/ml

CPR: cefpirome, CEZ: cefazolin, CTX: cefotaxime, CMX: cefmenoxime, LMOX: latamoxef, ABPC: ampicillin, DMPPC: methicillin

Table 2. Antibacterial spectra of cefpirome and other antibiotics against Gram-negative bacteria

Test strain	MIC ($\mu\text{g/ml}$)						
	CPR	CEZ	CTX	CMX	LMOX	ABPC	DMPPC
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	<0.03	0.20	<0.03	0.10	0.05	0.10	50
<i>E. coli</i> ATCC25922	0.05	0.10	0.10	0.20	0.10	0.20	50
<i>E. coli</i> ATCC39188	<0.03	<0.03	<0.03	0.10	0.05	<0.03	25
<i>K. pneumoniae</i> IF03512	0.10	<0.03	0.20	<0.03	0.10	0.10	50
<i>K. oxytoca</i> 1	<0.03	0.10	<0.03	<0.03	0.03	0.20	25
<i>S. flexneri</i> 103R	<0.03	<0.03	<0.03	0.10	0.10	0.05	25
<i>S. flexneri</i> MZ3a	<0.03	<0.03	<0.03	0.05	<0.03	0.05	25
<i>S. typhimurium</i> ATCC13311	<0.03	<0.03	0.05	0.05	<0.03	0.20	25
<i>S. typhimurium</i> S-60	<0.03	0.05	0.10	0.20	0.10	0.39	12.5
<i>S. paratyphi</i> PB	<0.03	0.05	0.20	0.05	0.10	0.78	12.5
<i>S. sonnei</i> ATCC41060	0.05	0.10	0.10	0.10	0.10	0.39	25
<i>P. mirabilis</i> 1287	0.05	<0.03	<0.03	0.05	0.10	0.20	25
<i>P. mirabilis</i> ATCC21100	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	0.10	<0.03	12.5
<i>P. mirabilis</i> IF03849	0.10	<0.03	0.10	0.05	0.10	1.56	>100
<i>P. vulgaris</i> ATCC6380	0.10	<0.03	<0.03	0.10	0.20	0.78	100
<i>P. vulgaris</i> IF03851	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	0.10	0.20	25
<i>M. morganii</i> IF03848	25	50	25	>100	12.5	1.56	50
<i>P. rettgerii</i> IF013501	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	0.10	0.03	100
<i>P. inconstans</i> IF012930	0.05	<0.03	<0.03	<0.03	0.05	0.39	50
<i>S. marcescens</i> IF023648	0.10	0.20	0.20	0.20	0.20	0.78	50
<i>S. marcescens</i> ATCC8100	0.78	12.5	1.56	0.78	6.25	50	>100
<i>S. marcescens</i> IF03736	0.39	0.78	0.78	0.39	1.56	3.13	100
<i>C. freundii</i> 2	0.10	3.13	0.20	6.25	0.20	1.56	50
<i>E. cloacae</i> ATCC13047	>100	3.13	*1.56	25	3.13	1.56	100
<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	12.5	12.5	>100	1.56	6.25	6.25	1.56
<i>P. aeruginosa</i> IF03445	3.13	12.5	50	1.56	12.5	6.25	1.56
<i>P. fluorescens</i> ATCC13525	12.5	50	1.56	6.25	100	50	100
<i>P. fluorescens</i> IF03081	3.13	3.13	>100	0.39	0.20	50	12.5
<i>P. putida</i> ATCC17464	6.25	25	50	6.25	100	50	100
<i>X. maltophilia</i> IID1167	100	>100	>100	>100	6.25	>100	100
<i>A. calcoaceticus</i> NCTC7844	50	50	12.5	6.25	12.5	>100	25
<i>A. faecalis</i> NCTC655	12.5	0.78	3.13	3.13	0.10	3.13	>100
<i>A. xylooxidans</i> TMS73	>100	>100	>100	12.5	12.5	50	50
<i>F. meningosepticum</i> KM1113	3.13	6.25	1.56	25	6.25	50	100

Inoculum size: 10^6 cells/ml

MIC₉₀は、50 µg/ml : range 3.13 ~ >100 µg/mlであり、CFSとCAZのMIC₉₀は、25 µg/ml : range 1.56 ~ >100 µg/mlであった。

*X. maltophilia*に対するCPRの抗菌力は、CTX、CPZ、CMX同様ほとんど認められなかった。

*A. calcoaceticus*に対するCPRのMIC₉₀は、12.5 µg/mlを示したが、他の薬剤のMIC₉₀は100 ~ >100 µg/mlであり、本剤の抗菌力は他剤より明らかに強かった。

なおグラム陰性菌において、各薬剤の抗菌力は接種菌量の影響を受け、10⁶ cells/ml接種時に比べ10⁸ cells/ml接種時のMIC₅₀、MIC₉₀は著しく大きくなっていた。

3. 殺菌作用

S. aureus Smithに対するCPR、CEZ、ABPCの殺菌作用を検討した成績をFig. 1に示した。

菌数は、CPRの1 MIC濃度添加により薬剤添加8時間

後まで漸次減少した。本剤の*S. aureus* Smith株に対する殺菌力は、ABPCと同等であった。一方、CEZの場合1/2 MIC濃度添加においても添加8時間後まで僅かに生菌数が減少し、前述の2剤より殺菌力が強かった。

4. 菌の産生する薬剤不活化酵素に対する安定性

C. freundii GN346 (Richmond I a), *E. coli* 35 (Richmond I b), *P. vulgaris* GN76 (Richmond I c), *P. aeruginosa* 11 (Richmond I d), *E. coli* 121 (Richmond II), *E. coli* ML1410RGN823 (Richmond III), *K. pneumoniae* GN69 (Richmond IV) および *E. coli* ML1410 RGN238 (Richmond V) の各々の株より得られた薬剤不活化酵素に対する安定性の成績をTable 7に示した。CPRは、Richmond型8種のβ-lactamaseに対し、LMOX同様安定であった。

Table 3. *In vitro* antibacterial activity of cefpirome and other antibiotics against clinical isolated Gram-positive bacteria

Test strain (no. of isolates)	Antibiotics	MIC (µg/ml)		
		range	50%	90%
<i>S. aureus</i> (73)	cefpirome	0.39 ~ 25	0.78	0.78
	cefazolin	0.20 ~ 1.56	0.39	0.78
	cefotaxime	0.78 ~ 3.13	1.56	1.56
	cefmnoxime	0.78 ~ 3.13	1.56	1.56
	cefoperazone	1.56 ~ 6.25	3.13	3.13
	ceftazidime	3.13 ~ 25	3.25	12.5
	ampicillin	≤ 0.10 ~ 6.25	0.78	3.13
	methicillin	1.56 ~ 6.25	1.56	3.13
MRSA (65)	cefpirome	3.13 ~ 100	50	100
	cephaloridine	1.56 ~ 100	25	50
	cefazolin	3.13 ~ >100	100	>100
	cefmnoxime	6.25 ~ >100	25	100
	ampicillin	1.56 ~ >100	50	50
	cloxacillin	6.25 ~ >100	>100	>100
	methicillin	12.5 ~ >100	>100	>100
<i>S. epidermidis</i> (59)	cefpirome	0.10 ~ 25	0.39	25
	cefazolin	0.20 ~ >100	0.39	100
	cefotaxime	0.20 ~ >100	0.78	>100
	cefmnoxime	0.20 ~ >100	0.78	>100
	cefoperazone	0.39 ~ 25	0.78	25
	ceftazidime	1.56 ~ >100	3.13	100
	ampicillin	0.05 ~ 50	0.39	25
	<i>E. faecalis</i> (32)	cefpirome	1.56 ~ >100	50
cefazolin		12.5 ~ >100	>100	>100
cefotaxime		0.78 ~ >100	>100	>100
cefmnoxime		1.56 ~ >100	>100	>100
cefoperazone		12.5 ~ >100	50	>100
ceftazidime		25 ~ >100	>100	>100
ampicillin		0.39 ~ 50	1.56	50

Inoculum size: 10⁶ CFU/ml

5. マウス実験感染における防御効果

Methicillin感受性*S. aureus* Smith株感染群に対するCPRのED₅₀値は、0.039 mg/mouseでありCTXより優れ、ABPC、CEZより劣る治療効果を示した。しかし、Methicillin耐性*S. aureus* TMS288株の場合、CPRのED₅₀値は3.150 mg/mouse、他のCTX、CEZ、CTM、CXM、ABPCのED₅₀値は>20 mg/mouseであり、本剤は優れた治療効果を示した(Table 8)。

E. coli C11感染では、CPRはCTX、CMXと同等でCAZより強い治療効果を示した。TEM型のPenicillinase産生株である*E. coli* ML1410 RGN823を用いた場合、CPRのED₅₀値は0.062 mg/mouseであり、CTX、CMX、CAZより優れた治療効果が認められた。

K. pneumoniae 3K25感染ではCPRの治療効果(ED₅₀: 3.150 mg/mouse)はCAZと同等でありCTX、CMXより優

れていた。

C. freundii GN346感染では、CPRのED₅₀値は0.625 mg/mouseであり、CTX、CMXより若干大きい値であるが、CAZより小さい値であった。

P. aeruginosa E7感染の場合、CPRの治療効果(ED₅₀: 1.984 mg/mouse)は、CAZ、CFSより劣るもののCPZより優れていた(Table 9)。

E. coli C11のMLD以上の菌量と*P. aeruginosa* E7のMLD以下の菌量を混合感染した場合、CPRのED₅₀値は0.624 mg/mouseで、CAZより大きい値であったが、他剤より小さい値であった(Table 10)。

6. マウス血清中濃度

CPRをマウスにそれぞれ0.5 mg、1 mg/mouse皮下投与した時の血清中薬剤濃度をCTX、CAZ、CEZと比較した(Fig. 2)。

Table 4. *In vitro* antibacterial activity of cefpirome and other antibiotics against clinical isolated Gram-positive bacteria

Test strain (no. of isolates)	Antibiotics	MIC (μg/ml)		
		range	50%	90%
<i>S. aureus</i> (73)	cefpirome	0.39 ~ 3.13	0.78	1.56
	cefazolin	0.39 ~ 3.13	0.78	1.56
	cefotaxime	1.56 ~ 6.25	3.13	3.13
	cefmenoxime	0.78 ~ 6.25	1.56	3.13
	cefoperazone	1.56 ~ 12.5	3.13	12.5
	ceftazidime	6.25 ~ 100	12.5	25
	ampicillin	≤0.10 ~ >100	6.25	100
	methicillin	1.56 ~ 6.25	3.13	3.13
MRSA (65)	cefpirome	12.5 ~ >100	50	100
	cephaloridine	3.13 ~ 50	25	50
	cefazolin	25 ~ >100	>100	>100
	cefmetazole	12.5 ~ >100	50	>100
	ampicillin	12.5 ~ >100	>100	>100
	cloxacillin	25 ~ >100	>100	>100
	methicillin	25 ~ >100	>100	>100
<i>S. epidermidis</i> (59)	cefpirome	0.20 ~ 50	0.39	25
	cefazolin	0.20 ~ >100	0.39	100
	cefotaxime	0.39 ~ >100	1.56	>100
	cefmenoxime	0.20 ~ >100	0.78	>100
	cefoperazone	0.78 ~ 100	3.13	50
	ceftazidime	3.13 ~ >100	6.25	>100
	ampicillin	0.05 ~ >100	25	>100
	<i>E. faecalis</i> (32)	cefpirome	3.13 ~ >100	100
cefazolin		25 ~ >100	>100	>100
cefotaxime		12.5 ~ >100	>100	>100
cefmenoxime		50 ~ >100	>100	>100
cefoperazone		12.5 ~ >100	50	>100
ceftazidime		~ >100	>100	>100
ampicillin		0.78 ~ 50	1.56	50

Inoculum size: 10⁸ CFU/ml

Table 5. *In vitro* antibacterial activity of ceftirome and other antibiotics against clinical isolated Gram-negative bacteria

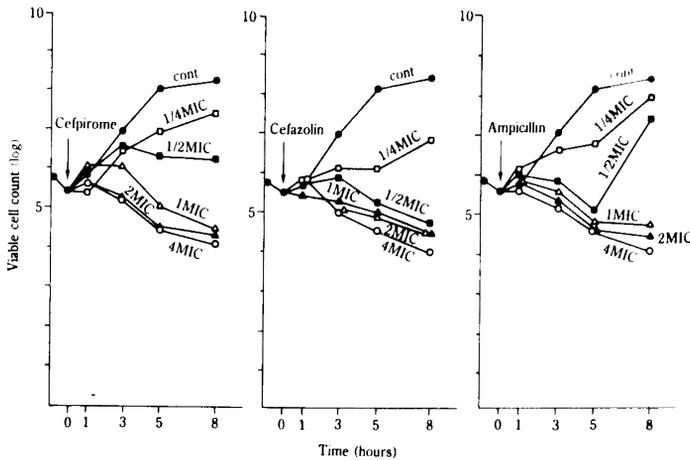
Test strain (no. of isolates)	Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		range	50%	90%
<i>E. coli</i> (46)	ceftirome	$\leq 0.03 \sim 0.10$	≤ 0.03	0.10
	cefotaxime	0.05 \sim 0.39	0.10	0.20
	cefoperazone	$\leq 0.03 \sim 25$	0.20	12.5
	ceftizoxime	$\leq 0.03 \sim 0.39$	0.05	0.20
	cefmenoxime	$\leq 0.03 \sim 0.20$	0.10	0.20
	latamoxef	0.10 \sim 0.78	0.10	0.39
	ceftazidime	0.05 \sim 0.39	0.20	0.39
<i>K. pneumoniae</i> (46)	ceftirome	$\leq 0.03 \sim 0.78$	0.05	0.10
	cefotaxime	$\leq 0.03 \sim 0.78$	0.05	0.20
	cefoperazone	0.10 \sim > 100	0.39	3.13
	ceftizoxime	$\leq 0.03 \sim 0.39$	≤ 0.03	0.05
	cefmenoxime	$\leq 0.03 \sim 1.56$	0.10	0.20
	latamoxef	0.10 \sim 1.56	0.20	0.39
	ceftazidime	$\leq 0.03 \sim 1.56$	0.20	0.78
<i>E. cloacae</i> (46)	ceftirome	$\leq 0.03 \sim 3.13$	0.05	0.78
	cefotaxime	$\leq 0.03 \sim 100$	0.20	25
	cefoperazone	$\leq 0.03 \sim > 100$	0.39	100
	ceftizoxime	$\leq 0.03 \sim 50$	0.20	25
	cefmenoxime	$\leq 0.03 \sim 50$	0.20	6.25
	latamoxef	$\leq 0.03 \sim 6.25$	0.20	6.25
	ceftazidime	$\leq 0.03 \sim 50$	0.39	25
<i>S. marcescens</i> (46)	ceftirome	$\leq 0.03 \sim 6.25$	0.20	0.78
	cefotaxime	0.20 \sim 50	0.39	6.25
	cefoperazone	0.78 \sim > 100	3.13	50
	ceftizoxime	0.05 \sim 25	0.10	3.13
	cefmenoxime	0.10 \sim 25	0.39	1.56
	latamoxef	0.20 \sim 25	0.39	6.25
	ceftazidime	0.20 \sim 3.13	0.39	1.56
<i>P. aeruginosa</i> (92)	ceftirome	1.56 \sim > 100	12.5	50
	cefsulodin	0.78 \sim > 100	3.13	12.5
	cefotaxime	25 \sim > 100	100	> 100
	cefoperazone	3.13 \sim > 100	12.5	50
	latamoxef	6.25 \sim > 100	50	100
	ceftazidime	1.56 \sim > 100	3.13	25
	gentamicin	0.39 \sim > 100	6.25	> 100
<i>X. maltophilia</i> (29)	ceftirome	6.25 \sim > 100	> 100	> 100
	cefotaxime	6.25 \sim > 100	100	> 100
	cefoperazone	1.56 \sim > 100	100	> 100
	ceftizoxime	12.5 \sim > 100	> 100	> 100
	cefmenoxime	3.13 \sim > 100	50	> 100
	latamoxef	0.39 \sim 50	6.25	25
	ceftazidime	0.78 \sim > 100	50	> 100
<i>A. calcoaceticus</i> (23)	ceftirome	0.20 \sim > 100	3.13	12.5
	cefotaxime	0.39 \sim > 100	12.5	100
	cefoperazone	6.25 \sim > 100	50	> 100
	ceftizoxime	0.20 \sim > 100	12.5	> 100
	cefmenoxime	3.13 \sim > 100	25	> 100
	latamoxef	3.13 \sim > 100	50	100
	ceftazidime	0.78 \sim > 100	6.25	> 100

Inoculum size: 10^6 CFU/ml

Table 6. *In vitro* antibacterial activity of cefpirome and other antibiotics against clinical isolated Gram-negative bacteria

Test strain (no. of isolates)	Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		range	50%	90%
<i>E. coli</i> (46)	cefpirome	$\leq 0.03 \sim 0.78$	0.05	0.20
	cefotaxime	0.05 \sim 0.39	0.10	0.39
	cefoperazone	0.20 \sim > 100	0.39	> 100
	ceftizoxime	0.10 \sim 0.78	0.20	0.39
	cefmenoxime	0.05 \sim 0.39	0.10	0.39
	latamoxef	0.10 \sim 0.78	0.20	0.39
	ceftazidime	0.20 \sim 0.78	0.20	0.78
<i>K. pneumoniae</i> (46)	cefpirome	$\leq 0.03 \sim 1.56$	0.10	0.78
	cefotaxime	0.05 \sim 0.78	0.10	0.39
	cefoperazone	0.20 \sim > 100	3.13	> 100
	ceftizoxime	$\leq 0.03 \sim 0.39$	0.05	0.10
	cefmenoxime	0.05 \sim 1.56	0.20	0.78
	latamoxef	0.10 \sim 1.56	0.39	1.56
	ceftazidime	0.10 \sim 3.13	0.78	1.56
<i>E. cloacae</i> (46)	cefpirome	0.20 \sim > 100	25	> 100
	cefotaxime	0.78 \sim > 100	> 100	> 100
	cefoperazone	25 \sim > 100	> 100	> 100
	ceftizoxime	0.39 \sim > 100	> 100	> 100
	cefmenoxime	12.5 \sim > 100	> 100	> 100
	latamoxef	0.10 \sim > 100	> 100	> 100
	ceftazidime	3.13 \sim > 100	> 100	> 100
<i>S. marcescens</i> (46)	cefpirome	100 \sim > 100	> 100	> 100
	cefotaxime	\sim > 100	> 100	> 100
	cefoperazone	\sim > 100	> 100	> 100
	ceftizoxime	\sim > 100	> 100	> 100
	cefmenoxime	\sim > 100	> 100	> 100
	latamoxef	\sim > 100	> 100	> 100
	ceftazidime	\sim > 100	> 100	> 100
<i>P. aeruginosa</i> (92)	cefpirome	1.56 \sim > 100	> 100	> 100
	cefsulodin	1.56 \sim > 100	> 100	> 100
	cefotaxime	12.5 \sim > 100	> 100	> 100
	cefoperazone	6.25 \sim > 100	> 100	> 100
	latamoxef	12.5 \sim > 100	> 100	> 100
	ceftazidime	1.56 \sim > 100	> 100	> 100
	gentamicin	3.13 \sim > 100	12.5	> 100
<i>X. maltophilia</i> (29)	cefpirome	12.5 \sim > 100	> 100	> 100
	cefotaxime	100 \sim > 100	> 100	> 100
	cefoperazone	12.5 \sim > 100	> 100	> 100
	ceftizoxime	100 \sim > 100	> 100	> 100
	cefmenoxime	50 \sim > 100	> 100	> 100
	latamoxef	1.56 \sim > 100	100	> 100
	ceftazidime	3.13 \sim > 100	> 100	> 100
<i>A. calcoaceticus</i> (23)	cefpirome	1.56 \sim > 100	25	> 100
	cefotaxime	6.25 \sim > 100	100	> 100
	cefoperazone	12.5 \sim > 100	> 100	> 100
	ceftizoxime	3.13 \sim > 100	100	> 100
	cefmenoxime	12.5 \sim > 100	100	> 100
	latamoxef	12.5 \sim > 100	> 100	> 100
	ceftazidime	6.25 \sim > 100	> 100	> 100

Inoculum size: 10^8 CFU/ml

Fig. 1. Bactericidal activity of ceftiprome, ceftazolin and ampicillin against *Staphylococcus aureus* Smith.Table 7. Stability of ceftiprome and other eight cepems to β -lactamases obtained from Gram-negative bacteria

Organism	β -lactamas type (Richmond)	CPR	CEZ	CMZ	CTX	CPZ	CZX	CMX	LMOX	CAZ
<i>C. freundii</i> GN346	CSase (Ia)	<0.1	95.6	<0.1	<0.1	0.7	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
<i>E. coli</i> 35	CSase (Ib)	<0.1	93.0	2.8	<0.1	1.2	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
<i>P. vulgaris</i> GN76	CXase (Ic)	1.1	375	<0.1	15.7	14.7	0.6	16.6	<0.1	<0.1
<i>P. aeruginosa</i> 11	CSase (Id)	<0.1	118	<0.1	19.3	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	18.0
<i>E. coli</i> 121	PCase (II)	<0.1	2.9	<0.1	<0.1	12.2	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
<i>E. coli</i> ML1410 RGN823	PCase (III)	0.1	0.6	<0.1	<0.1	14.6	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
<i>K. pneumoniae</i> GN69	PCase (IV)	0.2	2.5	<0.1	<0.1	24.9	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
<i>E. coli</i> ML1410 RGN238	PCase (V)	1.2	4.1	<0.1	5.9	9.7	16.0	20.3	<0.1	<0.1

Relative hydrolysis was determined by spectrophotometric assay at 37°C.

Values were based upon hydrolysis of PCG at 100 in penicillinase, CER at 100 in cephalosporinase and CXM at 100 in cefuroxime.

CPR: ceftiprome, CEZ: ceftazolin, CMZ: cefmenoxime, CTX: cefotaxime, CPZ: cefoperazone, CZX: ceftizoxime,

CMX: cefmenoxime, LMOX: latamoxef, CAZ: ceftazidime, PCG: penicillin G, CER: cephaloridine, CXM: cefuroxime

Table 8. Protective effect of ceftiprome and other antibiotics on experimental infections in mice

Test strain	Challenge dose (CFU/mouse, i.p.) containing 5% mucin	Drug	MIC (μ g/ml) inoculum size (cells/ml)		ED ₅₀ (mg/mouse)*
			10 ⁸	10 ⁶	
<i>S. aureus</i> Smith	(MLD: 1 × 10 ⁵ CFU/mouse)	CPR	0.78	0.39	0.039 (0.039 ~ 0.039)
		CTX	3.13	3.13	0.078 (0.044 ~ 0.140)
		CEZ	0.78	0.78	0.008 (0.004 ~ 0.016)
		ABPC	0.39	0.10	0.003 (0.002 ~ 0.004)
<i>S. aureus</i> TMS 288**	(MLD: 1 × 10 ⁸ CFU/mouse)	CPR	0.78	0.39	3.150 (2.500 ~ 3.969)
		CTX	3.13	3.13	>20
		CEZ	0.39	0.39	>20
		ABPC	0.39	0.10	>20

Four-week-old male ICR mice weighing 20 ± 1g (6/group) were used.

Each antibiotic was administered subcutaneously 1 hour after infection.

* Dose was required to prevent death of 50% of the animals used; calculated from the 5-day survival ratio by VAN DER WAERDEN'S method.

** methicillin-resistant strain.

Table 9. Protective effect of cefpirome and other antibiotics on experimental infections in mice

Textst strain	Challenge dose (CFU/mouse, i.p.) containing 5% mucin	Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$) inculum size (cells/ml)		ED ₅₀ (mg/mouse)*
			10 ⁸	10 ⁶	
<i>E. coli</i> C11	3.6 × 10 ⁶ (MLD: 2 × 10 ³ CFU/mouse)	CPR	1.56	0.03	0.001 (0.001 ~ 0.002)
		CTX	0.39	0.1	0.002 (0.001 ~ 0.003)
		CMX	6.25	<0.03	0.001 (0.001 ~ 0.001)
		CAZ	1.56	<0.03	0.008 (0.004 ~ 0.016)
<i>E. coli</i> ML-1410 RGN-823 (Richmond III)	7.5 × 10 ⁷ (MLD: 6 × 10 ⁷ CFU/mouse)	CPR	50	0.05	0.062 (0.042 ~ 0.091)
		CTX	50	0.05	0.156 (0.011 ~ 0.217)
		CMX	6.25	0.10	0.156 (0.156 ~ 0.156)
		CAZ	12.5	0.20	0.156 (0.156 ~ 0.156)
<i>K. pneumoniae</i> 3K25	4.7 × 10 ⁵ (MLD: 1 × 10 ³ CFU/mouse)	CPR	3.13	0.10	3.150 (2.171 ~ 4.572)
		CTX	6.25	0.10	15.874 (10.784 ~ 23.367)
		CMX	6.25	0.39	12.599 (8.681 ~ 18.287)
		CAZ	12.59	0.39	2.500 (1.804 ~ 3.466)
<i>C. freundii</i> GN346 (Richmond Ia)	5 × 10 ⁷ (MLD: 7.8 × 10 ⁵ CFU/mouse)	CPR	25	0.20	0.625 (0.414 ~ 0.945)
		CTX	12.5	6.25	0.313 (0.229 ~ 0.426)
		CMX	12.5	6.25	0.394 (0.294 ~ 0.528)
		CAZ	25	25	1.576 (1.070 ~ 2.319)
<i>P. aeruginosa</i> E7	1.5 × 10 ⁴ (MLD: 7.8 × 10 ² CFU/mouse)	CPR	100	25	1.984 (1.085 ~ 3.629)
		CPZ	50	12.5	5.000 (2.635 ~ 9.487)
		CAZ	25	6.25	0.156 (0.099 ~ 0.246)
		CFS	100	12.5	0.197 (0.104 ~ 0.374)

Four-week-old male ICR mice weighing 20 ± 1g (6/group) were used.

Each antibiotics was administered subcutaneously 1 hour after infection.

* Dose was required to prevent death of 50% of the animals used; calculated from the 5-day survival ratio by VAN DER WAERDEN'S method.

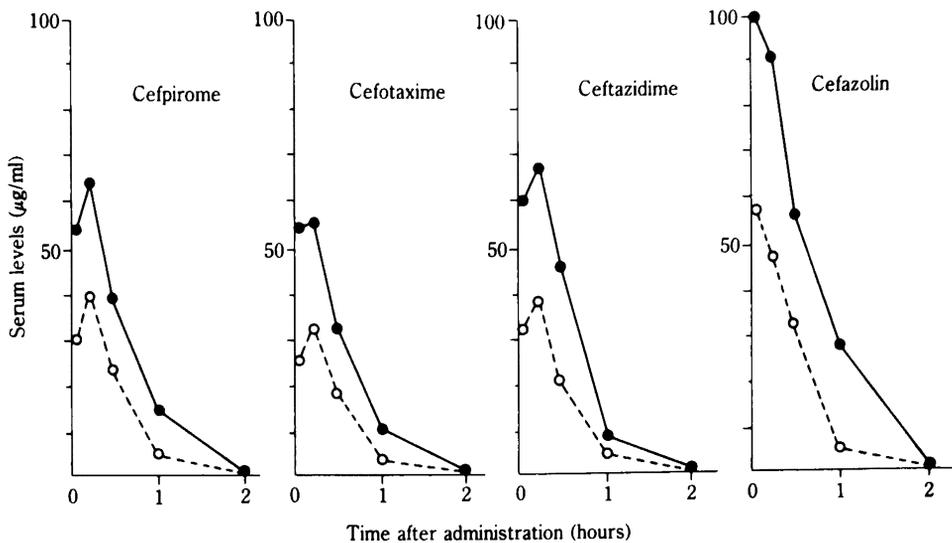
Table 10. Protective effect of cefpirome and other antibiotics on experimental infections in mice

Textst strain	Challenge dose (CFU/mouse, i.p.) containing 5% mucin	Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$) inculum size (cells/ml)				ED ₅₀ (mg/mouse)*
			<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>		
			10 ⁸	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁶	
<i>E. coli</i> C11	4.0 × 10 ⁵ (MLD: 2 × 10 ³ CFU/mouse)	CPR	1.56	0.03	100	25	0.624 (0.402 ~ 0.968)
		CEZ	6.25	3.13	>100	>100	>20
		CTX	0.39	0.10	100	100	6.300 (4.065 ~ 9.799)
		CMX	1.56	<0.03	>100	50	1.985 (1.368 ~ 2.880)
<i>P. aeruginosa</i> E7	2.3 × 10 ⁴ (MLD: 1.5 × 10 ⁴ CFU/mouse)	CPZ	0.78	0.39	50	12.5	1.985 (1.330 ~ 2.961)
		LMOX	6.25	0.05	>100	50	0.993 (0.930 ~ 1.060)
		CAZ	6.25	<0.03	25	6.25	0.124 (0.098 ~ 0.156)

Four-week-old male ICR mice weighing 20 ± 1g (6/group) were used.

Each antibiotics was administered subcutaneously 1 hour after infection.

* Dose was required to prevent death of 50% of the animals used; calculated from the 5-day survival ratio by VAN DER WAERDEN'S method.



Four-week-old male ICR mice weighing 20 ± 1 g were used. Serum levels were determined by bioassay. Each point shows the mean level for five animals. ●—● 1 mg/mouse, ○—○ 0.5 mg/mouse

Fig. 2. Concentration of cefpirome, cefotaxime, ceftazidime and cefazolin in the serum of mice after subcutaneous administration.

CPRの0.5 mg, 1 mg/mouse皮下投与時の血清中最高濃度は、投与後15分でそれぞれ40 $\mu\text{g/ml}$, 63 $\mu\text{g/ml}$ であり、CTX(32 $\mu\text{g/ml}$, 55 $\mu\text{g/ml}$)より高く、CAZ(36 $\mu\text{g/ml}$, 66 $\mu\text{g/ml}$)と同レベルであり、CEZ(58 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$)に比べ低値を示したが、持続時間に各薬剤の差は認められなかった。

Ⅲ. 考 察

CPRは、7位の側鎖に2-2-amino-4-thiazolyl-2-methoximino基を持つCTX, CZX, CMX等と同様にグラム陽性菌、グラム陰性菌に対し広域のスペクトルを有し、菌の産生するCSase type, CXase type, PCase typeいずれの酵素にも安定であった。

さらに、本剤の臨床分離株に対する抗菌力は、3位の側鎖に2,3-cyclopentenopyridin基を導入したことにより、従来の第3世代cephem剤の弱点であったグラム陽性球菌特に、*S. aureus*において、MSSAに対してはCTX, CMX, CPZ, CAZより強い抗菌力を示し、MRSAに対しても、従来のcephem剤はもちろんABPC, MCIPC, DMPPCより強い抗菌力を示した。また、*E. faecalis*に対して、CPRの抗菌力は、ABPCより劣るが、比較したcephem剤より最も強い抗菌力を示した。

一方、グラム陰性腸内細菌科の各菌種に対しても、CPRは従来の第3世代cephem剤と同等あるいはそれ以上

の強い抗菌力を示した。特に、*P. aeruginosa*に対するCPRの抗菌力は、CFS, CAZとほぼ同等であり、GM耐性菌(MIC: ≥ 6.25 $\mu\text{g/ml}$)に対しても、CFS, CAZと同等の抗菌力を示した。

*S. aureus*の感染、特にMRSAである*S. aureus* TMS288および*P. aeruginosa* E7単独感染モデルや*E. coli*と*P. aeruginosa*混合感染モデルにおける治療効果は、CPRの*in vitro*抗菌力を反映した成績といえよう。

以上の*in vitro*, *in vivo*成績より、CPRは、*S. aureus*と*P. aeruginosa*にも抗菌活性を有する薬剤であることが実証された。またCPRは多くの菌種による感染症に対し、治療効果が期待できる物質であると考えられる。

文 献

- 1) MACHKA K, BRAVRYNY I.: *In vitro* activity of HR810, a new broad-spectrum cephalosporin. Eur. J. Clin. Microbiol. 2: 345~349, 1983
- 2) SEIBERT G, KLESEL N, LIMBERT M, SCHRINNER E, SEEGER K, WINKLER I, LATTRELL R, BLUMBACH J, DURCKHEIMER W, FLEISCHMANN K, KIRRSTETTER R, MENCKE B, ROSS B C, SCHEUNEMANN K H, SCHWAB W, WEIDUWILT M: HR810, a new parenteral cephalosporin with a broad antibacterial spectrum. Arzeim-Forsch./Drug Res. 33: 1084~1086, 1983

- 3) JONES R N, THORNSBERRY C, BARRY A L : *In vitro* evaluation of HR810, a new widespectrum aminothiazolyl α -methoxyimino cephalosporin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 25 : 710~718, 1984
- 4) WEIDEMANN B, TOLXDORFF-NEUTZLING R M : HR810, a cephalosporin with low affinity for *Enterobacter cloacae* beta-lactamase. *Eur. J. Microbiol.* 2 : 352~354, 1983
- 5) BAUERNFEID A : Susceptibility of gram positive aerobic cocci to the new cephalosporin HR810. *Eur. J. Clin. Microbiol.* 2 : 345~355, 1983
- 6) CULLMAN W, OFFERKUCH W, STIEGLITZ M : Relation between beta-lactamase production and antimicrobial activity comparison of the new compound HR810 with cefotaxime. *Eur. J. Clin. Microbiol.* 2 : 350~352, 1983
- 7) SEIBERT G, LIMBERT M, WINKLER I, DICK T : The antibacterial activity *in vitro* and β -lactamase stability of the new cephalosporin HR810 in comparison with five other cephalosporin and two aminoglycosides. *Infection.* 11 : 275~279, 1983
- 8) TOLXDORFF-NEUTZLING R M, WIEDERMANN B : HR810, a new cephalosporin with low affinity for *Enterobacter cloacae* beta-lactamase. *Eur. J. Clin. Microbiol.* 2 : 352~354, 1983
- 9) 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
- 10) 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, 1982
- 11) 池田良雄 : 薬物致死量集, 南山堂 : 220~223, 1977

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CEPPIROME SULFATE, A NEW CEPHALOSPORIN ANTIBIOTIC FOR INJECTION

SACHIKO GOTO, KAZUHIRO KASAI, SHUICHI MIYAZAKI, AKIYOSHI TSUJI and YASUKO KANEKO

Department of Microbiology, School of Medicine, Toho University,

5-21-16 Omori-nishi, Ota-ku, Tokyo 143, Japan

We compared the antibacterial activity of cefpirome sulfate (CPR) with those of the following antibiotics: *in vitro*, cephazolin, cefotaxime, cefmenoxime, latamoxef, ampicillin, and methicillin; *in vivo*, 4-6 drugs for each bacterial strain of cefoperazone, ceftizoxime, cefsulodin, ceftazidime (CAZ), and gentamicin, in addition to the above listed drugs examined *in vitro*.

CPR showed broad-spectrum antibacterial activity against clinically isolated strains of Gram-positive and -negative bacteria. It was markedly more active than any other antibiotic tested against staphylococci, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Enterobacteriaceae*. Furthermore, CPR tended to be superior to all other third-generation cephems tested, except CAZ, against nonfermentative Gram-negative bacilli, including *Pseudomonas aeruginosa*, CAZ being slightly more potent than CPR.

CPR was stable to β -lactamases (CSase-, CXase- and PCase-types) produced by various species of bacteria.

CPR was also more effective than any of the other drugs examined in improving the condition of mice systemically infected singly with two strains each of *S. aureus* and *Escherichia coli* and one strain each of *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, and *P. aeruginosa*, and with a combination of *E. coli* and *P. aeruginosa*.