

Cefpiromeのin vitroおよびin vivo抗菌作用

西野武志・布村清忠・大槻雅子・清水寿美子・白石敦子
京都薬科大学 微生物学教室*

新しく合成された注射用セフェム抗生物質cefpirome(CPR)のin vitroおよびin vivo抗菌力について、cefotiam(CTM)、ceftazidime(CAZ)およびcefotaxime(CTX)を比較薬として検討し、以下の結果を得た。

CPRは、グラム陽性菌および陰性菌群に対して幅広い抗菌スペクトラムを有しており、グラム陽性の*Staphylococcus aureus*や*Staphylococcus epidermidis*に対してはCTMと同様の、また*Streptococcus spp.*に対してはCTXとほぼ同様の優れた抗菌力を示した。一方、グラム陰性菌に対するCPRの抗菌力はCTX同様非常に優れており、*Pseudomonas aeruginosa*に対してもCAZより若干劣るもののcefoperazone(CPZ)より良好な抗菌力を示した。臨床分離の*S. aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Haemophilus influenzae*, *P. aeruginosa*に対するCPRのMIC₅₀はそれぞれ0.39, 0.006, 0.05, 0.05, 0.1, 0.1, 0.05, 0.39, 3.13, 0.05, 3.13 μg/mlであった。

S. aureus, *E. coli*, *K. pneumoniae*および*P. aeruginosa*に対してCPRはMIC近辺の濃度で殺菌的に作用し、そのときの形態変化を位相差顕微鏡により観察したところ、*S. aureus*では膨化像や溶菌が見られ、*E. coli*や*P. aeruginosa*ではfilament像やspheroplastそして溶菌を認めた。CPRは*E. coli*および*P. aeruginosa*のPBP3に対して最も良好な親和性を示し、次いで1Bs, 1Aの順であり、これらの結果は形態変化の観察結果とよく一致していた。

マウス実験的腹腔内感染症に対するCPRの治療効果は、*S. aureus*ではCTMと同様の効果を示し、*E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *M. morganii*などのグラム陰性菌ではCTM, CTX, CAZに比べ優れた効果を示した。また*P. aeruginosa*による感染症に対して、CPRはCAZに比べ劣っていたが、CPZよりも良好な治療効果を示した。

Key words : Cefpirome, in vitro, in vivo, 形態変化, PBP

Cefpirome(CPR)はヘキスト社およびルセルユクラフ社の共同により開発された新しい注射用セフェム抗生物質である¹⁾。化学名を(-)-1-[[[6R, 7R]-7-[(Z)-2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetamido]-2-carboxy-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-yl]methyl]-6, 7-dihydro-5H-1-pyridinium hydroxide inner salt sulfateといい、いわゆるoxime型セフェム抗生物質で、分子式(分子量)がC₂₂H₂₂N₆O₅S₂・H₂SO₄(612.67)の白色ないし微黄白色の結晶性の粉末である。

本剤はグラム陽性菌、陰性菌群に対して幅広い抗菌スペクトラムを有し、とくに*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*を含むグラム陽性菌、*Pseudomonas aeruginosa*を含むグラム陰性菌に対して優れた抗菌力を示し、β-lactamaseに対しても極めて安定であり、親和性も低いことが報告されている²⁻⁴⁾。

今回、我々はCPRのin vitroおよびin vivo抗菌作用について既知抗生物質cefotiam(CTM)、ceftazidime(CAZ)およびcefotaxime(CTX)を比較薬として検討したので報告

する。

I. 実験材料および実験方法

1. 使用菌株

教室保存のグラム陽性菌18株、グラム陰性菌34株、嫌気性菌11株および臨床材料から分離された*S. aureus* 40株、*Streptococcus pyogenes* 20株、*Escherichia coli* 40株、*Klebsiella pneumoniae* 40株、*Proteus vulgaris* 40株、*Proteus mirabilis* 29株、*Morganella morganii* 26株、*Providencia rettgeri* 17株、*Enterobacter aerogenes* 31株、*Enterobacter cloacae* 30株、*Serratia marcescens* 40株、*Acinetobacter calcoaceticus* 40株、*Haemophilus influenzae* 39株および*P. aeruginosa* 40株を用いた。

2. 使用薬

Cefpirome(CPR)、cefotiam(CTM)、ceftazidime(CAZ)、cefotaxime(CTX)のいずれも力価の明らかなものを使用した。

3. 感受性測定法

前培養にSensitivity test broth(STB, 栄研)、感受性測

* 〒607 京都市山科区御陵中内町5

定培地にSensitivity test agar(STA, 栄研)を用い、日本化学療法学会最小発育阻止濃度(MIC)測定法⁵⁾に従って行った。尚、*Streptococcus* spp., *Corynebacterium diphtheriae*には10%馬脱繊維血液を添加したSTAを、*H. influenzae*には5%の割合にfildes's enrichment(Difco)を添加したSTAを用いて37°C、20時間培養後のMIC($\mu\text{g/ml}$)を求めた。また嫌気性菌は前培養にGAMブイヨン(ニッスイ)、測定用にGAM寒天培地(ニッスイ)を用いて日本化学療法学会嫌気性菌MIC測定法⁶⁾に準じて行った。そして*Neisseria* spp.はGonococcus medium培地(栄研)を用いて37°C、48時間ローソク培養後のMICを求めた。

4. 抗菌力におよぼす諸因子の影響

抗菌力におよぼす培地pH、馬血清添加、接種菌量の影響を*S. aureus* 209-P JC, *E. coli* NIHJ JC-2, *K. pneumoniae* KC-1, *P. aeruginosa* No.12を用いて、寒天平板希釈法によりMICの変動を測定することにより検討した。

5. 増殖曲線におよぼす影響

前培養した*S. aureus* 209-P JC, *E. coli* K-12, *K. pneumoniae* KC-1, *P. aeruginosa* E-2, の各菌液をHeart infusion broth(HIB, ニッスイ)で希釈し、振とう培養を行った。約2~3時間後の対数期途上に種々の濃度の薬剤を作用させ、薬剤作用1, 2, 4時間後に生菌数の測定を行った。

6. 形態変化の観察およびPBPsに対する親和性

位相差顕微鏡による形態観察では、スライドガラス1.で薬剤を含有させた薄層の寒天を作製し、これに対数期途上の*S. aureus* 209-P JC, *E. coli* K-12, *P. aeruginosa* E-2各菌液を塗抹後、カバーガラスを載せ、パラフィンで封じ、これをニコン倒立位相差顕微鏡で観察した。

PBPsに対するCPRの親和性の検討は、B.G.SPRATTの方法⁷⁾により*E. coli* K-12, *P. aeruginosa* E-2株の膜画分を調製し、¹⁴C penicillin Gとの競合により行った。X線フィルム上の¹⁴C penicillin Gにより感光度はDUAL-WAVELENGTH TLC SCANNERS-90(Shimadzu)で測定し、この値から50%阻害濃度を求めた。

7. マウス実験的感染症に対する治療効果

SLC-ddY系雄性マウス(4週令, 体重20 \pm 1g)1群10匹を用い、6% gastric mucin(半井化学)と等量混合した*S. aureus* SMITH, *E. coli* KC-14, *K. pneumoniae* KC-1, *S. marcescens* T-55, *M. morgani* 101, *P. aeruginosa* 15486の各菌液をマウス腹腔内に接種し、接種2時間後に1回皮下治療を行った。7日目の生存率からLITCHFIELD-WILCOXON法⁸⁾によりED₅₀(mg/mouse)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。

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、陰性菌群および嫌気性菌に対するCPRの抗菌力をCTM, CAZおよびCTXと比較検討

Table 1. Antibacterial spectrum of cefpirome and other antibiotics

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	cefpirome	cefotiam	ceftazidime	cefotaxime
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0.2	0.2	6.25	3.13
<i>Staphylococcus aureus</i> SMITH	0.2	0.39	6.25	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> TERAJIMA	0.78	0.78	12.5	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> NEUMANN	0.39	0.39	6.25	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	0.39	0.39	6.25	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> No.80 (PCG ¹⁾)	0.39	0.39	6.25	1.56
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.56	1.56	25	6.25
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23*	0.006	0.05	0.1	0.012
<i>Streptococcus pyogenes</i> COOK*	0.012	0.05	0.2	0.012
Viridans group <i>Streptococcus</i> *	100	>100	>100	100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type I*	0.012	0.1	0.2	0.012
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type II*	0.024	0.1	0.2	0.024
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type III*	0.012	0.1	0.2	0.012
<i>Enterococcus faecalis</i> *	>100	>100	>100	100
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.024	0.2	0.39	0.05
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	0.78	0.78	>100	1.56
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.1	0.1	1.56	0.1
<i>Bacillus anthracis</i>	12.5	1.56	50	6.25

* sensitivity test agar supplemented with 10% horse blood

した結果をTable 1~3に示した。

CPRはTable 1~3に示すようにグラム陽性菌、陰性菌および嫌気性菌に幅広い抗菌スペクトルを有していた。その抗菌力を比較すると、グラム陽性菌においては、*S. aureus*に対し、CPRのMIC値は0.2~0.78 $\mu\text{g/ml}$ で、CTMと同等の強い抗菌力を示した。一方、グラム陰性菌に対してもCPRは優れた抗菌力を示し、*E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*などの各種の菌に対し、CTXと同等あるいは4倍強い抗菌力を示した。*P. aeruginosa*に対するCPRの抗菌力も良好で、そのMIC値は1.56~6.25 $\mu\text{g/ml}$ であり、CAZより2倍程度劣るものの、CTXよりはるかに優れた抗菌力を示

した。またCPRの嫌気性菌*Clostridium spp.*に対するMICは0.2~1.56 $\mu\text{g/ml}$ で、CTXと同等あるいは4倍強い抗菌力を示したが、*Bacteroides spp.*に対するMICは6.25~>100 $\mu\text{g/ml}$ で、その抗菌力は弱くCTXより4~16倍劣っていた。表には示さなかったが、 10^8 cells/mlの接種菌量でも同様の傾向を認めた。

2. 臨床分離株に対する感受性分布

各種臨床分離株に対するCPRの感受性分布、MIC₅₀およびMIC₉₀をTable 4に示した。

CPRの*S. aureus*に対するMIC₅₀は0.39 $\mu\text{g/ml}$ で、CTMと同等の抗菌力であり、CTX、CAZより4~16倍強い抗菌力を示した。また*S. pyogenes*に対しては、CPRは

Table 2. Antibacterial spectrum of cefpirome and other antibiotics

Gram-negative bacteria

(Inoculum size : 10^8 cells/ml)

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	cefpirome	cefotiam	ceftazidime	cefotaxime
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> *	≤ 0.006	0.024	0.012	≤ 0.006
<i>Neisseria meningitidis</i> *	0.012	0.024	0.024	≤ 0.006
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211**	0.012	0.39	0.024	≤ 0.006
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.024	0.1	0.2	0.1
<i>Escherichia coli</i> NIH	0.012	0.05	0.1	0.024
<i>Escherichia coli</i> KC-14	0.024	0.05	0.1	0.05
<i>Escherichia coli</i> K-12	0.024	0.05	0.05	0.024
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	0.024	0.2	0.39	0.1
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.012	0.024	0.05	0.012
<i>Salmonella typhi</i> O-901	0.012	0.05	0.05	0.012
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.012	0.05	0.05	0.012
<i>Salmonella paratyphi</i> B	0.012	0.05	0.05	0.012
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.024	0.05	0.1	0.024
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.024	0.1	0.2	0.024
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.024	0.05	0.1	0.024
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.012	0.05	0.05	0.012
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.024	0.1	0.05	0.024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	0.024	0.1	0.05	0.024
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	0.05	0.2	0.05	0.024
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	0.05	1.56	0.39	0.2
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	0.1	3.13	0.39	0.2
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	0.1	1.56	0.78	0.78
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	0.05	6.25	0.2	0.2
<i>Serratia marcescens</i> T-55	0.39	6.25	0.39	0.39
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	0.05	6.25	0.024	≤ 0.006
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.024	0.1	0.024	≤ 0.006
<i>Morganella morganii</i> KONO	0.05	3.13	0.78	1.56
<i>Providencia rettgeri</i> NIH 96	≤ 0.006	≤ 0.006	≤ 0.006	≤ 0.006
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IAM 1095	3.13	>100	1.56	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	1.56	>100	0.78	12.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	1.56	>100	0.78	12.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NC-5	6.25	>100	3.13	50
<i>Pseudomonas maltophilia</i> ATCC 13637	50	>100	6.25	100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IFO 12552	6.25	>100	12.5	50

* gonococcus medium (Eiken) ** supplemented with 5% fildes' enrichment (Difco)

Table 3. Antibacterial spectrum of cefpirome and other antibiotics

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	cefpirome	cefotiam	ceftazidime	cefotaxime
<i>Clostridium tetani</i>	0.2	0.2	1.56	0.2
<i>Clostridium perfringens</i>	0.78	6.25	3.13	3.13
<i>Clostridium sporogenes</i>	1.56	1.56	25	3.13
<i>Bacteroides fragilis</i> GM-7000	6.25	12.5	6.25	0.78
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	12.5	50	12.5	3.13
<i>Bacteroides fragilis</i> V-420-2	> 100	> 100	> 100	100
<i>Bacteroides fragilis</i> V-283	> 100	> 100	> 100	50
<i>Bacteroides thetaotaomicron</i> 5600	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>Bacteroides distasonis</i> Clin-99-3	50	100	50	3.13
<i>Bacteroides vulgatus</i> ES-14	25	12.5	12.5	1.56
<i>Bacteroides ovatus</i> Ju-6-1	100	50	> 100	12.5

Table 4-1. Antibacterial spectrum of cefpirome and other antibiotics against clinical isolates

(Inoculum size : 10^6 cells/ml)

Species	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		MIC range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>S. aureus</i> n=40	cefpirome	0.2 ~ 12.5	0.39	0.78
	cefotiam	0.2 ~ 0.78	0.39	0.78
	ceftazidime	3.13 ~ >100	6.25	12.5
	cefotaxime	0.78 ~ 25	1.56	1.56
<i>S. pyogenes</i> n=20	cefpirome	≤ 0.006 ~ 0.012	0.006	0.012
	cefotiam	0.05 ~ 0.2	0.05	0.1
	ceftazidime	0.1 ~ 0.2	0.1	0.2
	cefotaxime	0.012 ~ 0.025	0.012	0.025
<i>E. coli</i> n=40	cefpirome	0.025 ~ 0.39	0.05	0.1
	cefotiam	0.05 ~ 0.39	0.1	0.2
	ceftazidime	0.05 ~ 0.2	0.1	0.2
	cefotaxime	0.025 ~ 0.2	0.05	0.2
<i>K. pneumoniae</i> n=40	cefpirome	0.025 ~ 0.39	0.05	0.2
	cefotiam	0.1 ~ 0.78	0.2	0.39
	ceftazidime	0.05 ~ 1.56	0.1	0.39
	cefotaxime	0.025 ~ 0.39	0.05	0.1
<i>P. vulgaris</i> n=40	cefpirome	0.05 ~ 12.5	0.1	0.78
	cefotiam	0.1 ~ >100	6.25	>100
	ceftazidime	0.025 ~ 1.56	0.05	0.1
	cefotaxime	0.025 ~ 25	0.05	3.13
<i>P. mirabilis</i> n=29	cefpirome	0.025 ~ 0.2	0.05	0.1
	cefotiam	0.1 ~ 0.78	0.39	0.78
	ceftazidime	0.025 ~ 0.2	0.05	0.1
	cefotaxime	≤ 0.006 ~ 0.1	0.025	0.05
<i>M. morgani</i> n=26	cefpirome	0.05 ~ 25	0.1	1.56
	cefotiam	0.2 ~ >100	3.13	>100
	ceftazidime	0.05 ~ 25	0.1	12.5
	cefotaxime	0.012 ~ 6.25	0.05	6.25

0.012 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で全ての株の増殖を阻止し、強い抗菌力を示した。

グラム陰性菌のうち、*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *E. aerogenes*, *E. cloacae* に対してはCPRは0.1～0.39 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で90%の菌株の増殖を阻止し、強い抗菌力を示した。また対照薬よりも同等～64倍強い抗菌力であった。*P. vulgaris*, *M. morgani*, *P. rettgeri* に対するCPRの抗菌力(MIC₅₀)は0.1 $\mu\text{g/ml}$ で、強い抗菌力を示したが、対照薬との比較では、いずれの菌種に対してもCTMより優れていたものの、CTXに比べ3菌種とも約2倍劣るという成績であった。またCAZに比べ*P. rettgeri*で2倍優れていたが、他の2菌種では同等あるいは2倍劣っていた。

S. marcescens に対してはCPRはCAZやCTXとほぼ同等の優れた抗菌力を示し、*A. calcoaceticus* に対するCPRの

MICは0.39～100 $\mu\text{g/ml}$ にかけて幅広い分布を示したが、比較薬に比べ2～16倍強い抗菌力であった。*H. influenzae* に対する抗菌力も強く、CPRは0.39 $\mu\text{g/ml}$ で全ての株の増殖を阻止した。*P. aeruginosa* に対するCPRのMICは0.78～50 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、CAZに比べ約2倍劣るが、CFSと同等で、CPZより約2倍強い抗菌力を示した。

3. 抗菌力におよぼす諸因子の影響

抗菌力におよぼす培地pH、馬血清添加および接種菌量による影響について検討した結果をTable 5～7に示した。いずれの場合も、またいずれの菌種においてもCPRのMICの変動はせいぜい2倍程度で、大きな変化は見られなかった。

4. 増殖曲線におよぼす影響

CPRの*S. aureus* 209-P JC, *E. coli* K-12, *K. pneumoniae* KC-1, *P. aeruginosa* E-2に対する殺菌作用につい

Table 4-2. Antibacterial spectrum of ceftazidime and other antibiotics against clinical isolates

(Inoculum size : 10^6 cells/ml)

Species	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		MIC range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>P. rettgeri</i> n=17	ceftazidime	$\leq 0.006 \sim 0.39$	0.1	0.39
	cefotiam	0.05 ~ 50	0.78	25
	ceftazidime	0.025 ~ 3.13	0.2	1.56
	cefotaxime	$\leq 0.006 \sim 1.56$	0.05	0.39
<i>E. aerogenes</i> n=31	ceftazidime	0.05 ~ 25	0.05	0.39
	cefotiam	0.2 ~ >100	1.56	>100
	ceftazidime	0.1 ~ >100	0.39	50
	cefotaxime	0.1 ~ >100	0.2	12.5
<i>E. cloacae</i> n=30	ceftazidime	0.025 ~ 0.78	0.05	0.1
	cefotiam	0.2 ~ 100	0.78	6.25
	ceftazidime	0.1 ~ 3.13	0.2	0.39
	cefotaxime	0.05 ~ 6.25	0.2	0.39
<i>S. marcescens</i> n=40	ceftazidime	0.1 ~ 6.25	0.39	3.13
	cefotiam	6.25 ~ >100	100	>100
	ceftazidime	0.1 ~ 1.56	0.39	0.78
	cefotaxime	0.2 ~ 3.13	0.78	1.56
<i>A. calcoaceticus</i> n=40	ceftazidime	0.39 ~ 100	3.13	25
	cefotiam	0.39 ~ >100	50	>100
	ceftazidime	0.78 ~ >100	6.25	25
	cefotaxime	0.78 ~ >100	12.5	25
<i>H. influenzae</i> n=39	ceftazidime	0.012 ~ 0.39	0.05	0.05
	cefotiam	0.39 ~ 6.25	0.39	0.78
	ceftazidime	0.05 ~ 6.25	0.1	0.1
	cefotaxime	$\leq 0.006 \sim 1.56$	0.012	0.025
<i>P. aeruginosa</i> n=40	ceftazidime	0.78 ~ 50	3.13	6.25
	cefotiam	0.39 ~ 25	1.56	3.13
	cefoperazone	1.56 ~ 100	6.25	25
	ceftazidime	0.39 ~ >100	3.13	12.5
	gentamicin	0.2 ~ >100	0.78	50

て検討した結果をFig.1~4に示した。各々の菌種において、いずれの薬剤もMIC濃度付近から作用濃度に応じた殺菌作用が得られ、類似の殺菌パターンを示した。

5. 形態変化の観察およびPBPsに対する親和性

S. aureus 209-P JC, *E. coli* K-12および*P. aeruginosa* E-2にCPRを作用させた時の位相差顕微鏡像をFig.5に示した。

*S. aureus*ではMIC濃度以上の作用で、4~6時間後までに多くの溶菌像が観察された。*E. coli*では0.012 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (1/2MIC)作用時から菌体は伸長化し、0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 作用時には4時間後までに多くのspheroplast様構造や溶菌像が観察された。*P. aeruginosa*では0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (1/4MIC)作用で一部の細胞に菌体の伸長化が見られ、図には示していないが、400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の高濃度作用時には短時間でspheroplastを形成し溶菌していく像が観察された。

E. coli K-12および*P. aeruginosa* E-2のPBPsに対するCPRの親和性をFig.6, 7に示した。*E. coli*に対してCPRはPBP3に最も強い親和性を示し、ついで1Bsに強い親和性を示した。PBP1Aに対する親和力は弱くID₅₀は2.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上であった。また*P. aeruginosa*に対してCPRはPBP3>1A>1Bの順に良好な親和性を示した。

6. マウス実験的感染症に対する治療効果

Table 8, 9に*S. aureus* SMITH, *E. coli* KC-14, *K. pneumoniae* KC-1, *S. marcescens* T-55, *M. morgani* 101, *P. aeruginosa* 15486感染時のCPRおよび比較薬の治療効果を示した。

S. aureus SMITH感染時のCPRの治療効果はCTMと同等で、そのED₅₀は0.18mg/kgであり、CAZやCTXに比べ非常に優れた効果であった。*E. coli* KC-14, *K. pneumo-*

niae KC-1, *S. marcescens* T-55, *M. morgani* 101に対するCPRの治療効果は、いずれも比較薬中最も優れており、CAZ, CTXに比べ4菌種とも2倍以上優れた治療効果を示し、CTMに比べはるかに優れていた。

P. aeruginosa 15486株ではCPRのMIC値はCAZ, CFSとほぼ同じであったが、治療効果は3~6倍劣っていた。

Ⅲ. 考 察

CPRはCTXと同様7位に2-aminothiazolyl methoxyimino基を有するいわゆるoxime型のセフェム抗生物質であるが、CTXと異なりグラム陽性の*S. aureus*やグラム陰性の*P. aeruginosa*に対してもCPRは良好な抗菌力を示した。これはCPRの3位の側鎖にcyclopentenopyridineが導入されたことによるものと思われる。一般的に、グラム陽性菌に対する β -ラクタム抗生物質の抗菌力は1) β -lactamaseに対する安定性、2) PBPsに対する親和性により影響を受けることが知られており、CPRおよびCTXはともに*S. aureus*の産生する β -lactamaseには安定であるので、PBPsに対する親和性の差がMICに反映されたものと推察される。またCPRの3位に導入された側鎖が*S. aureus*のPBPsに対する親和性にも大きく影響をおよぼしているものと思われる。一方、グラム陰性菌に対する β -ラクタム抗生物質の抗菌力は前述の2つの要因とさらに外膜の透過性の良否が抗菌力に大きく影響をおよぼす。CPRは*P. aeruginosa*に対しても良好な抗菌力を示すことより、やはり3位に導入された側鎖が透過性にも影響をおよぼしているのかもしれない。

β -lactamaseを多量に産生していることが知られている*E. aerogenes*に対してもCPRは良好な抗菌力を示したが、これはCPRが β -lactamaseに安定であるばかりでなく、

Table 5. Effect of medium pH on antibacterial activity of cefpirome and other cephalosporins

(Inoculum size : 10^6 cells/ml)

Organism	Medium pH	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)			
		cefpirome	cefotiam	ceftazidime	cefotaxime
<i>S. aureus</i> 209-P JC	5.5	0.39	0.2	3.13	0.78
	7.0	0.39	0.39	6.25	3.13
	8.5	0.39	0.78	6.25	3.13
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	5.5	0.05	0.39	0.39	0.05
	7.0	0.024	0.1	0.2	0.05
	8.5	0.05	0.2	0.2	0.1
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	5.5	0.05	0.39	0.1	0.05
	7.0	0.024	0.1	0.05	0.012
	8.5	0.024	0.1	0.05	0.012
<i>P. aeruginosa</i> No. 12	5.5	6.25	>100	3.13	50
	7.0	3.13	>100	1.56	25
	8.5	3.13	>100	1.56	12.5

Table 6. Influence of horse serum on antibacterial activity of ceftazidime and other cephalosporins

(Inoculum size : 10^6 cells/ml)

Organism	Serum conc. (%)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
		ceftazidime	cefotiam	ceftazidime	cefotaxime
<i>S. aureus</i> 209-P JC	0	0.39	0.39	12.5	1.56
	10	0.39	0.39	12.5	1.56
	25	0.39	0.39	12.5	1.56
	50	0.2	0.39	6.25	1.56
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0	0.024	0.2	0.2	0.05
	10	0.024	0.2	0.2	0.05
	25	0.024	0.39	0.2	0.05
	50	0.024	0.39	0.39	0.05
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	0	0.024	0.2	0.1	0.024
	10	0.024	0.2	0.1	0.024
	25	0.024	0.2	0.05	0.024
	50	0.012	0.1	0.05	0.012
<i>P. aeruginosa</i> No. 12	0	3.13	>100	1.56	25
	10	3.13	>100	1.56	25
	25	1.56	>100	0.78	12.5
	50	1.56	>100	0.78	12.5

Table 7. Influence of inoculum size on antibacterial activity of ceftazidime and other cephalosporins

Organism	Inoculum size (cells/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
		ceftazidime	cefotiam	ceftazidime	cefotaxime
<i>S. aureus</i> 209-P JC	1.0×10^8	0.78	0.78	12.5	3.13
	1.0×10^7	0.78	0.78	12.5	3.13
	1.0×10^6	0.39	0.39	6.25	3.13
	1.0×10^5	0.39	0.39	6.25	3.13
	1.0×10^4	0.2	0.39	6.25	1.56
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	7.9×10^8	0.024	0.2	0.39	0.1
	7.9×10^7	0.024	0.1	0.2	0.05
	7.9×10^6	0.024	0.05	0.1	0.05
	7.9×10^5	0.012	0.05	0.1	0.024
	7.9×10^4	0.012	0.05	0.1	0.024
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	8.1×10^8	0.024	0.2	0.1	0.05
	8.1×10^7	0.024	0.1	0.05	0.024
	8.1×10^6	0.024	0.1	0.05	0.024
	8.1×10^5	0.024	0.1	0.05	0.012
	8.1×10^4	0.012	0.1	0.024	0.012
<i>P. aeruginosa</i> No. 12	9.5×10^8	6.25	>100	6.25	>100
	9.5×10^7	3.13	>100	1.56	50
	9.5×10^6	3.13	>100	1.56	25
	9.5×10^5	3.13	>100	1.56	12.5
	9.5×10^4	3.13	>100	0.78	12.5

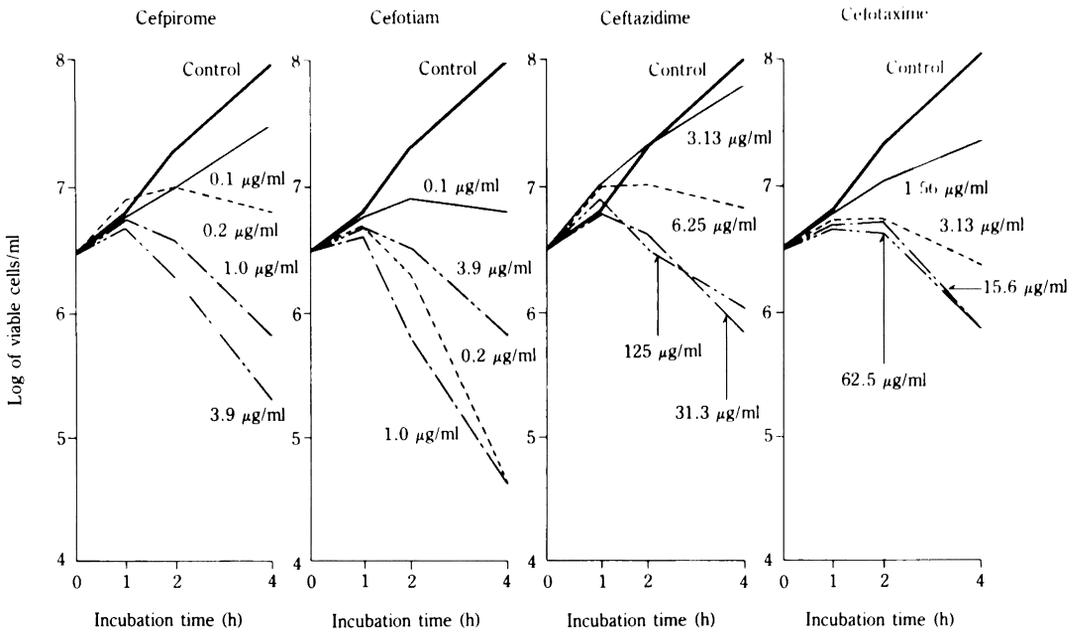


Fig. 1. Effect of cefpirome and other cephalosporins on viability of *Staphylococcus aureus* 209-P JC.

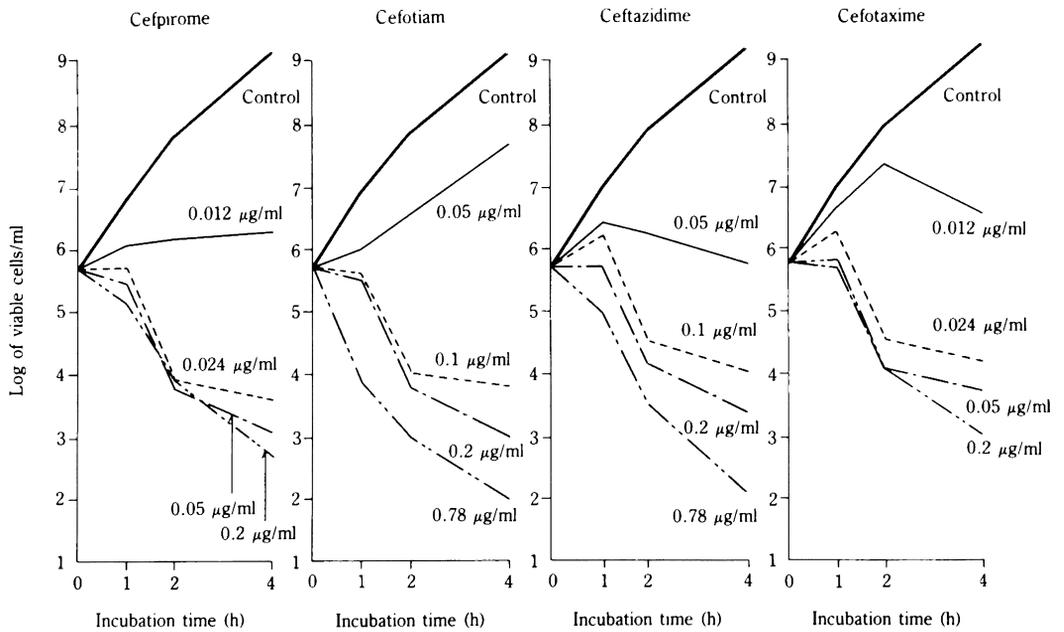


Fig. 2. Effect of cefpirome and other cephalosporins on viability of *Escherichia coli* K-12.

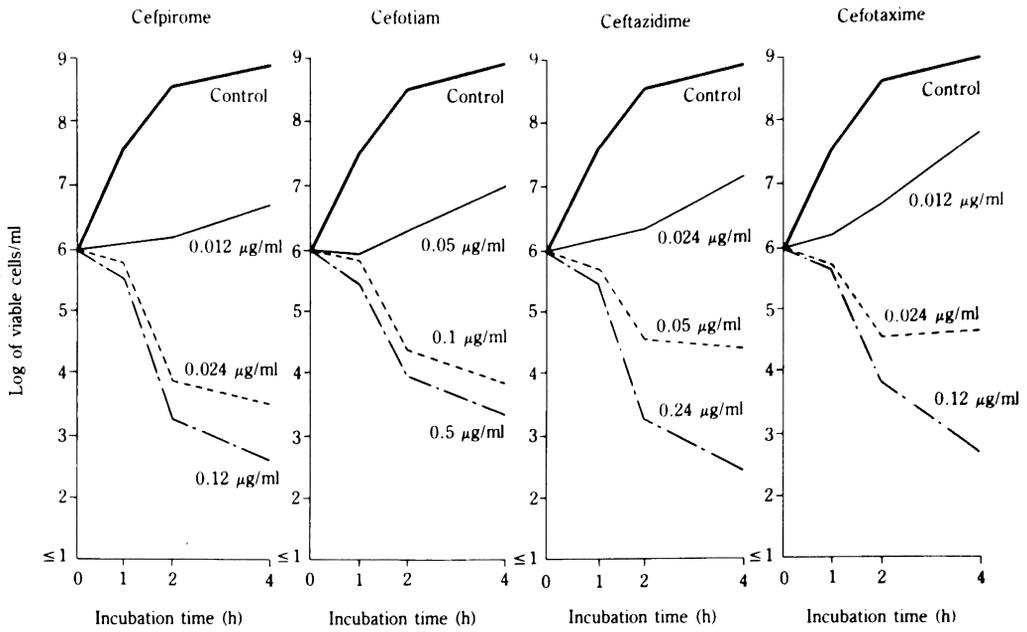


Fig. 3. Effect of cefpirome and other cephalosporins on viability of *Klebsiella pneumoniae* KC-1.

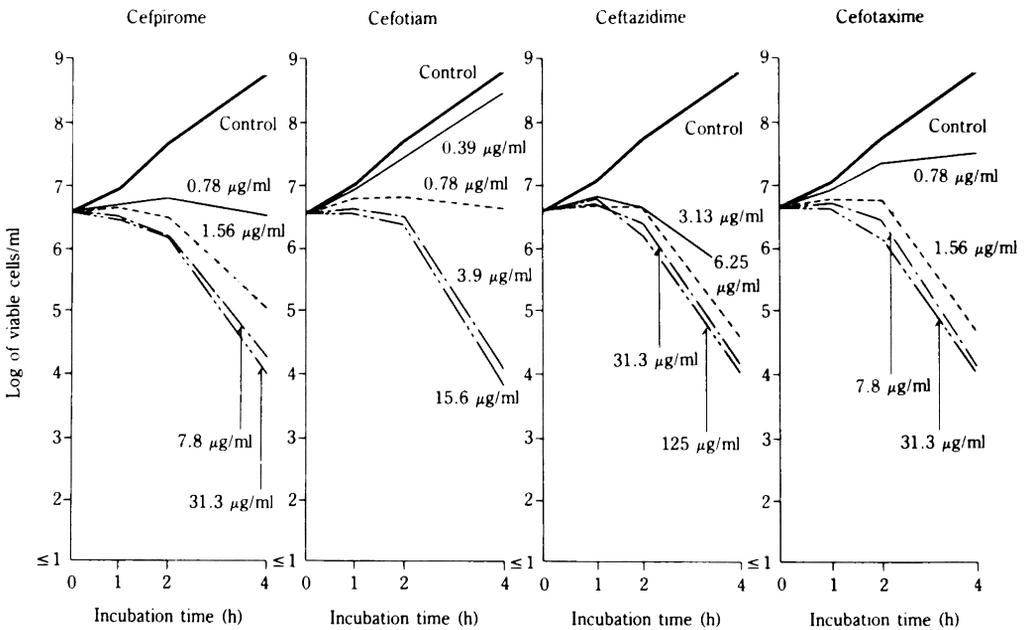


Fig. 4. Effect of cefpirome and other cephalosporins on viability of *Pseudomonas aeruginosa* E-2.

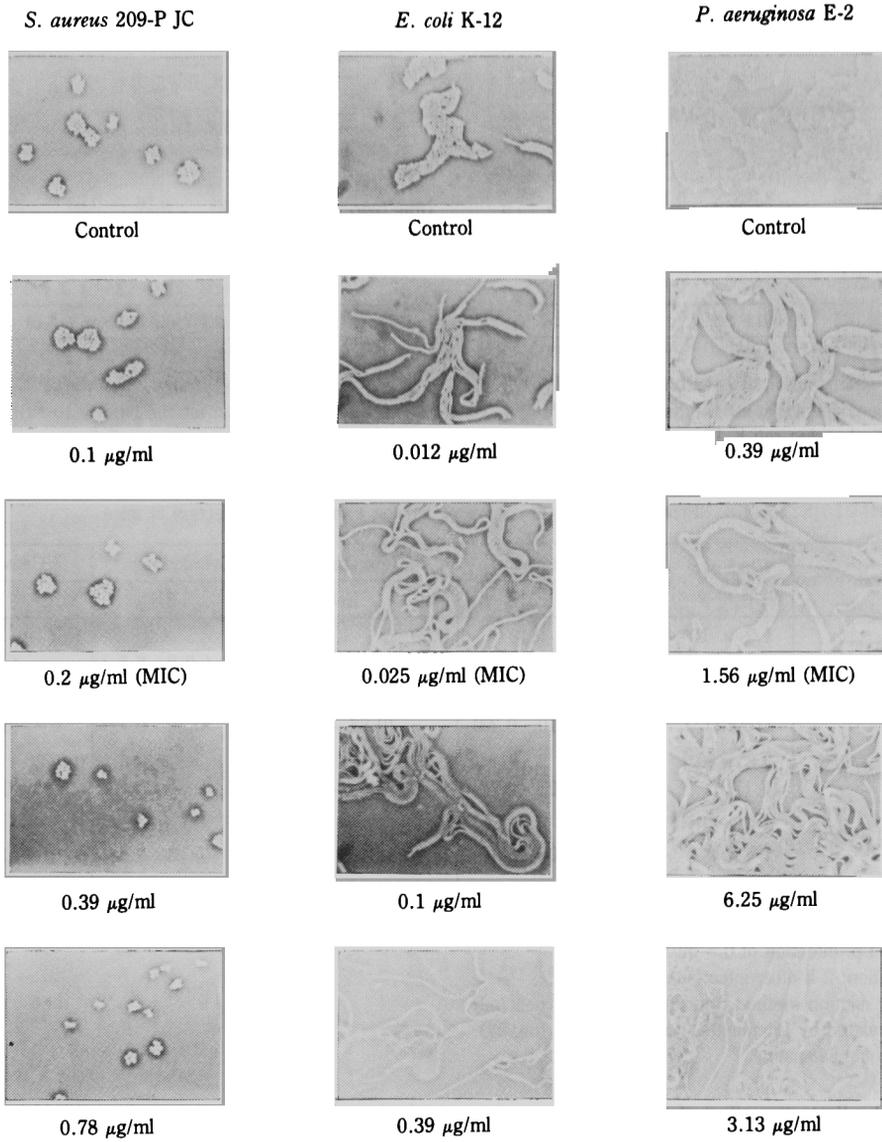


Fig. 5. Phase-contrast micrographs of *Staphylococcus aureus* 209-P JC, *Escherichia coli* K-12 and *Pseudomonas aeruginosa* E-2 exposed to cefpirome for 4 h.

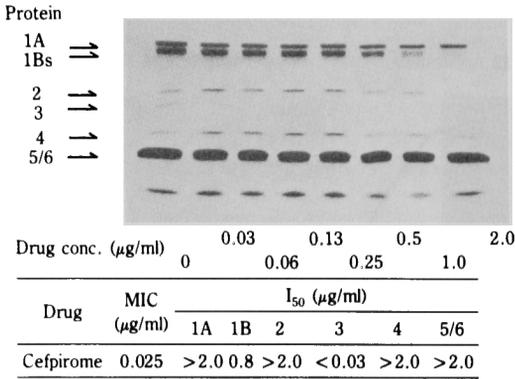


Fig. 6. Competition of cefpirome with [¹⁴C] benzylpenicillin for the binding to PBPs of *Escherichia coli* K-12.

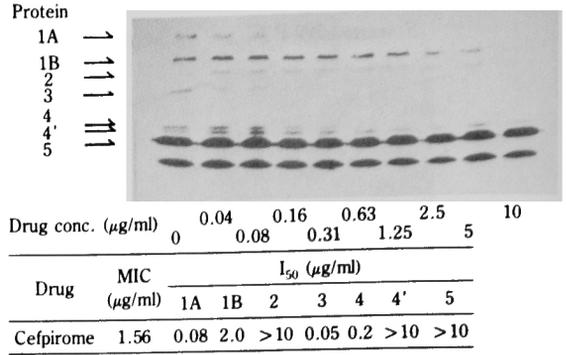


Fig. 7. Competition of cefpirome with [¹⁴C] benzylpenicillin for the binding to PBPs of *Pseudomonas aeruginosa* E-2.

Table 8. Protective effect of cefpirome against experimental infection in mice

Organism	Challenge (cells/mouse)	Cefpirome		Cefotiam		Ceftazidime		Cefotaxime	
		MIC	ED ₅₀	MIC	ED ₅₀	MIC	ED ₅₀	MIC	ED ₅₀
<i>S. aureus</i> SMITH	1.7 × 10 ⁶ (28LD ₅₀)	0.39	0.18 (0.11 ~ 0.30)*	0.39	0.21 (0.14 ~ 0.31)	6.25	4.3 (2.8 ~ 6.5)	1.56	1.4 (1.0 ~ 2.0)
<i>E. coli</i> KC-14	8.3 × 10 ⁵ (160LD ₅₀)	0.025	0.15 (0.10 ~ 0.23)	0.1	1.5 (0.88 ~ 2.4)	0.1	0.46 (0.30 ~ 0.72)	0.05	0.23 (0.14 ~ 0.37)
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	5.8 × 10 ³ (11LD ₅₀)	0.012	0.12 (0.08 ~ 0.19)	0.1	5.6 (3.8 ~ 8.4)	0.05	0.32 (0.21 ~ 0.48)	0.012	0.78 (0.52 ~ 1.2)
<i>S. marcescens</i> T-55	2.5 × 10 ⁵ (74LD ₅₀)	0.05	0.11 (0.08 ~ 0.15)	1.56	80 (53 ~ 112)	0.2	0.20 (0.13 ~ 0.32)	0.2	1.3 (0.58 ~ 2.8)
<i>M. morgani</i> 101	3.8 × 10 ⁶ (17LD ₅₀)	0.012	6.0 (4.3 ~ 8.4)	0.2	160 (103 ~ 248)	0.05	29.0 (19.5 ~ 43.1)	0.025	23.5 (15.9 ~ 34.7)

Challenge: i.p. infection of 0.5 ml/3% mucin
 Administration: 2 h after infection s.c.
 MIC: Agar dilution method (Inoculum size : 10⁶ cells/ml)
 ED₅₀: Calculated by Litchfield-Wilcoxon method (mg/kg)
 ()*: 95% confident limit

Table 9. Protective effect of cefpirome on experimental infection with *Pseudomonas aeruginosa* 15486 in mice

Antibiotic	Challenge (cells/mouse)	MIC		ED ₅₀ (mg/kg)
		10 ⁸	10 ⁶	
Cefpirome	5.0 × 10 ⁴ (31LD ₅₀)	3.13	1.56	197 (103 ~ 375)
Ceftazidime		3.13	1.56	54 (37.5 ~ 77.7)
Cefoperazone		6.25	6.25	430 (240 ~ 768)
Cefsulodin		3.13	3.13	34 (22.6 ~ 51.5)

β -lactamaseに対する親和性が低い⁹⁾ことによるものと思われる。すなわちこれらの菌種はよく知られている trapping effectをCPRは受けないことが、*Enterobacter*に対する抗菌力に反映されたものと推測される。

以上の抗菌力の特徴よりCPRは第4世代のセフェム抗生物質に分類されても良い抗生物質であると言える。

文 献

- 1) MACHKA K, BRAVENY I: *In vitro* activity of HR810, a new broad-spectrum cephalosporin. Eur. J. Clin. Microbiol. 2: 345~349, 1983
- 2) 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 cephalosporins and two aminoglycosides. Infection 11: 275~279, 1983
- 3) BERTRAM M A, BRUCKNER D A, YOUNG L S: *In vitro* activity of HR810, a new cephalosporin. Antimicrob. Agents Chemother. 26: 277~279, 1984
- 4) NEU H C, CHIN N X, LABTHAVIKUL P: The *in vitro* activity and beta-lactamase stability of cefpirome (HR810), a pyridine cephalosporin agent active against staphylococci, *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*. Infection 13: 146~155, 1985
- 5) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度(MIC)測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 6) 日本化学療法学会嫌気性菌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
- 7) SPRATT B G: Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation and shape of *Escherichia coli* K-12, Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A. 72: 2999~3003, 1975
- 8) LITCHFIELD J T, WILCOXON F: A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharmacol. Exp. Ther. 96: 99~113, 1949
- 9) CULLMANN W, DICK W: Cefpirome(HR810): Lack of selection of β -lactamase over producing variants. J. Antibiotics 38: 912~919, 1985

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CEFPIROME

TAKESHI NISHINO, KIYOTADA NUNOMURA, MASAKO OTSUKI, SUMIKO SHIMIZU and ATSUKO SHIRAIISHI

Department of Microbiology, Kyoto Pharmaceutical University,

5-Nakauchi-cho, Misasagi, Yamashina-ku, Kyoto 607, Japan

We compared the *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of cefpirome (CPR), a new parenteral cephem antibiotic, with those of cefotiam (CTM), ceftazidime (CAZ) and cefotaxime (CTX) and obtained the following results.

CPR had a broad antimicrobial spectrum against Gram-positive and -negative bacteria, and its antibacterial activity was almost equal to that of CTM against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* of Gram-positive bacteria and similar to that of CTX against *Streptococcus* spp.

On the other hand, its activity against Gram-negative bacteria, like that of CTX, was very potent. Against *Pseudomonas aeruginosa* it was slightly inferior to that of CAZ and superior to that of cefoperazone (CPZ).

In the sensitivity distribution of clinically isolated strains, the MIC₅₀ values ($\mu\text{g/ml}$) of CPR were 0.39 for *S. aureus*, 0.006 for *Streptococcus pyogenes*, 0.05 for *Escherichia coli*, 0.05 for *Klebsiella pneumoniae*, 0.1 for *Proteus vulgaris*, 0.1 for *Morganella morganii*, 0.05 for *Enterobacter aerogenes*, 0.39 for *Serratia marcescens*, 3.13 for *Acinetobacter calcoaceticus*, 0.05 for *Haemophilus influenzae* and 3.13 for *P. aeruginosa*.

CPR showed bactericidal action against *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* at concentrations close to the MIC.

In a morphological examination by phase-contrast microscope, CPR produced swelling and lysis of *S. aureus* cells and also induced the formation of filamentous cells, spheroplast-like structures and lysis of *E. coli* and *P. aeruginosa*.

CPR showed high affinity against penicillin-binding proteins (PBPs) 3 of *E. coli* and *P. aeruginosa* and decreased in the order 1Bs, 1A.

These observations were consistent with the morphological alterations of *E. coli* and *P. aeruginosa* exposed to CPR.

The therapeutic efficacy of CPR against experimental intraperitoneal infections in mice was comparable to that of CTM against *S. aureus* and superior to those of CTM, CTX and CAZ against *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens* and *M. morganii* of Gram-negative bacteria. In *P. aeruginosa* infection in mice, CPR demonstrated therapeutic efficacy inferior to that of CAZ but superior to that of CPZ.