

新セフェム系抗生物質 cefozopran のペニシリン結合蛋白質への  
親和性、殺菌・溶菌作用ならびに形態変化誘発作用について

中尾 雅文・野路 弓子・岩日 朋幸・山崎 俊幸

今 田 哲

武田薬品創業第三研究所\*

新セフェム系抗生物質 cefozopran の抗菌作用発現における特徴を明らかにする目的で, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, 及び *Pseudomonas aeruginosa* のペニシリン結合蛋白質 (PBP) への親和性、殺菌・溶菌作用ならびに形態変化誘発作用について対照の ceftazidime (CAZ), flomoxef (FMOX), cefpirome (CPR) 及び cefclidin (CFCL) と比較検討した。Cefozopran は *S. aureus* の PBP 1 及び 2 に対照セフェム薬と同様に高い親和性を示し、これら PBP への親和性と抗菌力との間に相関がみられた。*E. coli* に対しては対照薬剤と同様 PBP 3 に最も高い親和性を示し、その  $I_{50}$  値は MIC 値に近似した。*P. aeruginosa* の PBP 3 にも高い親和性を示したが、抗菌力とは相関しなかった。Cefozopran はいずれの被験菌にも 1/2 MIC 以上の濃度で強い殺菌作用を示すとともに、*S. aureus* 及び *E. coli* には溶菌作用を示した。Cefozopran 処理により *S. aureus* は細胞壁が肥厚化するとともに崩壊して溶菌した。*E. coli* 及び *P. aeruginosa* は MIC 以下の濃度から伸長化し、高濃度域ではスフェロプラスト形成を伴って溶菌した。

**Key words:** cefozopran, PBP, 殺菌・溶菌作用, 形態変化

Cefozopran, (-)-1-[[[6 R, 7 R)-7-[(Z)-2-(5-amino-1, 2, 4-thiadiazol-3-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-2-carboxy-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-yl] methyl] imidazo [1, 2-*b*] pyridazinium hydroxide, inner salt monohydrochloride は *Staphylococcus aureus* をはじめとするグラム陽性菌から *Pseudomonas aeruginosa* を含むグラム陰性菌にまで幅広く優れた抗菌活性を示し、既存のセフェム薬にみられないバランスのとれた抗菌スペクトルを有する<sup>1,2)</sup>。本研究では cefozopran の細菌学的評価の一環として、*S. aureus*, *Escherichia coli* 及び *P. aeruginosa* のペニシリン結合蛋白質 (PBP) への親和性、殺菌・溶菌作用ならびに形態変化誘発作用を対照のセフェム系薬剤と比較検討した。

## I. 材料と方法

### 1. 使用薬剤

Cefozopran, cefpirome (CPR) 及び cefclidin (CFCL) は武田薬品工業株式会社創業第三研究所で合成した標品を、ceftazidime (CAZ, 日本グラクソ) 及び flomoxef (FMOX, 塩野義製薬) は市販品を用いた。

### 2. 使用菌株及び培養方法

実験室保存 *S. aureus* FDA 209 P, *S. aureus* N 200 P (MRSA), *E. coli* NIHJ JC-2 及び *P. aeruginosa* P 9 は Trypticase soy agar (TSA; BBL Microbiology Systems) で継代した。*S. aureus* FDA 209 P 及び *S. aureus* N200P は Mueller-Hinton broth (MHB; BBL Microbiology Systems) で、*E. coli* NIHJ JC-2 は Trypticase soy broth (TSB; BBL Microbiology Systems) で、*P. aeruginosa* P 9 は King A broth<sup>3)</sup> でそれぞれ 37°C, 一夜培養後実験に供した。

### 3. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

寒天平板希釈法での MIC は日本化学療法学会標準法<sup>4)</sup>に準じて測定した。液体希釈法での MIC は MHB を用いて調製した約  $10^8$  CFU/ml の菌液 4.5 ml に 2 倍希釈濃度系列の薬剤 0.5 ml を添加して 37°C, 一夜培養後、肉眼的に培地の混濁が認められない最小薬剤濃度とした。

### 4. PBP への親和性測定

対数増殖期の菌の膜画分より調製した PBP を [<sup>14</sup>C]-benzylpenicillin (比活性  $2 \times 10^8$  Bq/mmol) と 30°C, 10 分間反応後、*S. aureus* は Utsui ら<sup>5)</sup>の方法、*E. coli*

\*〒 532 大阪市淀川区十三本町 2-17-85

Table 1. Antibacterial activities of cefozopran compared with those of ceftazidime, flomoxef, cefpirome and cefclidin

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )									
	Cefozopran		Ceftazidime		Flomoxef		Cefpirome		Cefclidin	
	agar	broth	agar	broth	agar	broth	agar	broth	agar	broth
<i>S. aureus</i> FDA 209 P	0.39	0.78	6.26	12.5	0.2	0.39	0.39	0.78	6.25	12.5
<i>S. aureus</i> N 200 P	50	100	>100	>100	50	100	50	100	>100	>100
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.05	0.2	0.2	0.39	0.05	0.2	0.1	0.1	0.1	0.39
<i>P. aeruginosa</i> P 9	0.78	0.78	1.56	1.56	>100	>100	6.25	3.13	0.78	0.2

及び *P. aeruginosa* は Nozaki ら<sup>9)</sup>の方法に準じて SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動とフルオログラフィーを行い検出した。PBP に対する被験薬剤の親和性は、各 PBP への [ $^{14}\text{C}$ ] -benzylpenicillin の結合を 50% 阻害する薬剤濃度 ( $I_{50}$ ) として表した。

#### 5. 殺菌作用

約  $10^6\text{CFU/ml}$  に調製した菌液 9 ml と 2 倍希釈濃度系列の薬剤 1 ml を T 字形試験管に分注してモノ式振盪培養装置上で  $37^\circ\text{C}$  で培養した。培養開始後経時的に培養液の一部を採取し、*S. aureus* 及び *E. coli* は滅菌蒸留水で、*P. aeruginosa* は King A broth で適宜希釈を行い、TSA を用いて混濁培養した。 $37^\circ\text{C}$ 、一夜培養後、生育したコロニー数より各検体 1 ml 中の生菌数 (CFU) を求めた。

#### 6. 溶菌作用

MHB を用いて約  $10^6\text{CFU/ml}$  に調製した被験菌を Biophotorecoder (TC-106, Advantec) を用いて  $37^\circ\text{C}$  で振盪培養し、透過度が 95% に達した時点で 2 倍希釈濃度系列の薬剤を添加して以後の培養液の濁度変化を自動的に記録した。

#### 7. 染色標本を用いた光学顕微鏡による形態観察

殺菌作用の項で記載したと同様の方法で培養した被験菌に 2 倍希釈濃度系列の薬剤を添加し、2 及び 4 時間後に培養液を 1 白金耳採取し、スライドガラス上に塗抹した。常法に従って固定を行い、メチレンブルー液で染色後鏡検した。形態変化の判定は Tsuchiya ら<sup>7)</sup>の方法に従って行った。

#### 8. 位相差顕微鏡による形態観察

スライドガラス上に種々の濃度の薬剤を含む TSA 薄層を作製し、この上に被験菌を塗抹したカバーガラスを載せ、周囲をパラフィンで封じた。標本を  $37^\circ\text{C}$  に保温した位相差顕微鏡に装着し、経時的に観察、撮影した。

#### 9. 電子顕微鏡による形態観察

薬剤処理した菌は 0.05 M カコジル酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.2) に溶解した 2.5% グルタルアルデヒドで 3 時間前固定し、Kellenberger 緩衝液<sup>8)</sup> (pH 6.1) で洗浄後同緩衝液に溶解した 1% オスミウム酸で 13

時間後固定した。固定した菌をエタノール系列で脱水し、走査 (SEM) 及び透過電子顕微鏡 (TEM) 観察用の試料を Nakao ら<sup>9)</sup>の方法に従って作製した。

## II. 結 果

### 1. 抗菌力

本実験に用いた被験菌に対する cefozopran の抗菌力を対照薬剤と比較した結果を Table 1 に示す。*S. aureus* に対する cefozopran の抗菌力は FMOX 及び CPR とほぼ同等で CAZ や CFCL を上回った。*E. coli* に対しては cefozopran は対照薬剤と同等ないしやや強い抗菌力を示し、*P. aeruginosa* に対する活性は CFCL に次いで高いことが認められた。

### 2. PBP への親和性

各被験菌の PBP に対する cefozopran 及び対照薬剤の親和性を調べた結果を Table 2 に示す。Cefozopran は *S. aureus* FDA 209 P の PBP 1 及び 2 に高い親和性を示し、これら PBP に対する  $I_{50}$  値は FMOX, CPR など *in vitro* 抗菌活性が類似した対照薬剤での値とほぼ同等であった。*S. aureus* N 200 P の PBP 2' に対して cefozopran は CPR に次ぐ高い親和性を示した。*E. coli* NIHJ JC-2 の PBP のうち cefozopran は対照セフェム薬と同様 PBP 3 に選択的に高い親和性を示し、その  $I_{50}$  値は MIC 値に近似した。*P. aeruginosa* P 9 において cefozopran は PBP 1, 2 及び 3 に被験薬剤中最もバランスのとれた親和性を有しており、PBP 3 に対する  $I_{50}$  は MIC よりも低値であった。

### 3. 殺菌作用

Cefozopran 及び対照セフェム薬の *S. aureus* FDA 209 P, *E. coli* NIHJ JC-2 ならびに *P. aeruginosa* P 9 に対する殺菌作用発現様式を Fig. 1 に示す。Cefozopran は *S. aureus* FDA209P に対して  $0.39\mu\text{g/ml}$  (1/2 MIC) 以上で殺菌作用を示し、殺菌力の強さは対照セフェム薬と同程度であった。*E. coli* NIHJ JC-2 に対して cefozopran は  $0.1\mu\text{g/ml}$  (1/2 MIC) 以上で殺菌作用を示し、薬剤添加 2 時間以内の殺菌力は対照セフェム薬を上回った。*P. aeruginosa* P 9 に対して cefozopran は  $0.39\mu\text{g/ml}$  (1/2 MIC) 以上で殺菌作用を示し、殺菌力の強さは対照セフェム薬と同等ないしやや

Table 2. Affinities of ceftazidime, ceftazidime, flomoxef, ceftazidime and ceftazidime for PBPs of *S. aureus*, *E. coli* and *P. aeruginosa*

Organism	PBP	$I_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>a</sup>				
		Cefazopran	Ceftazidime	Flomoxef	Ceftazidime	Ceftazidime
<i>S. aureus</i> FDA 209 P	1	0.067	0.208	0.16	0.090	0.14
	2	0.171	0.568	0.092	0.289	0.94
	3	9.31	21.7	0.085	10.1	>100
	4	10.4	42.9	0.57	46.1	90.5
<i>S. aureus</i> N 200 P (MRSA)	1	0.058	0.23	0.33	0.083	0.285
	2'	39.6	235	1380	21.4	93.7
	2	0.16	0.58	0.11	0.157	1.89
	3	1.3	7.4	0.13	1.27	96.0
	4	3.7	19.7	0.014	35.2	64.2
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	1A	5.2	1.4	0.21	6.9	61.8
	1B	6.5	2.9	1.5	2.7	60.0
	2	43.6	58.9	78.2	3.7	66.9
	3	0.24	0.17	0.10	0.098	0.30
	4	40.7	>100	4.4	58.3	>100
	5/6	>100	>100	<2.38	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i> P 9	1A	0.23	0.15	0.068	0.10	1.0
	1B	2.8	13.8	1.7	8.3	21.2
	2	0.20	0.17	>100	78.4	>100
	3	0.053	0.034	0.032	1.7	0.033
	4	2.3	9.1	0.040	3.4	45.7
	5/6	>100	>100	<18.6	>100	>100

<sup>a</sup>Concentration required to inhibit [<sup>14</sup>C]-benzylpenicillin binding by 50%.

上回った。

#### 4. 溶菌作用

Ceftazopran 及び対照セフェム薬の *S. aureus* FDA 209 P, *E. coli* NIHJ JC-2 ならびに *P. aeruginosa* P 9 に対する溶菌作用発現様式を Fig. 2 に示す。*S. aureus* FDA 209 P に対して ceftazopran は濃度依存性の増殖抑制効果を示し、1.56  $\mu\text{g/ml}$  (2 MIC) 以上で溶菌による濁度の減少がみられた。対照セフェム薬のうち CAZ 及び CPR の溶菌作用は ceftazopran とほぼ同等であり、CFCL の作用はこれよりも弱かった。*E. coli* NIHJ JC-2 に対して ceftazopran は 0.1  $\mu\text{g/ml}$  (1/2 MIC) 以上で著明な濁度の減少をもたらした。CAZ 及び CPR では 2 MIC 以上で濁度の減少がみられたが、CFCL では濁度の増加が阻害されたのみであった。*P. aeruginosa* P 9 では ceftazopran により濁度の増加がやや阻害されたが、減少はみられず、対照セフェム薬においても明らかな溶菌作用は認められなかった。

#### 5. 染色標本を用いた光学顕微鏡による形態観察

Ceftazopran ならびに対照セフェム薬で誘発される *E. coli* NIHJ JC-2 及び *P. aeruginosa* P 9 の形態変化プロファイルを Fig. 3 に示す。*E. coli* NIHJ JC-2 では ceftazopran 作用 2 時間後に 0.1  $\mu\text{g/ml}$  (1/2 MIC) 以上の濃度で細胞が伸長化し、高濃度域ではスフェロプラスト形成を伴う溶菌が多くみられた。4 時間後には MIC 付近のより低濃度域での溶菌率が高まった。

*P. aeruginosa* P 9 では ceftazopran 作用 2 時間後に 0.1~6.25  $\mu\text{g/ml}$  (1/8~8 MIC) の広い濃度範囲で細胞が特異的に伸長化し、さらに高濃度では溶菌の比率が高まった。対照セフェム薬により誘発される形態変化のプロファイルは ceftazopran のそれに類似した。

#### 6. 位相差顕微鏡による形態観察

*S. aureus* FDA 209 P, *E. coli* NIHJ JC-2 及び *P. aeruginosa* P 9 を ceftazopran ならびに対照セフェム薬の各 MIC 濃度で 4 時間処理した後の形態変化を Fig. 4 に示す。*S. aureus* FDA 209 P は細胞分裂が阻害されて膨化するとともに、細胞質が希薄化した。*E. coli* NIHJ JC-2 では伸長化した細胞にバルジあるいはスフェロプラスト様構造が形成されるとともに、溶菌像が多くみられた。*P. aeruginosa* P 9 では細胞がフィラメント化し、その中央部に小型のバルジが形成されたが、溶菌像はみられなかった。

#### 7. 電子顕微鏡による形態観察

*S. aureus* FDA 209 P, *E. coli* NIHJ JC-2 及び *P. aeruginosa* P 9 について MIC の ceftazopran で 4 時間処理後の電子顕微鏡像を Fig. 5 に示す。*S. aureus* FDA 209 P は細胞分裂が阻害されて膨大化し、隔壁の肥厚が顕著であった。また、細胞壁が各所で崩壊して溶菌に移行する像が多数観察された。*E. coli* NIHJ JC-2 は伸長化するとともに、細胞質が希薄になり、細胞質膜の断裂を伴って溶菌した。*P. aeruginosa* P 9 はフィ

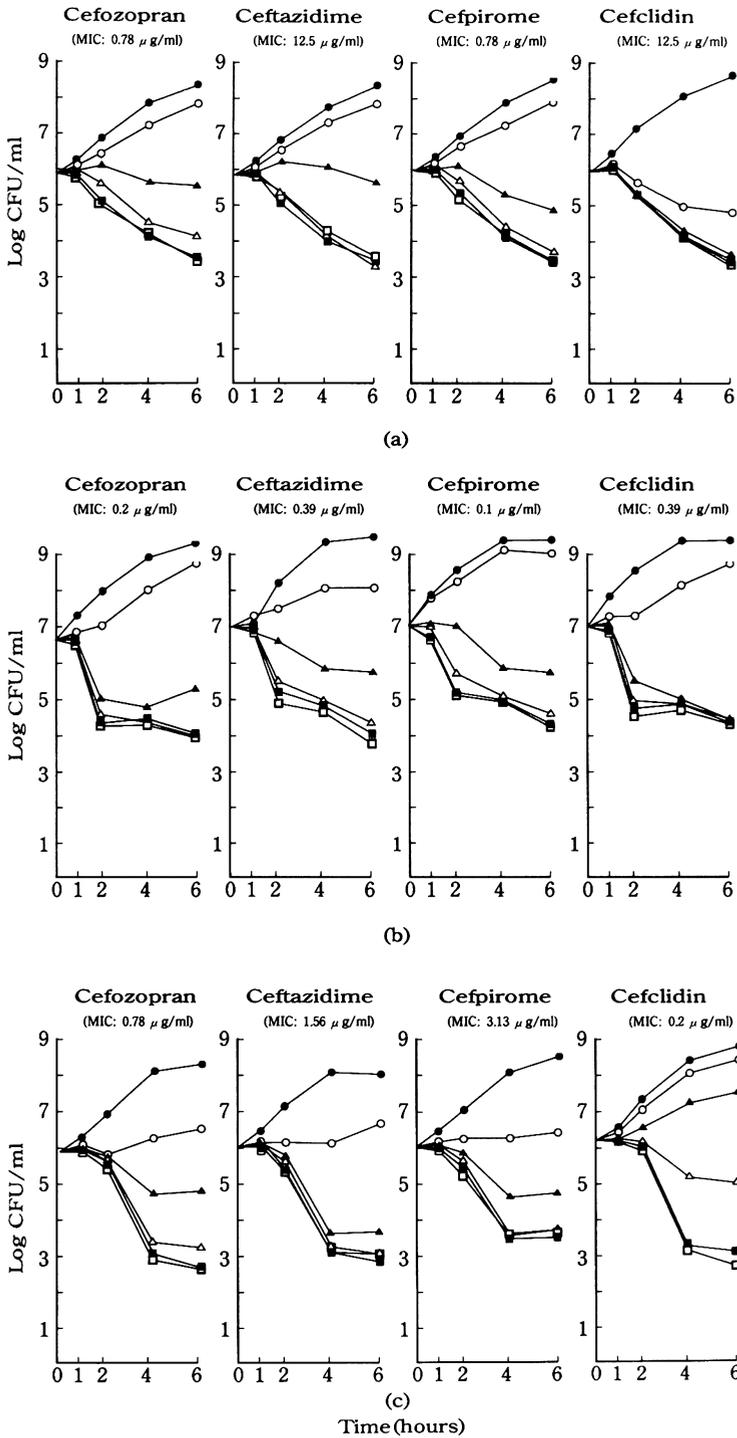


Fig. 1 Bactericidal activity of cefozopran, ceftazidime, cefpirome and cefclidin against *S. aureus* FDA 209P (a), *E. coli* NIHJ JC-2 (b) and *P. aeruginosa* P9 (c). ●, Control; ○, 1/4 MIC; ▲, 1/2 MIC; △, 1 MIC; ■, 2 MIC; □, 4 MIC.

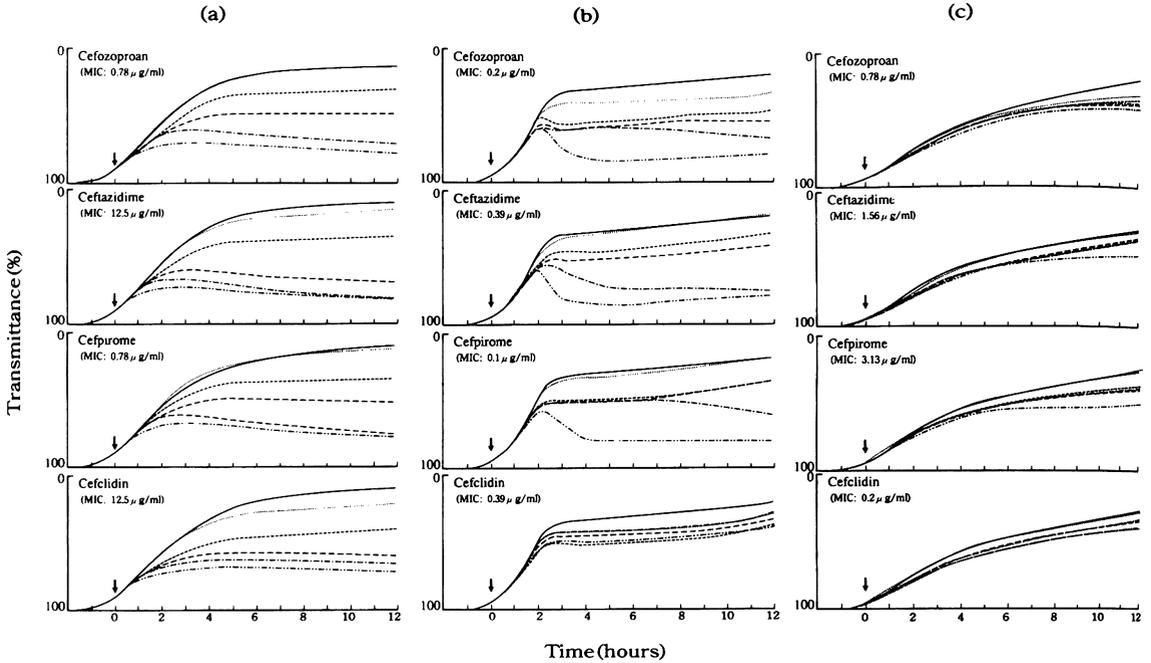


Fig. 2 Bacteriolytic activity of ceftazidime, cefpirome and cefclidlin against *S. aureus* FDA 209P (a), *E. coli* NIHJ JC-2 (b) and *P. aeruginosa* P9(c). Arrows indicate the time of drug addition. —, normal; - - -, 1/4 MIC; ·····, 1/2 MIC; - · - ·, 1 MIC; - - - -, 2 MIC; - - - - - , 4 MIC.

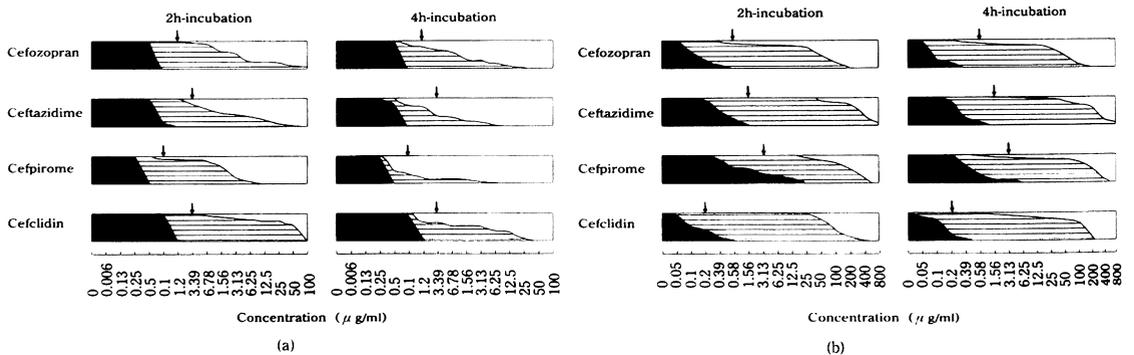


Fig. 3 Morphological response profiles of *E. coli* NIHJ JC-2 (a) and *P. aeruginosa* P9 (b) cells exposed to ceftazidime, cefpirome or cefclidlin. Arrows indicate the MIC. Vertical axis indicates the proportions of: ■, normal cells; ▨, filaments; □, spheroplasts and lysed cell debris.

ラメント化するとともに、隔壁形成部位にバルジが生じたが、細胞質内にはほとんど変化がみられなかった。

III. 考 察

Ceftazidime は本実験に用いた被験菌の致死標的とされる PBP に高い親和性を示した。*S. aureus* FDA 209 P では PBP 1 及び 2 への親和性が高く、対照セフェム薬のうち抗菌活性が類似した CPR も同様の結合親和性を示した。*S. aureus* における PBP の役割については現在十分には解明されていないが、増殖阻害な

らびに殺菌、溶菌作用の発現には複数の PBP の阻害が関与しており、特に溶菌の誘発には PBP 1 と 2 あるいは 3 の同時阻害が必要とされている<sup>10-12</sup>。Ceftazidime は *S. aureus* FDA 209 P に対して濃度依存性の殺菌作用と細胞壁の崩壊を伴う溶菌作用を示したが、これらの抗菌作用は PBP 1 及び 2 への高い親和性が反映されたためと思われる。MRSA である *S. aureus* N 200 P の致死標的とされる PBP 2' への ceftazidime の親和性は CPR に次いで高く、同等の抗菌活性

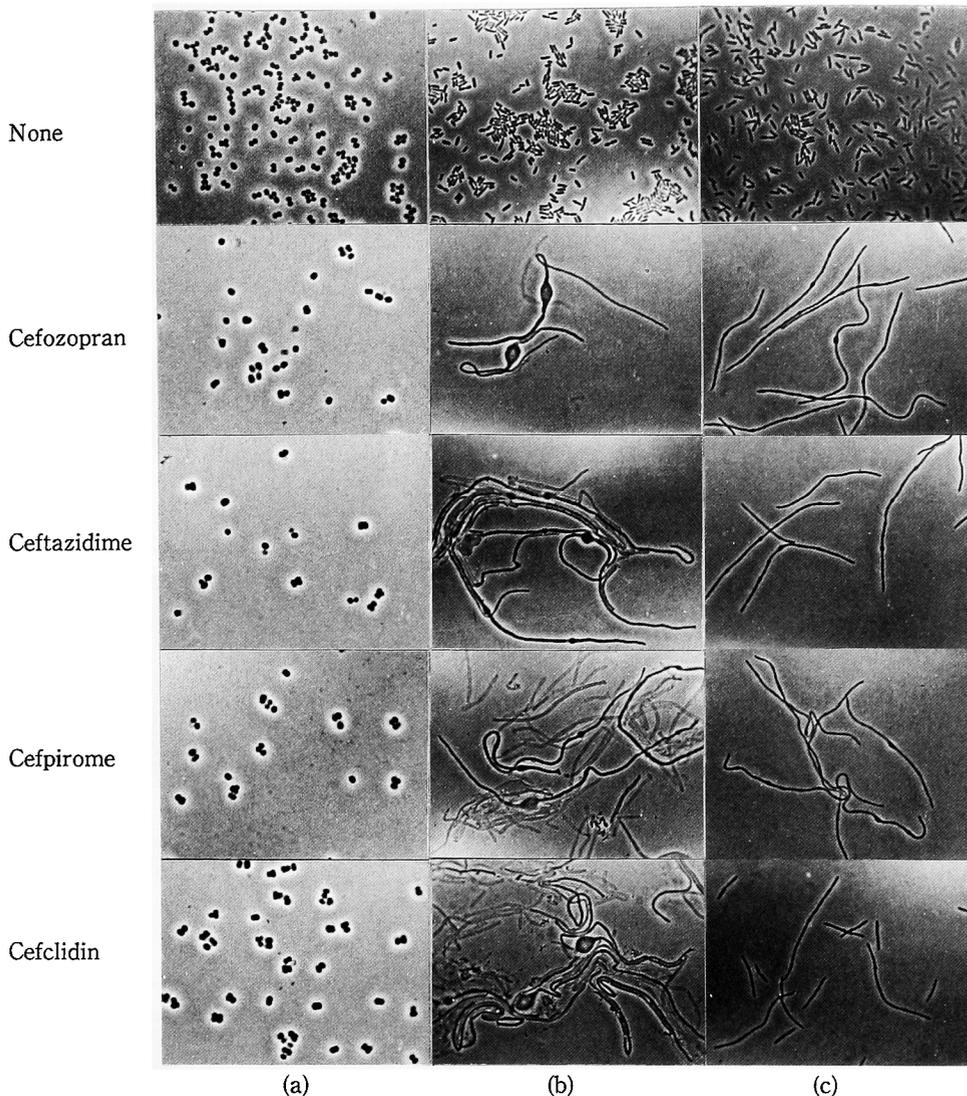


Fig. 4 Phase-contrast micrographs of : (a) *S. aureus* FDA 209P; (b) *E. coli* NIHJ JC-2; (c) *P. aeruginosa* P9 exposed to cefozopran, ceftazidime, cefpirome or cefclidin at their respective MICs for 4 h.

を有する FMOX よりも低い  $I_{50}$  値を示した。Cefozopran はほとんどの対照セフェム薬と同様 *E. coli* NIHJ JC-2 及び *P. aeruginosa* P9 の PBP のうち、隔壁形成時のペプチドグリカン合成に関与している PBP 3<sup>13)</sup> に最も高い親和性を示したが、この特性は本剤が広い濃度範囲でこれらの菌の伸長化を惹起することに反映されていた。Spratt<sup>14)</sup> は PBP 3 の失活が菌の死につながることを *E. coli* K 12 の温度感受性変異株を用いて明らかにしたが、今回の実験では *E. coli* NIHJ JC-2 において PBP 3 の  $I_{50}$  値と MIC 値とに相関がみられるとともに、MIC で殺菌及び溶菌作用が発現さ

れたことから、cefzopran は PBP 3 に結合することにより菌を致死させるものと思われる。一方、*P. aeruginosa* P9 ではいずれの薬剤も PBP 3 に対する  $I_{50}$  値が MIC 値よりも小さく、本菌では外膜が薬剤透過障壁として作用していることが推察される。Cefozopran は *P. aeruginosa* P9 に対して MIC 以下の濃度で殺菌作用を示したが、その際にみられる形態変化はほぼすべて細胞の伸長化であり、溶菌はおこらなかった。したがって、他の  $\beta$ -ラクタム薬<sup>15)</sup> の場合と同様 cefzopran の作用を受けた菌の一部は溶菌することなく viability を失うものと考えられる。Cefzopran

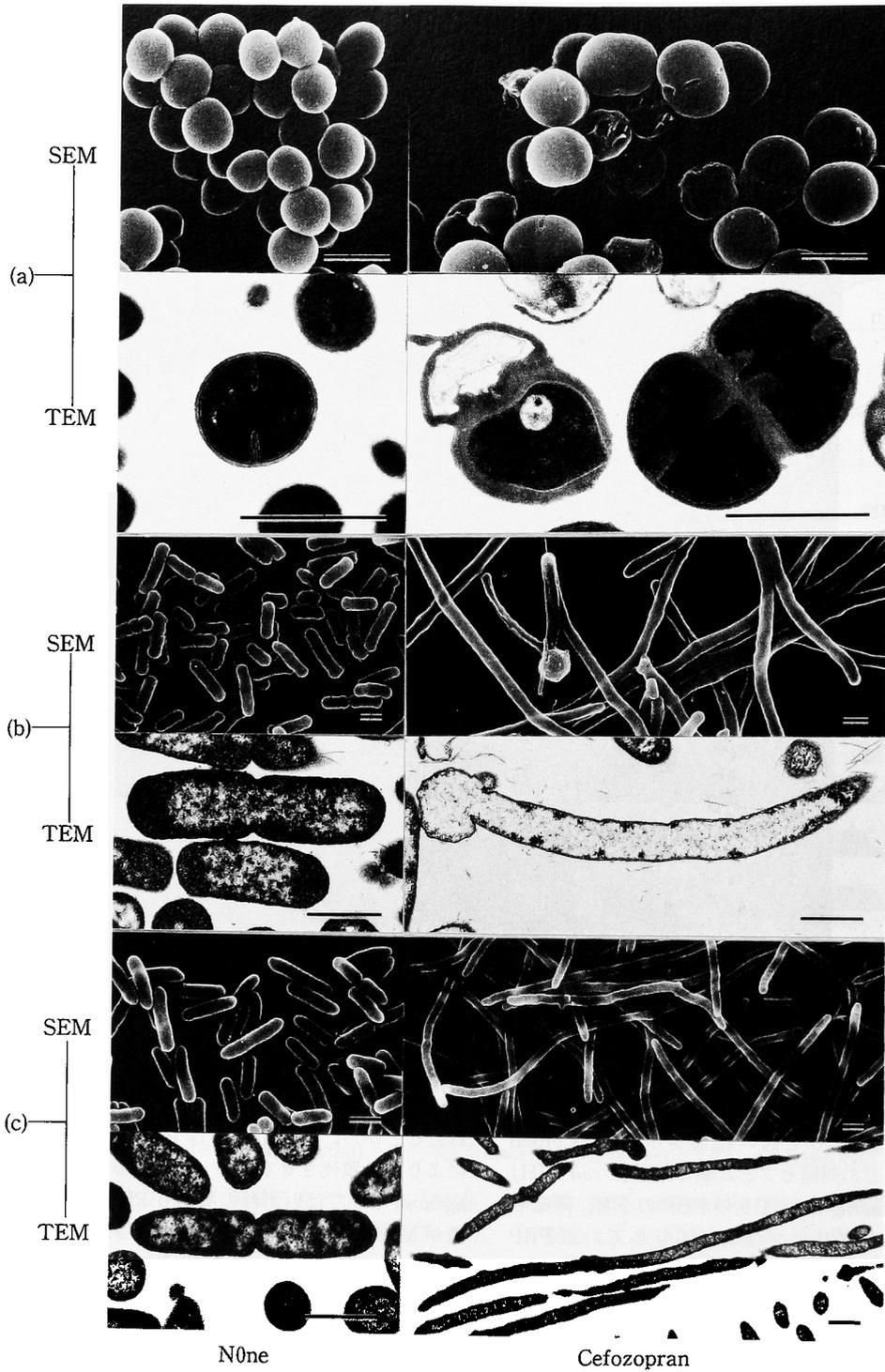


Fig. 5 Electron micrographs of: (a) *S. aureus* FDA 209P; (b) *E. coli* NIHJ JC-2; (c) *P. aeruginosa* P9 exposed to cefozopran at the respective MICs for 4 h. Bars represent 1  $\mu\text{m}$ .

は既存のセフェム薬を上回る抗菌スペクトルと抗菌活性を有している<sup>2)</sup>が、PBP への親和性、殺菌・溶菌作用ならびに形態変化誘発作用においても対照セフェム薬と同等以上であることが明らかにされた。

#### 文 献

- 1) Miyake A, Yoshimura Y, Yamaoka M, Nishimura T, Hashimoto N, Imada A: Studies on condensed-heterocyclic azolium cephalosporins IV. Synthesis and antibacterial activity of 7 $\beta$ -[2-(5-amino-1, 2, 4-thiadiazol-3-yl)-2(Z)-alkoxyiminoacetamido]-3-(condensed-heterocyclic azolium) methyl cephalosporins including SCE-2787. J Antibiotics 45: 709~720, 1992
- 2) Iwahi T, Okonogi K, Yamazaki T, Shiki S, Kondo M, Miyake A, Imada A: *In vitro* and *in vivo* activities of SCE-2787, a new parenteral cephalosporin with a broad antibacterial spectrum. Antimicrob Agents Chemother 36: 1358~1366, 1992
- 3) King E O, Ward M K, Raney D E: Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. J Lab Clin Med 44: 301~307, 1954
- 4) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 5) Utsui Y, Yokota T: Role of an altered penicillin-binding protein in methicillin- and cephem-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 28: 397~403, 1985
- 6) Nozaki Y, Imada A, Yoneda M: SCE-963, a new potent cephalosporin with high affinity for penicillin-binding proteins 1 and 3 of *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother 15: 20~27, 1979
- 7) Tsuchiya K, Kondo M, Kida M, Nakao M, Iwahi T, Nishi T, Noji Y, Takeuchi M, Nozaki Y: Cefmenoxime (SCE-1365), a new novel broad-spectrum cephalosporin: *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities. Antimicrob Agents Chemother 19: 56~65, 1981
- 8) Kellenberger E, Ryter A, Sechaud J: Electron microscope study of DNA-containing plasmids. II. Vegetative and mature phage DNA as compared with normal bacterial nucleoids in different physiological states. J Biophys Biochem Cytol 4: 671~678, 1958
- 9) Nakao M, Yukishige K, Kondo M, Imada A: Novel morphological changes in Gram-negative bacteria caused by combination of bulgecin and cefmenoxime. Antimicrob Agents Chemother 30: 414~417, 1986
- 10) Reynolds P E: The essential nature of staphylococcal penicillin-binding proteins. In Antibiotic inhibition of bacterial cell surface assembly and function. (Actor P, Daneo-Moore L, Higgins M L, Salton M R J, Shockman G D ed.), p. 343~351, American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1988
- 11) Beise F, Labischinski H, Giesbrecht P: Role of the penicillin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* in the induction of bacteriolysis by  $\beta$ -lactam antibiotics. In Antibiotic inhibition of bacterial cell surface assembly and function. (Actor P, Daneo-Moore L, Higgins M L, Salton M R J, Shockman G D ed.), p. 360~366, American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1988
- 12) Beise F, Labischinski H, Giesbrecht P: Selective inhibition of penicillin-binding proteins and its effects on growth and architecture of *Staphylococcus aureus*. FEMS Microbiol Lett 55: 195~202, 1988
- 13) Botta G A, Park J T: Evidence for involvement of penicillin-binding protein 3 in murein synthesis during septation but not cell elongation. J Bacteriol 145: 333~340, 1981
- 14) Spratt B G: Temperature-sensitive cell division mutants of *Escherichia coli* with thermolabile penicillin-binding proteins. J Bacteriol 131: 293~305, 1977
- 15) Nakao M, Kondo M, Imada A: Bactericidal and bacteriolytic activities of carumonam and its effect on bacterial morphology. J Antimicrob Chemother 17: 433~439, 1986

Antibacterial properties of ceftazidime,  
a new cephem antibiotic

Masafumi Nakao, Yumiko Noji, Tomoyuki Iwahi,  
Toshiyuki Yamazaki and Akira Imada

Pharmaceutical Research Laboratories III, Takeda Chemical Industries, Ltd,  
17-85, Juso-Honmachi, 2-Chome, Yodogawa-ku, Osaka 532, Japan

The *in vitro* antibacterial properties of ceftazidime, a new semi-synthetic cephalosporin, were evaluated by comparing its affinities for penicillin-binding proteins (PBPs), its bactericidal and bacteriolytic activities, and its effect on bacterial morphology with those of ceftazidime (CAZ), flomoxef (FMOX), ceftiofime (CPR) and ceftiofime (CFCL). Ceftazidime and CPR had higher affinities for PBPs 1 and 2 of *Staphylococcus aureus*, and more potent anti-staphylococcal activity, than CAZ and CFCL. All four antibiotics had similar activity against *Escherichia coli*, and showed similar affinities for PBP 3 of this organism. Ceftazidime, CAZ and CFCL were more potent than FMOX and CPR against *Pseudomonas aeruginosa*, and showed higher affinities for *P. aeruginosa* PBP 3. The broad-spectrum antibacterial activity of ceftazidime can be explained, in general, by its high affinities for PBPs. Ceftazidime, at half its MIC level or higher, was bactericidal against all the bacterial strains examined, as were the other antibiotics tested. The bacteriolytic effects of ceftazidime against *S. aureus* and *E. coli* were comparable or superior to those of the reference antibiotics. Exposure of *S. aureus* to ceftazidime resulted in the formation of cell walls with irregular septa which subsequently thickened and collapsed. Elongation was the major morphological change in *E. coli* and *P. aeruginosa* cells treated with ceftazidime. *E. coli* cells were converted to 'ghosts', infrequent in *P. aeruginosa*, after prolonged incubation with higher concentrations of ceftazidime.