

## Cefclidinの熱傷創組織移行と熱傷創感染に対する実験的・臨床的検討

相川直樹, 田熊清継, 篠澤洋太郎, 佐々木淳一, 堀 進悟\*, 石引久弥  
慶應義塾大学 救急部・外科\*

佐藤 勝, 八谷 滋  
エーザイ株式会社

注射用セフェム系薬剤としてエーザイ(株)で新しく開発されたcefclidin(CFCL)の熱傷創組織移行と熱傷創感染に対し, 実験的, 臨床的に検討した。

実験的検討: ラット背部に作製したⅢ度熱傷創に*Pseudomonas aeruginosa* ( $10^6$ cfu/cm<sup>2</sup>)を接種しCFCL全身投与群(50mg/kg), 非投与群間で菌の消長を比較した。その結果, 投与群では8創中7創で除菌され, 非投与群では10創中1創に菌の消失が認められた。さらに, 焼痂と正常皮膚組織へのCFCLの移行濃度を経時的に比較検討した。正常皮膚組織内の薬剤の濃度は, 血清中濃度と同様に速やかに漸減したが, 焼痂中の濃度は投与後15分で $49.9 \pm 2.1 \mu\text{g/g}$ , 4時間後, 6時間後で $25.6 \pm 5.4 \mu\text{g/g}$ ,  $9.0 \pm 2.0 \mu\text{g/g}$ であり 12時間後でも $2.26 \pm 0.52 \mu\text{g/g}$ の値を示し, CFCLは焼痂中に長時間にわたり高濃度に移行することが認められた。

臨床的検討: 5例の熱傷創感染症患者(熱湯熱傷2例, 火炎熱傷2例, 電撃傷1例)にCFCLを1g~2g, 1日2回, 5~7日間投与し臨床効果, 細菌学的効果を検討した。臨床効果は, 5例中有効3例, やや有効1例, 判定不能1例であった。細菌学的効果は, 菌消失3例, 不変1例, 不明1例であった。副作用は認められなかったが, 臨床検査値は2例にGPTのわずかな上昇が認められた。

**Key words:** 焼痂, 熱傷創感染, 組織移行, Ⅲ度熱傷, 抗菌薬全身投与, 臨床検討, Cefclidin

## I. 緒 言

3位および7位側鎖に各々4-carbamoyl-quinuclidine基および5-amino-1,2,4-thiadiazolylmethoxyimino基を有する新しい注射用セフェム系薬剤であるcefclidin(CFCL)は, グラム陽性菌およびグラム陰性菌に対し広範囲な抗菌スペクトラムを有し, 殺菌的に作用する。特にグラム陰性菌のうちブドウ糖非醗酵菌である*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter calcoaceticus*や第3世代セフェムに高度耐性を示す*Enterobacter*および*Citrobacter*に対してceftazidime(CAZ)に比し, より強い抗菌活性を*in vitro*で示すことが特徴とされている<sup>1,2)</sup>。本剤はまた各種細菌産生の $\beta$ -lactamaseに対し安定で血清蛋白結合率が極めて小さく, 優れた生体内活性が期待できる<sup>3)</sup>。

われわれは今回CFCLの熱傷創における感染予防効果と体内動態を実験的に検討し, また熱傷創感染症に使用し, その臨床効果と安全性について検討したので

報告する。

## II. 対象および方法

## 1. 実験的検討

## 1) 感染予防効果の検討

実験動物にはWistar系ラット(8週齢, 雄; 体重260~290g)を用い, ペントバルビタール麻酔下に背部の皮膚を脱毛し, 有窓(1×1cmの正方形)プラスチック板を介して熱湯(95~100℃)を皮膚に10秒間作用させ, 背部両側に左右対称的な1cm<sup>2</sup>Ⅲ度熱傷創を2ヵ所作製した(Fig.1, Fig.2)。熱傷作製直後に, *P.aeruginosa* NCTC10490(CFCLのMIC 0.2 $\mu\text{g/ml}$ )を $10^6$ cfu/cm<sup>2</sup>創面に塗布した。創は滅菌ガーゼを用いて被覆した。

動物を本剤非投与群(n=5)と投与群(n=4)に分け, 投与群にはCFCL 50mg/kgを1日2回, 5日間尾静脈内に投与した。初回投与は菌接種1時間とし, 薬剤最終投与24時間後に以下の検討を行った。

i) 創面の肉眼的観察: 熱傷作製後6日目に被覆ガー

Table 1. Preventive effects of cefclidin on *Pseudomonas* infection in burn wounds

Viable cell counts (log <sub>10</sub> cfu/g)					
Cefclidin-treated group a)			Non-treated group (control)		
Rat No.	Wounds		Rat No.	Wounds	
	Right	Left		Right	Left
1	— <sup>b)</sup>	—	5	6.18	5.00
2	—	—	6	6.62	5.38
3	—	—	7	6.20	5.34
4	—	4.20	8	7.28	7.60
			9	—	6.32
Mean±SEM	—		5.59±0.63		
Eradication Rate	7/8 <sup>c)</sup>		1/10 <sup>c)</sup>		

a) Cefclidin (50mg/kg) was intravenously administered bid for 5 days starting at 1 hour following *P. aeruginosa* inoculation.

b) Wounds having less than  $2 \times 10^2$  cfu/g bacteria

c) Statistical significance ( $p < 0.01$ ) with Chi-square test

Table 2. Tissue levels of cefclidin in three layers of eschar

Eschar Layers	Hours after Administration	
	1 hour	4 hours
Surface	33.0±11.0	20.2±0.4
Middle	26.4± 8.0	17.6±1.0
Bottom	20.5± 1.2	11.4±0.6

values are in  $\mu\text{g/g}$  (mean±SEM, n=3)

ゼを除去し創面を肉眼的に観察した。

ii) 創の病理組織所見：熱傷作製6日目の創組織切片のHE染色標本の病理組織学的所見を2名の観察者が、薬剤投与の有無についてブラインドで判定した。

iii) 創組織内生菌数：熱傷創部の全焼痂を採取、ホモジネートし、BTB培地およびNAC培地を用いて24時間培養後コロニー数を測定、熱傷創あたりの菌数とした。

## 2) 組織移行の検討

同様の方法によりIII度熱傷創を7ヵ所作成したラット(n=3)に受傷1時間後にCFCL 50mg/kgを1回静脈内投与し、経時的に尾静脈より採血し、同時に全焼痂を採取、秤量した。検体に生食水を加えホモジネートし、上清中のCFCL濃度を*Escherichia coli* E01174を検定菌としたbioassay法(薄層ディスク法)により測定し、組織1gあたりの濃度として算出した。また非受傷ラット(n=3)においても同じ方法で血中および皮膚組織内の薬剤濃度を測定した。さらに、採取した焼痂をデルマトームを用い三層(表層, 中層, 深層 厚さ0.1mm)に分け同一方法で各層の濃度を測定した(n=3)。

## 2. 臨床的検討

昭和63年6月から12月までの間に慶應義塾大学外科および救急部に入院した熱傷患者のうち創感染を併発した5例を対象とした。対象患者は男性2例、女性3例の

成人でII度～III度、3～61%BSAの熱湯熱傷2例、火炎熱傷2例、電撃熱傷1例であった。

CFCLの投与方法は1回1～2g,1日2回、5～7日間点滴静注した。臨床効果の判定は、当大学外科の外科的感染症に対する抗菌剤投与の効果判定基準に従った。著効、有効、やや有効は、薬剤投与開始後それぞれ3日以内、5日以内、7日以内に感染症に関連する自・他覚症状、所見の1/2以上の消失、著明改善のみられたものとし、無効は薬剤投与開始後7日以内に感染症に関連する自・他覚症状、所見の1/2以上の消失、著明改善のみられなかったものとした。ここで言う症状とは自発痛、腫脹痛、熱感、機能障害などであり、所見とは発赤、腫脹、硬結、排膿、体温上昇、白血球増多、CRP上昇等を指す。なお著明改善については穿刺 切開などのドレナージ処置の有無は考慮しないこととした。

## III. 成 績

### 1. 実験的検討

#### 1) 感染予防効果の検討

i) 創面の肉眼所見：非投与群では、5匹10創部位全てに著しい炎症所見が認められ、黒褐色斑状の組織融解が存在した(Fig. 3a) 投与群では炎症所見は軽度で組織融解は認められなかった(Fig. 3b)。

ii) 創の病理組織所見：非投与群では5匹 10創部位全てに、焼痂内の高度な好中球浸潤を伴う感染所見、

Table 3. Efficacy of cefclidin to burn wound infection

Case No.	Name	Age Sex	Burns		Pretherapy	Cefclidin treatment				Surgical treatment	Isolates	Efficacy		Remarks
			Cause	Degree (BSA %)		doses (g × times)	duration (days)	total doses (g)	route			bacteriological	clinical	
1	F. H.	85 F	Scald	II d + III (61)	Ceftazidime	1 × 2	7	14	d. i. v.	Debridement Skin graft	<i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> ↓ (-)	Eradicated	good	-
2	S. I.	41 F	Flame	II s + II d (9)		1 × 2	6	12	d. i. v.		<i>P. acnes</i> ↓ (-)	Eradicated	good	-
3	M. I.	19 M	Flame	II s + II d (5)		2 × 2	7	26	d. i. v.		<i>β</i> -haemolytic <i>streptococcus</i> <i>S. aureus</i> ↓ (-)	Eradicated	good	GPT 30-34
4	S. M.	72 F	Scald	II d (3)		1 × 2	5	9	d. i. v.		<i>S. epidermidis</i> ↓ <i>S. epidermidis</i>	Persisted	Fair	-
5	Y. S.	40 M	Electrical	II + III (3)		1 × 2	5	10	d. i. v.		(-) ↓ (-)	Unknown	Unevaluated	GPT 19-37

細菌の存在がみられた (Fig. 4a)。一方、投与群では4匹8創部位全てに細菌認めず、炎症細胞浸潤は真皮層に相当する壊死組織内にわずかに認められた (Fig. 4b)。

iii) 創組織内生菌数：非投与群10部位の熱傷創のうち9部位に $10^5$ cfu/g以上の菌が認められた。一方、投与群8部位では1部位に $10^4$ cfu/gの菌を認めたほかは、7部位からは菌は認められなかった ( $P < 0.01$ ) (Table 1)。

## 2. 組織移行の検討

熱傷ラットにおけるCFCLの濃度 (Mean ± SEM) は15分、1時間、4時間、6時間値で血清中 $106.0 \pm 26.4 \mu\text{g/ml}$ 、 $45.4 \pm 6.2 \mu\text{g/ml}$ 、 $2.9 \pm 0.7 \mu\text{g/ml}$ 、 $0.9 \pm 0.2 \mu\text{g/ml}$ 、焼痂内 $49.9 \pm 2.1 \mu\text{g/g}$ 、 $42.8 \pm 5.3 \mu\text{g/g}$ 、 $25.6 \pm 5.4 \mu\text{g/g}$ 、 $9.0 \pm 2.0 \mu\text{g/g}$ であり (Fig. 5)、これに対し正常ラットにおける濃度は同時間で血清中 $133.0 \pm 10.8 \mu\text{g/ml}$ 、 $52.5 \pm 4.6 \mu\text{g/ml}$ 、 $1.3 \pm 0.4 \mu\text{g/ml}$ 、 $0.4 \pm 0.1 \mu\text{g/ml}$ 、皮膚組織内 $77.7 \pm 13.0 \mu\text{g/g}$ 、 $27.9 \pm 0.8 \mu\text{g/g}$ 、 $2.0 \pm 0.3 \mu\text{g/g}$ 、 $1.6 \pm 0.2 \mu\text{g/g}$ であった (Fig. 6)。三層に分割した焼痂内濃度については、表層の1時間値、4時間値はそれぞれ $33.0 \pm 11.0 \mu\text{g/g}$ 、 $20.2 \pm 0.4 \mu\text{g/g}$ で、下層の同時間値 $20.5 \pm 1.2 \mu\text{g/g}$ 、 $11.4 \pm 0.6 \mu\text{g/g}$ に比し高い濃度の薬剤移行が認められた (Table 2)。

## 3. 臨床成績

臨床成績をTable 3に示す。症例1は浴槽の熱湯内に転落し、61% BSA (深度 II d 26% BSA + III 35% BSA) の全身熱傷を負った。39日目には創部より菌が検出されCAZを1日2g、6日間使用したが炎症所見は持続した

ため本剤に変更した。全身症状の改善が見られ、8日後には*P. aeruginosa*と*Staphylococcus aureus*が消失したため有効と判定した。症例2は火災のため顔面、両手指前腕に9% BSA (深度；II s + II d) の火炎熱傷を負った。気道熱傷も合併していたが本剤の投与後4日で*Propionibacterium acnes*の消失、炎症所見の改善がみられ有効と判定した。症例3はスプレー作業中、有機溶媒に引火し受傷した、(5% BSA, II s 1% BSA + II d 4% BSA) の顔面火炎熱傷例であった。本剤投与3日で*β*-haemolytic *Streptococcus*と*S. aureus*の消失と共に炎症症状も改善し有効と判定した。症例4は熱湯による両足蹠部の3% BSA 深度；II dの熱傷例である。本剤投与により局所所見は改善されたが、*Staphylococcus epidermidis*の消失まで至らず、やや有効と判定した。症例5は3300Vの高圧線に触れ、両手指および両足に3% BSA (深度；II 2% BSA + III 1% BSA) の電撃熱傷例である。創部菌検索で菌陰性であり、また感染症の効果判定指標に乏しいため本剤投与を行ったが判定不能とした。

以上のように臨床効果は5例中有効3例、やや有効1例、判定不能1例であった。また細菌学的効果は5例中消失3例、不変1例、不明1例であった。

## IV. 考 察

種々の優れた抗菌薬が全身的、局所的に使用されるようになった今日でも熱傷患者には高率に感染症が発症する。すなわち熱傷による表皮層のバリア機能の破綻と共に、宿主の全身的感染防御能の障害により非損傷組織である呼吸器や尿路に感染症を合併したり、

創感染から急速に進展する敗血症と、これに関連する多臓器不全 (MOF) が原因となり死に到ることも多い<sup>4)</sup>。現在でも熱傷患者の死因の半数以上が感染死となっている<sup>5)</sup>。われわれの扱った熱傷患者の解析では、熱傷範囲の小さい外来患者においては6.8%に感染症が合併したに過ぎないが入院患者では、範囲が20%



Fig. 1. The apparatus having a 1×1cm window

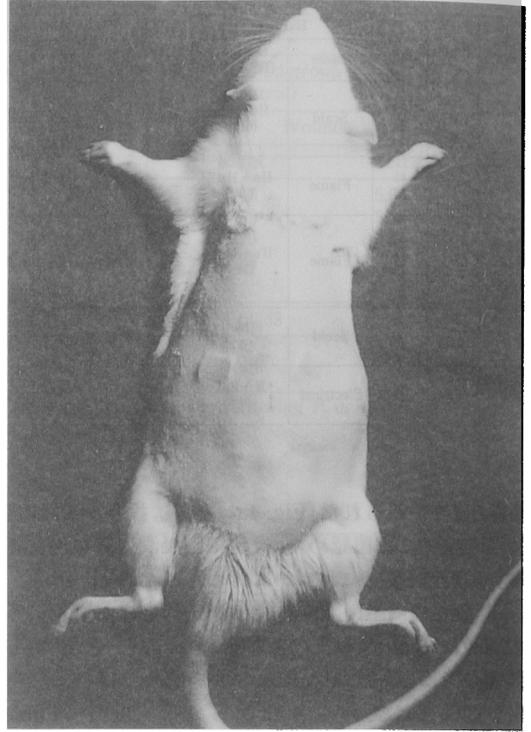


Fig. 2. Rat with 1cm<sup>2</sup> full-thickness scalds



Fig. 3a. Wounds with signs of infection

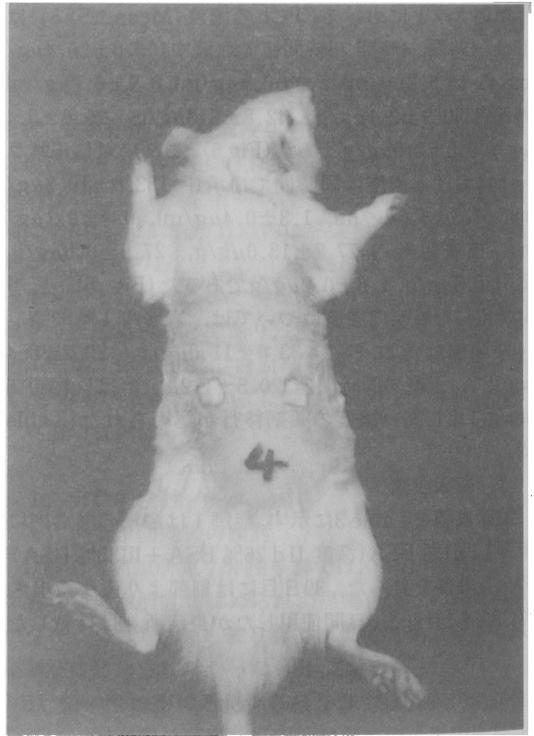


Fig. 3b. Wounds with no sign of infection

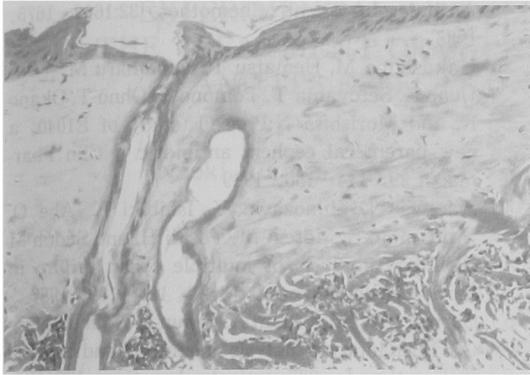


Fig. 4a. Histology with numerous inflammatory cells

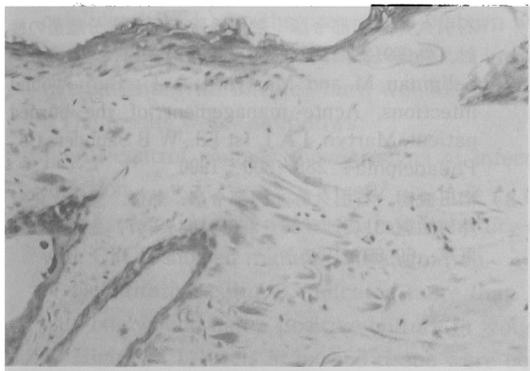


Fig. 4b. Histology with minimal inflammation

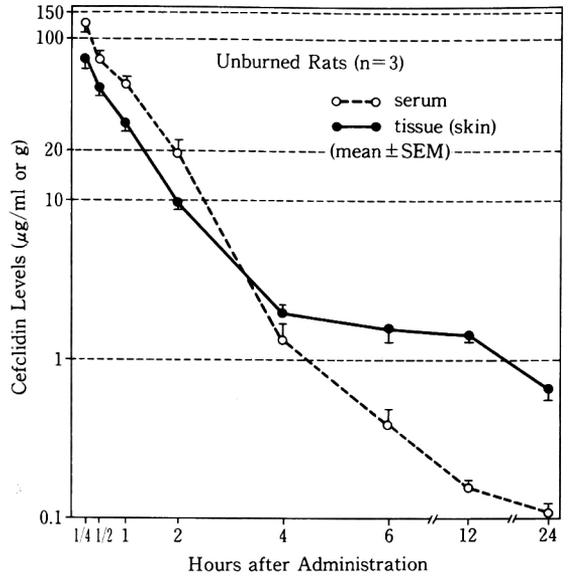


Fig. 6. Serum and tissue levels of cefclidin after intravenous administration (50mg/kg). The assays were performed by an agar plate diffusion technique with *Escherichia coli* E01174.

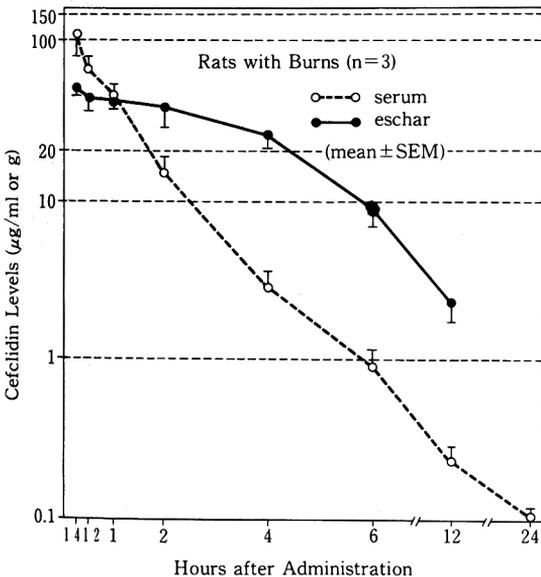


Fig. 5. Serum and eschar levels of cefclidin after intravenous administration (50mg/kg)

BSA以下では19%, 21-40%BSAでは73%, 41-60% BSAでは83%に感染症が合併しており, 受傷範囲の増大とともに感染症が高率に発生している<sup>9)</sup>. 現在, 熱傷創感染の予防, 治療薬として酢酸マフェニドやスルファジジン銀などの抗菌薬を含有する局所療法剤が多用されている. 一方, III度熱傷創の壊死組織では生理的構造が破壊され, 体液循環が遮断されており, III度熱傷創の感染の予防や治療に抗菌薬を全身投与しても薬剤の焼痂移行は不完全のため, 効果がないばかりか菌交代現象や耐性菌の発現の可能性もあると考えられていた<sup>7,8)</sup>.

今回のわれわれの実験では受傷早期に全身的に投与したCFCLは短期間で焼痂すなわち壊死組織に進展すると考えられる部位に高濃度に移行し, しかも長時間にわたり高い濃度を維持することが証明された. しかもこの組織の深層に比し表層でより高い薬剤濃度が観察されたことは, 熱傷創面の細菌汚染に対する抗菌薬の全身投与の意義が示唆されるものであった. 熱傷損傷部位への血液よりの移行は炎症による血管透過性の亢進と同時に発生する血管外結合組織内の漏出組織液のリンパ管経由の排液障害に影響されるものであり, 表層の薬剤濃度が高い理由としては, 創表面からの不感蒸泄による濃縮, または, 深層の組織液の還流は表層より良好に保たれ, 組織内の薬剤排出が行われたた

めではないかと推定している。これらの成績は熱傷創感染対策としての抗菌剤投与の理論付けに役立つものとする。

熱傷創感染の進展に伴って問題となる代表的な菌種は緑膿菌であるため、感染実験モデルには緑膿菌による創汚染を計画した。結果はCFCL非投与群は明らかに創感染所見を示したのに対し、投与群では局所感染の所見は認められなかった。

臨床的には5例に本剤を使用した。安全性に問題はなく他剤無効例の緑膿菌感染に対する有効例も含まれており臨床適用を期待できる結果であった。これは、今回の実験で確認された熱傷部位への本剤の高い移行性と、グラム陽性菌および緑膿菌を含むグラム陰性菌に対する優れた抗菌活性が反映された結果であろう。

以上のことからCFCLは熱傷創感染に対し有用性の高い薬剤であると考えられる。

#### 文 献

- 1) Watanabe N, Katsu K, Moriyama M, and Kito K : *In vitro* evaluation of E1040, a new cephalosporin with potent antipseudomonal activity. *Antimicrob Agent Chemother* 32 : 693~701, 1988
- 2) Neu H C, Chin N, and Novelli A : *In vitro* activity of E1040, a novel cephalosporin with potent activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agent Chemother* 32:1666~1675, 1988
- 3) Nakashima M, Uematsu T, Kanamaru M, Ueno K, Setoyama T, Tomono Y, Ohno T, Okano K, and Morishita N: Phase I study of E1040, a new parenteral cephem antibiotic. *J Clin Pharmacol* 29 : 144~150, 1989
- 4) Aikawa N, Shinozawa Y, Ishibiki K, Abe O, Yamamoto S, Motegi M, Yoshii H, and Sudoh M : Clinical analysis of multiple organ failure in burned patients. *Burns*, 13(2) : 103~109, 1987
- 5) Curreri P W, Luterman A, Braun D W, and Shires GT Burn injury; Analysis of survival and hospitalization time for 937 patients. *Ann. Surg.*, 192(4) : 472~478, 1980
- 6) 吉井 宏, 山本修三, 茂木正寿, 広谷 隆, 西山博明, 平出 敦, 須藤政彦, 相川直樹, 奥沢星二郎, 石引久弥, 阿部令彦 : 熱傷入院症例由来分離菌の検討。熱傷9(2) : 152~159, 1984.
- 7) Seligman M and Martyn J A J : Burn wound infections, Acute management of the burned patient, Martyn, J.A.J, 1st Ed., W B Saunders Co., Philadelphia, 288~305, 1990
- 8) 相川直樹, 石引久弥, 阿部令彦 : 熱傷, 感染と免疫外科治療 51(5) : 858~866, 1984. 47, 金原出版, 東京, 60-69, 1986.

## EXPERIMENTAL AND CLINICAL STUDIES ON CEFCLIDIN IN THE TREATMENT OF BURNS: PENETRATION INTO THE ESCHAR AND ITS EFFECTS ON BURN WOUND INFECTION

Naoki Aikawa, Kiyotsugu Takuma, Yotaro Shinozawa, Junichi Sasaki,  
Shingo Hori and Kyuya Ishibiki

Departments of Emergency Medicine and Surgery, School of Medicine, Keio University  
35 Sinanomachi, Sinjuku-ku, Tokyo 160, Japan

Masaru Satoh and Shigeru Hachiya

Eisai Co., Ltd., Tokyo, Japan

An experimental study was undertaken to determine the effects of intravenously administered cefclidin (CFCL) on the prevention of burn wound sepsis occurring in contaminated full-thickness burns. The penetration of the antibiotics into the eschar was also studied. Also, CFCL was used in five patients with infected burn wounds to test its clinical effects.

The results were as follows:

1. All control wounds showed signs of infection, whereas wounds treated CFCL had no signs of infection.
2. Histology showed numerous inflammatory cells in the eschar of control wounds. Wounds treated with CFCL showed minimal inflammation.
3. Quantitative cultures indicated more than  $10^6$  cfu/g bacteria in 9 out of 10 control wounds, but only one wound had a positive culture in wounds treated CFCL.
4. High CFCL levels in burned tissue were observed. The levels were higher than those in control skin, and superficial layer showed higher levels than in deep layers.
5. Five burned patients received intravenous CFCL (1 or 2g), bid for 5-7 days. The clinical efficacy was good in 3, fair in 1 and unevaluable in 1. As for bacteriological response, *S. aureus* (2 strains), *Streptococcus* sp. (1 strain), *P. aeruginosa* (1 strain) and *P. acnes* (1 strain) were eradicated, but *S. epidermidis* (1 strain) was unchanged. No adverse drug reaction was noted, but slight abnormal laboratory changes in GPT were observed in 2 patients.

The effects of CFCL in controlling the burn wound sepsis were attributed to the high tissue penetration as well as its good antibacterial activity.