

新しい注射用セフェム剤 FK 037 の細菌学的評価

東 康之・宮崎 修一・金子 康子
山口 恵三・五島 瑛智子
東邦大学医学部微生物学教室*

(平成5年4月5日受付・平成5年5月11日受理)

新しい注射用セフェム剤である FK 037 の *in vitro* 抗菌力, *in vivo* 抗菌力および β -ラクタマーゼ安定性について, 主として cefpirome (CPR), flomoxef (FMOX), ceftazidime (CAZ) と比較検討した。FK 037 はブドウ球菌属を含むグラム陽性菌から *Pseudomonas aeruginosa* を含むグラム陰性菌に広域の抗菌スペクトルを有し, 特にメチシリン高度耐性 *Staphylococcus aureus* (H-MRSA) に対し, 比較したセフェム剤の中でもっとも優れた抗菌力を示した。また, CAZ に耐性の *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* に対し, FK 037 は CPR と同様強い抗菌力を示した。種々のタイプの β -ラクタマーゼに対し, FK 037 は高い安定性を示し, かつ親和性も低かった。マウス全身感染に対する治療実験において, 本剤はほぼ MIC を反映した優れた治療効果を示し, 特に MRSA 感染に対し vancomycin (VCM) に劣るものの, セフェム剤の中でもっとも優れた治療効果を示した。また, MRSA 感染に対する FK 037 の治療効果は, CPR, FMOX, imipenem/cilastatin (IPM/CS) に比し, 感染菌量の影響を受けにくかった。本剤は *P. aeruginosa* 感染に対し, 単回投与よりも 2 時間間隔の 3 回分割投与の方が優れた治療効果を示した。

Key words: FK 037 *in vitro* 抗菌力, *in vivo* 抗菌力, β -ラクタマーゼ安定性

FK 037 は, 藤沢薬品工業株式会社で開発中の, 3 位に 2-hydroxyethyl-pyrazolyl 基, 7 位に methoxyimino-thiazolyl 基を有する新しい注射用セフェム剤である (Fig. 1)。本剤は従来の第 3 世代セフェム剤の抗菌スペクトルに加え, ブドウ球菌属および緑膿菌にも抗菌力を有し, かつ第 3 世代セフェム剤に耐性の *Enterobacter*, *Citrobacter* にも強い抗菌力を示すこと, さらには各種の β -ラクタマーゼに安定であるだけでなく, 親和性が低いことが報告されている¹⁻³⁾。本報告では, FK 037 の *in vitro* 抗菌力, *in vivo* 抗菌力および β -ラクタマーゼ安定性について, CPR および既存セフェム剤と比較した成績を報告する。

I. 実験材料および方法

1. 使用菌株

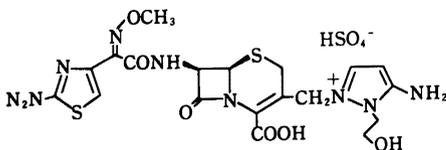


Fig. 1. Chemical structure of FK 037.

試験菌は教室保存の標準株および 1975~1989 年に臨床材料から分離されたグラム陽性菌, グラム陰性菌の多数株を使用した。なお, *Staphylococcus aureus* の感受性は, methicillin (DMPPC) の MIC によって分類し, $\leq 6.25 \mu\text{g/ml}$ のものを MSSA, $12.5\sim 100 \mu\text{g/ml}$ のものを L-MRSA, $\geq 200 \mu\text{g/ml}$ のものを H-MRSA とした。

2. 使用薬剤

FK 037 (lot. 20010 YG, $829 \mu\text{g/ml}$, lot. 530198 P, $827 \mu\text{g/ml}$, 藤沢薬品), cefpirome (CPR, lot. 331108 S, $774 \mu\text{g/mg}$, 藤沢薬品・研究所および lot. C 114, $826 \mu\text{g/mg}$, ヘキストジヤパン), flomoxef (FMOX, lot. NR 04, $899 \mu\text{g/mg}$, 塩野義製薬), ceftazidime (CAZ, lot. 07031, $754 \mu\text{g/mg}$, 日本グラクソ), ceftizoxime (CZX, lot. 200106 G, $871 \mu\text{g/mg}$, 藤沢薬品), cefoperazone (CPZ, lot. TF 276 G, $885 \mu\text{g/mg}$, 富山化学), vancomycin (VCM, lot. 10010 XG, $1,198 \mu\text{g/mg}$, 藤沢薬品), methicillin (DMPPC, lot. F 024 K, $900 \mu\text{g/mg}$, 萬有製薬), imipenem/cilastatin (IPM/CS, lot. 6 B 028 P, 445

* 大田区大森西 5-21-16

μg/mg, 6 B 003 P, 444 μg/mg, 萬有製薬)。

3. 感受性測定

MIC 測定は、日本化学療法学会標準法⁴⁾に準じ寒天平板希釈法にて行った。*S. pneumoniae* および *Streptococcus pyogenes* に対する MIC 測定には、5% 馬脱線維血液を添加した Mueller Hinton agar (MHA, Difco) の血液寒天を、*Haemophilus influenzae* には、同じ組成によるチョコレート寒天を用いた。*Neisseria gonorrhoeae* では cocarboxylase 0.001 g, glucose 20 g, glutamine 0.5 g を蒸留水 100 ml に溶解したものを、2% の割合で加えた GC medium base (Difco) を使用し、ローソク培養で行った。*Bordetella pertussis* は 20% 馬脱線維血液、1% グリセロールを添加した Bordet Gengou medium (Difco) を使用した。

4. 液体希釈法による最小殺菌濃度 (MBC)

試験菌を Mueller Hinton broth (MHB, Difco) で一夜前培養し、2 倍希釈系列の薬剤を含む MHB に 10^5 cfu/ml になるように接種し、37°C、18 時間培養後 MIC を判定した。さらに発育を認めなかった培養液中の生菌数を通常の寒天平板希釈コロニー形成法で測定し、接種菌数の 0.1% 以下に殺菌する最小濃度を MBC (99.9% 殺菌濃度) とした。

5. 増殖曲線における殺菌作用

一夜培養した試験菌の 0.1% を MHB に接種し、37°C、約 2 時間振盪培養した菌液 (約 10^6 cfu/ml) に、薬剤を 1/2, 1 および 2 MIC になるように添加した。37°C で振盪培養し、添加直後および 2, 4, 6, 24 時間後に培養液を採取して生菌数を測定した。

6. β-ラクタマーゼに対する安定性と親和性

Richmond タイプの各 β-ラクタマーゼは下記の菌株から調製した。

Ia: *C. freundii* GN 346, Ib: *Eschericia coli* 35, Ic: *Proteus vulgaris* GN 76, Id: *P. aeruginosa* 11, II: *Proteus mirabilis* GN 79, III: *E. coli* ML 1410/RGN 823, IV: *Klebsiella pneumoniae* GN 69, V: *P. aeruginosa* 47。

各菌株を MHB で 37°C、一夜培養した後、遠心分離により菌体を集め、1/15 M リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.0) に懸濁後、超音波で菌体を破壊し、遠心分離した上清を粗酵素溶液とした。これに 75% 飽和になるように硫酸を加え、4°C 一夜攪拌した後、遠心分離して得られた沈澱を同緩衝液に溶解し、Sephadex G-100 ゲル濾過による活性画分を酵素溶液とした。各薬剤の β-ラクタマーゼに対する酵素学的パラメータは Spectrophotometric 法⁵⁾により測定した。セファ

ロスポリナーゼ (Richmond Ia, Ib, Ic, Id) は cephaloridine, ペニシナーゼ (II, III, IV, V) は ampicillin のそれぞれ 50 μg/ml における分解活性を 100 として表した。

7. マウス全身感染に対する治療効果

マウスは ICR 系, 雄, 4 週齢, 一群 8 匹を用い、感染菌は *S. aureus* 387 (MSSA), *S. aureus* 72 (L-MRSA), *S. aureus* 22 (H-MRSA), *Staphylococcus epidermidis* 165, *S. pneumoniae* 93, *E. coli* 304, *K. pneumoniae* 127, *C. freundii* 3, *E. cloacae* 68, *P. aeruginosa* 207 を用いた。各菌株は MHA で 37°C、18 時間培養後、生理食塩水に懸濁し最終濃度が 5% になるようにムチン液を加え、腹腔内に接種した。

ただし、*S. pneumoniae* は Brain heart infusion broth (Difco) に懸濁した後、静脈内に接種した。また、*S. epidermidis* 感染の場合、感染 4 日前に cyclophosphamide の 200 mg/kg を腹腔内に投与したマウスを用いた。薬剤は感染 1 時間後に皮下投与し、感染 4~6 日後の生存マウス数をもとに、ED₅₀ をプロビット法⁶⁾で算出した。なお、*S. aureus* 387 (MSSA), *S. aureus* 72 (L-MRSA), *S. aureus* 22 (H-MRSA) を用いて、感染菌量による ED₅₀ 値の変動を上記と同様の方法で検討した。また、*P. aeruginosa* 207 による全身感染実験において、感染 1 時間後単回投与と感染 1, 3, 5 時間後の 3 回分割投与による ED₅₀ 値の変動を比較した。

なお、3 回分割時の ED₅₀ 値は、投与した薬剤の全量で表示した。

II. 実験成績

1. 抗菌スペクトル

FK 037 のグラム陽性菌および陰性菌に対する抗菌スペクトルを、CPR, FMOX, CAZ, CPZ, CZX と比較した成績を Table 1 (接種菌量: 10^6 cfu/ml) および Table 2 (10^8 cfu/ml) に示した。

FK 037 は CPR と同様、ブドウ球菌属から緑膿菌に至る幅広い菌種に、バランスのとれた抗菌力を示した。CPR との比較では、MRSA に対し FK 037 の方が優れ、*Enterococcus faecalis* に対しては逆に CPR の方が優れた以外は、ほぼ同等であった。FMOX との比較では、グラム陽性菌のうち *Streptococcus* 属および主要グラム陰性菌の全般に FK 037 の方が明らかに優れた。CAZ との比較では、グラム陽性菌全般および主要グラム陰性菌のうち、*Serratia marcescens*, *C. freundii*, *Enterobacter* に FK 037 の方が明らかに優れた。CPZ との比較では、グラム陽性菌、グラム陰性菌の全般に FK 037 の方が優れ、CZX との比較

Table 1. Antibacterial spectrum of FK 037 and reference antibiotics against standard strains

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)					
	FK 037	CPR	FMOX	CAZ	CPZ	CZX
<i>S. aureus</i> 209 P	0.78	0.39	0.39	6.25	1.56	3.13
<i>S. aureus</i> Smith	1.56	0.78	0.78	6.25	3.13	25
<i>S. aureus</i> M-1 (MRSA)	25	100	50	>100	>100	>100
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	0.39	0.39	0.78	6.25	1.56	0.78
<i>S. pneumoniae</i> III	≤ 0.025	≤ 0.025	0.1	0.1	0.05	≤ 0.025
<i>S. pyogenes</i> ATCC 10389	≤ 0.025	≤ 0.025	0.2	0.1	0.1	≤ 0.025
<i>S. pyogenes</i> S-23	≤ 0.025	≤ 0.025	0.2	0.1	0.1	≤ 0.025
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.78	0.78	0.39	6.25	0.78	1.56
<i>E. faecalis</i> ATCC 33186	100	25	100	>100	25	>100
<hr/>						
<i>N. gonorrhoeae</i> 43	≤ 0.025	≤ 0.025	0.2	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>N. meningitidis</i> Holland 68	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>E. coli</i> NIHJ JC 2	0.05	0.05	0.1	0.2	0.2	0.05
<i>K. pneumoniae</i> IFO 3512	0.05	0.05	0.1	0.1	0.1	≤ 0.025
<i>S. typhi</i> S 60	0.05	0.05	0.1	0.2	0.39	≤ 0.025
<i>S. flexneri</i> 2 a 2	0.05	0.05	0.2	0.39	0.2	0.05
<i>P. mirabilis</i> 1287	0.05	0.05	0.2	0.05	0.2	≤ 0.025
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	≤ 0.025	≤ 0.025	0.2	≤ 0.025	0.05	≤ 0.025
<i>M. morgani</i> IFO 3848	≤ 0.025	≤ 0.025	0.78	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>P. rettgeri</i> IFO 13501	≤ 0.025	≤ 0.025	0.2	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>P. stuartii</i> IFO 12930	≤ 0.025	≤ 0.025	0.1	0.05	0.1	≤ 0.025
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	0.05	≤ 0.025	0.39	0.2	0.78	0.05
<i>C. freundii</i> ATCC 8090	0.05	0.05	0.78	0.2	0.1	0.1
<i>E. cloacae</i> IFO 13047	0.2	0.2	>100	6.25	3.13	12.5
<i>E. aerogenes</i> 3	0.1	0.1	25	0.39	0.39	0.1
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	1.56	3.13	>100	1.56	6.25	25
<i>P. aeruginosa</i> E 7	3.13	6.25	>100	1.56	6.25	25
<i>P. putida</i> ATCC 17464	1.56	1.56	50	3.13	6.25	12.5
<i>P. cepacia</i> ATCC 17759	1.56	3.13	25	0.78	6.25	1.56
<i>A. calcoaceticus</i> NCTC 7844	6.25	3.13	>100	6.25	>100	50
<i>A. faecalis</i> NCTC 655	6.25	6.25	0.2	3.13	1.56	3.13
<i>A. xylosoxidans</i> TMS 73	>100	>100	25	6.25	3.13	>100
<i>F. meningocaputicum</i> TMS 466	12.5	25	25	100	25	6.25
<i>H. influenzae</i> Type b ATCC 9334	0.1	0.1	0.78	0.2	0.05	≤ 0.025

Inoculum size: one spot of 10^8 CFU/ml

CPR, cefpirome; FMOX, flomoxef; CAZ, ceftazidime; CPZ, cefoperazone; CZX, ceftizoxime.

ではブドウ球菌属およびグラム陰性菌のうち、*E. cloacae*, *P. aeruginosa*, *P. putida* に FK 037 の方が優れた。

2. 各種臨床分離株に対する抗菌力

臨床材料から分離された 21 菌種、732 株の FK 037 に対する感受性を調べ、CPR, FMOX, CAZ (*Sta-*

phylococcus 属については DMPPC および VCM) と比較した成績を、Tables 3~6 に示した。

以下、 10^6 cfu/ml 接種時の MIC₉₀ の成績について述べる。

S. aureus: MSSA (31 株) に対し FK 037 (MIC₉₀ = 3.13 $\mu\text{g/ml}$) は CPR と同等、CAZ より優れるが

Table 2. Antibacterial spectrum of FK 037 and reference antibiotics against standard strains

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)					
	FK 037	CPR	FMOX	CAZ	CPZ	CZX
<i>S. aureus</i> 209 P	0.78	1.56	0.39	12.5	3.13	12.5
<i>S. aureus</i> Smith	3.13	1.56	1.56	25	6.25	25
<i>S. aureus</i> M-1 (MRSA)	25	100	100	>100	>100	>100
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	0.78	0.78	1.56	6.25	6.25	1.56
<i>S. pneumoniae</i> III	≤ 0.025	≤ 0.025	0.1	0.1	0.05	≤ 0.025
<i>S. pyogenes</i> ATCC 10389	≤ 0.025	≤ 0.025	0.2	0.1	0.1	≤ 0.025
<i>S. pyogenes</i> S-23	≤ 0.025	≤ 0.025	0.2	0.1	0.1	≤ 0.025
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	1.56	1.56	0.78	25	1.56	50
<i>E. faecalis</i> ATCC 33186	>100	25	100	>100	25	>100
<hr/>						
<i>N. gonorrhoeae</i> 43	≤ 0.025	≤ 0.025	0.2	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>N. meningitidis</i> Holland 68	≤ 0.025	≤ 0.025	0.05	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
<i>E. coli</i> NIHJ JC 2	0.1	0.05	0.2	0.39	0.39	0.1
<i>K. pneumoniae</i> IFO 3512	0.1	0.2	0.1	0.39	1.56	0.05
<i>S. typhi</i> S 60	0.1	0.1	0.2	0.39	0.78	0.1
<i>S. flexneri</i> 2 a 2	0.05	0.1	0.39	0.39	0.39	0.1
<i>P. mirabilis</i> 1287	0.05	0.1	0.39	0.1	0.2	≤ 0.025
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	0.1	0.39	0.39	0.1	100	≤ 0.025
<i>M. morgani</i> IFO 3848	≤ 0.025	≤ 0.025	25	≤ 0.025	0.05	1.56
<i>P. rettgeri</i> IFO 13501	≤ 0.025	≤ 0.025	1.56	0.05	0.05	≤ 0.025
<i>P. stuartii</i> IFO 12930	0.05	≤ 0.025	0.39	0.2	0.39	≤ 0.025
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	0.05	0.1	>100	0.39	12.5	0.1
<i>C. freundii</i> ATCC 8090	0.2	0.1	50	0.39	12.5	6.25
<i>E. cloacae</i> IFO 13047	100	50	>100	25	>100	>100
<i>E. aerogenes</i> 3	0.39	0.2	>100	1.56	12.5	25
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	6.25	12.5	>100	1.56	12.5	50
<i>P. aeruginosa</i> E 7	12.5	12.5	>100	3.13	12.5	50
<i>P. putida</i> ATCC 17464	1.56	1.56	50	3.13	6.25	12.5
<i>P. cepacia</i> ATCC 17759	1.56	6.25	25	0.78	25	1.56
<i>A. calcoaceticus</i> NCTC 7844	>100	>100	>100	25	>100	>100
<i>A. faecalis</i> NCTC 655	100	>100	25	50	>100	100
<i>A. xyloxydans</i> TMS 73	>100	>100	25	12.5	6.25	>100
<i>F. meningocaputicum</i> TMS 466	25	25	25	100	50	12.5
<i>H. influenzae</i> Type b ATCC 9334	0.1	0.1	0.78	0.2	0.05	≤ 0.25

Inoculum size: one spot of 10^8 CFU/ml

CPR, cefpirome; FMOX, flomoxef; CAZ, ceftazidime; CPZ, cefoperazone; CZX, ceftizoxime.

FMOX, VCM より 1 管劣った。L-MRSA (31 株) に対し FK 037 (12.5 $\mu\text{g/ml}$) は FMOX と同等, CAZ, CPR より優れるが VCM より劣った。H-MRSA (18 株) では VCM を除き, いずれも抗菌力が弱かったが, その中では FK 037 (50 $\mu\text{g/ml}$) が 1 管以上優れ, 特に ≥ 100 $\mu\text{g/ml}$ の高度耐性株が存在しなかった。

S. epidermidis (38 株): FK 037 (0.78 $\mu\text{g/ml}$) は比較薬剤の中でもっとも優れた抗菌力を示した。しかし, DMPPC の MIC が 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上の *S. epidermidis* 3 株のうち, 2 株においては VCM は FK 037 より 2~8 倍優れ, 1 株においては FK 037 の方が 2 倍優れた。

E. faecalis (38 株): いずれの薬剤も抗菌力が弱かつ

Table 3. Antibacterial activity of FK 037 and reference antibiotics against clinical isolates of gram-positive bacteria

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		range	50%	90%
<i>Staphylococcus aureus</i> (31) (MSSA)*	FK 037	0.78 - 12.5	1.56	3.13
	cefpirome	0.78 - 50	1.56	3.13
	flomoxef	0.78 - 12.5	0.78	1.56
	ceftazidime	6.25 - >100	12.5	25
	vancomycin	0.78 - 1.56	1.56	1.56
	methicillin	1.56 - 6.25	3.13	6.25
<i>Staphylococcus aureus</i> (31) (L-MRSA)*	FK 037	3.13 - 25	6.25	12.5
	cefpirome	1.56 - 50	12.5	25
	flomoxef	0.78 - 50	6.25	12.5
	ceftazidime	12.5 - >100	100	100
	vancomycin	0.78 - 3.13	1.56	1.56
	methicillin	12.5 - 100	50	100
<i>Staphylococcus aureus</i> (18) (H-MRSA)*	FK 037	12.5 - 50	25	50
	cefpirome	25 - 100	50	100
	flomoxef	12.5 - 100	50	100
	ceftazidime	100 - >100	>100	>100
	vancomycin	0.78 - 1.56	1.56	1.56
	methicillin	>100	>100	>100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (38)	FK 037	0.2 - 12.5	0.78	0.78
	cefpirome	0.2 - 12.5	0.39	1.56
	flomoxef	0.2 - 25	0.78	3.13
	ceftazidime	3.13 - 50	6.25	12.5
	vancomycin	0.78 - 3.13	1.56	3.13
	methicillin	0.1 - >100	3.13	6.25
<i>Enterococcus faecalis</i> (38)	FK 037	25 - >100	100	>100
	cefpirome	12.5 - >100	25	>100
	flomoxef	25 - >100	>100	>100
	ceftazidime	>100	>100	>100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (32)	FK 037	≤ 0.025 - 1.56	≤ 0.025	0.78
	cefpirome	≤ 0.025 - 1.56	≤ 0.025	0.78
	flomoxef	0.1 - 3.13	0.2	1.56
	ceftazidime	0.1 - 25	0.39	12.5
<i>Streptococcus pyogenes</i> (39)	FK 037	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
	cefpirome	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
	flomoxef	0.2 - 0.39	0.2	0.39
	ceftazidime	0.1 - 0.39	0.2	0.2

Inoculum size: one spot of 10^8 CFU/ml.*Methicillin-MIC: ≤ 6.25 $\mu\text{g/ml}$ (MSSA), 12.5~100 $\mu\text{g/ml}$ (L-MRSA), ≥ 200 $\mu\text{g/ml}$ (H-MRSA).

Table 4. Antibacterial activity of FK 037 and reference antibiotics against clinical isolates of gram-positive bacteria

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		range	50%	90%
<i>Staphylococcus aureus</i> (31) (MSSA)*	FK 037	0.78 - 12.5	3.13	3.13
	ceftazidime	0.78 - 50	3.13	6.25
	flomoxef	0.78 - 12.5	0.78	1.56
	ceftazidime	6.25 - >100	25	25
	vancomycin	0.78 - 1.56	3.13	6.25
	methicillin	1.56 - 6.25	6.25	6.25
<i>Staphylococcus aureus</i> (31) (L-MRSA)*	FK 037	3.13 - 25	12.5	25
	ceftazidime	1.56 - 50	50	50
	flomoxef	0.78 - 50	25	50
	ceftazidime	12.5 - >100	>100	>100
	vancomycin	0.78 - 3.13	3.13	3.13
	methicillin	12.5 - 100	>100	>100
<i>Staphylococcus aureus</i> (18) (H-MRSA)*	FK 037	12.5 - 50	25	50
	ceftazidime	25 - 100	100	>100
	flomoxef	12.5 - 100	100	>100
	ceftazidime	100 - >100	>100	>100
	vancomycin	0.78 - 1.56	3.13	6.25
	methicillin	>100	>100	>100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (38)	FK 037	0.2 - 12.5	0.78	3.13
	ceftazidime	0.2 - 12.5	0.78	3.13
	flomoxef	0.2 - 25	0.78	6.25
	ceftazidime	3.13 - 50	6.25	25
	vancomycin	0.78 - 3.13	3.13	6.25
	methicillin	0.1 - >100	3.13	12.5
<i>Enterococcus faecalis</i> (38)	FK 037	25 - >100	>100	>100
	ceftazidime	12.5 - >100	50	>100
	flomoxef	25 - >100	>100	>100
	ceftazidime	>100	>100	>100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (32)	FK 037	≤ 0.025 - 1.56	0.05	0.78
	ceftazidime	≤ 0.025 - 1.56	0.05	0.78
	flomoxef	0.1 - 3.13	0.39	3.13
	ceftazidime	0.1 - 25	0.39	12.5
<i>Streptococcus pyogenes</i> (39)	FK 037	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
	ceftazidime	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
	flomoxef	0.2 - 0.39	0.2	0.39
	ceftazidime	0.1 - 0.39	0.2	0.2

Inoculum size: one spot of 10^6 CFU/ml.Methicillin-MIC: ≤ 6.25 $\mu\text{g/ml}$ (MSSA), 12.5-100 $\mu\text{g/ml}$ (L-MRSA), ≥ 200 $\mu\text{g/ml}$ (H-MRSA).

Table 5-1. Antibacterial activity of FK 037 and reference antibiotics against clinical isolates of gram-negative bacteria

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
		range		50%	90%
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (43)	FK 037	≤ 0.025 -	0.05	≤ 0.025	0.05
	cefpirome	≤ 0.025 -	0.1	≤ 0.025	0.1
	flomoxef	0.1 -	1.56	0.39	0.78
	ceftazidime	≤ 0.025 -	0.2	0.05	0.1
<i>Escherichia coli</i> (31)	FK 037	≤ 0.025 -	0.1	0.1	0.1
	cefpirome	≤ 0.025 -	0.2	0.1	0.1
	flomoxef	≤ 0.025 -	0.39	0.1	0.2
	ceftazidime	0.1 -	1.56	0.2	0.39
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (36)	FK 037	0.05 -	0.78	0.1	0.39
	cefpirome	≤ 0.025 -	0.39	0.1	0.39
	flomoxef	0.05 -	0.78	0.1	0.2
	ceftazidime	0.1 -	1.56	0.2	0.78
<i>Proteus mirabilis</i> (32)	FK 037	0.05 -	0.1	0.1	0.1
	cefpirome	0.1 -	0.2	0.1	0.2
	flomoxef	0.1 -	0.39	0.2	0.39
	ceftazidime	0.05 -	0.1	0.1	0.1
<i>Proteus vulgaris</i> (33)	FK 037	0.05 -	3.13	0.1	1.56
	cefpirome	0.05 -	12.5	0.2	3.13
	flomoxef	0.2 -	3.13	0.39	0.78
	ceftazidime	0.05 -	0.39	0.1	0.2
<i>Morganella morganii</i> (33)	FK 037	≤ 0.025 -	0.1	≤ 0.025	0.05
	cefpirome	≤ 0.025 -	0.2	≤ 0.025	0.05
	flomoxef	0.2 -	6.25	1.56	3.13
	ceftazidime	0.05 -	3.13	0.1	0.1
<i>Providencia rettgeri</i> (32)	FK 037	≤ 0.025 -	3.13	0.05	0.78
	cefpirome	≤ 0.025 -	0.39	≤ 0.025	0.2
	flomoxef	0.05 -	0.39	0.1	0.39
	ceftazidime	0.05 -	6.25	0.1	0.78
<i>Providencia stuartii</i> (20)	FK 037	≤ 0.025 -	6.25	0.1	1.56
	cefpirome	≤ 0.025 -	0.78	0.1	0.2
	flomoxef	0.05 -	0.39	0.2	0.39
	ceftazidime	0.05 -	1.56	0.2	0.78
<i>Serratia marcescens</i> (30)	FK 037	0.1 -	6.25	0.39	3.13
	cefpirome	0.1 -	12.5	0.39	3.13
	flomoxef	0.39 -	>100	6.25	50
	ceftazidime	0.2 -	6.25	0.78	1.56

Inoculum size: one spot of 10^6 CFU/ml.

Table 5-2. Antibacterial activity of FK 037 and reference antibiotics against clinical isolates of gram-negative bacteria

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		range	50%	90%
<i>Citrobacter freundii</i> (30)	FK 037	0.05 - 12.5	0.2	3.13
	ceftazidime	0.05 - 6.25	0.2	1.56
	floximef	0.2 - >100	6.25	>100
	ceftazidime	0.2 - >100	1.56	100
<i>Enterobacter cloacae</i> (32)	FK 037	0.05 - 12.5	0.2	3.13
	ceftazidime	≤ 0.025 - 12.5	0.1	0.78
	floximef	0.1 - >100	25	>100
	ceftazidime	0.05 - >100	0.39	50
<i>Enterobacter aerogenes</i> (30)	FK 037	0.05 - 12.5	0.78	6.25
	ceftazidime	0.05 - 12.5	0.39	6.25
	floximef	0.39 - >100	25	>100
	ceftazidime	0.2 - >100	3.13	50
<i>Branhamella catarrhalis</i> (20)	FK 037	0.1 - 3.13	0.39	1.56
	ceftazidime	0.05 - 1.56	0.2	1.56
	floximef	≤ 0.025 - 0.39	0.05	0.39
	ceftazidime	≤ 0.025 - 0.39	0.05	0.1
<i>Haemophilus influenzae</i> (35)	FK 037	≤ 0.025 - 0.39	0.1	0.2
	ceftazidime	≤ 0.025 - 0.2	0.1	0.1
	floximef	0.39 - 1.56	1.56	1.56
	ceftazidime	0.1 - 1.56	0.2	0.2
<i>Bordetella pertussis</i> (18)	FK 037	0.39 - 12.5	0.78	0.78
	ceftazidime	0.39 - 12.5	0.78	0.78
	floximef	0.2 - 0.78	0.78	0.78
	ceftazidime	0.1 - 0.39	0.2	0.39
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (50)	FK 037	1.56 - >100	6.25	50
	ceftazidime	3.13 - 100	6.25	50
	floximef	25 - >100	>100	>100
	ceftazidime	1.56 - 100	3.13	12.5

Inoculum size: one spot of 10^6 CFU/ml.

た。

S. pneumoniae (32株), *S. pyogenes* (39株): FK 037 (それぞれ0.78, ≤ 0.025 $\mu\text{g/ml}$) は CPR と同様強い抗菌力を示し, FMOX, CAZ より優れた。

N. gonorrhoeae (43株): FK 037 (0.05 $\mu\text{g/ml}$) は比較薬剤の中でもっとも優れ, 0.05 $\mu\text{g/ml}$ で被験菌株のすべてを阻止した。

E. coli (31株): FK 037 (0.1 $\mu\text{g/ml}$) は CPR と同等で FMOX, CAZ より強い抗菌力を示し, 0.1 $\mu\text{g/}$

ml で被験菌株のすべてを阻止した。

K. pneumoniae (36株): FK 037 (0.39 $\mu\text{g/ml}$) は CPR と同等, FMOX より1管劣り, CAZ より1管優れた抗菌力を示した。

P. mirabilis (32株): いずれの薬剤も優れた抗菌力を示し, FK 037 (0.1 $\mu\text{g/ml}$) は CAZ と同等, CPR より1管, FMOX より2管優れた。

P. vulgaris (33株): CAZ がもっとも強い抗菌力を示し, FK 037 (1.56 $\mu\text{g/ml}$) は CPR より1管優れ,

Table 6-1. Antibacterial activity of FK 037 and reference antibiotics against clinical isolates of gram-negative bacteria

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
		range		50%	90%
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (43)	FK 037	≤ 0.025 -	0.05	0.05	0.1
	ceftazidime	≤ 0.025 -	0.1	0.05	0.2
	flomoxef	0.1 -	1.56	0.39	0.78
	ceftazidime	≤ 0.025 -	0.2	0.1	0.2
<i>Escherichia coli</i> (31)	FK 037	≤ 0.025 -	0.1	0.1	0.2
	ceftazidime	≤ 0.025 -	0.2	0.1	0.2
	flomoxef	≤ 0.025 -	0.39	0.2	0.39
	ceftazidime	0.1 -	1.56	0.39	0.39
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (36)	FK 037	0.05 -	0.78	0.1	0.39
	ceftazidime	≤ 0.025 -	0.39	0.1	0.78
	flomoxef	0.05 -	0.78	0.2	0.39
	ceftazidime	0.1 -	1.56	0.39	1.56
<i>Proteus mirabilis</i> (32)	FK 037	0.05 -	0.1	0.1	0.2
	ceftazidime	0.1 -	0.2	0.2	0.2
	flomoxef	0.1 -	0.39	0.39	0.78
	ceftazidime	0.05 -	0.1	0.1	0.1
<i>Proteus vulgaris</i> (33)	FK 037	0.05 -	3.13	0.78	>100
	ceftazidime	0.05 -	12.5	3.13	>100
	flomoxef	0.2 -	3.13	1.56	6.25
	ceftazidime	0.05 -	0.39	0.1	1.56
<i>Morganella morganii</i> (33)	FK 037	≤ 0.025 -	0.1	0.05	0.2
	ceftazidime	≤ 0.025 -	0.1	0.05	0.2
	flomoxef	0.2 -	6.25	12.5	12.5
	ceftazidime	0.05 -	3.13	0.39	3.13
<i>Providencia rettgeri</i> (32)	FK 037	≤ 0.025 -	3.13	0.39	6.25
	ceftazidime	≤ 0.025 -	0.39	0.05	0.39
	flomoxef	0.05 -	0.39	0.2	3.13
	ceftazidime	0.05 -	6.25	0.39	1.56
<i>Providencia stuartii</i> (20)	FK 037	≤ 0.025 -	6.25	0.78	50
	ceftazidime	≤ 0.025 -	0.78	0.1	0.78
	flomoxef	0.05 -	0.39	0.39	12.5
	ceftazidime	0.05 -	1.56	0.39	0.78
<i>Serratia marcescens</i> (30)	FK 037	0.1 -	6.25	0.78	6.25
	ceftazidime	0.1 -	12.5	0.39	12.5
	flomoxef	0.39 -	>100	100	>100
	ceftazidime	0.2 -	6.25	0.78	3.13

Inoculum size: one spot of 10^8 CFU/ml.

Table 6-2. Antibacterial activity of FK 037 and reference antibiotics against clinical isolates of gram-negative bacteria

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		range	50%	90%
<i>Citrobacter freundii</i> (30)	FK 037	0.05 - 12.5	0.78	25
	cefpirome	0.05 - 6.25	0.39	25
	flomoxef	0.2 - >100	50	>100
	ceftazidime	0.2 - >100	6.25	>100
<i>Enterobacter cloacae</i> (32)	FK 037	0.05 - 12.5	0.2	100
	cefpirome	≤ 0.025 - 12.5	0.2	12.5
	flomoxef	0.1 - >100	>100	>100
	ceftazidime	0.05 - >100	0.78	>100
<i>Enterobacter aerogenes</i> (30)	FK 037	0.05 - 12.5	25	>100
	cefpirome	0.05 - 12.5	12.5	50
	flomoxef	0.39 - >100	>100	>100
	ceftazidime	0.2 - >100	25	>100
<i>Branhamella catarrhalis</i> (20)	FK 037	0.1 - 3.13	3.13	25
	cefpirome	0.05 - 1.56	0.78	12.5
	flomoxef	≤ 0.025 - 0.39	0.1	0.78
	ceftazidime	≤ 0.025 - 0.39	0.1	0.2
<i>Haemophilus influenzae</i> (35)	FK 037	≤ 0.025 - 0.39	0.2	0.2
	cefpirome	≤ 0.025 - 0.2	0.1	0.2
	flomoxef	0.39 - 1.56	1.56	1.56
	ceftazidime	0.1 - 1.56	0.2	0.2
<i>Bordetella pertussis</i> (18)	FK 037	0.39 - 12.5	0.78	3.13
	cefpirome	0.39 - 12.5	0.78	1.56
	flomoxef	0.2 - 0.78	0.78	1.56
	ceftazidime	0.1 - 0.39	0.2	0.39
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (50)	FK 037	1.56 - >100	12.5	>100
	cefpirome	3.13 - 100	25	>100
	flomoxef	25 - >100	>100	>100
	ceftazidime	1.56 - 100	3.13	12.5

Inoculum size: one spot of 10^8 CFU/ml.

FMOX より 1 管劣った。

Morganella morganii (33 株): FK 037 (0.05 $\mu\text{g/ml}$) は CPR と同様もっとも優れ, CAZ より 1 管, FMOX より明らかに優れた。

Providencia rettgeri (32 株), *Providencia stuartii* (20 株): いずれも強い抗菌力を示したが, CPR (0.2, 0.2 $\mu\text{g/ml}$), FMOX (0.39, 0.39), CAZ (0.78, 0.78), FK 037 (0.78, 1.56) の順に優れた。

S. marcescens (30 株): FK 037 (3.13 $\mu\text{g/ml}$) は CPR と同等, CAZ より 1 管劣ったが, FMOX より

明らかに優れた。

C. freundii (30 株), *E. cloacae* (32 株), *E. aerogenes* (30 株): FK 037 (3.13~6.25 $\mu\text{g/ml}$) は CPR (0.78~6.25 $\mu\text{g/ml}$) と同様強い抗菌力を示し, FMOX (>100 $\mu\text{g/ml}$), CAZ (50~100 $\mu\text{g/ml}$) より明らかに優れた。特に, CAZ 高度耐性菌 (>100 $\mu\text{g/ml}$) の 4 株に対し, FK 037 と CPR は 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以下の濃度で阻止した。

Branhamella catarrhalis (20 株): FK 037 (1.56 $\mu\text{g/ml}$) の抗菌力は CPR と同等であるが, FMOX

より2管, CAZより4管劣った。

H. influenzae (35株): FK 037 (0.2 µg/ml) の抗菌力はCAZと同様, CPRより1管劣るものの, FMOXより明らかに優れた。

B. pertussis (18株): FK 037 (0.78 µg/ml) はCPR, FMOXと同様の抗菌力を示し, CAZより1管劣った。

P. aeruginosa (50株): FK 037 (50 µg/ml) の抗菌力はCPRと同等の中等度の活性を示し, FMOXより優れるもののCAZより2管劣った。

しかし, 本剤のMIC₅₀は6.25 µg/mlでCAZ (3.13 µg/ml) に近く, 比較的優れた抗菌力を示した。

3. 最小殺菌濃度 (MBC)

液体希釈法によるMIC, MBCの成績をTable 7に示す。

FK 037のMBCは*P. aeruginosa*を除くすべての菌種に対し, ほぼMICに近似し, 特にH-MRSAに対するMBCが25 µg/ml, *C. freundii*に6.25 µg/ml, *E. cloacae*に12.5 µg/mlを示したことは注目値する。しかし, *P. aeruginosa*に対するMBCが, MICと5管の開きがあることは, CAZに比べ劣る点である。本剤のMBCおよびMICはH-MRSAを除きCPRと同等で, 若干の例外を除き全般的にCAZ, CPZおよびFMOXより優れた。

4. 殺菌作用

Fig. 2に*S. aureus* Smith (MSSA), *S. aureus* 6 (MRSA) および*P. aeruginosa* IFO 3445に対する殺菌作用を比較検討した結果を示す。

S. aureus Smithでは, どの薬剤においても1 MIC

以上の濃度で24時間まで殺菌的に作用した。その殺菌力においてFMOXがもっとも優れ, FK 037, CPR, CPZは同等であった。*S. aureus* 6においては, 1 MICの濃度でFK 037のみ24時間まで殺菌的に作用したのに対し, CPR, FMOX, CPZはいずれも再増殖が観察された。

*P. aeruginosa*に対しては, いずれの薬剤も同様の殺菌曲線を示し, 6時間までは1/2 MICの濃度においても殺菌的であったが, 24時間後には2 MICの濃度でも再増殖が認められた。

5. β-ラクタマーゼに対する安定性および親和性
各種β-ラクタマーゼに対するFK 037, CPR, CAZおよびCPZの安定性および親和性をTable 8に示した。

FK 037はCPRと同様, *P. vulgaris*の産生するIc型セファロスポリナーゼを除く種々のβ-ラクタマーゼに対し安定であった。Ic型セファロスポリナーゼに対しFK 037はCAZより不安定であるものの, CPZよりすべてのβ-ラクタマーゼに対し安定であった。また, 親和性において, FK 037はCPRと同様IbおよびId型セファロスポリナーゼに対しCAZより低い傾向を示した。なお, ペニシリナーゼに対してはCPZを除くすべての薬剤がきわめて低い親和性を示した。

6. マウス全身感染に対する治療効果

各種細菌によるマウス全身感染に対するFK 037の治療効果を対照薬と比較した成績をTable 9に示した。

S. aureus: MSSAではMICの優れたIPM/CSがもっとも優れた治療効果を示し, FK 037はCPR,

Table 7. Comparison of broth MICs and MBCs of FK 037 and reference antibiotics

Organism	MBC/MIC (µg/ml)				
	FK 037	cefpirome	ceftazidime	cefoperazone	flomoxef
<i>S. aureus</i> (MSSA) Smith	3.13/1.56	1.56/0.78	25/12.5	3.13/3.13	1.56/0.78
<i>S. aureus</i> (L-MRSA) 14	12.5/6.25	25/6.25	>100/50	>100/12.5	6.25/3.13
<i>S. aureus</i> (H-MRSA) 6	25/25	100/50	>100/>100	>100/>100	>100/50
<i>E. coli</i> 300	0.10/0.10	0.10/0.10	0.39/0.39	0.78/0.20	0.39/0.39
<i>K. pneumoniae</i> 133	0.39/0.20	0.39/0.20	0.78/0.78	6.25/1.56	0.39/0.39
<i>C. freundii</i> 1	6.25/3.13	6.25/3.13	100/100	100/50	100/50
<i>E. cloacae</i> 75	12.5/6.25	6.25/6.25	50/50	25/12.5	>100/>100
<i>P. mirabilis</i> 1287	3.13/1.56	6.25/3.13	3.13/3.13	3.13/0.78	6.25/1.56
<i>P. aeruginosa</i> 157	50/1.56	50/3.13	3.13/0.78	>100/100	>100/>100

MIC: Microbroth dilution (Mueller Hinton broth), 37°C, 18 h.

MBC: 99.9% killing.

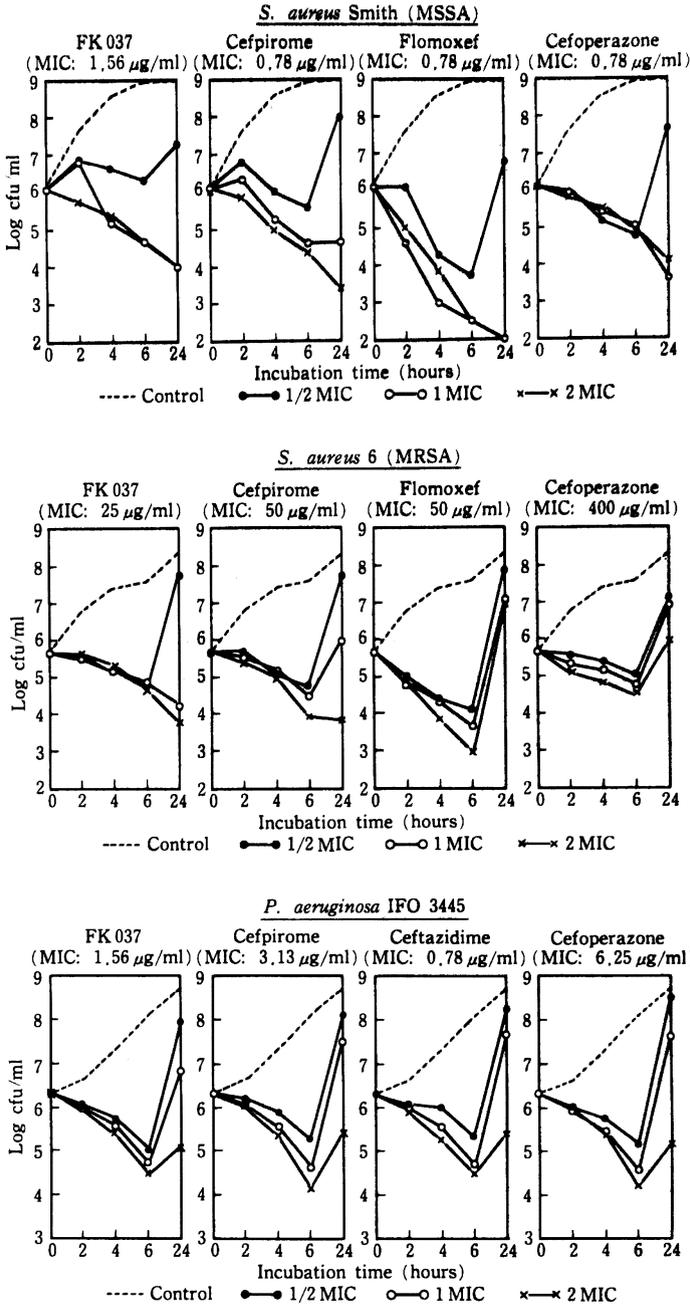


Fig. 2. Bactericidal activity of FK 037 and reference antibiotics.

FMOX と同等で、CPZ、CMZ、CZON、VCM より優れた治療効果を示した。MRSA においては L-MRSA、H-MRSA を問わず VCM がもっとも優れた治療効果を示したが、FK 037 は IPM/CS と同等で、他のセファロスポリン剤より 4~65 倍優れた治療効果を

示した。

S. epidermidis: MIC で優れる IPM/CS がもっとも優れた治療効果を示し、FK 037 は CPR、FMOX と同等、CPZ、CMZ、CZON、VCM より優れた治療効果を示した。

Table 8. Stability and affinity of FK 037 and reference antibiotics for β -lactamases

1) Stability

β -lactamase	Origin	Vmax*/Km			
		FK 037	cefpirome	ceftazidime	cefoperazone
Cephalosporinase (Cephaloridine=100)*					
I a	<i>C. freundii</i> GN 346	0.030	0.022	<0.052	0.790
I b	<i>E. coli</i> 35	0.019	<0.003	0.010	0.442
I c	<i>P. vulgaris</i> GN 76	<0.585	<0.615	<0.012	3.728
I d	<i>P. aeruginosa</i> 11	0.034	0.026	<0.029	1.689
Penicillinase (Ampicillin=100)*					
II	<i>P. mirabilis</i> GN 79	<0.003	<0.003	<0.003	6.715
III	<i>E. coli</i> ML 1410 (RGN 823)	<0.014	<0.031	<0.003	0.732
IV	<i>K. pneumoniae</i> FP 1585	<0.013	<0.075	<0.003	1.069
V	<i>P. aeruginosa</i> FP 1190	0.085	<0.581	<0.001	0.197

2) Affinity

β -lactamase	Origin	Km (Ki*): μ g/ml			
		FK 037	cefpirome	ceftazidime	cefoperazone
Cephalosporinase					
I a	<i>C. freundii</i> GN 346	3.3	100	2*	10
I b	<i>E. coli</i> 35	73.1	>100*	30	31.9
I c	<i>P. vulgaris</i> GN 76	>100	>100	>100	7.27
I d	<i>P. aeruginosa</i> 11	26.8	65.3	3.7*	13.5
Penicillinase					
II	<i>P. mirabilis</i> GN 79	>100*	>100*	>100*	0.36*
III	<i>E. coli</i> ML 1410 (RGN 823)	>100	>100	>100*	65
IV	<i>K. pneumoniae</i> FP 1585	>100	>100	>100*	21.7
V	<i>P. aeruginosa</i> FP 1190	66.2	>100	>100	4.58

S. pneumoniae: FK 037 は検討薬剤 (CPR, CAZ, CPZ, FMOX) の中でもっとも優れた治療効果を示した。

E. coli, *K. pneumoniae*: FK 037 の治療効果は CPR と同等, CAZ, CPZ, FMOX より優れた。

C. freundii: FK 037 は検討薬剤 (CPR, CAZ, CPZ, FMOX) の中でもっとも優れた治療効果を示した。

E. cloacae: FK 037 の治療効果は CPR と同等で, CAZ, CPZ, FMOX より明らかに優れた。

P. aeruginosa: IPM/CS がもっとも優れ, 次いで CAZ が優れ, FK 037 の治療効果は CPR と同等, CPZ より優れるものの, 前 2 剤より明らかに劣った。

7. マウス全身感染治療効果における感染菌量の影響

S. aureus (MSSA, L-MRSA, H-MRSA) 感染において, 高感染菌量 (2 MLD 感染) と低感染菌量 (1 MLD 感染) の 2 倍の感染菌量の差による各薬剤の治療効果におよぼす影響を Table 10 に示した。MSSA 感染においては, いずれの薬剤の治療効果も高感染菌量で 2 倍未満の低下にとどまったのに対し, L-MRSA および H-MRSA 感染においては薬剤により, それぞれ 1.8~6.6 倍, 2.3~4.3 倍の低下を示した。すなわち, L-MRSA 感染に対し FK 037 の治療効果は, 高感染菌量でわずか 1.8 倍の低下にすぎないのに対し, CPR で 2.6 倍, FMOX で 3.6 倍, IPM/CS では 6.6 倍の低下を示した。したがって, FK 037 の治療効果はいずれの感染菌量においても CPR, FMOX より優れるが, IPM/CS との比較において低感染菌量では FK 037 が IPM/CS に劣るものの, 高感染菌量では逆に FK 037 の方が優れる傾向を示した。一

Table 9-1. Protective effect of FK 037 and reference antibiotics against systemic infection in mice

Organism	Challenge dose (CFU/mouse)	Antibiotic	ED ₅₀ (mg/kg)	(95% confidence limit)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	
					10 ⁸	10 ⁶
<i>S. aureus</i> 387 (MSSA)	7.6 × 10 ⁸	FK 037	1.01	(0.58 – 1.97)	3.13	3.13
		ceftazidime	1.79	(0.93 – 3.48)	3.13	1.56
		cefoperazone	11.46*	(4.08 – 23.21)	3.13	3.13
		cefmetazole	4.92*	(2.05 – 10.21)	3.13	3.13
		cefuzonam	3.47*	(1.67 – 6.80)	1.56	1.56
		flomoxef	0.96	(0.65 – 1.81)	0.78	0.78
		imipenem	0.26*	(0.10 – 0.54)	0.1	0.05
		vancomycin	2.11**	(1.13 – 3.97)	3.13	1.56
<i>S. aureus</i> 72 (L-MRSA)	6.0 × 10 ⁸	FK 037	3.85	(2.60 – 7.28)	12.5	12.5
		ceftazidime	16.39*	(7.91 – 31.47)	25	25
		cefoperazone	249*	(169 – 668)	>100	>100
		cefmetazole	33.91*	(17.30 – 66.23)	25	12.5
		cefuzonam	112*	(67.94 – 159)	50	50
		flomoxef	33.91*	(17.30 – 66.23)	12.5	12.5
		imipenem	3.46	(1.70 – 7.23)	12.5	1.56
		vancomycin	2.20*	(1.47 – 3.03)	3.13	0.78
<i>S. aureus</i> 22 (H-MRSA)	2.2 × 10 ⁸	FK 037	13.83	(6.78 – 28.91)	25	25
		ceftazidime	65.30*	(32.88 – 131)	100	100
		cefoperazone	>320		>100	>100
		cefmetazole	312*	(149 – ∞)	100	50
		cefuzonam	312*	(149 – ∞)	>100	>100
		flomoxef	121*	(55.37 – 453)	100	50
		imipenem	23.91	(11.60 – 61.52)	50	25
		vancomycin	2.18*	(1.46 – 3.00)	3.13	0.78
<i>S. epidermidis</i> 165*	1.1 × 10 ⁷	FK 037	0.61	(0.22 – 1.24)	0.78	0.78
		ceftazidime	0.87	(0.42 – 1.70)	0.78	0.78
		cefoperazone	11.84*	(5.86 – 22.45)	6.25	1.56
		cefmetazole	4.77*	(2.27 – 9.73)	3.13	1.56
		cefuzonam	2.08*	(0.83 – 4.10)	0.78	0.78
		flomoxef	1.03	(0.50 – 1.97)	0.78	0.78
		imipenem	0.06*	(0.03 – 0.12)	0.05	≤0.025
		vancomycin	2.44*	(0.87 – 4.94)	6.25	3.13
<i>S. pneumoniae</i> 93**	1.6 × 10 ⁶	FK 037	1.45	(0.65 – 2.99)	0.1	0.1
		ceftazidime	3.49*	(1.80 – 6.74)	0.1	0.1
		cefmetazole	19.16*	(9.73 – 38.40)	0.39	0.39
		cefoperazone	8.31*	(3.79 – 18.99)	0.39	0.39
		flomoxef	23.91*	(11.60 – 61.52)	0.39	0.39

Mouse: ICR-strain, 4 wk, male, N=8 (*Cyclophosphamide: 200 mg/kg, i.p., 4 days before challenge).

Challenge: i.p., 5% mucin (**i.v., suspension in BHI broth).

Therapy: s.c., 1 h after challenge.

Observation: 4~6 days after challenge.

Significant difference from FK 037: *P<0.05, **P<0.10.

MIC: one loopful of 10⁸ CFU/ml and 10⁶ CFU/ml.

imipenem: imipenem/cilastatin.

Table 9-2. Protective effect of FK 037 and reference antibiotics against systemic infection in mice

Organism	Challenge dose (CFU/mouse)	Antibiotic	ED ₅₀ (mg/kg)	(95% confidence limit)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	
					10 ⁸	10 ⁹
<i>E. coli</i> 304	2.7 × 10 ⁸	FK 037	0.02	(0.01 – 0.03)	0.1	0.05
		cefpirome	0.02	(0.02 – 0.03)	0.1	0.05
		ceftazidime	0.08*	(0.07 – 0.10)	0.39	0.39
		cefoperazone	0.09*	(0.07 – 0.15)	0.39	0.2
		flomoxef	0.08*	(0.07 – 0.10)	0.2	0.1
<i>K. pneumoniae</i> 127	1.3 × 10 ⁸	FK 037	0.01	(0.01 – 0.02)	0.05	0.05
		cefpirome	0.01	(0.01 – 0.02)	0.1	0.05
		ceftazidime	0.05*	(0.03 – 0.06)	0.39	0.2
		cefoperazone	0.28*	(0.14 – 0.58)	1.56	0.2
		flomoxef	0.12*	(0.06 – 0.24)	0.2	0.05
<i>C. freundii</i> 3	1.5 × 10 ⁸	FK 037	13.95	(7.19 – 26.97)	12.5	3.13
		cefpirome	33.34*	(23.09 – 46.65)	12.5	1.56
		ceftazidime	140*	(93.81 – 193)	>100	50
		cefoperazone	>320		>100	50
		flomoxef	161*	(131 – 198)	>100	100
<i>E. cloacae</i> 68	1.3 × 10 ⁸	FK 037	2.43	(0.91 – 6.22)	50	0.78
		cefpirome	2.79	(1.37 – 5.91)	6.25	0.39
		ceftazidime	47.47*	(25.16 – 88.92)	>100	50
		cefoperazone	>320		>100	12.5
		flomoxef	>320		>100	100
<i>P. aeruginosa</i> 207	1.3 × 10 ⁸	FK 037	19.98	(10.51 – 37.32)	12.5	6.25
		cefpirome	26.45	(18.25 – 43.65)	12.5	6.25
		ceftazidime	6.61*	(4.56 – 10.91)	3.13	3.13
		cefoperazone	124	(84.27 – 334)	12.5	3.13
		imipenem	0.17*	(0.11 – 0.27)	1.56	1.56

Mouse: ICR-strain, 4 wk, male, N=8.

Challenge: i.p., 5% mucin.

Therapy: s.c., 1 h after challenge.

Observation: 4~6 days after challenge.

Significant difference from FK 037: *P<0.05.

MIC: one loopful of 10⁸ CFU/ml and 10⁹ CFU/ml.

imipenem: imipenem/cilastatin.

方, H-MRSA 感染に対し FK 037 の治療効果はいずれの感染菌量においても IPM/CS よりやや優れる傾向を示すものの、両剤とも感染菌量の影響を受けにくく、それぞれ 2.3 倍、2.5 倍の低下にとどまった。しかし、CPR、FMOX の治療効果はそれぞれ 3.5 倍、4.3 倍の大きな低下を示し、いずれの薬剤も FK 037 の治療効果に劣り、高感染菌量においてその差は顕著であった。

8. マウス全身感染治療効果における薬剤分割投与

の影響

P. aeruginosa 感染における薬剤の単回投与と 3 回分割投与時の治療効果を Total ED₅₀ (mg/kg) で比較した成績を Table 11 に示した。

検討した薬剤のうち、セフェム剤の FK 037、CPR、CAZ、CPZ では単回投与に比べ 3 回分割により治療効果が増強されたが、IPM/CS の治療効果はむしろ低下した。いずれの投与方法においても、FK 037 の治療効果は CPR よりやや優れ、CPZ より有意に優れる

Table 10. Effect of challenge dose on protective activity of FK 037 and reference antibiotics against murine systemic infection with *Staphylococcus aureus*

Organism	Challenge dose (CFU/mouse)	Antibiotic	ED ₅₀ (mg/kg)		(H/L ratio)	MIC (μg/ml)	
			L [#]	H [#]		10 ⁶	10 ⁸
<i>S. aureus</i> 387 (MSSA)	5.0×10 ⁸ (L) [#]	FK 037	1.03	1.45	(1.4)	3.13	3.13
	1.0×10 ⁸ (H) [#]	cefpirome	1.45	2.50	(1.7)	3.13	1.56
		flomoxef	1.05	1.71	(1.6)	0.78	0.78
		imipenem	0.13*	0.22*	(1.7)	0.1	0.05
<i>S. aureus</i> 72 (L-MRSA)	3.3×10 ⁸ (L)	FK 037	4.79	8.79	(1.8)	12.5	12.5
	6.6×10 ⁸ (H)	cefpirome	15.35*	40.16*	(2.6)	25	25
		flomoxef	13.22*	47.18*	(3.6)	12.5	12.5
		imipenem	1.81*	11.87	(6.6)	12.5	1.56
<i>S. aureus</i> 22 (H-MRSA)	1.5×10 ⁸ (L)	FK 037	10.00	23.11	(2.3)	25	25
	3.0×10 ⁸ (H)	cefpirome	32.55*	115*	(3.5)	100	100
		flomoxef	55.33*	237*	(4.3)	100	50
		imipenem	19.16	48.03	(2.5)	50	25

Mouse: ICR-strain, 4 wk, male, n=8.

Challenge: i.p., 5%, mucin.

Therapy: s.c., 1 h after challenge.

Observation: 4~6 days after challenge.

[#]L: low challenge dose, H: high challenge dose.

*Significant difference from FK 037 (P<0.05).

MIC: one loopful of 10⁶ CFU/ml and 10⁸ CFU/ml.

imipenem: imipenem/cilastatin.

Table 11. Effect of single and triple treatment of protective activity of FK 037 and reference antibiotics against murine systemic infection with *Pseudomonas aeruginosa*

Organism	Challenge dose (CFU/mouse)	Antibiotic	Total ED ₅₀ (mg/kg)		MIC (μg/ml)	
			Single	Triple	10 ⁶	10 ⁸
<i>P. aeruginosa</i> 207	1.3×10 ⁵	FK 037	19.98	7.50	12.5	6.25
		cefpirome	26.45	11.34	12.5	6.25
		ceftazidime	6.61*	1.87*	3.13	3.13
		cefoperazone	124*	19.83*	12.5	3.13
		imipenem	0.17*	0.38*	1.56	1.56

Mouse: ICR-strain, 4 wk, male, n=8.

Challenge: i.p., 5%, mucin.

Therapy: s.c., single (1 h after challenge), triple (1, 3 and 5 h after challenge).

Observation: 5 days after challenge.

*Significant difference from FK 037 (P<0.05).

MIC: one loopful of 10⁶ CFU/ml and 10⁸ CFU/ml.

imipenem: imipenem/cilastatin.

が、CAZ, IPM/CS より有意に劣った。

III. 考 察

近年、第3世代セフェム剤の欠点を補うべくブドウ球菌属を含むグラム陽性菌に対し十分な抗菌力を有

し、耐性菌の多い *Enterobacter*, *Citrobacter* さらに *P. aeruginosa* まで抗菌力を増強した、いわゆる第4世代と称される注射用セフェム剤が開発されている⁷⁾。本実験において、FK 037 は上記の第4世代セ

フェム剤に対応する抗菌スペクトルと、MRSA に中等度の活性を有することが確認された。特に MRSA に対し他のセフェム剤より強い抗菌力を有し、DMPPC に高度耐性の MRSA (H-MRSA) においてその傾向が著しく、被検菌株のすべてが FK 037 の 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で阻止された。また、 $10^6/\text{ml}$ 接種時と $10^8/\text{ml}$ 接種時の MIC の差が他の β -ラクタム剤に比べ小さく、また H-MRSA に対し 1 MIC 濃度で 24 時間接触後においても殺菌的に作用した。MRSA については、ある 1 菌種の 1 集落のうちにおいても DMPPC 耐性を示す細胞の割合が異なる、いわゆる heterogeneous な菌株の存在が知られているが⁹⁾、FK 037 は DMPPC 高度耐性細胞に対してある程度の抗菌力を有するために、このような効果が現れたものと考えられる。さらに、マウス全身感染に対する治療効果において、FK 037 がセフェム剤の中でもっとも優れ、感染菌量による治療効果の変動も他の β -ラクタム剤に比べ小さく、*in vitro* の成績を反映した結果となった。現在、臨床の場で、MRSA 感染症の治療に使用されている VCM との比較において、*in vitro* MIC の開き (16~32 倍) に比し、感染治療効果 (ED_{50}) の開き (2~6 倍) は比較的小さく、これから単純に臨床投与量を予測すると VCM が 500 mg \times 2 回/日であるならば FK 037 の場合 2~3 g \times 2 回/日で MRSA 感染症の治療に効果を示すことが期待される。

グラム陰性の腸内細菌群の中でも、*C. freundii* や *Enterobacter* などにおいては、 β -ラクタマーゼの高度産生や外膜透過性の低下による第 3 世代セフェム剤に耐性を示す菌株が存在するが、FK 037 はそれらの菌株に対しても比較的強い抗菌力を示した。このことは、すでに報告されているように FK 037 は CPR と同様⁹⁾、 β -ラクタマーゼに対する高い安定性と低い親和性に起因すると考えるのが妥当であろう。しかしながら、本実験に使用した Ia 型セファロスポリナーゼ産生の *C. freundii* GN 346 に、CPR は高い安定性と低い親和性を示すが、FK 037 および CAZ の場合、両剤とも高い安定性を示すが、親和性も高く、両剤の抗菌力の差を説明することができない。これは恐らく両剤の外膜透過性の差に起因すると考えられ、今後検討する必要がある。いずれにしても、*in vitro* 抗菌力と同様、*C. freundii* および *E. cloacae* によるマウス全身感染において、FK 037 は CPR と同様 CAZ より明らかに優れた治療効果を示したことは、第 3 世代セフェム剤を卓越した特徴の一つであろう。本実験における *P. aeruginosa* によるマウス全身感染に対する FK 037 の治療効果は、CPR と同等で CAZ より劣り、

CPZ より優れ、両剤の中間的な位置付けであるが、さらに株数を増やし本剤の *P. aeruginosa* に対する有用性を明確にする必要がある。また、*P. aeruginosa* による全身感染に対する単回投与と 3 回分割投与時の治療効果において、セフェム剤と IPM/CS とは相反する挙動を示したことは興味ある成績である。すなわち、セフェム剤の治療効果は 3 回分割の方が優れるのに対し、カルバペネムは単回投与の方が優れた。これらは、両系統の *P. aeruginosa* に対する MIC 以上の濃度での殺菌力、殺菌速度および sub-MIC 濃度での増殖抑制効果の差に起因するものと思われる。

第 3 世代セフェム剤の広範な使用が MRSA の出現を招いた原因の一つと考えられているが、今後、ブドウ球菌属を含むグラム陽性球菌に対する抗菌力が強められた第 4 世代セフェム剤の使用により、MRSA を選択する可能性が低くなってくものと考えられる。その中でも、耐性度の高い MRSA に比較的優れた抗菌力を示す FK 037 は、より MRSA を選択しにくい薬剤であると考えられる。

文 献

- 1) Mine Y, Watanabe Y, Sakamoto H, Hatano K, Kuno K, Higashi Y, Kamimura T, Matsumoto Y, Tawara S, Matsumoto F, Kuwahara S: *In vitro* Antibacterial Activity of FK 037, a Novel Parenteral Broad-Spectrum Cephalosporin; *J. Antibiotics* 46: 71~87, 1993
- 2) Mine Y, Watanabe Y, Sakamoto H, Hatano K, Wakai Y, Kamimura T, Tawara S, Matsumoto S, Matsumoto F, Kuwahara S: *In vivo* Antibacterial Activity of FK 037, a Novel Parenteral Broad-Spectrum Cephalosporin; *J. Antibiotics* 46: 88~98, 1993
- 3) Mine Y, Watanabe Y, Sakamoto H, Hatano K, Kuno K, Kamimura T, Tawara S, Matsumoto Y, Matsumoto F, Kuwahara S: Excellent activity of FK 037, a novel parenteral broad-spectrum cephalosporin, against methicillin-resistant *Staphylococci*; *J. Antibiotics* 46: 99~119, 1993
- 4) 日本化学療法学会 MIC 測定法改訂委員会: 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) Waley S G: A spectrophotometric assay of β -lactamase action on penicillins. *Biochem J* 139: 780~789, 1974
- 6) Bliss C I: *Statistics in bioassay*. Academic Press, New York, 1953
- 7) Jones R N, Thornsberry C, Barry A L, Ayers L, Brown S, Daniel J, Fuchs P C, Gavan T L, Gerlach E H, Matsen J M, Reller L B, Sommers H M: Disk diffusion testing, quality control guidelines, and antimicrobial spectrum of HR 810, a

- fourth-generation cephalosporin, in clinical microbiology laboratories J. Clin. Microbiol. 20: 409~412, 1984
- 8) de Lencastre H, Figueiredo A, Urban C, Rahal J, Tomasz A: Multiple mechanisms of methicillin resistance and improved methods for detection in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agent Chemother 35: 632~639, 1991
- 9) Cullmann W, Dick W: Cefpirome (HR 810); Lack of selection of β -lactamase over producing variants. J. Antibiotics 38: 912~919, 1985

In vitro and *in vivo* antibacterial activity of FK 037, a new parenteral cephalosporin

Yasuyuki Higashi, Shuichi Miyazaki, Yasuko Kaneko,
Keizo Yamaguchi and Sachiko Goto

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

The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities, and β -lactamase stability of FK 037 were compared with those of cefpirome (CPR), flomoxef (FMOX) and ceftazidime (CAZ). FK 037 demonstrated potent broad-spectrum activity against clinical isolates of gram-positive bacteria including staphylococci and gram-negative bacteria including *Pseudomonas aeruginosa*. In particular, it was the most active of all the cephalosporins tested against highly methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (H-MRSA). Moreover, FK 037, like CPR, exhibited significant activity against *Enterobacter cloacae* and *Citrobacter freundii*, both of which were highly resistant to CAZ. FK 037 was highly stable to hydrolysis by various kinds of β -lactamases and showed an extremely low affinity for β -lactamases. FK 037 had potent therapeutic activity against lethal systemic infections due to a wide variety of gram-positive and gram-negative bacteria. The therapeutic activity of FK 037 correlated well with its MIC value. In particular, FK 037 was the most effective of the cephalosporins tested against MRSA systemic infection, although it was less active than vancomycin. Moreover, the therapeutic effect of FK 037 was only minimally influenced by challenge doses, while those of CPR, FMOX and imipenem/cilastatin were markedly reduced by high challenge doses. Against *P. aeruginosa* infection, FK 037 was more effective at triple divided doses than at a single dose.