

Cefepime (BMY-28142) に対する細菌学的検討

益 吉 眞 次・三 橋 進

エビゾーム研究所*

井 上 松 久

群馬大学医学部薬剤耐性菌実験施設

平 岡 聖 樹・松 井 裕 之

ブリストル・マイヤーズ研究所株式会社前臨床研究所

Cefepime (BMY-28142, CFPM) の *in vitro*, *in vivo* における抗菌力, β -lactamase に対する安定性および親和性について ceftazidime (CAZ), cefuzonam (CZON), cefotaxime (CTX), cefmenoxime (CMX) を対照薬として比較検討した。CFPM は, *Staphylococcus aureus* を含むグラム陽性菌, *Pseudomonas aeruginosa* を含むグラム陰性菌に対して強い抗菌力を示した。すなわち *S. aureus* に対して CAZ より 4 倍優れており, CTX や CMX と同等であったが, CZON より若干劣っていた。一方グラム陰性菌に対する抗菌力は強く, 特に *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae* のような β -lactamase 産生菌に対してそれぞれ対照薬より 32~128, 32~64 倍優れていた。また CFPM の *P. aeruginosa* に対する抗菌力は CAZ と同等であった。CFPM は, penicillinase, cephalosporinase を産生するグラム陰性菌に対して強い抗菌力を示し, これらの抗菌力に及ぼす接種菌量の影響も小さかった。CFPM は, 各種の β -lactamase に対して高い安定性を示し, さらに β -lactamase との親和性も低く CAZ より 1/7~1/50 以下の K_i 値を示した。CFPM の *in vitro* における広域スペクトルおよび強い抗菌力が, 実験のマウス全身感染症に対しても良好な感染防御効果にも反映した。

Key words : Cefepime, BMY-28142

Cefepime (BMY-28142, CFPM, Fig. 1) は, ブリストル・マイヤーズ研究所株式会社東京研究所において合成された新規注射用セファロスポリン剤である。化学構造上の特徴は, セフェム骨格の 7 位側鎖に α -methoxyimino-aminothiazole 基を持ち, グラム陽性菌に対する抗菌力を保持すると共にグラム陰性菌に対する抗菌力の増強が注目される。また 3 位側鎖の N-methylpyrrolidinium 基と 2 位の carboxyl 基との間でベタイン構造を作り β -lactamase との親和性を下げている。

この CFPM の *in vitro*, *in vivo* における抗菌力は強く, 化学構造上の特徴で述べたようにメチシリン感受性ブドウ球菌を含むグラム陽性菌および *Pseudomonas aeruginosa* を含むグラム陰性菌に対して幅広い抗菌スペクトラムを有していること, さらに β -lactamase に対して高い安定性がすでに報告されている¹⁻⁴⁾。

今回本報では, 国内の臨床材料より分離された菌株, β -lactamase 産生株, 精製した各種タイプの β -lactamase に対する安定性, 親和性, さらに正常およびサ

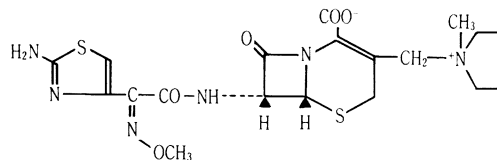


Fig. 1. Chemical structure of cefepime

イクロホスファミド処理したマウスに対する実験的感染防御効果について ceftazidime (CAZ), cefuzonam (CZON), cefotaxime (CTX), cefmenoxime (CMX) と比較検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 使用薬剤

CFPM は、ブリストル・マイヤーズ研究所株式会社より提供された粉末を用いた。CAZ, CZON, CTX と CMX はそれぞれ日本グラクソ, 日本レダリー, ヘキストジャパンおよび武田薬品より分与され, その他 cephaloridine (CER), cefuroxime (CXM) と penicillin G (PCG) は市販品を用いた。なお各薬剤は, 使用直前に 1/15 M phosphate buffer (pH 7.0) で溶解させ使

用した。

2. 試験菌株

抗菌力の測定に用いた標準菌株, 1985~1986 年に臨床材料より分離された菌株および β -lactamase 産生株は, 群馬大学医学部薬剤耐性菌実験施設の stock culture を用いた。

3. 抗菌力測定

日本化学療法学会により定められた, 最小発育阻止濃度 (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 測定法に準じて測定した⁵⁾。

前培養培地には, sensitivity disk - N broth[®] (SDB, 日水製薬) を用いたが, fastidious bacteria である streptococci と *Micrococcus luteus* には, 10%ウ

Table 1. Antibacterial spectrum of cefepime and other cephalosporins against standard strains of bacteria

Standard strains	MIC (μ g/ml)				
	Cefepime	Ceftazidime	Cefuzonam	Cefotaxime	Cefmenoxime
<i>S. aureus</i> FDA 209P JC-1	1.56	6.25	0.39	3.13	1.56
<i>S. aureus</i> Terajima	0.39	1.56	0.2	0.78	0.39
<i>S. aureus</i> MS353	0.78	3.13	0.39	0.78	0.78
<i>S. pyogenes</i> Cook	0.05	0.2	0.013	0.025	0.013
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.78	3.13	0.2	0.2	0.39
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	0.1	1.56	0.025	0.1	0.025
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.025	0.1	0.025	0.05	0.05
<i>E. coli</i> K12 C600	0.025	0.1	0.025	0.025	0.05
<i>K. pneumoniae</i> PCI-602	0.013	0.05	≤ 0.006	≤ 0.006	≤ 0.006
<i>S. typhimurium</i> IID 971	0.05	0.39	0.2	0.2	0.2
<i>S. typhi</i> 901	0.025	0.2	0.025	0.05	0.1
<i>P. paratyphi</i> 1015	0.39	3.13	0.1	0.39	0.025
<i>S. schottmuelleri</i> 8006	0.013	0.1	0.025	0.05	0.05
<i>S. enteritidis</i> G14	0.013	0.05	≤ 0.006	0.013	≤ 0.006
<i>S. marcescens</i> IAM 1184	0.025	0.025	0.1	0.1	0.05
<i>M. organii</i> IFO 3848	≤ 0.006	0.013	≤ 0.006	≤ 0.006	≤ 0.006
<i>P. mirabilis</i> IFO 3849	0.1	0.05	0.2	0.025	0.1
<i>P. vulgaris</i> OX-19	0.05	0.05	≤ 0.006	≤ 0.006	≤ 0.006
<i>P. vulgaris</i> HX-19	0.025	0.025	≤ 0.006	≤ 0.006	≤ 0.006
<i>P. rettgeri</i> IFO 3850	0.2	0.2	1.56	0.39	3.13
<i>E. aerogenes</i> ATCC 13048	0.05	0.2	0.2	0.1	0.2
<i>E. cloacae</i> 963	0.025	0.2	0.2	0.1	0.2
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	3.13	1.56	50	25	25
<i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	0.78	0.39	6.25	3.13	3.13
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	1.56	1.56	25	25	25

マ脱繊維素血液（日本生物材料センター）添加 SDB, *Haemophilus influenzae* には、5 % Bact Fildes Enrichment 添加 SDB を用いた。

抗菌力測定用培地には、sensitivity disk-N agar[®] (SDA, 日水製薬) を用いたが、streptococci には、10 %ウマ脱繊維素血液添加培地、*H. influenzae* には、10

Table 2. Antibacterial activity of cefepime and other cephalosporins against clinical isolates in Japan

Test organism (no. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		Range	50%	90%
<i>S. aureus</i> (81)	Cefepime	0.78~25	1.56	3.13
	Ceftazidime	6.25~50	6.25	12.5
	Cefuzonam	0.2~3.13	0.39	0.78
	Cefotaxime	0.78~25	1.56	3.13
	Cefmenoxime	0.39~12.5	1.56	1.56
<i>S. epidermidis</i> (83)	Cefepime	0.2~100	1.56	12.5
	Ceftazidime	1.56~50	6.25	25
	Cefuzonam	0.1~50	0.39	1.56
	Cefotaxime	0.2~100	3.13	12.5
	Cefmenoxime	0.2~50	3.13	6.25
<i>E. faecalis</i> (54)	Cefepime	6.25~>100	50	100
	Ceftazidime	6.25~>100	>100	>100
	Cefuzonam	0.39~>100	25	100
	Cefotaxime	0.78~>100	>100	>100
	Cefmenoxime	1.56~>100	100	>100
<i>S. pneumoniae</i> (20)	Cefepime	0.025~0.1	0.025	0.1
	Ceftazidime	0.1~0.39	0.2	0.39
	Cefuzonam	≤ 0.006 ~0.025	≤ 0.006	0.013
	Cefotaxime	0.013~0.05	0.013	0.025
	Cefmenoxime	0.013~0.05	0.025	0.05
<i>S. pyogenes</i> (97)	Cefepime	0.013~0.025	0.025	0.025
	Ceftazidime	0.05~0.2	0.1	0.2
	Cefuzonam	≤ 0.006 ~0.013	≤ 0.006	≤ 0.006
	Cefotaxime	≤ 0.006 ~0.025	0.013	0.025
	Cefmenoxime	≤ 0.006 ~0.013	≤ 0.006	0.013
<i>E. coli</i> (95)	Cefepime	0.013~0.1	0.025	0.05
	Ceftazidime	0.025~0.39	0.1	0.2
	Cefuzonam	≤ 0.006 ~0.39	0.1	0.2
	Cefotaxime	≤ 0.006 ~0.2	0.05	0.1
	Cefmenoxime	≤ 0.006 ~0.2	0.1	0.2
<i>K. pneumoniae</i> (40)	Cefepime	≤ 0.006 ~0.39	0.025	0.05
	Ceftazidime	0.05~1.56	0.1	0.2
	Cefuzonam	0.05~0.78	0.1	0.1
	Cefotaxime	0.013~0.78	0.05	0.05
	Cefmenoxime	0.05~1.56	0.05	0.1

$\mu\text{g/ml}$ の hemin と $2 \mu\text{g/ml}$ の nicotinamide adenine dinucleotide 添加 SDA を用いた。

一夜培養菌液の $>2 \times 10^6 \text{cells/ml}$ 菌浮遊液を調整し、

multi-inoculator を用いて、2 倍希釈系列の薬剤を含んだ 10 ml の寒天培地に約 0.005 ml を接種した。

4. 殺菌作用

Table 2. Continued

Test organism (no. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		Range	50%	90%
<i>K. oxytoca</i> (51)	Cefepime	$\leq 0.006 \sim 0.78$	0.025	0.2
	Ceftazidime	0.025 \sim 0.2	0.05	0.1
	Cefuzonam	0.013 \sim 0.39	0.05	0.2
	Cefotaxime	$\leq 0.006 \sim 0.78$	0.025	0.2
	Cefmenoxime	$\leq 0.006 \sim 0.78$	0.05	0.39
<i>P. mirabilis</i> (98)	Cefepime	0.025 \sim 0.1	0.05	0.1
	Ceftazidime	0.025 \sim 0.1	0.05	0.1
	Cefuzonam	0.025 \sim 0.2	0.1	0.2
	Cefotaxime	0.013 \sim 0.05	0.025	0.05
	Cefmenoxime	0.013 \sim 0.2	0.05	0.1
<i>P. vulgaris</i> (84)	Cefepime	0.025 \sim 3.13	0.05	0.2
	Ceftazidime	0.025 \sim 0.78	0.1	0.2
	Cefuzonam	$\leq 0.006 \sim 3.13$	0.2	0.39
	Cefotaxime	$\leq 0.006 \sim 25$	0.1	0.78
	Cefmenoxime	$\leq 0.006 \sim 6.25$	0.1	0.39
<i>P. stuartii</i> (85)	Cefepime	0.013 \sim 0.2	0.05	0.1
	Ceftazidime	0.025 \sim 3.13	0.2	0.39
	Cefuzonam	$\leq 0.006 \sim 3.13$	0.2	0.39
	Cefotaxime	$\leq 0.006 \sim 3.13$	0.05	0.39
	Cefmenoxime	$\leq 0.006 \sim 1.56$	0.1	0.2
<i>P. rettgeri</i> (78)	Cefepime	$\leq 0.006 \sim 0.39$	0.025	0.05
	Ceftazidime	$\leq 0.006 \sim 3.13$	0.05	0.2
	Cefuzonam	$\leq 0.006 \sim 3.13$	0.025	0.39
	Cefotaxime	$\leq 0.006 \sim 0.78$	0.013	0.1
	Cefmenoxime	$\leq 0.006 \sim 1.56$	0.025	0.1
<i>M. morgani</i> (92)	Cefepime	$\leq 0.006 \sim 0.1$	0.025	0.05
	Ceftazidime	0.013 \sim 50	0.1	0.78
	Cefuzonam	$\leq 0.006 \sim 25$	0.05	0.39
	Cefotaxime	$\leq 0.006 \sim 50$	0.05	0.78
	Cefmenoxime	$\leq 0.006 \sim 12.5$	0.025	0.2
<i>C. freundii</i> (75)	Cefepime	0.013 \sim 3.13	0.05	0.39
	Ceftazidime	0.05 \sim 100	0.39	50
	Cefuzonam	0.025 \sim 25	0.2	12.5
	Cefotaxime	0.025 \sim 50	0.2	25
	Cefmenoxime	0.025 \sim 25	0.1	12.5

Table 2. Continued

Test organism (no. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		
		Range	50%	90%
<i>E. cloacae</i> (100)	Cefepime	0.013~6.25	0.05	0.78
	Ceftazidime	0.05~100	0.39	50
	Cefuzonam	0.05~100	0.39	25
	Cefotaxime	0.025~>100	0.39	50
	Cefmenoxime	0.025~>100	0.39	25
<i>S. marcescens</i> (103)	Cefepime	0.05~6.25	0.1	1.56
	Ceftazidime	0.05~25	0.39	1.56
	Cefuzonam	0.1~12.5	0.39	3.13
	Cefotaxime	0.1~50	0.39	6.25
	Cefmenoxime	0.05~12.5	0.39	3.13
<i>P. aeruginosa</i> (86)	Cefepime	0.39~100	1.56	12.5
	Ceftazidime	0.39~50	1.56	6.25
	Cefuzonam	6.25~>100	25	100
	Cefotaxime	6.25~>100	25	100
	Cefmenoxime	3.13~>100	25	50
<i>P. cepacia</i> (51)	Cefepime	1.56~50	6.25	12.5
	Ceftazidime	0.39~6.25	1.56	3.13
	Cefuzonam	3.13~50	6.25	12.5
	Cefotaxime	1.56~100	3.13	12.5
	Cefmenoxime	3.13~50	6.25	25
<i>X. maltophilia</i> (48)	Cefepime	0.39~>100	12.5	50
	Ceftazidime	0.2~>100	12.5	>100
	Cefuzonam	0.2~>100	12.5	100
	Cefotaxime	0.39~>100	50	>100
	Cefmenoxime	0.1~>100	12.5	100
<i>Salmonella</i> spp. (108)	Cefepime	0.025~0.1	0.05	0.05
	Ceftazidime	0.05~0.39	0.2	0.2
	Cefuzonam	0.025~0.39	0.1	0.2
	Cefotaxime	0.025~0.39	0.1	0.1
	Cefmenoxime	0.025~0.39	0.1	0.2
<i>Shigella</i> spp. (108)	Cefepime	≤ 0.006 ~0.39	0.05	0.1
	Ceftazidime	0.025~1.56	0.05	0.2
	Cefuzonam	0.025~0.78	0.1	0.2
	Cefotaxime	0.013~0.78	0.05	0.05
	Cefmenoxime	0.013~1.56	0.1	0.39
<i>H. influenzae</i> (55)	Cefepime	≤ 0.006 ~0.2	0.05	0.1
	Ceftazidime	0.013~0.1	0.025	0.1
	Cefuzonam	≤ 0.006 ~0.013	≤ 0.006	0.013
	Cefotaxime	≤ 0.006 ~0.013	≤ 0.006	0.013
	Cefmenoxime	≤ 0.006 ~0.025	≤ 0.006	0.013

倍数希釈濃度の被検薬剤を含むSDBに試験菌を 10^5 cells/ml接種し、 37°C 18時間培養後、培養液を $10\ \mu\text{l}$ のループ(Nunc)を用いて薬物無添加培地に接種しcolonyの認められなかった最小薬物濃度をMinimum Bactericidal Concentration (MBC)とした。

増殖曲線に及ぼす影響については、 37°C 一夜培養液をSDBで10,000倍希釈し、 37°C 振盪培養し、*Escherichia coli* NIHJ JC-2, 4.5×10^5 cells/mlおよび*P.*

aeruginosa IFO 3445, 6.0×10^4 cells/mlに達したとき、薬剤を添加して、経時的にサンプリングし寒天培地に塗布した。培養後、colony数から生菌数を測定した。なお液体培地希釈法でのMICの関連をみる目的で 10^6 cells/mlの接種菌量で得られたMIC値を基にした。

5. β -lactamaseに対する安定性
 β -lactamase産生菌として7菌種によるceph-

Table 3. Antibacterial activity of cefepime and other cephalosporins against Gram-negative β -lactamase producing bacteria

β -lactamase producing bacteria	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)				
	Cefepime	Ceftazidime	Cefuzonam	Cefotaxime	Cefmenoxime
Penicillinase					
<i>E. coli</i> W3630 Rms 212	0.05	0.2	0.2	0.1	0.1
<i>E. coli</i> W3630 Rms 213	0.025	0.2	0.05	0.05	0.05
<i>E. coli</i> W3630 Rte 16	0.025	0.2	0.05	0.05	0.05
<i>P. aeruginosa</i> MI Rms 139	3.13	1.56	25	12.5	12.5
<i>E. coli</i> ML4901 TEM-1	0.05	0.1	0.1	0.1	0.1
<i>E. coli</i> ML4901 TEM-2	0.2	0.39	0.2	0.1	0.1
<i>E. coli</i> ML4901 OXA-1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.39
<i>E. coli</i> ML4901 OXA-2	0.05	3.13	0.05	0.025	0.05
<i>E. coli</i> ML4901 PSE-1	0.05	0.1	0.1	0.05	0.1
<i>E. coli</i> ML4901 PSE-3	0.05	0.1	0.1	0.05	0.1
<i>E. coli</i> J 53-2 SHV-1	0.05	0.1	0.05	0.025	0.05
<i>K. pneumoniae</i> GN69	0.025	0.1	0.05	0.025	0.05
Cephalosporinase					
<i>E. coli</i> GN5482	0.05	1.56	0.78	0.78	0.2
<i>E. cloacae</i> GN7471	0.1	3.13	6.25	12.5	3.13
<i>K. oxytoca</i> GN10650	0.39	0.1	0.2	0.39	0.39
<i>S. marcescens</i> GN10857	1.56	0.78	3.13	6.25	3.13
<i>C. freundii</i> GN346	0.2	50	12.5	25	6.25
<i>C. freundii</i> GN7391	3.13	>100	50	100	50
<i>P. rettgeri</i> GN4430	0.025	0.2	0.1	0.025	0.05
<i>P. rettgeri</i> GN4424	0.1	0.1	0.05	0.013	0.025
<i>M. morgani</i> GN5407	0.025	0.1	0.05	0.025	0.05
<i>P. aeruginosa</i> GN918	6.25	3.13	100	50	50
<i>P. aeruginosa</i> GN10362	1.56	1.56	25	12.5	12.5
Oxymino-cephalosporinase					
<i>P. vulgaris</i> GN76	0.1	0.1	0.39	0.1	0.39
<i>P. vulgaris</i> GN7919	6.25	3.13	6.25	25	25
<i>X. maltophilia</i> GN12873	25	25	25	100	25
<i>P. cepacia</i> GN11164	3.13	0.78	3.13	3.13	3.13

Table 4. Effect of inoculum size on antibacterial activity of cefepime and other cephalosporins by broth dilution method

Organism	Inoculum size (CFU/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		Cefepime	Ceftazidime	Cefotaxime
Standard strains				
<i>S. aureus</i> Smith	1.6×10^8	3.13	12.5	1.56
	1.6×10^7	3.13	12.5	1.56
	1.6×10^6	3.13	12.5	1.56
	1.6×10^5	1.56	6.25	1.56
	1.6×10^4	1.56	6.25	1.56
	1.6×10^3	1.56	6.25	1.56
	1.6×10^2	1.56	6.25	1.56
<i>E. coli</i> Juhl	2.4×10^8	1.56	6.25	1.56
	2.4×10^7	1.56	6.25	1.56
	2.4×10^6	0.05	0.2	0.1
	2.4×10^5	0.05	0.2	0.1
	2.4×10^4	0.05	0.1	0.1
	2.4×10^3	0.025	0.1	0.05
	2.4×10^2	0.025	0.1	0.05
<i>S. marcescens</i> IAM 1184	5.0×10^8	>200	>200	>200
	5.0×10^7	200	>200	200
	5.0×10^6	25	100	40
	5.0×10^5	0.05	0.1	0.1
	5.0×10^4	0.05	0.1	0.1
	5.0×10^3	0.025	0.1	0.05
	5.0×10^2	0.025	0.1	0.05
<i>E. cloacae</i> 963	6.5×10^8	>200	>200	>200
	6.5×10^7	>200	>200	>200
	6.5×10^6	0.39	25	6.25
	6.5×10^5	0.025	0.39	0.78
	6.5×10^4	0.025	0.2	0.1
	6.5×10^3	0.025	0.2	0.1
	6.5×10^2	0.025	0.1	0.1
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	3.7×10^8	>200	>200	>200
	3.7×10^7	>200	>200	200
	3.7×10^6	1.56	100	100
	3.7×10^5	1.56	1.56	12.5
	3.7×10^4	0.78	1.56	12.5
	3.7×10^3	0.78	0.78	6.25
	3.7×10^2	0.39	0.39	1.56

Table 4. Continued

Organism	Inoculum size (CFU/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		Cefepime	Ceftazidime	Cefotaxime
β -lactamase produce strains				
<i>C. freundii</i> GN7391	5.5×10^8	>100	>200	>200
	5.5×10^7	>200	>200	200
	5.5×10^6	100	>200	100
	5.5×10^5	6.25	100	100
	5.5×10^4	3.1	100	100
	5.5×10^3	3.1	100	100
	5.5×10^2	1.56	100	100
<i>E. cloacae</i> GN7471	1.4×10^8	>200	>200	>200
	1.4×10^7	3.1	>200	200
	1.4×10^6	0.39	25	25
	1.4×10^5	0.2	12.5	25
	1.4×10^4	0.2	12.5	25
	1.4×10^3	0.1	6.25	12.5
	1.4×10^2	0.1	6.25	12.5

Medium: Mueller-Hinton broth (Difco)

alospirinase, 5菌種による oxyimino-cephalosporinase とプラスミド由来による4種の penicillinase を使用した。それぞれの薬剤の β -lactamase に対する安定性は、既報の方法により精製され凍結保存された β -lactamase を 1/15M phosphate buffer pH 7.0 に溶解し、分光光度計を用い 30°C の恒温に保ち測定した。阻害定数 (Ki) 値の測定は、cephalothin (12.5~100 μM) を基質として適当な濃度の薬剤の存在下および非存在下で加水分解速度を測定し、Lineweaver-Burk plot から Ki 値を算出した。

6. マウス感染防御実験

感染菌は 0.1 % glucose 添加 HIB にて 37°C, 18 時間培養後, 10 % hog mucin (American Laboratory, Omaha, Neb, USA) と同量混合し, 所定の感染菌懸濁液を作成した。1 薬剤濃度当たり 1 群 10 匹の ddY 雄マウス (体重 19~24 g) の腹腔内へ接種した。一方, マウスの免疫力を低下するために, 細菌感染 4 日前に cyclophosphamide を腹腔内へ投与した。試験菌は, 18 時間培養後 4 % hog mucin と同量混合した。調整した感染菌液を LD₅₀ の約 100 倍量マウスの腹腔内に感染させた。1 時間後, 薬剤を 1 回筋肉内投与し, 7 日後のマウスの生存数より ED₅₀ 値を Litchfield & Wilcoxon 法⁶⁾で算出した。

II. 実験成績

1. 抗菌スペクトル

CFPM の標準株に対する抗菌活性を, CAZ, CZON, CTX, CMX のそれと比較して Table 1 に示した。*Staphylococcus aureus* に対する CFPM の抗菌力は, CZON より若干劣るが CMX, CTX と同等を示し, CAZ より 4 倍優れていた。*Bacillus subtilis*, *M. luteus* に対する CFPM の抗菌力は, CZON, CTX, CMX とほぼ同等であり CAZ より 4~16 倍優れていた。

CFPM のグラム陰性菌に対する抗菌力は強く, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* spp., *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* に対して, CAZ, CZON, CTX, CMX と同等であった。*P. aeruginosa* に対して, CFPM の抗菌力は CAZ と同等であったが, CZON, CTX, CMX より 4~16 倍優れていた。

2. 臨床分離株の感受性分布

臨床検体から分離した *S. aureus* 81 株, *Staphylococcus epidermidis* 83 株, *Enterococcus faecalis* 54 株, *Streptococcus pneumoniae* 20 株, *Streptococcus pyogenes* 97 株, *E. coli* 95 株, *K. pneumoniae* 40 株,

Klebsiella oxytoca 51 株, *Proteus mirabilis* 98 株, *P. vulgaris* 84 株, *Providencia stuartii* 85 株, *Providencia rettgeri* 78 株, *M. morgani* 92 株, *Citrobacter freundii* 75 株, *E. cloacae* 100 株, *Serratia marcescens* 103 株, *P. aeruginosa* 86 株, *Pseudomonas cepacia* 51 株, *Xanthomonas maltophilia* 48 株, *Salmonella* spp. 108 株, *Shigella* spp. 108 株, *H. influenzae* 55 株の合計 1692 株に対する CFPM, CAZ, CZON, CTX および CMX の抗菌力の MIC 値の範囲, MIC₅₀, MIC₉₀ 値を Table 2 に示した。

E. faecalis を除いて, staphylococci を含むグラム陽性菌に対する CFPM の抗菌力は, CAZ の 2~8 倍優れており, CTX および CMX と同等であったが, CZON のそれより若干劣っていた。*E. faecalis* は, 用いたセファロスポリン剤すべてに対して耐性を示した。

E. coli, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. stuartii* に対する CFPM の抗菌力は強く, CAZ, CZON, CTX, CMX のそれらとほぼ同等の MIC₉₀ 値を示した。

P. rettgeri, *M. morgani* に対する CFPM の MIC₉₀ 値は, それぞれ 0.05, 0.05 μg/ml であり, 対照薬剤より 2~8, 4~16 倍優れていた。

C. freundii, *E. cloacae* に対する CFPM の MIC₉₀ 値は, それぞれ 0.39, 0.78 μg/ml であり対照薬剤のそれらよりも 32~128, 32~64 倍優れていた。またこれらは, CFPM によってそれぞれ 3.13 および 6.25 μg/ml ですべての試験菌の生育を阻止した。

S. marcescens に対する CFPM の MIC₅₀ および MIC₉₀ 値は, それぞれ 0.1, 1.56 μg/ml であり, CAZ, CZON, CMX とほぼ同等の抗菌力を示し, CTX より若干優れていた。

P. aeruginosa に対する CFPM の抗菌力は, CAZ と

同じで, MIC₅₀, MIC₉₀ 値はそれぞれ 1.56, 12.5 μg/ml であり, CZON, CTX, CMX より 4~16 倍優れていた。

P. cepacia に対する CFPM の MIC₉₀ 値は, 12.5 μg/ml であり CZON, CTX と同等であるが CAZ の 3.13 μg/ml より 4 倍劣っていた。

X. maltophilia に対する CFPM の MIC₅₀ 値は, 12.5 μg/ml であり, CAZ, CZON, CMX の値と同等であった。MIC₉₀ 値での比較において, CFPM が若干優れていた。

Salmonella spp., *Shigella* spp., *H. influenzae* に対して CFPM は強い抗菌力を示し, MIC₉₀ 値は, それぞれ 0.05, 0.1, 0.1 μg/ml であり対照薬剤より優れているかあるいは同等であった。

3. β-lactamase 産生株に対する抗菌力

プラスミド由来 penicillinase 産生 11 株, 染色体性 penicillinase 産生 1 株, 典型的な cephalosporinase 産生 11 株, oxyimino-cephalosporinase 産生 4 株に対する抗菌活性を対照薬剤と比較検討した成績を Table 3 に示した。Penicillinase 産生菌に対する CFPM の抗菌力は, 非常に強く対照薬剤と同等かあるいは優れていた。また CFPM の抗菌力は, cephalosporinase 産生株に対しても強く, 一方 CAZ, CZON, CTX, CMX の *E. cloacae* GN7471, *C. freundii* GN346, GN7391 に対する抗菌力は弱く, また *P. aeruginosa* GN918, GN10362 に対して CZON, CTX, CMX の抗菌活性は弱かった。CFPM の oxyimino-cephalosporinase 産生株に対する抗菌活性も強く, CAZ と同様強い抗菌力を示した。

4. グラム陽性菌, グラム陰性 β-lactamase 産生菌に対する抗菌力に及ぼす接種菌量の影響

CFPM の抗菌力に及ぼす接種菌量の影響を Muel-

Table 5. Bacteriostatic and bactericidal activities of cefepime and other cephalosporins (10⁵ cells/ml)

Organism	Cefepime		Ceftazidime		Cefuzonam		Cefotaxime		Cefmenoxime	
	MIC ^a	MBC ^b	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>S. aureus</i> FDA 209P	1.56	3.13	6.25	25	0.39	1.56	3.13	3.13	0.78	1.56
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.1	0.1	0.39	0.39	0.2	0.39	0.2	0.2	0.2	0.2
<i>K. pneumoniae</i> PCI-602	0.025	0.05	0.2	0.2	0.006	0.013	0.013	0.013	0.006	0.006
<i>S. marcescens</i> IAM 1184	0.1	0.2	0.1	0.2	0.39	0.39	0.2	0.39	0.2	0.39
<i>E. cloacae</i> 963	0.05	0.1	1.56	1.56	1.56	1.56	0.39	0.78	0.78	0.78
<i>P. vulgaris</i> OX-19	0.2	0.2	3.13	3.13	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	1.56	3.13	1.56	3.13	25	50	12.5	50	25	25

^a Bacteriostatic activity, μg/ml

^b Bactericidal activity, μg/ml

ler-Hinton broth を用いた液体培地希釈法で検討した (Table 4)。CFPM の *S. aureus* に対する MIC 値の変動は CAZ, CTX と同様に小さかった。グラム陰性菌に対する MIC 値は、大きな変動を示し、*E. coli*, *E. cloacae*, *P. aeruginosa* において $10^7 \sim 10^6$ cells/ml, *S. marcescens* において $10^6 \sim 10^5$ cells/ml のそれぞれの接種菌量の間で約 32~500 倍の変動を示し、菌量が低下するほど強い抗菌力を示した。また、対照薬も同様な傾向を示した。CFPM の β -lactamase 産生株に対する MIC 値の変動は認められたが、接種菌量が低下すれば強い抗菌力を示した。しかし、対照薬剤の β -lactamase 産生株に対する抗菌力は弱く、低い接種菌量時においても弱い抗菌力しか示さなかった。

5. 殺菌作用

Table 5 に示すように CFPM は、*S. aureus* FDA 209P, *E. coli* NIHJ JC-2, *K. pneumoniae* PCI-602, *S. marcescens* IAM 1184, *E. cloacae* 963, *P. vulgaris* OX-19, *P. aeruginosa* IFO 3445 に対して、CAZ, CZON, CTX, CMX と同様殺菌的に作用し、MIC と MBC 値が同等であった。CFPM の *E. coli* NIHJ JC-2 (A), *P. aeruginosa* IFO 3445 (B) の増殖曲線に及ぼす影響を Fig. 2 に示した。

E. coli NIHJ JC-2 に対して CFPM は寒天平板希釈法、接種菌量 10^6 cells/ml で得られた MIC 値 (0.1 μ g/ml) の 1/4 MIC の濃度で阻害作用は認められなかったが、1/2 MIC 濃度以上で殺菌的に作用した。しかし、1/2 MIC 濃度で、培養 2 時間以降増殖した。CAZ, CZON では、1 MIC 濃度以上では、殺菌的に作

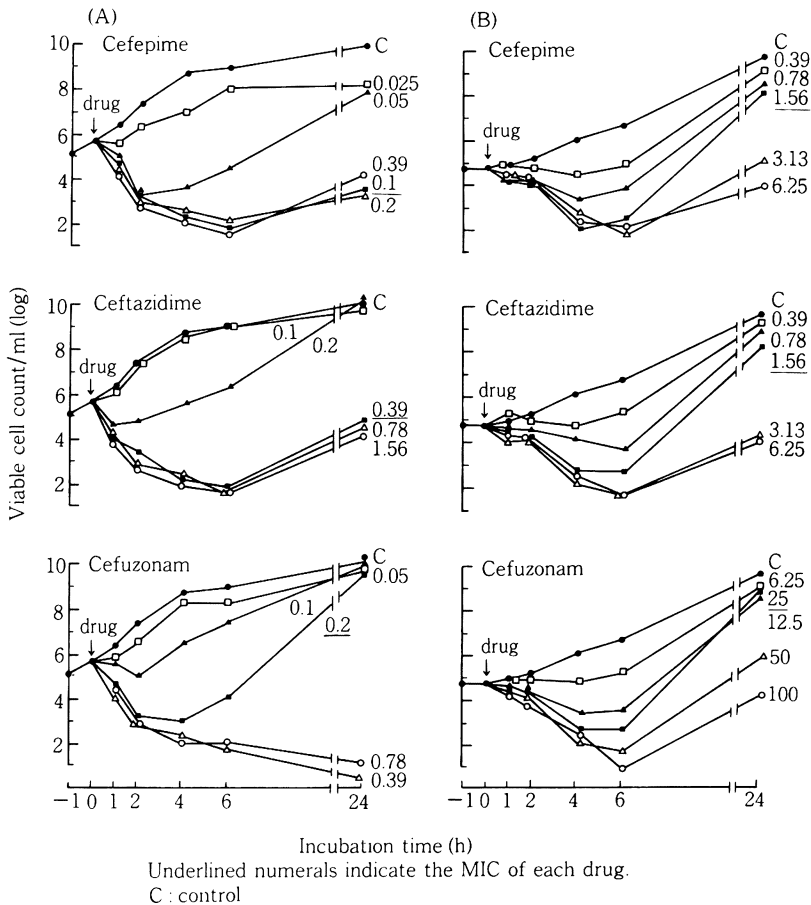


Fig. 2. Killing curve of cefepime, ceftazidime and cefuzonam against *Escherichia coli* NIHJ JC-2 (A) and *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3445 (B). Viable cell counts were determined after exposure of these bacteria to cefepime, ceftazidime and cefuzonam. Concentrations (in micrograms per milliliter) are shown.

Table 6. Stability of cefepime and other cephalosporins to various β -lactamases produced by Gram-negative bacteria

β -lactamase producer	Type of β -lactamase	Relative rate of hydrolysis ^a							
		Cephaloridine	Cefuroxime	Benzyl-penicillin	Cefepime	Ceftazidime	Cefuzonam	Cefotaxime	Cefmenoxime
<i>E. coli</i> GN5482	CSase	100	<0.4		<0.3	<0.3	<0.3	<0.4	<0.4
<i>E. cloacae</i> GN7471	CSase	100	<0.4		<0.4	<0.4	<0.4	<0.5	<0.4
<i>C. freundii</i> GN7391	CSase	100	<0.6		0.4	<0.4	<0.4	1.1	1.1
<i>S. marcescens</i> GN10857	CSase	100	<0.5		1.1	<0.3	<0.3	1.1	<0.5
<i>P. rettgeri</i> GN4430	CSase	100	<0.8		<0.5	<0.5	6.3	2.1	<0.8
<i>M. morgani</i> GN5407	CSase	100	<0.9		<0.7	<0.4	<0.4	<0.7	<0.9
<i>P. aeruginosa</i> GN10362	CSase	100	<0.4		<0.4	<0.4	<0.4	0.5	<0.4
<i>P. vulgaris</i> GN7919	CXase	63	100		1.1	<0.8	17	19	19
<i>P. cepacia</i> GN11164	CXase	100	100		3.7	<1.4	64	48	80
<i>K. oxytoca</i> GN10560	CXase	620	100		8.4	4.7	44	25	53
<i>X. maltophilia</i> GN12873	CXase	654	100		13	6.5	125	31	167
<i>F. odratum</i> GN14053	CXase	10	100		<1.7	<1.7	57	89	61
<i>E. coli</i> W3630 Rms 212	PCase type I			100	0.1	<0.1	0.2	0.1	0.2
<i>E. coli</i> W3630 Rms 213	PCase type II			100	34	0.2	6.3	9.6	26
<i>E. coli</i> W3630 Rte 16	PCase type III			100	0.2	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
<i>P. aeruginosa</i> M1 Rms 139	PCase type IV			100	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1

^a Hydrolysis of each substrate by cephalosporinase (CSase), oxyimino-cephalosporinase (CXase) and penicillinase (PCase) is expressed as a relative rate of hydrolysis, taking absolute rate of CER, CXM and PCG respectively.

Table 7. Affinity of cefepime for cephalosporinases

Cephalosporinase origin	Ki (μ M)					Km (μ M)
	Cefepime	Ceftazidime	Cefuzonam	Cefotaxime	Cefmenoxime	Cephalothin
<i>E. cloacae</i> GN7471	250	31	0.05	0.08	0.06	46
<i>C. freundii</i> GN7391	250	37	0.06	0.01	0.03	15
<i>E. coli</i> GN5482	>500	10	0.01	0.09	0.07	21
<i>P. aeruginosa</i> GN10362	210	21	0.08	0.08	0.09	50

用した。*P. aeruginosa* IFO 3445 に対して CFPM, CAZ は 1/2 MIC 濃度以下では、静菌的作用であったが 1 MIC 濃度以上では、殺菌的に作用した。両薬剤共に 1 MIC 濃度における殺菌作用は、6 時間後まで持続したがその後増殖した。

6. β -lactamase に対する安定性

CFPM は、cephalosporinase に対して CAZ, CZON, CTX, CMX と同等の非常に高い安定性を示した。また、幅広い基質特異性を示す oxyimino-cephalosporinase に対しても CAZ と同等の高い安定性を示し、CZON, CTX, CMX より安定であった。Rms

213 由来の penicillinase を除いて、CFPM は CAZ と同等の安定性を示した。CFPM は Rms213 由来の penicillinase に対して CMX と同様若干加水分解されるが penicillin G より約 3 倍の安定性を示した (Table 6)。

CFPM と対照薬剤の精製 β -lactamase に対する親和性の成績を Table 7 に示した。CFPM の β -lactamase に対する親和性は、cephalothin (CET) を基質とし、CET の加水分解の阻害定数 Ki 値として表示した。

CFPM の *E. cloacae*, *C. freundii*, *E. coli*, *P.*

Table 8. Protective effect of cefepime and other cephalosporins against bacterial infections in normal mice

Organism	Inoculum size (log cells/mouse)	Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	ED ₅₀ [95% confidence limits] (mg/kg, im)
<i>S. aureus</i> Smith	6.5	Cefepime	1.56	10 (1.9~22)
		Ceftazidime	6.25	36 (19~103)
		Cefuzonam	0.39	1.4 (0.65~2.9)
		Cefotaxime	1.56	12 (5.1~30)
<i>E. coli</i> ML4707	5.9	Cefepime	0.013	0.13 (0.051~0.23)
		Ceftazidime	0.05	0.39 (0.19~1.2)
		Cefuzonam	0.05	0.44 (0.17~1.0)
		Cefotaxime	0.025	0.84 (0.35~4.2)
<i>K. pneumoniae</i> GN6445	6.1	Cefepime	0.013	0.22 (0.11~0.45)
		Ceftazidime	0.05	1.6 (0.89~6.7)
		Cefuzonam	0.05	1.9 (1.2~3.2)
		Cefotaxime	0.025	1.5 (0.64~18)
<i>S. marcescens</i> GN7577	5.9	Cefepime	0.1	0.027 (0.0087~0.06)
		Ceftazidime	0.39	0.066 (0.030~0.18)
		Cefuzonam	0.78	0.084 (0.034~0.20)
		Cefotaxime	0.39	0.29 (0.051~0.84)
<i>P. aeruginosa</i> GN11189	6.0	Cefepime	0.78	7.5 (2.4~57)
		Ceftazidime	0.78	8.2 (3.1~31)
		Cefuzonam	12.5	>160
		Cefotaxime	6.25	102 (42~1565)

aeruginosa 由来の典型的な cephalosporinase に対する Ki 値は、210 μM 以上と大きく、これは CTX, CMX, CZON の Ki (0.01~0.09 μM) 値の 2,000 倍以上であり、非常に親和性の小さいことが確認された (Table 7)。また CAZ よりも 1/7~1/50 倍以下の低親和性であった。

7 マウス感染防御作用

S. aureus Smith, *E. coli* ML4707, *K. pneumoniae* GN6445, *S. marcescens* GN7577, *P. aeruginosa* GN11189 のマウス全身感染に対する CFPM の筋肉内投与による感染防御作用を CAZ, CZON, CTX のそれらと比較した成績を Tables 8, 9 に示した。

正常マウスにおける CFPM の *S. aureus* に対する ED₅₀ 値は、CAZ より約 4 倍優れているが、CZON よりも約 7 倍劣っていた。グラム陰性菌である *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens* の感染防御作用に対する CFPM の ED₅₀ 値は、それぞれ 0.13, 0.22, 0.027 mg/kg であり、CAZ, CZON と CTX よりそれぞれ 3~6, 7~9, 2~11 倍優れていた。CFPM の *P. aeruginosa* に

対する ED₅₀ 値は、7.5mg/kg であり、CAZ の 8.2 mg/kg とほぼ同等の防御作用を示し、CZON, CTX のそれらよりも非常に優れていた。

一方、cyclophosphamide 処理マウス群における CFPM は、グラム陰性菌感染群に対して試験に用いた薬剤中最も強い感染防御作用を示したが、*S. aureus* に対しては、CZON が最も強い防御作用を示した。特に *P. aeruginosa* に対して CFPM は、CAZ よりも約 3 倍以上の良好な感染防御作用を示したが、CZON, CTX は感染防御作用を示さなかった。

III. 総括および考察

CFPM の *in vitro* および *in vivo* における抗菌力を CAZ, CZON, CTX, CMX を比較対照薬として検討した。これらの試験成績は、他施設で報告されている結果とよく一致した²⁻⁴⁾。

CFPM は 3 位側鎖と 2 位 carboxyl 基とのペタイン構造を持つことにより、*S. aureus* に対する抗菌力を残しつつ *P. aeruginosa* に対して強い抗菌力を示す。さらに 7 位に methoxyimino 基, aminothiazole 基を持

Table 9. Protective effect of cefepime and other cephalosporins against bacterial infections in immunosuppressed mice

Organism	Inoculum size (log cells/mouse)	Drug	ED ₅₀ [95% confidence limits] (mg/kg, im)	Ratio ^a ED ₅₀ (I)/ED ₅₀ (N)
<i>S. aureus</i> Smith	5.0	Cefepime	22 (7.5~44)	2.2
		Ceftazidime	140 (70~308)	3.9
		Cefuzonam	7.9 (3.0~25)	5.6
		Cefotaxime	18 (7.3~119)	1.5
<i>E. coli</i> ML4707	4.2	Cefepime	1.0 (0.46~2.8)	7.7
		Ceftazidime	1.8 (0.65~9.6)	4.6
		Cefuzonam	4.0 (1.6~10)	9.1
		Cefotaxime	3.0 (0.81~88)	3.6
<i>K. pneumoniae</i> GN6445	3.8	Cefepime	2.3 (1.2~4.9)	10
		Ceftazidime	5.1 (2.1~78)	3.2
		Cefuzonam	7.2 (3.6~21)	3.8
		Cefotaxime	3.5 (1.4~30)	2.3
<i>S. marcescens</i> GN7577	2.1	Cefepime	0.50(0.15~1.3)	19
		Ceftazidime	0.44(0.17~1.0)	6.7
		Cefuzonam	4.7 (2.3~11)	56
		Cefotaxime	1.5 (0.56~6.5)	5.2
<i>P. aeruginosa</i> GN11189	2.7	Cefepime	13 (4.5~36)	1.7
		Ceftazidime	35 (17~78)	4.3
		Cefuzonam	>160	—
		Cefotaxime	>160	—

^a ED₅₀ in immunosuppressed mice/ED₅₀ in normal mice

っているために CTX⁷⁾, CMX⁸⁾と同様に *S. aureus* を含むグラム陽性菌に対して強い抗菌力を示した。また、グラム陰性菌に対しても非常に強い抗菌力を示し、さらに β -lactamase を大量に産生する菌株に対しても強い抗菌力を示した。一方、大量の cephalosporinase を産生する菌株に対する CAZ, CZON, CTX, CMX の抗菌力は低下した。これは、 β -lactamase 産生株のペリプラズマ層にトラップ⁹⁾されるかあるいは加水分解による不活化によるものと考えられる。しかしながら CFPM は cephalosporinase との親和性が非常に低いためにこれら β -lactamase 産生株に対しても強い抗菌力を示している。

CFPM のマウス感染モデル実験に対する成績は、*in vitro* の抗菌力を反映して正常マウスと cyclophosphamide 処理群共に良好であった。これは CFPM の *in vitro* における MIC と MBC 値がよく一致していること、強い短時間殺菌作用を示すこと、感受性菌、

β -lactamase 産生菌に対して接種菌量の変動の影響が他剤に比べ小さいためであると考えられる。さらに CFPM の serum との結合比率が CAZ, CZON, CTX, CMX に比べ小さいことも考えられる¹⁰⁾。

CFPM は *in vitro* において *S. aureus* を含むグラム陽性菌、*P. aeruginosa* を含むグラム陰性菌とバランスの良い広域スペクトルと強い抗菌作用を示した。また、マウス感染モデル実験でも同様の成績が示された。これらの成績から臨床における感染症の治療に対して優れた効果が期待される。

文 献

- 1) Natio T, Aburaki S, Kamachi H, Narita Y, Okumura J, Kawaguchi H: Synthesis and structure-activity relationships of a new series of cephalosporins, BMV-28142 and related compounds. J Antibiot 39: 1092~1107, 1986
- 2) Kessler R E, Bies M, Buck R E, Chisholm D R, Pursiano T A, Tsai Y H, Misiek M, Price K E,

- Leitner F : Comparison of a new cephalosporin, BMY 28142, with other broad-spectrum β -lactam antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 27 : 207~216, 1985
- 3) Tsuji A, Maniatis A, Bertram M A, Young L S : *In vitro* activity of BMY-28142 in comparison with those of other β -lactam antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 27 : 515~519, 1985
 - 4) Hiraoka M, Masuyoshi S, Mitsuhashi S, Tomatsu K, Inoue M : Cephalosporinase interactions and antimicrobial activity of BMY-28142, ceftazidime and cefotaxime. *J Antibiot* 41 : 86~93, 1988
 - 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) Litchfield J T, Wilcoxon F : A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J Pharmacol Exp Therap* 96 : 99~113, 1949
 - 7) Hamilton-Miller J M T, Brumfitt W, Reynolds V : Cefotaxime (HR756), a new cephalosporin with exceptional broad-spectrum activity *in vitro*. *J Antimicrob Chemother* 4 : 437~444, 1978
 - 8) Tsuchiya K, Kondo M, Kida M, Nakano M, Iwai T, Nishi T, Noji Y, Takeuchi M, Nozaki Y : Cefmenoxime (SCE-1365), a novel broad-spectrum cephalosporin : *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities. *Antimicrob Agents Chemother* 19 : 56~65, 1981
 - 9) Yamamoto T, Yokota T : Betalactamase-directed barrier for penicillins of *Escherichia coli* carrying R plasmids. *Antimicrob Agents Chemother* 11 : 936~940, 1977
 - 10) 平野 実, 益吉眞次, 近藤昇一郎, 朝井保美, 沖 俊一 : ラットにおける Cefepime の体内動態—血中濃度, 臓器内分布, 代謝, 尿中・胆汁排泄—. *Chemotherapy* 39 (S-2) : 97~103, 1991

IN VITRO AND *IN VIVO* ANTIBACTERIAL
ACTIVITY AND β -LACTAMASE STABILITY
OF CEFEPIME, A NEW PARENTERAL CEPHALOSPORIN

Shinji Masuyoshi¹⁾, Susumu Mitsuhashi¹⁾, Matsuhisa Inoue²⁾,
Masaki Hiraoka³⁾, Hiroyuki Matsui³⁾

¹⁾Episome Institute,

2220, Kogure, Fujimi-mura, Seta-gun, Gunma 370-01, Japan

²⁾Laboratory of Drug Resistance in Bacteria,

School of Medicine, Gunma University

³⁾Preclinical Research Laboratories, Bristol-Myers Research Institute

Cefepime (BMY-28142, CFPM), a new parenteral cephalosporin was evaluated for its *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity and compared it with ceftazidime (CAZ), ceftazidime (CZON), cefotaxime (CTX) and cefmenoxime (CMX). CFPM showed a wellbalanced, broad spectrum of activity against a number of clinical isolates. The activity of CFPM against Gram-positive bacteria was several times greater than that of CAZ, nearly comparable to CTX and CMX, and slightly weaker than CZON. Enterobacteriaceae, CFPM showed superior activity to the reference cephalosporins against *Providencia stuartii*, *Providencia rettgeri*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii* and *Enterobacter cloacae*. The activity of CFPM against *Pseudomonas aeruginosa* was comparable to that of CAZ. CFPM was more stable than CZON, CTX and CMX to various types of β -lactamases from Gram-negative bacteria. The bactericidal activity of CFPM was demonstrated by a time-kill curve with *Escherichia coli* and *P. aeruginosa*. CFPM resulted in a time-kill curve similar to that of CAZ. The high *in vitro* activity of CFPM was reflected in its *in vivo* efficacy against experimental infections in normal and immuno-suppressed mice. CFPM was the most effective among the cephalosporins tested against Gram-negative bacteria infections.