

新規セフェム系抗生物質 cefozopran の 細菌学的評価

五島瑳智子・宮崎 修一・金子 康子・辻 明 良

桑 原 章 吾

東邦大学医学部微生物学教室*

新しい注射用セフェム剤 cefozopran (CZOP) の *in vitro* 抗菌力を cefpirome (CPR), cefepime (CFPM), cefclidin (CFCL), ceftazidime (CAZ) および flomoxef (FMOX) と比較した。また, *Streptococcus pneumoniae* TMS 3 株によるマウス呼吸器感染に対する CZOP の治療効果を CAZ および CPR と比較した。

CZOP はグラム陽性菌, グラム陰性菌に強い抗菌力を示し, その抗菌力はグラム陽性菌に対しては CAZ, CFCL より強く, グラム陰性菌に対しては CAZ, FMOX より強かった。また, *Pseudomonas aeruginosa* に対する抗菌力は CPR, FMOX より明らかに強く, CAZ と同等の活性を示した。

各種 β -lactamase に対して CZOP は安定であった。

CZOP はマウス組織に良好に移行し, *S. pneumoniae* による呼吸器感染モデルで *in vitro* 抗菌力を反映した強い治療効果を示した。

Key words: cefozopran, *in vitro* 抗菌力, *in vivo* 抗菌力, 体内動態

Cefozopran (CZOP) は武田薬品工業株式会社で開発された, 3 位側鎖に imidazo[1,2-*b*]pyridazinium 基, 7 位側鎖に従来良く用いられてきた aminothiazol 環に代わって 5-amino-1,2,4-thiadiazol 環を有する, 新しい半合成注射用セフェム剤である¹⁾。

本剤はグラム陽性菌, グラム陰性菌に広範囲な抗菌スペクトルを有し, *Staphylococcus aureus* および *Pseudomonas aeruginosa* の両方に強い抗菌力を示すこと, β -lactamase に対して安定であることが報告されている²⁾。

本報は, CZOP の *in vitro* と *in vivo* 抗菌力, β -lactamase 安定性および体内動態を他の抗菌剤と比較した成績である。

I. 材 料 と 方 法

1. 使用菌株

教室保存の標準株および 1984~1988 年の間に臨床材料から分離したグラム陽性菌および陰性菌の多数株を使用した。

2. 使用薬剤

cefazopran (CZOP, 934 μ g/mg, 武田薬品)
ceftazidime (CPR, 786 μ g/mg, Hoechst-Rousel)
cefepime (CFPM, 819 μ g/mg, プリストルマイヤーズ)

cefclidin (CFCL, 762 μ g/mg, エーザイ)
ceftazidime (CAZ, 845 μ g/mg, 新日本実業)
flomoxef (FMOX, 939 μ g/mg, 塩野義製薬)

3. 感受性測定

MIC の測定は, 前培養に Mueller-Hinton broth (MHB; Difco), 感受性測定に Mueller-Hinton medium (MHM; Difco) を用いて, 日本化学療法学会最小発育阻止濃度測定法に準じて寒天平板希釈法にて行った³⁾。*Streptococcus pneumoniae* および *Streptococcus pyogenes* では 5%ウマ脱繊維血液加 MHM を測定培地として用いた。

嫌気性菌の感受性測定は日本化学療法学会の嫌気性菌の感受性測定法⁴⁾に従い, 前培養に GAM broth (日水), 測定培地には GAM 寒天培地 (日水) を用いた。

4. β -Lactamase に対する安定性の測定

Citrobacter freundii GN 346 (Richmond type Ia), *Escherichia coli* 34 (同 Ib), *Proteus vulgaris* GN 76 (同 Ic), *Proteus mirabilis* GN 79 (同 II), *E. coli* ML 1410 RGN 823 (同 III), *Klebsiella pneumoniae* GN 69 (同 IV) を普通ブイヨンで 37°C 振盪培養し, 菌体を超音波で破壊した後, その遠心上清を粗酵素液として用いた。

薬剤の安定性の測定は spectrophotometric (UV)

*〒143 東京都大田区大森西 5-21-16

Table 1. Antibacterial spectra of cefozopran and other antibiotics against aerobic bacteria (Inoculum size: 10⁶ cells/ml)

Organism	MIC (μg/ml)					
	cefzopran	cefpime	cefepime	cefclidin	ceftazidime	flomoxef
<i>Staphylococcus aureus</i> 209 P	0.78	0.39	0.78	6.25	12.5	0.20
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 13228	0.20	0.20	0.39	6.25	6.25	0.20
<i>Enterococcus faecalis</i> TMS 64	6.25	12.5	50	100	>100	100
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.006	0.006	0.012	0.10	0.78	0.05
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type II	0.05	0.025	0.025	0.39	0.39	0.20
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type III	0.05	0.025	0.025	0.39	0.39	0.20
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 10389	0.025	0.006	0.025	0.10	0.20	0.20
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	1.56	0.39	0.39	3.13	6.25	0.20
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.025	0.025	0.025	0.10	0.20	0.10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> IFO 3512	0.025	0.05	0.025	0.10	0.10	0.10
<i>Klebsiella oxytoca</i> 1	0.025	0.025	0.025	0.10	0.10	0.10
<i>Salmonella typhi</i> S 60	0.025	0.05	0.05	0.05	0.78	0.10
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.10	0.025	0.05	0.20	0.05	0.20
<i>Proteus vulgaris</i> IFO 3851	0.05	0.006	0.012	0.05	0.025	0.10
<i>Morganella morganii</i> IFO 3848	0.05	0.006	0.012	0.025	0.025	0.39
<i>Providencia rettgeri</i> IFO 13501	0.006	0.006	0.012	0.025	0.025	0.20
<i>Providencia inconstans</i> IFO 12930	0.006	0.006	0.012	0.025	0.05	0.10
<i>Serratia marcescens</i> IFO 12648	0.012	0.006	0.012	0.05	0.10	0.10
<i>Citrobacter freundii</i> 2	0.012	0.025	0.025	0.05	0.39	0.20
<i>Vibrio cholerae</i> 569 B	0.20	0.05	0.012	3.13	0.10	0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 3445	3.13	6.25	3.13	0.78	3.13	>100

assay 法で求めた。反応は基質として 100 μM の各薬剤を用い、0.05 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) 中 37°C で行った。Penicillinase では ampicillin (ABPC) の加水分解速度を 100 とし、cephalosporinase では cephaloridine (CER) の加水分解速度を 100 とした相対加水分解速度で各薬剤の安定性を表示した。

5. マウス呼吸器感染における治療効果
ICR 系雄マウス (4 週齢, 体重 19±1 g) をエーテル麻酔下で、*S. pneumoniae* TMS 3 の菌液 (1×10⁸ CFU/mouse) を経鼻接種した⁵⁾。薬剤は感染 6 時間後より 1 日 1 回、0.5 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、感染後 6 時間、1 日、2 日、3 日および 5 日に放血死させたマウスの肺を無菌的に摘出した。生理食塩水を 2 ml 加えてホモジナイズし、これを原液として 10 倍ずつ希釈して生菌数を測定した。1 群のマウス数は 6 匹とし、生菌数は 6 匹の対数平均値で表した。

6. 正常マウスの血清、肺、腎内における薬剤濃度の測定
ICR 系雄マウス (4 週齢, 体重 19±1 g) を 1 群 6 匹として使用した。薬剤皮下投与後、5 分、15 分、30 分、1 時間、2 時間目に血液、肺、腎を採取した。
血液は血清を分離し、肺および腎は 0.1 M リン酸緩衝液 (PB, pH 7.0) を加えてホモジナイズし、遠心後の上清を得た。薬剤濃度の測定は薄層ディスク法を用い、検定菌には *E. coli* NIHJ JC-2 を使用した。血清中濃度はマウス血清で作製した標準曲線より、また肺

および腎内濃度は PB で作製した標準曲線よりそれぞれ測定した。

II. 結 果

1. 抗菌スペクトル
教室保存の好気性および嫌気性細菌に対する CZOP の抗菌力を CPR, CFPM, CFCL, CAZ, FMOX と比較した成績を Table 1~4 に示した。好気性グラム陽性菌に対して CZOP は CFCL, CAZ より明らかに強く、CPR, CFPM, FMOX とほぼ同等の強い抗菌力を示した。CZOP は大部分のセフェム剤に耐性な *Enterococcus faecalis* TMS 64 に対しても 10⁶ cells/ml で 6.25 μg/ml の MIC を示した。*P. aeruginosa* IFO 3445 を除く好気性および通性嫌気性グラム陰性桿菌に対する CZOP の 10⁶cells/ml 接種での MIC は 0.20 μg/ml 以下で、その抗菌力は CPR, CFPM とほぼ同等で CFCL, CAZ, FMOX より優れていた。グラム陰性桿菌においては比較対照の 5 薬剤と同様本剤の抗菌力は接種菌量に影響され、10⁶cells/ml 接種では MIC が 2~256 倍上昇した (Table 1, 2)。

CZOP は嫌気性菌では *Peptostreptococcus* 属、*Clostridium* 属の一部に強い抗菌力を示したが、*Bacteroides* 属等に対する抗菌力は CPR, CFPM, CFCL, CAZ と同様弱く、FMOX より劣っていた (Table 3, 4)。

2. 臨床分離株に対する抗菌力
27 菌種、各 16~48 株の臨床分離株に対する 10⁶ cells/ml 接種での CZOP の抗菌力を CPR, CFPM,

Table 2. Antibacterial spectra of ceftazidime and other antibiotics against aerobic bacteria (Inoculum size: 10^8 cells/ml)

Organism	MIC (μ g/ml)					
	ceftazidime	cefepime	cefepime	cefcladin	ceftazidime	flomoxef
<i>Staphylococcus aureus</i> 209 P	0.78	0.78	1.56	12.5	12.5	0.39
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 13228	0.39	0.39	0.78	6.25	6.25	0.39
<i>Enterococcus faecalis</i> TMS 64	25	50	>100	>100	>100	100
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.05	0.025	0.025	0.20	1.56	0.05
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type II	0.20	0.10	0.05	0.39	0.78	0.39
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type III	0.20	0.10	0.20	0.39	1.56	0.78
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 10389	0.39	0.05	0.05	0.39	0.78	0.39
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	1.56	0.39	1.56	6.25	12.5	0.39
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.05	0.025	0.025	0.10	0.20	0.10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> IFO 3512	0.78	0.05	0.05	0.39	0.39	3.13
<i>Klebsiella oxytoca</i> 1	0.39	0.025	0.025	0.10	0.39	1.56
<i>Salmonella typhi</i> S 60	1.56	100	12.5	25	>100	100
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	3.13	100	12.5	0.39	0.78	25
<i>Proteus vulgaris</i> IFO 3851	0.39	0.39	0.78	25	1.56	25
<i>Morganella morganii</i> IFO 3848	12.5	12.5	1.56	100	3.13	6.25
<i>Providencia rettgeri</i> IFO 13501	0.20	0.39	1.56	0.20	1.56	6.25
<i>Providencia inconstans</i> IFO 12930	0.78	50	0.78	6.25	100	6.25
<i>Serratia marcescens</i> IFO 12648	0.05	0.012	0.10	0.05	0.05	0.20
<i>Citrobacter freundii</i> 2	0.05	0.025	1.56	0.10	0.78	25
<i>Vibrio cholerae</i> 569 B	0.39	0.05	0.10	6.25	0.10	6.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 3445	50	>100	>100	100	>100	>100

Table 3. Antibacterial spectra of ceftazidime and other antibiotics against anaerobic bacteria (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

Organism	MIC (μ g/ml)					
	ceftazidime	cefepime	cefepime	cefcladin	ceftazidime	flomoxef
<i>Bacteroides fragilis</i> GM 7004	>100	>100	>100	100	>100	3.13
<i>Bacteroides fragilis</i> TMS 26	25	50	12.5	25	25	0.78
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> WAL 3304	25	50	12.5	25	25	0.78
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> TMS 126	25	25	12.5	25	25	0.78
<i>Bacteroides distasonis</i> TMS 58	25	12.5	12.5	25	25	0.78
<i>Bacteroides distasonis</i> TMS 128	25	12.5	12.5	25	25	0.78
<i>Bacteroides vulgatus</i> ATCC 29327	25	0.78	3.13	>100	1.56	0.39
<i>Bacteroides vulgatus</i> TMS 129	25	0.78	3.13	>100	1.56	0.39
<i>Fusobacterium nucleatum</i> TMS 110	25	0.78	3.13	>100	0.78	0.39
<i>Peptostreptococcus variabilis</i> GM 1002	0.006	0.10	0.006	0.006	0.20	0.006
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> GM 1003	12.5	50	25	25	25	0.78
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> TMS 83	12.5	50	25	25	25	0.78
<i>Peptostreptococcus magnus</i> ATCC 14956	0.012	0.05	0.006	0.006	0.39	0.006
<i>Clostridium sporogenes</i> TMS 118	0.20	0.20	0.20	0.78	0.78	0.025
<i>Clostridium botulinum</i> type A	12.5	6.25	12.5	50	25	0.39
<i>Clostridium botulinum</i> type B	25	0.78	3.13	>100	1.56	0.39
<i>Clostridium botulinum</i> type C	0.20	0.39	0.20	0.78	0.78	0.05
<i>Clostridium botulinum</i> type D	0.78	6.25	0.78	6.25	6.25	0.20
<i>Clostridium botulinum</i> type E	0.20	0.39	0.20	0.78	0.78	0.05
<i>Clostridium botulinum</i> type F	0.78	6.25	0.78	6.25	12.5	0.10
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13123	0.20	3.13	0.20	0.78	12.5	1.56
<i>Clostridium perfringens</i> GM 1006	0.025	3.13	0.20	0.78	6.25	0.10
<i>Clostridium difficile</i> TMS 29	25	25	100	>100	25	1.56
<i>Clostridium tetani</i> TMS 89	12.5	3.13	6.25	25	50	0.39

CFCL, FMOX と比較した成績を Table 5 に示した。

1) グラム陽性菌

メチシリン感性 *S. aureus* に対する CZOP の MIC₅₀ および MIC₉₀ は 0.78 および 1.56 μ g/ml で、その抗菌力は CPR, FMOX と同等で CFPM, CFCL, CAZ より優れていた。

メチシリン耐性 *S. aureus* (MRSA) では, CZOP は一部の菌に強い抗菌力を示したものの MIC₅₀ および MIC₉₀ は 25 および 50 μ g/ml であり, 対照の 5 薬剤と同様抗菌力は弱かった。

Staphylococcus epidermidis に対して CZOP は CFCL, CAZ より約 16 倍強く, CPR, CFPM, FMOX と

Table 4. Antibacterial spectra of cefozopran and other antibiotics against anaerobic bacteria (Inoculum size : 10^8 cells/ml)

Organism	MIC (μ g/ml)					
	cefzopran	cefpirome	cefepime	cefclidin	ceftazidime	flomoxef
<i>Bacteroides fragilis</i> GM 7004	>100	>100	>100	>100	>100	12.5
<i>Bacteroides fragilis</i> TMS 26	100	50	50	>100	50	12.5
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> WAL 3304	100	50	50	>100	100	25
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> TMS 126	50	50	50	>100	100	25
<i>Bacteroides distasonis</i> TMS 58	50	50	50	>100	50	6.25
<i>Bacteroides distasonis</i> TMS 128	100	50	50	>100	100	12.5
<i>Bacteroides vulgatus</i> ATCC 29327	25	0.78	6.25	>100	1.56	0.39
<i>Bacteroides vulgatus</i> TMS 129	25	0.78	6.25	>100	1.56	0.39
<i>Fusobacterium nucleatum</i> TMS 110	25	0.78	3.13	>100	1.56	0.39
<i>Peptostreptococcus variavilis</i> GM 1002	25	1.56	1.56	12.5	3.13	0.78
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> GM 1003	>100	100	50	>100	25	25
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> TMS 83	>100	100	100	>100	100	25
<i>Peptostreptococcus magnus</i> ATCC 14956	1.56	0.78	1.56	3.13	6.25	0.39
<i>Clostridium sporogenes</i> TMS 118	1.56	0.78	3.13	3.13	1.56	0.39
<i>Clostridium botulinum</i> type A	12.5	6.25	12.5	50	50	0.39
<i>Clostridium botulinum</i> type B	50	1.56	12.5	>100	1.56	0.39
<i>Clostridium botulinum</i> type C	1.56	1.56	3.13	6.25	6.25	0.78
<i>Clostridium botulinum</i> type D	12.5	6.25	1.56	12.5	6.25	0.39
<i>Clostridium botulinum</i> type E	1.56	0.78	3.13	12.5	6.25	0.39
<i>Clostridium botulinum</i> type F	25	6.25	3.13	12.5	12.5	3.13
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13123	50	25	12.5	25	100	25
<i>Clostridium perfringens</i> GM 1006	25	3.13	6.25	6.25	50	6.25
<i>Clostridium difficile</i> TMS 29	50	12.5	>100	>100	25	25
<i>Clostridium tetani</i> TMS 89	25	12.5	6.25	50	50	1.56

同等の強い抗菌力を示した。

S. pyogenes に対する CZOP の MIC_{90} は $0.025 \mu\text{g/ml}$ で極めて強い抗菌力を示し、CPR よりやや劣るものの、CFPM と同等で CFCL, CAZ, FMOX より優れていた。

Streptococcus agalactiae に対して CZOP は MIC_{50} および MIC_{90} が 0.10 および $0.20 \mu\text{g/ml}$ の抗菌力を示し、CPR にやや劣ったが CFPM と同等で CFCL, CAZ, FMOX より優れていた。

S. pneumoniae 28 株の 6 薬剤に対する感受性は広範囲に分布し、耐性株の存在が示唆された。CZOP の MIC_{50} および MIC_{90} は 0.05 および $1.56 \mu\text{g/ml}$ で、CPR よりやや劣るが CFPM とほぼ同等、CFCL, CAZ, FMOX より優れた活性を示した。

E. faecalis に対する CZOP は MIC_{50} および MIC_{90} がともに $6.25 \mu\text{g/ml}$ であり、試験薬剤中最も強い抗菌力を示した。

2) グラム陰性菌

E. coli, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Salmonella* 属, *Shigella* 属に対する CZOP の MIC_{50} および MIC_{90} は $0.025 \sim 0.05$ および $0.05 \sim 0.1 \mu\text{g/ml}$ で、CPR, CFPM と同等で CFCL, CAZ, FMOX より優れた抗菌力を示した。

C. freundii に対する CZOP の MIC_{50} および MIC_{90} は 0.78 および $3.13 \mu\text{g/ml}$ で、CFPM, CFCL よりや

や劣るが CPR とほぼ同等で CAZ, FMOX よりはるかに強い抗菌力を示した。

Enterobacter cloacae に対して CZOP の MIC_{50} および MIC_{90} は 0.39 および $1.56 \mu\text{g/ml}$ で CPR, CFPM, CFCL と同等で CAZ, FMOX よりはるかに強い活性を示した。

P. mirabilis に対する CZOP の MIC_{50} および MIC_{90} はともに $0.20 \mu\text{g/ml}$ で、CPR, CFPM よりやや劣るが CFCL, CAZ とほぼ同等で FMOX より優れた抗菌力を示した。

P. vulgaris に対する CZOP の MIC_{50} および MIC_{90} は 0.20 および $3.13 \mu\text{g/ml}$ で対照の 5 薬剤より抗菌力が劣った。

Providencia rettgeri では CZOP の MIC_{50} および MIC_{90} は 0.012 および $0.20 \mu\text{g/ml}$ で、CPR, CFPM, CFCL とほぼ同等で CAZ, FMOX よりやや強い活性を示した。

Providencia stuartii に対する CZOP の MIC_{50} および MIC_{90} は 0.025 および $0.10 \mu\text{g/ml}$ で、CZOP は CFPM, CFCL とほぼ同等で CPR, CAZ, FMOX よりやや強い抗菌力を示した。

Morganella morganii では CZOP の MIC_{50} および MIC_{90} は 0.10 および $1.56 \mu\text{g/ml}$ で、CPR, CFPM, CFCL より劣るが CAZ, FMOX よりは明らかに強い抗菌力を示した。

Table 5. Antibacterial activity of cefozopran and other antibiotics against clinically isolated bacteria (Inoculum size: 10^6 cells/ml)

Organism (No. of isolates)	Antibiotic	MIC (μ g/ml)		
		Range	50 %	90 %
<i>Staphylococcus aureus</i> (35)	cefazopran	0.78 ~ 3.13	0.78	1.56
	ceftazidime	0.39 ~ 6.25	0.78	3.13
	cefepime	1.56 ~ 12.5	3.13	6.25
	cefcladin	6.25 ~ 50	12.5	25
	cefazidime	12.5 ~ >100	25	50
	flomoxef	0.39 ~ 3.13	0.39	3.13
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (48)	cefazopran	0.39 ~ 100	25	50
	ceftazidime	0.39 ~ 100	50	100
	cefepime	3.13 ~ >100	>100	>100
	cefcladin	6.25 ~ >100	100	>100
	cefazidime	25 ~ >100	>100	>100
	flomoxef	3.13 ~ 100	25	100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (36)	cefazopran	0.05 ~ 0.78	0.39	0.78
	ceftazidime	0.05 ~ 3.13	0.39	0.39
	cefepime	0.05 ~ 0.78	0.39	0.78
	cefcladin	1.56 ~ 25	3.13	12.5
	cefazidime	3.13 ~ 50	6.25	12.5
	flomoxef	0.10 ~ 0.78	0.39	0.78
<i>Streptococcus pyogenes</i> (28)	cefazopran	0.025 ~ 0.025	0.025	0.025
	ceftazidime	0.006 ~ 0.012	0.006	0.012
	cefepime	0.012 ~ 0.025	0.025	0.025
	cefcladin	0.05 ~ 0.10	0.10	0.10
	cefazidime	0.20 ~ 0.39	0.20	0.20
	flomoxef	0.10 ~ 0.20	0.20	0.20
<i>Streptococcus agalactiae</i> (30)	cefazopran	0.025 ~ 0.20	0.10	0.20
	ceftazidime	0.012 ~ 0.05	0.05	0.05
	cefepime	0.025 ~ 0.10	0.10	0.10
	cefcladin	0.20 ~ 0.78	0.39	0.78
	cefazidime	0.39 ~ 0.78	0.78	0.78
	flomoxef	0.39 ~ 0.78	0.78	0.78
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (28)	cefazopran	0.025 ~ 3.13	0.05	1.56
	ceftazidime	0.006 ~ 1.56	0.025	0.78
	cefepime	0.012 ~ 3.13	0.025	1.56
	cefcladin	0.20 ~ 25	0.39	12.5
	cefazidime	0.20 ~ 50	0.39	12.5
	flomoxef	0.20 ~ 6.25	0.20	6.25
<i>Enterococcus faecalis</i> (35)	cefazopran	1.56 ~ 6.25	6.25	6.25
	ceftazidime	0.78 ~ 25	12.5	25
	cefepime	6.25 ~ >100	50	>100
	cefcladin	50 ~ >100	100	>100
	cefazidime	12.5 ~ >100	>100	>100
	flomoxef	50 ~ >100	100	>100
<i>Escherichia coli</i> (44)	cefazopran	0.012 ~ 0.05	0.025	0.05
	ceftazidime	0.012 ~ 0.20	0.025	0.05
	cefepime	0.006 ~ 0.20	0.025	0.05
	cefcladin	0.05 ~ 0.20	0.10	0.10
	cefazidime	0.05 ~ 0.39	0.20	0.39
	flomoxef	0.025 ~ 0.20	0.05	0.10
<i>Salmonella</i> spp. (25)	cefazopran	0.025 ~ 0.05	0.025	0.05
	ceftazidime	0.025 ~ 0.10	0.025	0.05
	cefepime	0.012 ~ 0.10	0.025	0.05
	cefcladin	0.05 ~ 0.10	0.10	0.10
	cefazidime	0.05 ~ 0.78	0.10	0.78
	flomoxef	0.025 ~ 0.20	0.05	0.10
<i>Shigella</i> spp. (28)	cefazopran	0.025 ~ 0.05	0.025	0.05
	ceftazidime	0.012 ~ 0.10	0.025	0.05
	cefepime	0.006 ~ 0.10	0.012	0.05
	cefcladin	0.006 ~ 0.20	0.10	0.10
	cefazidime	0.05 ~ 0.39	0.10	0.39
	flomoxef	0.10 ~ 0.39	0.10	0.20

Table 5. Continued

Organism (No. of isolates)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		Range	50 %	90 %
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (38)	cefzopran	0.025 ~ 0.05	0.05	0.05
	cefpirome	0.025 ~ 0.10	0.05	0.05
	cefepime	0.012 ~ 0.05	0.025	0.05
	cefclidin	0.05 ~ 0.10	0.10	0.10
	ceftazidime	0.05 ~ 0.39	0.20	0.39
	flomoxef	0.05 ~ 0.20	0.10	0.10
<i>Klebsiella oxytoca</i> (28)	cefzopran	0.025 ~ 0.20	0.025	0.10
	cefpirome	0.025 ~ 0.78	0.025	0.10
	cefepime	0.012 ~ 0.39	0.012	0.10
	cefclidin	0.05 ~ 0.39	0.10	0.20
	ceftazidime	0.05 ~ 0.39	0.10	0.39
	flomoxef	0.05 ~ 1.56	0.05	0.10
<i>Citrobacter freundii</i> (29)	cefzopran	0.025 ~ 6.25	0.78	3.13
	cefpirome	0.025 ~ 6.25	0.20	3.13
	cefepime	0.012 ~ 3.13	0.10	0.78
	cefclidin	0.05 ~ 6.25	0.20	1.56
	ceftazidime	0.10 ~ >100	25	>100
	flomoxef	0.20 ~ >100	25	>100
<i>Enterobacter cloacae</i> (23)	cefzopran	0.025 ~ 3.13	0.39	1.56
	cefpirome	0.006 ~ 6.25	0.78	1.56
	cefepime	0.012 ~ 1.56	0.20	1.56
	cefclidin	0.10 ~ 3.13	0.39	1.56
	ceftazidime	0.05 ~ >100	1.56	50
	flomoxef	0.05 ~ >100	25	50
<i>Proteus mirabilis</i> (29)	cefzopran	0.05 ~ 6.25	0.20	0.20
	cefpirome	0.05 ~ 0.78	0.05	0.10
	cefepime	0.05 ~ 0.20	0.05	0.10
	cefclidin	0.10 ~ 0.78	0.20	0.39
	ceftazidime	0.05 ~ 12.5	0.10	0.20
	flomoxef	0.10 ~ 12.5	0.20	1.56
<i>Proteus vulgaris</i> (31)	cefzopran	0.006 ~ 12.5	0.20	3.13
	cefpirome	0.025 ~ 3.13	0.10	0.39
	cefepime	0.012 ~ 0.20	0.05	0.20
	cefclidin	0.05 ~ 6.25	0.20	0.39
	ceftazidime	0.05 ~ 0.20	0.05	0.20
	flomoxef	0.05 ~ 0.39	0.39	0.39
<i>Providencia rettgeri</i> (30)	cefzopran	0.006 ~ 0.39	0.012	0.20
	cefpirome	0.012 ~ 0.39	0.025	0.20
	cefepime	0.012 ~ 0.20	0.025	0.10
	cefclidin	0.025 ~ 0.10	0.10	0.10
	ceftazidime	0.05 ~ 3.13	0.05	0.78
	flomoxef	0.05 ~ 3.13	0.05	1.56
<i>Providencia stuartii</i> (27)	cefzopran	0.012 ~ 0.39	0.025	0.10
	cefpirome	0.006 ~ 0.39	0.05	0.20
	cefepime	0.012 ~ 0.10	0.025	0.05
	cefclidin	0.025 ~ 0.10	0.05	0.10
	ceftazidime	0.05 ~ 1.56	0.20	0.78
	flomoxef	0.05 ~ 1.56	0.10	0.39
<i>Morganella morganii</i> (33)	cefzopran	0.006 ~ 3.13	0.10	1.56
	cefpirome	0.006 ~ 0.20	0.025	0.10
	cefepime	0.012 ~ 0.05	0.025	0.025
	cefclidin	0.012 ~ 0.10	0.10	0.10
	ceftazidime	0.025 ~ 12.5	0.10	12.5
	flomoxef	0.05 ~ 6.25	1.56	3.13
<i>Serratia marcescens</i> (44)	cefzopran	0.20 ~ 1.56	0.20	0.78
	cefpirome	0.05 ~ 1.56	0.10	0.39
	cefepime	0.05 ~ 1.56	0.20	0.78
	cefclidin	0.20 ~ 3.13	0.39	1.56
	ceftazidime	0.20 ~ 3.13	0.39	1.56
	flomoxef	0.39 ~ 100	0.78	12.5

Table 5. Continued

Organism (No. of isolates)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		Range	50 %	90 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (30)	cefazopran	0.39 ~ 6.25	0.78	6.25
	cefpirome	0.39 ~ 25	3.13	12.5
	cefepime	0.20 ~ 12.5	6.25	6.25
	cefclidin	0.20 ~ 3.13	0.39	1.56
	ceftazidime	1.56 ~ 6.25	1.56	6.25
	flomoxef	>100 ~ >100	>100	>100
Gentamicin-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (30)	cefazopran	0.78 ~ 50	6.25	12.5
	cefpirome	1.56 ~ >100	25	50
	cefepime	3.13 ~ >100	6.25	25
	cefclidin	0.20 ~ 100	0.78	6.25
	ceftazidime	1.56 ~ 100	3.13	12.5
	flomoxef	>100 ~ >100	>100	>100
<i>Pseudomonas cepacia</i> (16)	cefazopran	0.006 ~ 25	0.78	25
	cefpirome	0.012 ~ 25	1.56	25
	cefepime	0.05 ~ 25	0.78	12.5
	cefclidin	0.10 ~ 25	0.78	12.5
	ceftazidime	0.10 ~ >100	1.56	50
	flomoxef	0.012 ~ 100	25	100
<i>Xanthomonas maltophilia</i> (30)	cefazopran	3.13 ~ >100	100	>100
	cefpirome	6.25 ~ >100	50	100
	cefepime	6.25 ~ 50	25	25
	cefclidin	0.10 ~ 50	3.13	12.5
	ceftazidime	0.78 ~ >100	12.5	100
	flomoxef	0.78 ~ >100	25	100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (21)	cefazopran	0.006 ~ 12.5	0.20	0.78
	cefpirome	0.012 ~ 12.5	0.39	0.78
	cefepime	0.05 ~ 3.13	0.39	3.13
	cefclidin	0.025 ~ 12.5	0.39	1.56
	ceftazidime	0.10 ~ 100	0.78	3.13
	flomoxef	0.20 ~ 50	12.5	50
<i>Achromobacter xylosoxidans</i> (20)	cefazopran	0.012 ~ >100	12.5	>100
	cefpirome	0.20 ~ >100	6.25	>100
	cefepime	0.20 ~ >100	3.13	>100
	cefclidin	0.10 ~ >100	1.56	100
	ceftazidime	0.10 ~ 25	0.78	12.5
	flomoxef	0.10 ~ 100	1.56	50
<i>Flavobacterium meningosepticum</i> (28)	cefazopran	0.05 ~ 100	12.5	50
	cefpirome	0.025 ~ 100	12.5	50
	cefepime	0.10 ~ 50	3.13	12.5
	cefclidin	0.10 ~ 100	6.25	50
	ceftazidime	0.39 ~ >100	100	>100
	flomoxef	0.10 ~ 50	12.5	50
<i>Bacteroides fragilis</i> (29)	cefazopran	12.5 ~ 50	50	50
	cefpirome	12.5 ~ 100	50	100
	cefepime	12.5 ~ 100	25	50
	cefclidin	25 ~ 100	50	100
	ceftazidime	12.5 ~ 100	25	25
	flomoxef	0.39 ~ 12.5	0.78	3.13
<i>Clostridium difficile</i> (19)	cefazopran	50 ~ 50	50	50
	cefpirome	50 ~ 50	50	50
	cefepime	100 ~ >100	>100	>100
	cefclidin	100 ~ >100	>100	>100
	ceftazidime	25 ~ 25	25	25
	flomoxef	3.13 ~ 3.13	3.13	3.13

Serratia marcescens に対して CZOP は CPR, CFPM, CFCL, CAZ とほぼ同等で, FMOX より明らかに強い抗菌力を示した。

P. aeruginosa では CZOP の MIC₅₀ および MIC₉₀ は

0.78 および 6.25 $\mu\text{g/ml}$ で, CFCL より劣るが CAZ とほぼ同等, CPR, CFPM よりやや優れ, FMOX より顕著に強い活性を示した。また, ゲンタミシン耐性 *P. aeruginosa* に対しても CPR, FMOX より強い抗菌力

Table 6. Stability of cefozopran and other antibiotics against β -lactamases obtained from Gram-negative bacteria

Organism	Type of β -lactamase (Richmond)	Relative rate of hydrolysis						
		cefzopran	ceftirome	cefepime	cefclidin	flomoxef	cephaloridine	ampicillin
<i>C.freundii</i> GN 346	Ia	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	100	NT
<i>E.coli</i> 35	Ib	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	100	NT
<i>P.vulgaris</i> GN 76	Ic	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	100	NT
<i>P.mirabilis</i> GN 79	II	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	NT	100
<i>E.coli</i> ML 1410 RGM 823	III	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	NT	100
<i>K.pneumoniae</i> GN 69	IV	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	NT	100

NT: Not tested.

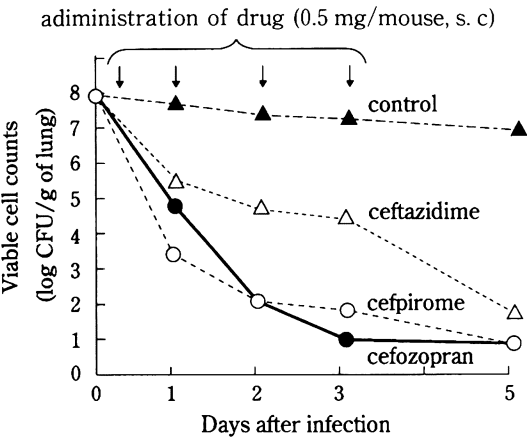


Fig. 1. Therapeutic effects of cefozopran, cefpirome and ceftazidime against respiratory tract infection caused by *S. pneumoniae* TMS3 in mice. MICs of cefozopran, cefpirome and ceftazidime for *S. pneumoniae* TMS3 were 0.20, 0.39 and 0.05 μ g/ml, respectively.

を示した。

Pseudomonas cepacia に対する CZOP の MIC₅₀ および MIC₉₀ は 0.78 および 25 μ g/ml で一部の株は CZOP に耐性であった。最も抗菌力の弱い FMOX 以外の対照薬剤 4 薬剤の抗菌力は CZOP とほぼ同等であった。

CZOP は *Xanthomonas maltophilia* の一部の株に活性を示したが MIC₅₀ は 100 μ g/ml で CPR と同様本菌に対する活性は弱かった。

Acinetobacter calcoaceticus では MIC₅₀ および MIC₉₀ は 0.20 および 0.78 μ g/ml で CZOP は本菌に対して被験薬剤中最も強い抗菌力を示した。

Achromobacter xylosoxidans では、一部の株に CZOP は強い抗菌力を示したが、MIC₅₀ および MIC₉₀ は 12.5 および >100 μ g/ml で他剤より抗菌力がやや劣

った。

Flavobacterium meningosepticum では CZOP の MIC₅₀ および MIC₉₀ は 12.5 および 50 μ g/ml で CAZ よりは明らかに強く、CPR, CFCL, FMOX と同等であるが CFPM より劣る活性であった。

3) 嫌気性菌

Bacteroides fragilis および *Clostridium difficile* に対する MIC₅₀ および MIC₉₀ は 50 μ g/ml で、CZOP の本菌に対する活性は CPR, CFPM, CFCL, CAZ と同様弱かった。

3. β -Lactamase に対する安定性

C. freundii GN 346 (Richmond Ia), *E. coli* 35 (同 Ib), *P. vulgaris* GN 76 (同 Ib), *P. mirabilis* GN 79 (同 II), *E. coli* ML 1410 RGN 823 (同 III), *K. pneumoniae* GN 69 (同 IV) の β -lactamase に対する CZOP の安定性を Table 6 に示した。

CZOP は他の対照薬剤と同様これらの酵素に安定であった。

4. マウス呼吸器感染における治療効果

S. pneumoniae TMS 3 による呼吸器感染マウスに対する 0.5 mg/mouse の CZOP, CPR, CAZ の治療成績を Fig. 1 に示した。なお、本感染菌に対する CZOP, CPR, CAZ の MIC は 0.20, 0.05, 0.39 μ g/ml であった。

薬剤非投与マウスの肺内生菌数は感染直後から 5 日後までは 10⁷ CFU/g のレベルで推移した。薬剤投与群では感染翌日から MIC に応じた肺内生菌数の減少が認められた。CZOP 投与によって肺内生菌数は投薬開始 1 日後に 5.6 $\times$ 10⁴ CFU/g, 2 日後に 1.0 $\times$ 10² CFU/g, 3 日後には検出限界以下となった。一方, CAZ 投与群では 3 日後に 1.3 $\times$ 10⁵ CFU/g, 5 日後でも 7.1 $\times$ 10 CFU/g の菌が検出され, CPR 投与群では 3 日後に 8.5 $\times$ 10 CFU/g の菌が検出された。

5. 正常マウスにおける血清, 肺, 腎内濃度

CZOP を 0.5 および 1 mg/mouse 皮下投与した後の血清, 腎および肺内濃度の推移を Table 7 に示した。

Table 7. Serum and tissue concentrations of cefozopran after subcutaneous administration in mice

Dose (mg/mouse)	Serum or tissue	Concentration ($\mu\text{g/ml}$ or g) after				
		5	15	30	60	120 min
0.5	Serum	18.7	27.2	20.2	4.7	ND
	Kidney	26.5	62.3	34.2	8.9	1.3
	Lung	5.8	8.0	4.5	1.5	ND
1	Serum	29.1	57.4	29.4	8.8	0.5
	Kidney	46.5	83.6	67.6	40.2	2.9
	Lung	13.5	18.4	17.2	4.9	ND

ND, not detected.

血清中では0.5および1 mg投与15分後に最高濃度の27.2および57.4 $\mu\text{g/ml}$ となり、その後徐々に減少し2時間後には1 $\mu\text{g/ml}$ 以下となった。この濃度推移はCPRおよびCAZを投与した場合に類似していた⁶⁾。腎内濃度および肺内濃度も15分後に最高値となり、腎内濃度は血清中濃度の約2倍、肺内濃度は血清中の濃度の約1/3で推移した。

III. 考 察

CZOPはセフェム骨格の7位側鎖にアミノチアジアゾール環およびメトキシイミノ基を有し、グラム陽性、グラム陰性の幅広い菌に強い抗菌力を示した。Cefotiamの場合には7位ヘアミノチアジアゾール基を導入することによってグラム陰性菌に対する抗菌力が大幅に増大した。CZOPのアミノチアジアゾール基もグラム陰性菌に対する抗菌力発揮のうえで重要な役割を演じていると考えられる。またメトキシイミノ基は β -lactamaseに抵抗性を賦与することがcefuroxime, cefmenoxime等で知られており、本剤も調べた β -lactamaseに非常に安定であった。一方、3位側鎖の縮合アゾリウム基は*S. aureus*と*P. aeruginosa*の両方に強い活性を発揮するうえで重要な役割を果たしていると考えられる。

現在、各種臨床材料から分離頻度の高い菌種は*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*である。これらのうち*E. coli*はほとんどの抗菌剤に高い感受性を示し、耐性菌も少ないため治療上問題となることはほとんどない。一方、*S. aureus*に対しては第三世代セフェム剤の抗菌力が弱く、*P. aeruginosa*に対しては第一および第二世代セフェム剤は抗菌力を示さず、第三世代セフェム剤の多くも十分な抗菌力を持たないため、これらの菌による感染症は難治性である。CZOPは*S. aureus*と*P. aeruginosa*の両方に強い活性を持ち、従来の注射用抗菌剤にない幅広い抗菌スペクトルを示した。

一方、近年*S. epidermidis*および*E. faecalis*が臨床材料から分離される頻度が増大しているが、これらの菌の病原性は明確ではない。しかしこれらの菌が分離

されている状態は決して正常とは言えず、*S. epidermidis*の場合には時に敗血症に至ることがある。CZOPは*S. epidermidis*に強い活性を示し、多くのセフェム剤が無効な*E. faecalis*にも活性を示した。

また、CZOPはマウス組織に良好に移行し、実験的感染症に対して*in vitro*抗菌力を反映した治療効果を発揮した。

以上のように、CZOPは*S. aureus*および*P. aeruginosa*を含む広範な菌種に*in vitro*および*in vivo*で活性を有することから、多くの菌種による感染症に対して治療効果が期待できる。

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 7β -[2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2(Z)-alkoxyiminoacetamido]-3-condensed-heterocyclic azolium) methyl cephalosporins including SCE-2787. *J Antibiot* 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 Agent Chemother* 36: 1358~1366, 1992
- 3) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について. *Chemotherapy* 29(1): 76~79, 1981
- 4) 日本化学療法学会嫌気性菌 MIC 測定法検討委員会: 嫌気性菌の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法. *Chemotherapy* 27(3): 559~560, 1979
- 5) 宮崎修一, 大野 章, 北矢 進, 草地信也, 五島瑛智子: 呼吸器感染における *H. influenzae* および *S. pneumoniae* の組織親和性と発症機序に関する実験的研究. *感染症学雑誌* 61: 301~317, 1987
- 6) 五島瑛智子, 笠井一弘, 宮崎修一, 辻 明良, 金子康子: 新 cephem 系抗生剤 cefpirome の細菌学的評価. *Chemotherapy* 39(S-1): 29~39, 1991

In vitro and *in vivo* antibacterial activities of cefozopran,
a new parenteral cephalosporin

Sachiko Goto, Shuichi Miyazaki, Yasuko Kaneko,
Akiyoshi Tsuji and Shougo Kuwahara

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 of cefozopran (CZOP), a new parenteral cephalosporin, were compared with those of cefpirome (CPR), cefepime (CFPM), cefclidin (CFCL), ceftazidime (CAZ) and flomoxef (FMOX).

CZOP showed potent antibacterial activity against both Gram-positive and Gram-negative bacteria. It was more active than CAZ and CFCL against Gram-positive bacteria, and was more active than CAZ and FMOX against Gram-negative bacteria. CZOP was as active as CAZ and more active than CPR and FMOX against *Pseudomonas aeruginosa*.

CZOP was resistant to hydrolysis by various β -lactamases.

CZOP distributed well into the tissues of mouse and exhibited a good therapeutic effect against pulmonary infection caused by *Streptococcus pneumoniae* TMS3.