

新注射用セフェム剤 Cefepime (CFPM) の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力

神 智恵子・宮崎 修一・金子 康子・辻 明良・五島瑳智子

東邦大学医学部微生物学教室*

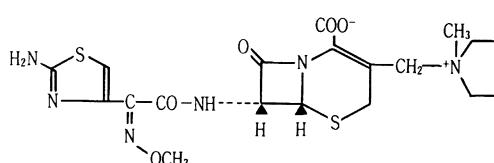
新しい注射用セファロスボリン cefepime (CFPM) の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力について ceftazidime (CAZ) と cefoperazone (CPZ) を比較薬剤として基礎的検討を行い次の結果を得た。CFPM の *in vitro* 抗菌力はグラム陽性球菌 *Staphylococcus aureus* (methicillin-sensitive *S. aureus* : MSSA) に対し CPZ と同等であり、CAZ より強かったが、MRSA (methicillin-resistant *S. aureus*) に対しては 3 剤とも弱い抗菌力を示した。Coagulase (-) *staphylococci* (CNS) および *Streptococcus pyogenes* に対し CFPM は CAZ および CPZ よりも強い抗菌力を示した。*Streptococcus pneumoniae* に対しては、CPZ とほぼ同等であり、CAZ より強い抗菌力を示した。グラム陰性桿菌、特に腸内細菌科の菌種に対し、CFPM は CAZ および CPZ より強い抗菌力を示した。*Pseudomonas aeruginosa* および *Acinetobacter calcoaceticus* に対し、CFPM と CAZ の抗菌力はほぼ同等であり、*Haemophilus influenzae* および *Bordetella pertussis* に対し、CFPM は CPZ とほぼ同じ、CAZ より強い抗菌力を示した。*Neisseria gonorrhoeae* (non-penicillinase producing *N. gonorrhoeae* : non-PPNG) および *N. gonorrhoeae* (PPNG) に対しては、3 剤とも強い抗菌力を示した。マウスにおける全身感染治療実験において CFPM は感染菌の *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* および *P. aeruginosa* に対して CAZ および CPZ より強い治療効果を示した。*K. pneumoniae* および *S. pneumoniae* を感染菌とした呼吸器感染治療実験、*E. coli* および *P. aeruginosa* を感染菌としたマウス尿路感染治療実験において CFPM 投与マウス群は CAZ を投与したマウス群に比較して良好な治療効果を示した。

Key words : Cefepime, *in vitro* 抗菌力, *in vivo* 抗菌力

Cefepime (CFPM) は 1981 年にブリストル・マイヤーズ研究所株式会社東京研究所において新しく合成された 7 位に α -methoxyimino-aminothiazole 基および 3 位に N-methylpyrrolidinium 基を有する注射用セフェム剤である (Fig. 1)。本抗菌薬はブドウ球菌、連鎖球菌等のグラム陽性球菌から緑膿菌を含むグラム

陰性菌まで広範囲の菌に対して優れた抗菌作用を有することが報告されている^{1~3)}。

本報告では CFPM の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力を ceftazidime (CAZ) および cefoperazone (CPZ) と比較した実験成績により基礎的評価を行った。



(6*R*,7*R*)-7-[{(Z)-2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetamido}-3-(1-methylpyrrolidinomethyl)-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate dihydrochloride monohydrate

Fig. 1. Chemical structure of cefepime

I. 実験材料および方法

1. 使用菌株

当教室保存の標準菌株および1982～1987年に臨床材料から分離したグラム陽性菌およびグラム陰性菌の多数株を使用した。

2. 使用抗菌薬

Cefepime (CFPM, 819 μg/mg, ブリストル・マイヤーズ研究所)

Ceftazidime (CAZ, 845 μg/mg, 日本グラクソ)

Cefoperazone (CPZ, 930 μg/mg, ファイザー製薬)

Cefuroxime (CXM, 927.8 μg/mg, 日本グラクソ)

Cefuzonam (CZON, 862 μg/mg, 日本レダリー)

Cefsulodin (CFS, 932 μg/mg, 武田薬品)

3. 感受性測定

日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法に準じ⁴⁾、前培養には Mueller Hinton broth (MHB; Difco), 感感受性測定には Mueller Hinton medium (MHM; Difco) を用いた。

Streptococcus 属に対する MIC 測定には 5% 馬脱纖維血液 (馬脱纖血) を添加した MHM を用い、*Enterococcus* 属の場合 Brain heart infusion agar (BHIA; Difco), *Haemophilus influenzae* では Fildes enrichment (Difco) を 5% 添加した MHM を使用した。*Bordetella pertussis* の場合には 20% 馬脱纖血を添加の Bordet-Gengou medium (Difco) にて 48 時間培養した菌を 1% casamino-acid (和光純薬) を含む 0.35% 塩化ナトリウム (和光純薬) 液に懸濁し、1% グリセリン (和光純薬) および 5% 馬脱纖血を含む Bordet-Gengou medium に接種した後 48 時間培養した。*Neisseria gonorrhoeae* の場合、GC medium (Difco) に supplement として別に調製した溶液 [cocarboxylase (和光純薬) 0.001 g, glucose (和光純薬) 20 g, glutamine (和光純薬) 0.5 g を蒸留水 100 ml に溶解する。] を最終濃度 2% となるように加え、37°C, 18 時間ろうそく培養した。嫌気性菌の MIC 測定は化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法に準じ⁵⁾、前培養には GAM broth (日本), 測定用培地には GAM agar (日本) を使用して 37°C, 24 時間嫌気培養装置内で培養した。

4. β-lactamase に対する安定性

Citrobacter freundii GN 346 (Richmond 型 : Ia 型), *Escherichia coli* 35 (Ib 型), *Proteus mirabilis* GN 79 (II 型), *E. coli* ML 1410, RGN 823 (III a 型) および *Proteus vulgaris* 9 (CXase) を、普通ブロードで 37°C にて振盪培養後、菌体を超音波で破壊し、その遠心上清を粗酵素液として用いた。

β-lactamase 活性測定は spectrophotometric 法⁶⁾により求めた。Penicillinase では benzylpenicillin (PCG) を、cephalosporinase では cephaloridine (CER) を 100 とした相対加水分解速度により各抗菌薬の安定性を示した。

5. マウス感染治療実験

マウスは ICR 系、雄、4 週齢、体重 19±1 g、一群 6 匹を用いた。

1) 単独菌全身感染治療実験

感染菌として *Staphylococcus aureus* Smith, *E. coli* C-11, *Klebsiella pneumoniae* 3K-25, *Serratia marcescens* No. 2 および *P. aeruginosa* TMS 13, β-lactamase 產生菌の *Morganella morganii* GN 125, *E. coli* 35, *P. vulgaris* GN 76, *E. coli* ML 1410, RGN 823, *K. pneumoniae* GN 69, *P. vulgaris* 9 を使用した。各菌株は普通寒天培地 (栄研化学) 平板で 37°C, 18 時間培養後、菌体を集菌し、生理食塩液に懸濁後所定の菌数となるように調整し、最終濃度が 5% となるように mucin (Difco) 液を加え、腹腔内に接種した。薬剤は感染 1 時間後に皮下投与した。観察は感染後 5 日間を行い、マウスの生死により ED₅₀ を van der Waerden 法により算出した。

2) 白血球減少症マウスにおける単独菌全身感染治療実験

感染 4 日前に cyclophosphamide (Sigma) 250 mg /kg をマウスの腹腔内に投与し、白血球減少症マウスを作製した⁷⁾。感染菌として用いた *E. coli* C-11 株の菌液の調整方法および薬剤投与方法は 1) 項で記載した方法で実施した。

3) 複数菌全身感染治療実験

感染菌は *E. coli* C-11 株と *P. aeruginosa* TMS 13 株または *Bacteroides fragilis* GM 7004 株との 2 種類の組合せを使用した。*E. coli* および *P. aeruginosa* は普通寒天培地 (栄研) 平板で 37°C, 18 時間、また *B. fragilis* は GAM 寒天平板で 37°C, 24 時間嫌気培養装置内で培養後、菌体を集菌し、それぞれ生理食塩液に懸濁後、所定の菌数となるように 2 株の菌液を混合調整し、最終濃度が 5% となるように mucin (Difco) 液を加え腹腔内に接種した。薬剤の投与方法および ED₅₀ 値の算出方法は 1) 項で記載した方法で実施した。また、*E. coli* と *P. aeruginosa* の混合感染の場合、死亡マウスの心臓内血液を原液として、生理食塩液にて 10 倍階段希釈した液 0.1 ml をドリガルスキー寒天培地 (栄研化学) 平板に滴下後コンラージ棒により塗布し、37°C, 18 時間培養を行い、血液 1 ml 当たりの 2 菌株の感染生菌数を算出し、対数平均値であらわした。

Table 1-1. *In vitro* antibacterial activity against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		
		Range	50%	90%
β -lactamase non-producing <i>S. aureus</i> (22)	Cefepime	0.39–3.13	1.56	3.13
	Ceftazidime	25–100	50	100
	Cefoperazone	0.78–6.25	1.56	3.13
β -lactamase producing <i>S. aureus</i> (11)	Cefepime	1.56–6.25	3.13	6.25
	Ceftazidime	50–100	50	100
	Cefoperazone	1.56–50	3.13	25
MRSA (31)	Cefepime	0.78–>100	100	>100
	Ceftazidime	50–>100	>100	>100
	Cefoperazone	6.25–>100	>100	>100
CNS (34)	Cefepime	≤ 0.013 –3.13	0.39	1.56
	Ceftazidime	0.05–100	25	25
	Cefoperazone	0.10–6.25	0.78	3.13
<i>S. pyogenes</i> (28)	Cefepime	0.025–0.78	0.05	0.10
	Ceftazidime	0.39–1.56	0.39	0.78
	Cefoperazone	0.05–1.56	0.10	0.78
<i>S. pneumoniae</i> (28)	Cefepime	0.025–0.10	0.10	0.10
	Ceftazidime	0.39–0.78	0.39	0.39
	Cefoperazone	0.025–0.10	0.05	0.10
<i>E. faecalis</i> (46)	Cefepime	25–>100	>100	>100
	Ceftazidime	100–>100	>100	>100
	Cefoperazone	12.5–100	50	50
<i>E. faecium</i> (27)	Cefepime	>100	>100	>100
	Ceftazidime	>100	>100	>100
	Cefoperazone	50–>100	>100	>100
<i>E. avium</i> (15)	Cefepime	50–>100	>100	>100
	Ceftazidime	>100	>100	>100
	Cefoperazone	25–>100	50	>100
<i>C. difficile</i> (25)	Cefepime	100–>100	>100	>100
	Ceftazidime	50–>100	100	100
	Cefoperazone	25–>100	50	50
<i>E. coli</i> (32)	Cefepime	≤ 0.013 –0.20	0.025	0.05
	Ceftazidime	0.05–1.56	0.20	0.39
	Cefoperazone	0.50–50	0.20	12.5
<i>K. pneumoniae</i> (27)	Cefepime	≤ 0.013 –0.39	0.025	0.10
	Ceftazidime	0.20–0.78	0.20	0.78
	Cefoperazone	0.20–>100	25	>100
<i>K. oxytoca</i> (17)	Cefepime	≤ 0.013 –0.39	0.025	0.10
	Ceftazidime	0.05–0.39	0.10	0.39
	Cefoperazone	0.10–>100	25	>100
<i>P. mirabilis</i> (20)	Cefepime	≤ 0.013 –12.5	0.05	0.10
	Ceftazidime	0.05–12.5	0.20	0.20
	Cefoperazone	0.20–6.25	1.56	6.25
<i>P. vulgaris</i> (20)	Cefepime	≤ 0.013 –0.39	0.05	0.20
	Ceftazidime	0.05–0.39	0.20	0.20
	Cefoperazone	0.20–100	1.56	50
<i>M. morganii</i> (20)	Cefepime	≤ 0.013 –0.39	<0.013	0.05
	Ceftazidime	0.05–25	0.20	12.5
	Cefoperazone	0.39–>100	3.13	>100
<i>P. rettgeri</i> (20)	Cefepime	≤ 0.013 –0.78	0.025	0.78
	Ceftazidime	0.025–3.13	0.39	3.13
	Cefoperazone	0.20–>100	0.39	>100
<i>P. stuartii</i> (24)	Cefepime	≤ 0.013 –0.78	0.025	0.10
	Ceftazidime	0.05–3.13	0.39	0.78
	Cefoperazone	0.20–>100	3.13	100
<i>E. cloacae</i> (22)	Cefepime	≤ 0.013 –6.25	0.05	3.13
	Ceftazidime	0.39–>100	0.78	25
	Cefoperazone	0.10–>100	3.13	>100

Inoculum size : 10^6 CFU/mlMRSA : methicillin-resistant *S. aureus*

CNS : coagulase negative staphylococci

Table 1-2. *In vitro* antibacterial activity against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		
		Range	50%	90%
<i>S. marcescens</i> (27)	Cefepime	0.05–1.56	0.20	0.78
	Ceftazidime	0.20–3.13	0.39	1.56
	Cefoperazone	1.56–>100	6.25	100
<i>P. aeruginosa</i> (18)	Cefepime	1.56–12.5	3.13	12.5
	Ceftazidime	0.78–6.25	1.56	6.25
	Cefoperazone	6.25–50	25	50
<i>A. calcoaceticus</i> (21)	Cefepime	0.20–100	3.13	12.5
	Ceftazidime	0.39–100	3.13	12.5
	Cefoperazone	3.13–>100	50	>100
<i>H. influenzae</i> (18)	Cefepime	≤0.013–0.20	≤0.013	0.05
	Ceftazidime	0.39–1.56	0.39	1.56
	Cefoperazone	≤0.013–0.20	≤0.013	0.05
<i>B. pertussis</i> (21)	Cefepime	≤0.013	≤0.013	≤0.013
	Ceftazidime	0.20–0.39	0.39	0.39
	Cefoperazone	≤0.013	≤0.013	≤0.013
<i>N. gonorrhoeae</i> (40) (non-PPNG)	Cefepime	≤0.013	≤0.013	≤0.013
	Ceftazidime	≤0.013	≤0.013	≤0.013
	Cefoperazone	≤0.013–0.025	≤0.013	≤0.013
<i>N. gonorrhoeae</i> (33) (PPNG)	Cefepime	≤0.013	≤0.013	≤0.013
	Ceftazidime	≤0.013–0.05	≤0.013	≤0.013
	Cefoperazone	≤0.013–0.20	≤0.013	0.05
<i>B. fragilis</i> (23)	Cefepime	12.5–>100	25	>100
	Ceftazidime	12.5–>100	25	>100
	Cefoperazone	3.13–>100	12.5	>100

Inoculum size : $10^6 \text{ CFU}/\text{ml}$ PPNG : penicillinase producing *N. gonorrhoeae*

4) 局所感染治療実験

(1) 正常マウスにおける実験的呼吸器感染症に対する治療実験

感染菌の *K. pneumoniae* 3K-25 株は普通寒天平板で 37°C, 18 時間培養し, 菌体を集菌し, 生理食塩液に懸濁後所定の菌液を調整し, その菌液 0.02 ml をエーテル麻酔下のマウスに経鼻接種した。薬剤は感染後 6 時間より 1 日 1 回 1 mg/mouse を 4 日間皮下投与した。治療効果の判定は肺内生菌数の測定により行い, 感染直後, 感染 6 時間, 1 日, 2 日, 3 日, 5 日, 7 日後に麻酔下で放血死させたマウスの肺を無菌的に摘出した後, 生理食塩液 2 ml を加えてホモジナイズし, これを原液として 10 倍階段希釈した液 0.1 ml を普通寒天平板に滴下後コンラージ棒により塗布し 37°C, 18 時間培養を行い肺 1 g 当たりの生菌数を算出した。生菌数は一群 6 匹の対数平均値であらわした。

(2) 白血球減少症マウスにおける実験的呼吸器感染症に対する治療実験

前述した方法で, 白血球減少症マウスを作製した。感染菌の *Streptococcus pneumoniae* Type III 株は, 5 % 馬脱纖血を添加した Heart infusion agar (HIA : Difco) 平板で 37°C, 18 時間培養後, 菌体を集菌し, 生理食塩液に懸濁後所定の菌液を調整した。感染方法, 薬剤投与方法および肺内生菌数測定方法は前述の方法

で行った。なお, 肺内生菌数測定用平板は 5 % 馬脱纖血を添加した Heart infusion agar (HIA : Difco) 平板を用いた。

5) 上行性尿路感染症に対する治療実験

マウスは前述と同条件の雌マウスを用いた。

感染菌は, *E. coli* KU-3 株および *P. aeruginosa* KU-1 株を普通平板で 37°C, 18 時間培養後, 菌体を集菌し, 生理食塩液に懸濁後, 所定の菌液を調整した。

感染の 20 時間前に給水を止めたマウスをエーテル麻酔下で下腹部を圧迫排尿させ, 下腹部をエタノール消毒後, 調整菌液 0.05 ml をポリエチレンカテーテルを用いて経尿道的に膀胱内に接種した。外尿道口を小型クリップで直ちに閉塞し, 1 時間後に解除した。マウスへの給水は感染 2 時間後より行つた。薬剤は感染菌に *E. coli* を使用した場合は感染 24 時間後より 1 mg/mouse を 1 日 1 回, 3 日間の計 3 回を, また *P. aeruginosa* を感染菌とした場合, 2 mg/mouse を 1 日 2 回, 3 日間の計 6 回, 皮下投与した。腎内生菌数の測定は感染後 1~5 日に麻酔下で放血死させたマウスの腎臓を無菌的に摘出し, 生理食塩水を 2 ml 加えてホモジナイズした後これを原液として 10 倍階段希釈した液 0.1 ml を普通寒天平板に滴下後, コンラージ棒により塗布し, 37°C, 18 時間培養を行い, 肾 1 g 当たりの生菌数を算出した。生菌数は一群 6 匹の対数平均値であらわ

した。

6. マウスの血清、腎および肺内薬剤濃度の測定

マウス一群6匹に薬剤を0.5 mg/mouseまたは1 mg/mouseをそれぞれ皮下投与し、5分、15分、30分、1時間、2時間後に麻酔下で心臓採血を行いその血液の一定量を、また無菌的に摘出した肺および腎に生理食塩液2mlを加えた後、ホモジナイズし、遠心分離後の上清中の濃度を測定した。

CFPMの測定には検定菌として*M. morganii* IFO 3848を、CAZの測定には、*P. mirabilis* ATCC 21100を用いた薄層ディスク法で行った。

II. 実験成績

1. 臨床分離株の感受性

臨床材料から分離された*S. aureus* (methicillin-sensitive *S. aureus* : MSSA) 33株、*S. aureus* (methicillin-resistant *S. aureus* : MRSA) 31株、coagulase (-) staphylococci 34株、*Streptococcus pyogenes* 28株、*S. pneumoniae* 28株、*E. faecalis* 46株、*Enterococcus faecium* 27株、*Enterococcus avium* 15株、*Clostridium difficile* 25株、*E. coli* 32株、*K. pneumoniae* 27株、*Klebsiella oxytoca* 17株、*P. mirabilis* 20株、*P. vulgaris* 20株、*M. morganii* 20株、*Providencia rettgeri* 20株、*Providencia stuartii* 24株、*Enterobacter cloacae* 22株、*S. marcescens* 27株、*P. aeruginosa* 18株、*Acinetobacter calcoaceticus* 21株、*H. influenzae* 18株、*B. pertussis* 21株、*N. gonorrhoeae* (non-penicillinase producing *N. gonorrhoeae* ; non-PPNG) 40株、*N. gonorrhoeae* (PPNG) 33株および*B. fragilis* 23株に対する10⁶ CFU/ml接種

時のCFPM、CAZおよびCPZの抗菌力のMICの範囲、MIC₅₀およびMIC₉₀をTable 1に示した。

S. aureus (β -lactamase non-producing MSSA)に対し、CFPMの抗菌力(MIC₉₀ : 3.13 μ g/ml)はCPZと同等であり、CAZより明らかに強かった。 β -lactamaseを産生する*S. aureus* (MSSA) 11株に対するCFPMの抗菌力はCAZおよびCPZより強かった。しかし*S. aureus* (MRSA) (methicillin; DMPPCおよびcefazolin; CEZに対するMIC値12.5 μ g/ml以上)の菌株に対しては、3剤とも抗菌力は弱かった。

Coagulase (-) staphylococciに対して、CFPMのMIC₉₀は1.56 μ g/mlでありCAZおよびCPZより強い抗菌力を示した。

*S. pyogenes*に対し、CFPMの抗菌力(MIC₉₀ : 0.10 μ g/ml)はCAZおよびCPZより強かった。

*S. pneumoniae*に対し、CFPMとCPZのMIC₉₀はともに0.10 μ g/mlであり、CAZより小さい値であった。

E. faecalis、*E. faecium*、*E. avium*、および*C. difficile*に対しては、3剤とも抗菌力は弱かった。

E. coli、*K. pneumoniae*、*K. oxytoca*、*P. rettgeri*、*M. morganii*、および*P. stuartii*に対し、CFPMのMIC₉₀値は0.05~0.78 μ g/mlであり、CAZおよびCPZより明らかに強い抗菌力を示した。

*P. mirabilis*および*P. vulgaris*に対するCFPMの抗菌力(MIC₉₀ : 0.10~0.20 μ g/ml)はCAZと同等であり、CPZより強かった。

*E. cloacae*に対してCFPMは6.25 μ g/mlの濃度においてすべての菌の成育を阻止し、そのMIC₉₀値は

Table 2. Stability of cefepime against β -lactamases

β -lactamase type(origin)	Relative hydrolysis rate			
	Cefepime	Ceftazidime	Cefuroxime	Cefuzonam
Penicillinase ^a				
Type Ia (<i>C. freundii</i> GN 346)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
Type Ib (<i>E. coli</i> 35)	<0.1	<0.1	<0.4	<0.1
Type II (<i>P. mirabilis</i> GN 79)	<0.1	<0.2	<0.6	<0.2
Type IIIa (<i>E. coli</i> ML 1410, RGN 823)	<0.1	<0.1	<0.5	0.4
Cephalosporinase ^b				
CXase (<i>P. vulgaris</i> 9)	<0.1	<3.4	132	<3.4

Determined by the spectrophotometric method at 30°C, pH 7.0

^a Benzylpenicillin hydrolysis rate=100

^b Cephaloridine hydrolysis rate=100

Table 3. Protective effect of cefepime in experimental infection in mice

Organism*	Challenge dose (CFU/mouse) [× MLD]**	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$) ***	ED ₅₀ (mg/mouse) (95% confidence limits)
<i>S. aureus</i> Smith	1.5×10^6 [15 MLD]	Cefepime	3.13	0.08 (0.05–0.12)
		Ceftazidime	6.25	0.25 (0.16–0.38)
		Cefoperazone	3.13	0.20 (0.13–0.30)
<i>E. coli</i> C-11	4×10^5 [4 MLD]	Cefepime	≤0.013	0.005 (0.001–0.007)
		Ceftazidime	0.10	0.014 (0.013–0.015)
		Cefoperazone	≤0.013	0.055 (0.051–0.060)
<i>K. pneumoniae</i> 3K-25	1×10^4 [10 MLD]	Cefepime	0.20	0.496 (0.394–0.625)
		Ceftazidime	0.39	0.787 (0.625–0.992)
		Cefoperazone	0.78	10.0 (8.564–11.677)
<i>S. marcescens</i> No. 2	1×10^6 [12.7 MLD]	Cefepime	0.78	0.393 (0.232–0.666)
		Ceftazidime	0.05	0.01 (0.008–0.011)
		Cefoperazone	6.25	2.50 (2.141–2.919)
<i>P. aeruginosa</i> TMS 13	1.5×10^5 [3.8 MLD]	Cefepime	1.56	3.15 (2.50–3.97)
		Ceftazidime	1.56	6.30 (4.70–8.44)
		Cefoperazone	3.13	>10.0

* 5% mucin added

** MLD : minimal lethal dose

*** Inoculum size : 10^6 CFU/mlED₅₀ : van der Waerden methodMouse : ICR, 4-weeks old, male, 19 ± 1 g, 6 animals/group

Challenge : i.p.

Therapy : s.c., 1h after infection

Table 4. Protective effect of cefepime in experimental infection with different type of β -lactamase producing bacteria

Organism*	Challenge dose (CFU/mouse) [× MLD]**	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$) ****	ED ₅₀ (mg/mouse) (95% confidence limits)
<i>M. morganii</i> GN 125 [I a]***	1×10^8 [2 MLD]	Cefepime	0.20	5.0 (3.445–7.257)
		Ceftazidime	6.25	7.937 (6.30–10.0)
		Cefoperazone	6.25	7.937 (6.30–10.0)
<i>E. coli</i> 35 [I b]***	5×10^7 [2.5 MLD]	Cefepime	0.10	0.496 (0.279–0.881)
		Ceftazidime	1.56	0.496 (0.248–0.991)
		Cefoperazone	0.20	0.313 (0.147–0.665)
<i>P. vulgaris</i> GN 76 [I c]***	1×10^8 [5 MLD]	Cefepime	0.39	5.0 (3.445–7.257)
		Ceftazidime	0.05	0.992 (0.446–2.210)
		Cefoperazone	0.39	>20
<i>E. coli</i> ML 1410. RGN 823 [III]***	2.5×10^8 [4 MLD]	Cefepime	0.20	1.57 (1.14–2.18)
		Ceftazidime	0.78	0.99 (0.74–1.33)
		Cefoperazone	12.5	15.87
<i>K. pneumoniae</i> GN 69 [IV]***	3×10^9 [1 MLD]	Cefepime	0.39	5.0 (3.445–7.257)
		Ceftazidime	0.39	20
		Cefoperazone	3.13	>20
<i>P. vulgaris</i> 9 [V]***	8×10^7 [2 MLD]	Cefepime	0.78	5.0 (3.667–6.817)
		Ceftazidime	6.25	6.3 (4.703–8.437)
		Cefoperazone	25	>20

* 5% mucin added

** MLD : minimal lethal dose

*** Richmond type

**** Inoculum size : 10^6 CFU/mlED₅₀ : van der Waerden methodMouse : ICR, 4-weeks old, male, 19 ± 1 g, 6 animals/group

Challenge : i.p.

Therapy : s.c., 1h after infection

CFPM : 3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$, CAZ : 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ および CPZ : >100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と対照薬剤に比べ明らかに強い抗菌力を示した。

*S. marcescens*に対するCFPMの抗菌力 (MIC₉₀ : 0.78 $\mu\text{g}/\text{ml}$) はCAZと同等であり, CPZより明らかに強かった。

*P. aeruginosa*に対してCFPMのMIC₉₀値は12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり, 本剤の抗菌力はCAZより若干弱かったがCPZより明らかに強かった。

*A. calcoaceticus*に対してCFPMのMIC₉₀はCAZと同等であり, CPZより強かった。

*H. influenzae*および*B. pertussis*に対するCFPMのMIC₉₀はそれぞれ0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と≤0.013 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を示し, 本剤の抗菌力はCPZと同等であり, CAZより強かった。

N. gonorrhoeae (non-PPNGおよびPPNG)に対するCFPMのMIC₉₀は≤0.013 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり, CAZと同等の強い抗菌力を示した。これに比べCPZのPPNGに対する抗菌力は若干弱かった。

*B. fragilis*に対しては3剤とも弱い抗菌力を示した。

2. β -lactamaseに対する安定性

Table 2に示したようにRichmond分類のIa, Ib, II, IIIaおよびCXaseの粗酵素液に対して, CFPMはほとんど分解されず強い安定性を示した。

3. マウスの各種感染モデルにおける感染防御効果

1) 単独菌全身感染

S. aureus, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa*を感染菌とした場合の成績をTable 3に示した。

S. aureus Smith株感染ではCFPMのED₅₀値は0.08 mg/mouseであり, CAZ (0.25 mg/mouse), CPZ (0.20 mg/mouse)より優れた治療効果を示した。

E. coli C-11株感染においてもCFPMは他の2剤に比べ優れた治療効果を示した。

K. pneumoniae 3K-25株感染に対してはCFPMのED₅₀値は0.496 mg/mouseとなり, CAZ (0.787 mg/mouse)およびCPZ (10.0 mg/mouse)より小さい値であった。

S. marcescens No. 2株感染ではCFPMのED₅₀値は0.393 mg/mouse, CAZは0.01 mg/mouseおよびCPZは2.50 mg/mouseでCAZがもっとも良好な治療効果を示し, それぞれのMIC値を良く反映した結果となった。

P. aeruginosa TMS 13株では, CFPMのED₅₀値は, 3.15 mg/mouseであり, CAZおよびCPZより小さい値であった。

次に β -lactamase産生菌を感染菌とした場合の成績をTable 4に示した。

Table 5. Protective effect of cefepime in experimental infection in neutropenic mice with *Escherichia coli*

Organism*	Challenge dose (CFU/mouse) [\times MLD]**	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)***	ED ₅₀ (mg/mouse) (95% confidence limits)
<i>E. coli</i> C-11	1 \times 10 ⁵ [100 MLD]	Cefepime	≤0.013	0.04 (0.03–0.06)
		Ceftazidime	0.1	0.12 (0.07–0.21)
		Cefoperazone	≤0.013	0.15 (0.10–0.24)

* 5% mucin added

** MLD : minimal lethal dose

***Inoculum size : 10⁶CFU/ml

Mouse : ICR, 4-weeks old, male, 19±1 g, 6 animals/group

Neutropenic mouse : cyclophosphamide, 250 mg/kg, i.p., 4 days before challenge

Challenge : i.p.

Therapy : s.c., 1h after infection

Table 6. Protective effect of cefepime in a mixed infection with *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* in mice

Organism*	Challenge dose (CFU/mouse) [\times MLD]**	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)***	ED ₅₀ (mg/mouse) (95% confidence limits)
<i>E. coli</i> C-11 + <i>P. aeruginosa</i> TMS 13	2.1 \times 10 ⁵ [2.1 MLD]	Cefepime	≤0.013/1.56	0.99 (0.55–1.78)
	2.8 \times 10 ³ [0.07 MLD]	Ceftazidime	0.1/1.56	1.57 (1.04–2.38)
		Cefoperazone	≤0.013/3.13	6.30 (4.70–8.44)

* 5% mucin added

** MLD : minimal lethal dose

*** Inoculum size : 10⁶CFU/ml,

E. coli/P. aeruginosa

ED₅₀ : van der Waerden method

Mouse : ICR, 4-weeks old, male, 19±1 g, 6 animals/group

Challenge : i.p.

Therapy : s.c., 1h after infection

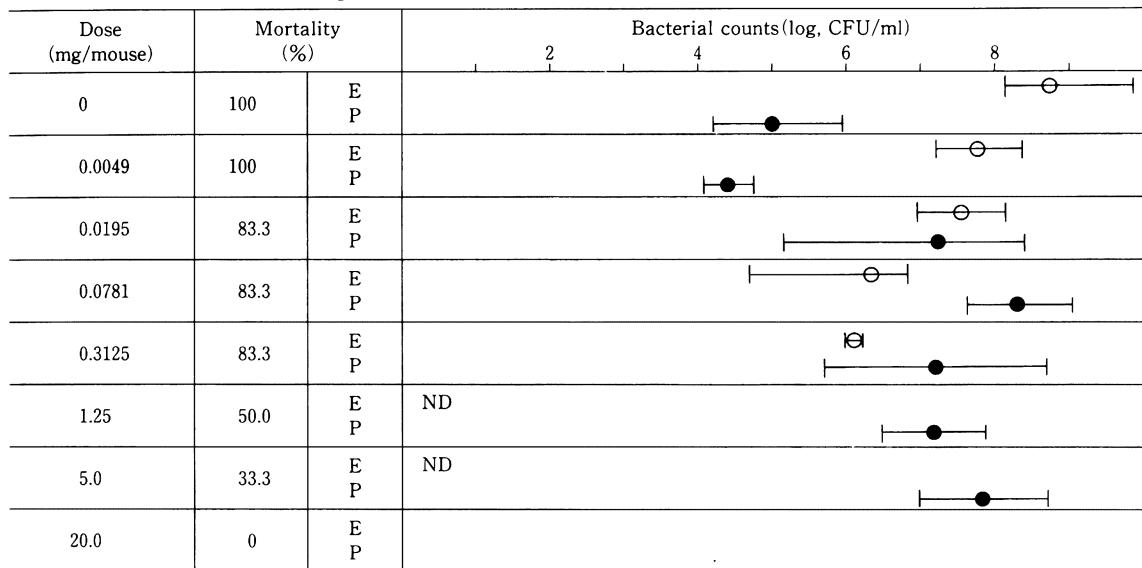
M. morganii GN 125 株を用いた場合 CFPM の ED₅₀ 値 (5.0 mg/mouse) は CAZ および CPZ より小さい値であった。

E. coli 35 株での結果は 3 剂ともほぼ同等の治療効

果を示した。

P. vulgaris GN 76 株を用いた場合、CFPM の治療効果 (ED₅₀ : 5.0 mg/mouse) は CAZ よりは低いが、CPZ より優れていた。

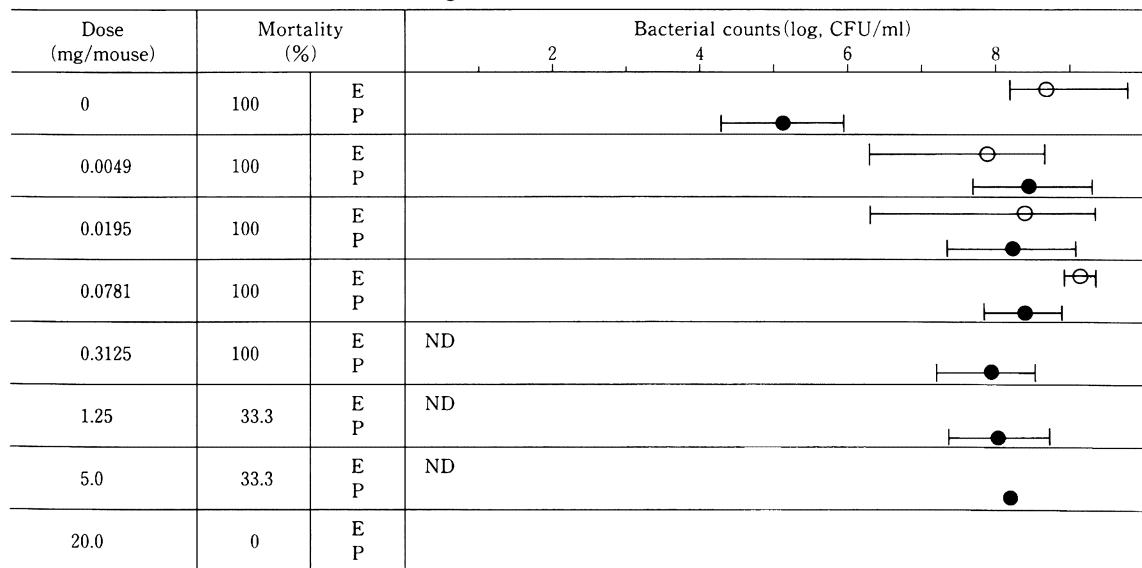
Table 7. Bacterial counts from blood of dead animals and mortality of cefepime treated mice mixedly infected with *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*



Administration route : s.c. E : *E. coli*

ND : not detected P : *P. aeruginosa*

Table 8. Bacterial counts from blood of dead animals and mortality of ceftazidime treated mice mixedly infected with *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*



Administration route : s.c. E : *E. coli*

ND : not detected P : *P. aeruginosa*

E. coli ML 1410, RGN 823 株に対する治療効果は CFPM および CAZ とほぼ同等で, CPZ より優れていた。

K. pneumoniae GN 69 株に対する CFPM の ED₅₀ 値は 5.0 mg/mouse であり, 対照薬剤に比べ明らかに優れた治療効果を示した。

P. vulgaris 9 株に対して CFPM の ED₅₀ 値は 5.0 mg/mouse であり, 他の 2 剤より優れた治療効果を示した。

2) 白血球減少症マウスにおける感染

E. coli C-11 株を感染菌とした成績を Table 5 に示した。CFPM の ED₅₀ 値は 0.04 mg/mouse であり, CAZ および CPZ より優れた治療効果を示した。

3) 複数菌全身感染

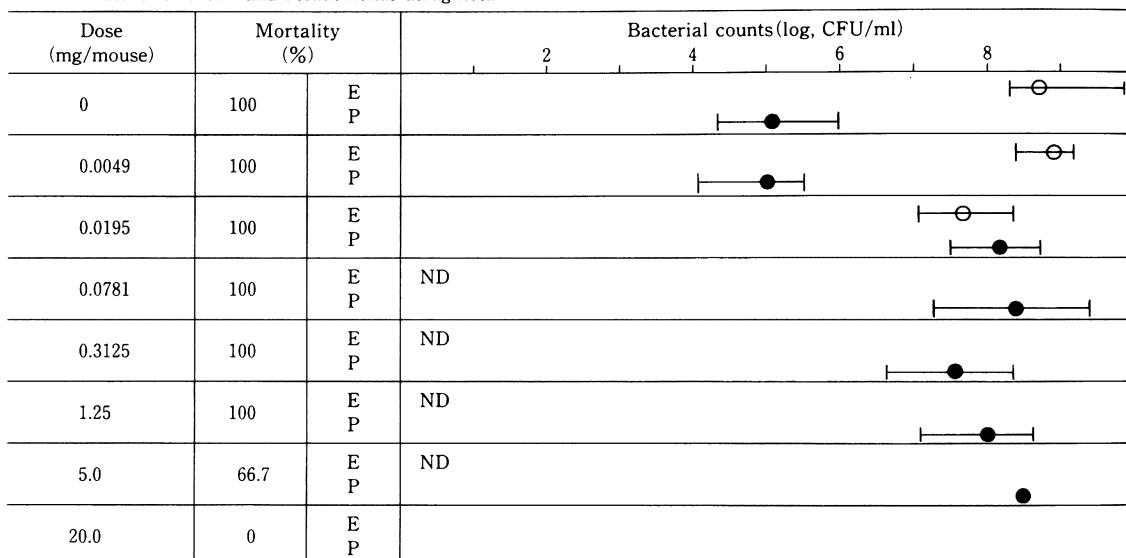
E. coli C-11 株 2.1 MLD (minimal lethal dose) 菌量と *P. aeruginosa* TMS 13 株 0.07 MLD の菌量を混合感染させた場合の成績を Tables 6~9 に示した。

CFPM の ED₅₀ 値は, 0.99 mg/mouse であり, CAZ の 1.57 mg/mouse および CPZ の 6.30 mg/mouse より小さい値を示した。

これらの *E. coli* および *P. aeruginosa* の複数菌感染モデルにおいてコントロール群の死亡マウスの血中から *E. coli* は 10⁸ CFU/ml 以上, また *P. aeruginosa* は 10⁴~10⁶ CFU/ml が検出された。

CFPM 投与群において 0.0049 mg/mouse 以下の投与群は全てのマウスが死亡した。投与量を増すに従つ

Table 9. Bacterial counts from blood of dead animals and mortality of cefoperazone treated mice mixedly infected with *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*



Administration route : s.c. E : *E. coli*
ND : not detected P : *P. aeruginosa*

Table 10. Protective effect of cefepime in a mixed infection with *Escherichia coli* and *Bacteroides fragilis* in mice

Organism*	Challenge dose (CFU/mouse) [MLD]**	Antibiotic	MIC (μ g/ml)***	ED ₅₀ (mg/mouse) (95% confidence limits)
<i>E. coli</i> C-11	1×10^7 [100 MLD]	Cefepime	$\leq 0.013 / > 100$	0.02 (0.02~0.04)
+ <i>B. fragilis</i> GM 7004	3×10^7 [0.006 MLD]	Ceftazidime	0.10 / > 100	0.25 (0.16~0.38)
		Cefoperazone	$\leq 0.013 / > 100$	0.20 (0.13~0.31)

* 5% mucin added

** MLD : minimal lethal dose

*** Inoculum size : 10⁶CFU/ml,

E. coli/B. fragilis

ED₅₀ : van der Waerden method

Mouse : ICR, 4-weeks old, male, 19±1 g, 6 animals/group

Challenge : i.p.

Therapy : s.c., 1h after infection

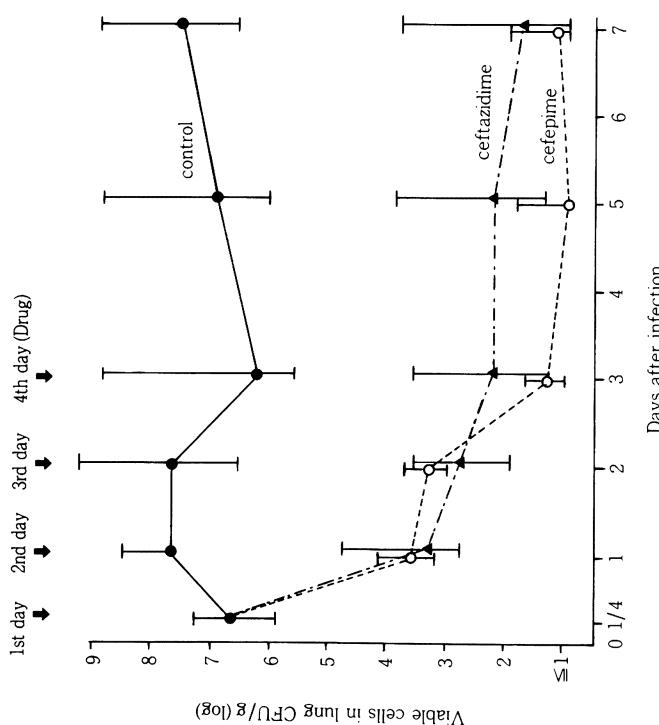


Fig. 2. Therapeutic effects of cefepime and ceftazidime in respiratory tract infection with *Klebsiella pneumoniae* 3K-25 in mice

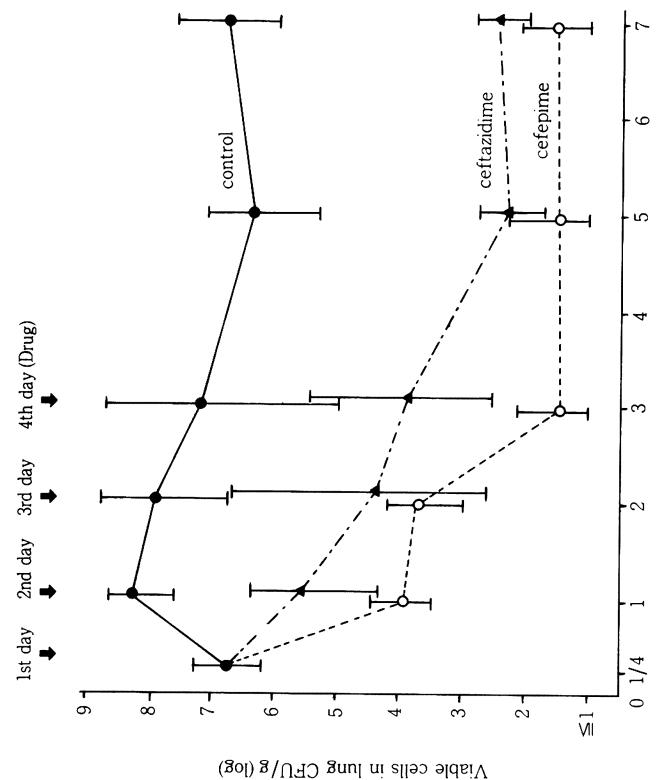
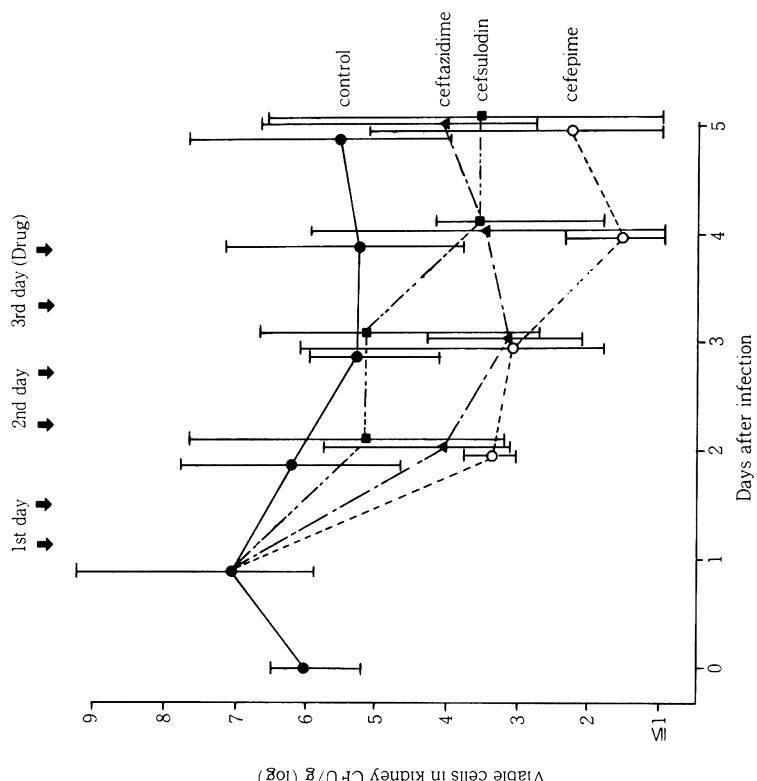
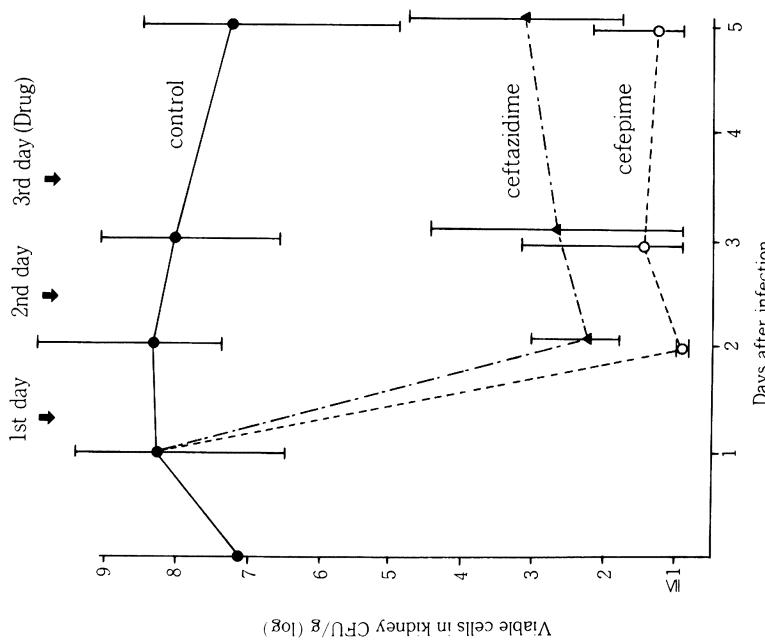


Fig. 3. Therapeutic effects of cefepime and ceftazidime in respiratory tract infection with *Streptococcus pneumoniae* Type III in neutropenic mice



Organism : *P. aeruginosa* KU-1
Mouse : ICR, 4 weeks old, female, 19 ± 1 g, 6 animals/group
Challenge dose : transurethral inoculation ($50\mu\text{l}$: 2×10^6 CFU/mouse)
Therapy : s.c., twice a day for 3 days, each 2 mg/mouse
MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$, 10^6 CFU/ml) : ceftazidime/cefsulodin (1.56/1.56/3.13)
— : The data represents the range of each value of 6 animals

Fig. 5. Therapeutic effects of cefepime, ceftazidime and cefsulodin in ascending urinary tract infection with *Pseudomonas aeruginosa* KU-1 in mice



Organism : *E. coli* KU-3
Mouse : ICR, 4 weeks old, female, 19 ± 1 g, 6 animals/group
Challenge dose : transurethral inoculation ($50\mu\text{l}$: 1.2×10^7 CFU/mouse)
Therapy : s.c., once a day for 3 days, each 1 mg/mouse
MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$, 10^6 CFU/ml) : cefepime/ceftazidime (0.025/0.025)
— : The data represents the range of each value of 6 animals

Fig. 4. Therapeutic effects of cefepime and ceftazidime in ascending urinary tract infection with *Escherichia coli* KU-3 in mice

て、死亡マウスの血中検出菌数は *E. coli* が減少し、*P. aeruginosa* は増加した。1.25~5.0 mg/mouse 投与群では *E. coli* は検出されなくなり、*P. aeruginosa* のみが検出された。

CAZ 投与群および CPZ 投与群でも CFPM 投与群同様、投与薬剤量を増すに従い血中から *P. aeruginosa* の検出菌数が多くなり CAZ 投与群では 0.3125 mg/mouse, CPZ 投与群では 0.0195 mg/mouse 以上の投与群における死亡マウスからは *P. aeruginosa* のみが検出された。

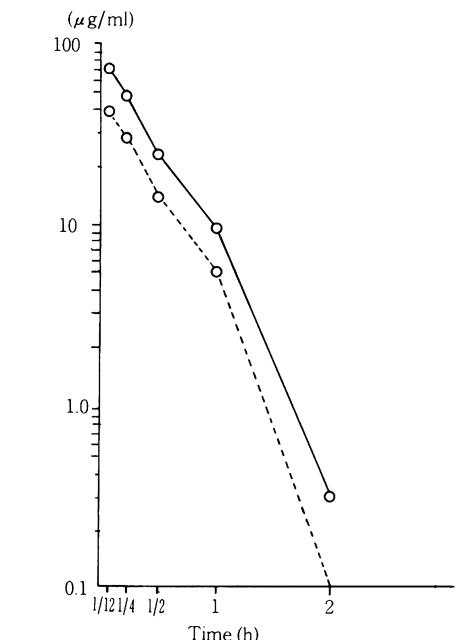
以上の成績から混合感染では抗菌力の弱い菌種が投与量によって菌交代を生じることが確認された。

E. coli C-11 株 100 MLD 菌量と、*B. fragilis* GM 7004 0.006 MLD の菌量を混合感染させた場合の成績を Table 10 に示した。

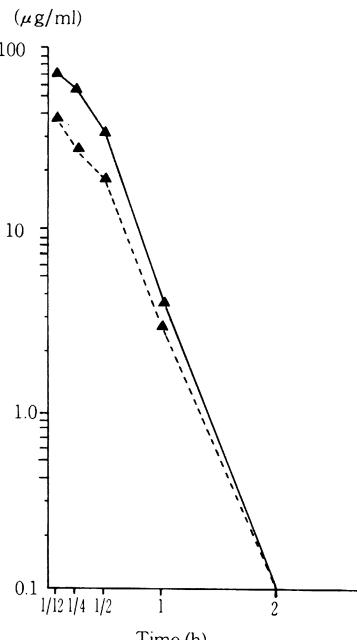
CFPM の ED₅₀ 値は 0.02 mg/mouse であり、CAZ の 1/12.5 および CPZ の 1/10 と小さい値を示した。

4) 呼吸器感染

K. pneumoniae 3K-25 株による呼吸器感染症マウスに対する CFPM および CAZ の治療成績を Fig. 2 に示した。



Mouse : ICR, 4 weeks old, male, 19±1g.
6 animals/group
Administration : s.c.
—○— : cefepime, 1mg/mouse
---○--- : cefepime, 0.5mg/mouse



Mouse : ICR, 4 weeks old, male, 19±1g.
6 animals/group
Administration : s.c.
—▲— : ceftazidime, 1mg/mouse
---▲--- : ceftazidime, 0.5mg/mouse

Fig. 6. Serum levels of cefepime and ceftazidime in mice

抗菌薬非投与マウスの肺内生菌数は感染時から感染 7 日後まで 10^6 ~ 10^7 CFU/g で推移した。CFPM および CAZ の両抗菌薬投与マウスにおいて投与翌日には肺内菌数が 1/1000 以下に減少し、感染 7 日後(投与中止 4 日後) CFPM および CAZ 投与群とも平均 10 CFU/g の生菌数となった。

S. pneumoniae Type III による呼吸器感染症マウスに対する CFPM および CAZ の治療成績を Fig. 3 に示した。

抗菌薬非投与マウスの肺内生菌数は感染時から感染 7 日まで 10^6 ~ 10^8 CFU/g で推移した。CFPM 投与群マウスは投与翌日には肺内菌数が 1/100 以下に減少し、CAZ 投与群マウスの肺内生菌数は 1/10 に減少、感染 7 日後(投与中止 4 日後) CFPM 投与群では平均 10 CFU/g, CAZ 投与群では平均 10^2 CFU/g の生菌数となつた。

5) 上行性尿路感染

E. coli KU-3 株による尿路感染症マウスに対する CFPM および CAZ の治療成績を Fig. 4 に示した。

抗菌薬非投与マウスの腎内生菌数は 10^7 ~ 10^8 CFU/g で推移した。CFPM 投与群マウスは投与開始翌日

(感染 2 日後)には腎内細菌数は ≤ 10 CFU/g に、CAZ 投与群マウスは平均 10^2 CFU/g に減少し、さらに感染 5 日後 CFPM 投与群では平均 10 CFU/g レベルであったが、CAZ 投与群では平均 10^3 CFU/g と再増殖が認められた。

P. aeruginosa KU-1 株による尿路感染マウスに対する CFPM, CAZ および cefsulodin (CFS) の治療成績を Fig. 5 に示した。

抗菌薬非投与マウスの腎内生菌数は $10^5 \sim 10^7$ CFU/g と推移した。CFPM 投与群マウスは投与開始翌日(感染 2 日後)には腎内生菌数は平均 10^3 CFU/g, CAZ 投与群は平均 10^4 CFU/g レベルまた、CFS 投与群は 10^5 CFU/g レベルまで減少し、感染 5 日後 CFPM 投与群は平均 10^2 CFU/g, CAZ 投与群は平均 10^4 CFU/g と再増殖が認められ、CFS 投与群は平均 10^3 CFU/g の生菌数となった。

4. マウス血清、腎および肺内濃度

1) 血清中濃度

CFPM および CAZ をそれぞれ 0.5 mg/mouse, 1 mg/mouse を皮下投与した時のマウス血清中濃度の

成績を Fig. 6 に示した。いずれの投与量においても CFPM および CAZ の最高濃度は投与後 5 分であり、CFPM の方が高い血清中濃度を示し、CFPM および CAZ とも同様の血清中濃度推移パターンを示した。

2) 腎濃度

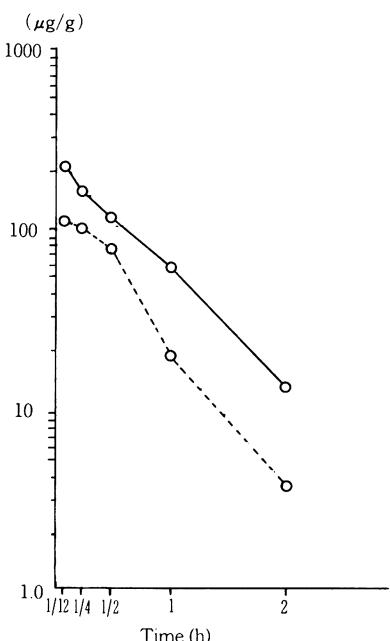
マウスに CFPM および CAZ を 0.5 mg/mouse, 1 mg/mouse を皮下投与した場合の腎濃度の成績を Fig. 7 に示した。いずれの投与量とも CFPM および CAZ の腎内濃度の最高値は投与後 5 分であり、CAZ の方が高い値を示したが濃度推移は両薬剤とも同様の濃度推移パターンであった。

3) 肺内濃度

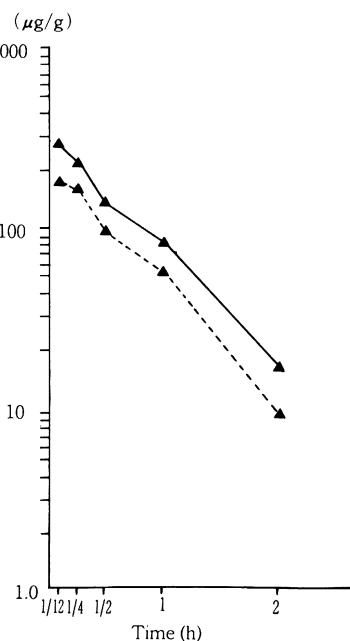
上記の実験成績を Fig. 8 に示した。0.5 mg/mouse および 1 mg/mouse の投与量で、CFPM および CAZ の肺内濃度のピーク値は投与後 15 分であり、CAZ の方が高い値を示し、CFPM と CAZ の濃度および濃度推移パターンは類似していた。

III. 考 察

注射用セフェム剤として開発された CFPM はその化学構造上、7 位側鎖に α -methoxyimino-aminothi-



Mouse : ICR, 4 - weeks old, male, 19 ± 1 g,
6 animals/group
Administration : s.c.
—○— : cefepime, 1mg/mouse
---○--- : cefepime, 0.5mg/mouse



Mouse : ICR, 4 - weeks old, male, 19 ± 1 g,
6 animals/group
Administration : s.c.
—▲— : ceftazidime, 1mg/mouse
---▲--- : ceftazidime, 0.5mg/mouse

Fig. 7. Kidney levels of cefepime and ceftazidime in mice

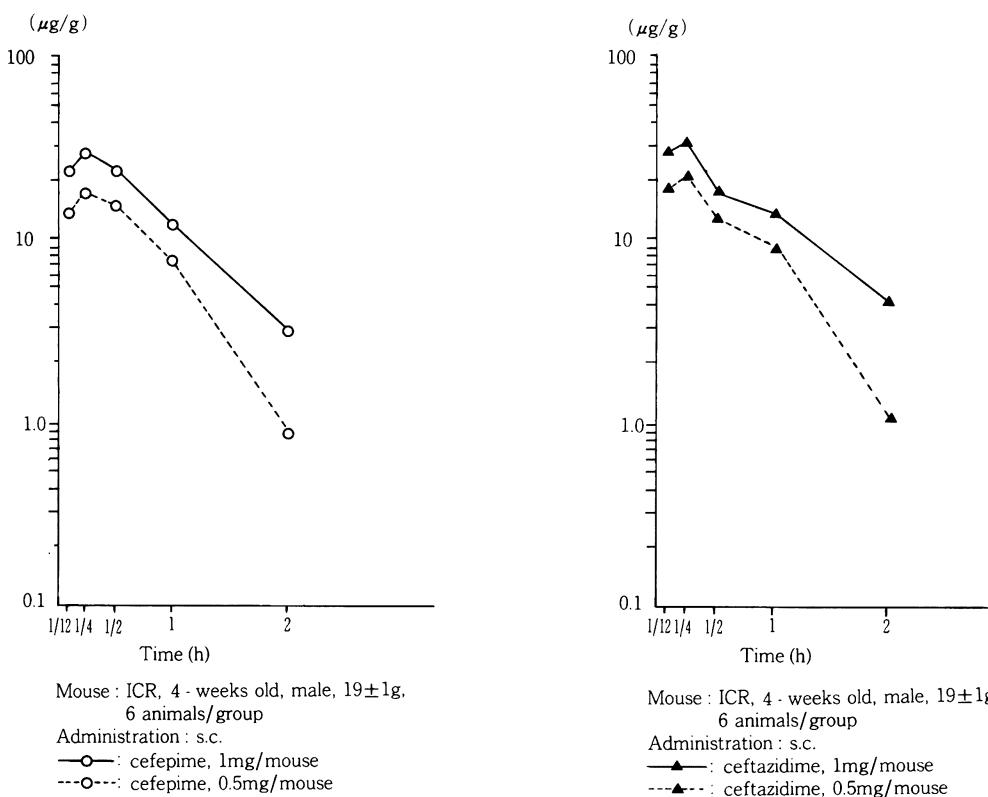


Fig. 8. Lung levels of cefepime and ceftazidime in mice

azole 基を導入したことにより、*S. aureus* を含むグラム陽性菌およびグラム陰性桿菌に対する抗菌活性が増強され、また 3 位側鎖の N-methylpyrrololidinium 基、2 位の carboxyl 基との間で分子内塩をつくるベタイン構造により *P. aeruginosa* を含むグラム陰性菌の外膜透過性を向上させることにより、強い抗菌力を示すと報告されているが、本研究により *in vitro* および *in vivo* の成績から本剤の抗菌力の特徴が確認された。また各種の β -lactamase に対しても安定性が高く、一部の菌種を除く多くの菌種において *in vitro* および *in vivo* で強い抗菌力を示した。

マウス全身感染および局所感染治療実験においては *in vitro* 抗菌力および血清中、腎および肺内濃度を反映して CFPM は良好な成績が得られているが、MRSA や *Proteus* 属の一部の菌種に対する抗菌力は他剤同様、弱いことがうかがわれた。また感染防御能の低下した compromised host を想定した白血球減少症マウスにおける感染モデルおよび複数菌感染症を考慮したマウス複数菌感染モデルにおいて、本剤の治療効果は CAZ および CPZ より優れていた。これらの成

績から、ヒトにおける組織内移行が良好であれば本剤は注射用セフェム抗生物質として各種感染症の治療に対する有用性が期待できよう。

文献

- Naito T, Aburaki S, Kamachi H, Narita Y, Okumura J, Kawaguchi H : Synthesis and structure-activity relationships of a new series of cephalosporins, BMY-28142 and related compounds. *J Antibiot* 39 : 1092~1107, 1986
- 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
- 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
- 日本化学会療法学会：最小発育阻止濃度（MIC）測定法再改訂について。*Chemotherapy* 29 : 76~79, 1981

- 5) 日本化学療法学会：嫌気性菌の最小発育阻止濃度(MIC)測定法。Chemotherapy 27 : 559~560, 1979
- 6) Waley S G : A spectrophotometric assay of β -lactamase action on penicillins. Biochem J 139 : 789~790, 1974
- 7) 川崎賢二, 関口金雄, 小川正俊, 辻明良, 五島瑳智子: Opportunistic Pathogenと宿主防衛機能の関連について、実験的白血球減少マウスにおける各種の易感染化と抗菌薬の治療効果について。Chemotherapy 28 : 14~21, 1980

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CEFEPIME, A NEW PARENTERAL CEPHALOSPORIN

Chieko Jin, Shuichi Miyazaki, Yasuko Kaneko,
Akiyoshi Tsuji, Sachiko Goto

Department of Microbiology, School of Medicine, Toho University,
5-21-16 Omori-nishi, Ota-ku, Tokyo 143, Japan

Cefepime (CFPM, BMY-28142) is a newly developed parenteral cepham antibiotic. The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of CFPM was evaluated and compared with ceftazidime (CAZ), cefoperazone (CPZ), cefuroxime (CXM), cefuzonam (CZON) and cefsulodin (CFS). The *in vitro* antibacterial activity of CFPM against *Staphylococcus aureus* (methicillin-sensitive *S. aureus*: MSSA), coagulase negative staphylococci, and *Streptococcus pyogenes* was more active than CAZ. Its activity against *Streptococcus pneumoniae* was comparable to that of CAZ. Enterococci and *Clostridium difficile* were more resistant to the cephalosporins tested. CFPM was more active than CAZ and CPZ against family Enterobacteriaceae. CFPM was equivalent to CAZ against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter calcoaceticus*. Against *Haemophilus influenzae* and *Bordetella pertussis*, CFPM was comparable to CPZ but more active than CAZ. The cephalosporins tested were very potent against *Neisseria gonorrhoeae* (non-PPNG and PPNG). CFPM had excellent activity against a broad spectrum of clinical important pathogens, including staphylococci and streptococci to a wide variety of opportunistic Gram-negative rods. CFPM was stable to Richmond types and cefuroximase in β -lactamase. In systemic infections with *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *P. aeruginosa*. CFPM was more effective than CAZ and CPZ. Against *Serratia marcescens*, CFPM was more active than CPZ but inferior to CAZ. In respiratory tract infection with *K. pneumoniae* in normal mice, the therapeutic effect of CFPM was more effective than that of CAZ. In the case of respiratory tract infection with *S. pneumoniae* in neutropenic mice, the therapeutic effect of CFPM was more effective than that of CAZ. In urinary tract infection with *E. coli*, the therapeutic effect of CFPM was more effective than CAZ. In the case of urinary tract infection with *P. aeruginosa*, CFPM was more effective than CAZ and CFS. Serum, lung tissue and kidney tissue levels of CFPM showed similar pharmacokinetic patterns in CAZ. These findings suggest that CFPM is clinically useful as a parenteral cephalosporin antibacterial agent.