

新セフェム系抗生物質 cefozopran の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力

岩日 朋幸・志岐志喜子・内藤 貴子・林 良 吾

山崎 俊幸・今 田 哲

武田薬品工業(株)・生物研究所*

Cefozopran (CZOP) の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力を, ceftazidime (CAZ), cefuzonam (CZON), flomoxef (FMOX), cefpirome (CPR) および cefclidin (CFCL) との比較において検討した。CZOP は *Staphylococcus* 属を含むグラム陽性菌から *Pseudomonas aeruginosa* を含むグラム陰性菌にまで幅広い抗菌スペクトルを示した。Methicillin (DMPPC) 感性 *Staphylococcus* 属, *Streptococcus* 属, *Proteus vulgaris* を除く Enterobacteriaceae 科の各種細菌, *P. aeruginosa* および *Haemophilus influenzae* の各々の臨床分離株中の 90 % 以上の菌株の発育を阻止するのに必要な CZOP の濃度 (MIC_{90S}) は, 0.025~6.25 µg/ml の範囲にあった。CZOP の *Staphylococcus aureus* および *Staphylococcus epidermidis* の DMPPC 感性株に対する抗菌力は, CAZ および CFCL より 8~16 倍強く, FMOX および CPR に匹敵した。*P. aeruginosa* に対する抗菌力は, CFCL よりやや弱い, CAZ とほぼ同等, CPR より 2~4 倍強かった。*Streptococcus* 属, 一部の菌種を除く Enterobacteriaceae 科の各種細菌 および *H. influenzae* に対する抗菌力も, CAZ, FMOX より強く, CPR とほぼ同等であった。CZOP は *Citrobacter freundii* および *Enterobacter cloacae* の臨床分離株中の CAZ 耐性株に対しても, CAZ 感性株に対する程ではないが, 比較的強い抗菌力を示し, CAZ に比べ耐性変異株を選択する危険性も低かった。DMPPC 耐性 *S. aureus* や *Enterococcus faecalis* に対しては中等度の抗菌力を示すにすぎなかったが, DMPPC 耐性 *S. epidermidis* には比較的強い抗菌力を示した。CZOP は各種細菌腹腔内感染マウスにおいて *in vitro* 抗菌力に対応した強い防御効果を示した。

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

近年, 広域スペクトルを特徴とするいわゆる第三世代セフェム系抗生物質が数多く開発され, 感染症領域において広く使用されている。それらの多くは Enterobacteriaceae 科の各種細菌に対しては極めて強い抗菌力を示すが, *Staphylococcus* 属や *Pseudomonas aeruginosa* に対しては必ずしも十分な抗菌力を示すとは言い難い¹⁾。また, *Citrobacter* 属, *Enterobacter* 属, *Serratia* 属等ではセフェム系抗生物質耐性菌の急激な増加が指摘されている^{2,3)}。

Cefozopran {CZOP, (-)-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, 武田薬品工業(株)・中央研究所で, 第三世代セフェム系抗生物質の *Staphylococcus* 属と *P. aeruginosa* の両方に対する抗菌力の改善を目的とした一連の研究の過

程で見いだされた新規注射用セフェム系抗生物質であり⁴⁾, 化学構造上からはセフェム骨格の 3 位に imidazo-pyridazinium 基を, 7 位に aminothiadiazolyl 基を有する点に特徴がある。

本報告では, CZOP の抗菌スペクトル, 臨床分離株に対する抗菌力, 各種測定条件下での抗菌力, 耐性菌選択の程度および各種細菌腹腔内感染マウスにおける防御効果について, ceftazidime (CAZ)⁵⁾, cefuzonam (CZON)⁶⁾, flomoxef (FMOX)⁷⁾, cefpirome (CPR)⁸⁾ および cefclidin (CFCL)⁹⁾ との比較において検討した成績について述べる。

I. 実験材料および方法

1. 薬剤

CZOP, CPR および CFCL は武田薬品工業(株)・中央研究所で合成された標品を, CZON は武田薬品工業(株)・光工場で合成された原末を用いた。CAZ, FMOX, methicillin (DMPPC) および imipenem/

*〒532 大阪市淀川区十三本町2丁目17-85

cilastatin (IPM/CS) は市販品を用いた。

2. 菌株

実験室標準株は、凍結乾燥保存菌を適宜復元し、Mueller-Hinton agar (MHA, Difco), 10 % ウマ血清加 MHA, 5 % Fildes Enrichment (Difco) 加 Brain Heart Infusion agar (BHIA, Difco), 5 % ウシ血液加 Iso-Sensitest agar (ISA, Oxoid) あるいは 7 % ウマ血清加 Brucella agar (BBL) で継代培養したものを用いた。臨床分離株は国内の 5 カ所の臨床施設より 1987 年から 1988 年の間に分与されたものを用いた。*Streptococcus pneumoniae* および *Haemophilus influenzae* は、各々 10 % ウマ血清加 MHA および 5 % Fildes Enrichment 加 BHIA で一夜培養後、ゼラチンディスク法により保存した。その他の菌種は、Cooked Meat 培地 (ニッスイ) で一夜培養後、培養液のまま室温で保存した。

3. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

測定用培地は、一部の菌種の場合を除いて、MHA または Mueller-Hinton broth (MHB, Difco) を用いた。*Streptococcus* 属および *Corynebacterium diphtheriae* の場合には各々 10 % ウマ血清加 MHA および MHB を、*H. influenzae* の場合には 5 % Fildes Enrichment 加 Brain Heart Infusion (BHI, Difco) を、*Bordetella pertussis* の場合には 5 % ウシ血液加 ISA を用いた。抗菌力に及ぼす培地組成の影響を調べる実験では Trypticase soy agar (BBL), Nutrient agar (栄研), Heart Infusion agar (Difco) も用いた。*Campylobacter jejuni* および *Helicobacter pylori* は、7 % ウマ血清加 Brucella agar を用いて、Campy Pak (BBL) を入れた GasPak jar (BBL) 内の微好気条件下で培養した。接種用菌液は、試験菌を液体または斜面寒天培地で一夜培養後、新鮮液体培地で所定の菌液濃度に適宜希釈することにより調製した。寒天平板希釈法による MIC は、薬剤液の 2 倍段階希釈、希釈液の平板への分注、寒天平板の作製および菌液の接種を自動機械化した agar dilution system (大日本精機) を用いて測定した。菌液は、日本化学療法学会法に準じて、約 2×10^6 CFU/ml を約 5 μ l ずつ、自動化装置内に組み込まれているミクロプランター (佐久間製作所) を用いて寒天平板上にスポットした。微量液体希釈法による MIC は、MIC-2000 titration system (Dynatech Laboratories, Inc.) を用いて測定した。菌液は、薬剤含有液体培地を 0.1 ml ずつ分注した microtiter plate の各 well に、約 10^6 CFU/ml を 1.5 μ l ずつ、automatic inoculator (Dynatech) を用いて接種した。試験菌は、*C. jejuni* と *H. pylori* を 37°C で 3

日間培養した以外は、すべて 37°C で一夜培養した。MIC は、肉眼的に菌の発育を認めない最小濃度とした。

4. 耐性菌の出現頻度試験

試験菌は、予め TSA 平板上に画線塗抹することにより単一コロニーとした。単一コロニーを TSB を用いて 37°C で一夜培養後、遠心分離 (10,000 $\times$ g, 10 min) により菌体を集めた。菌体は、生理食塩水で 1 回遠心洗浄後、約 10^9 CFU/ml になるように生理食塩水に懸濁し、さらに生理食塩水で適宜 10 倍段階希釈した。その原液および希釈液を 0.1 ml ずつ、薬剤を 0.78~12.5 μ g/ml の濃度で含む TSA 平板と薬剤を含まない TSA 平板の両方に塗抹した。37°C で 48 時間培養後、薬剤含有および不含平板上に出現したコロニー数を計測することにより耐性コロニー数および塗布した全生菌数を求めた。耐性コロニーの出現頻度は塗布した全生菌数に対する耐性コロニー数の割合として表した。

5. 感染防御試験

感染に用いる菌株は、一部の例外を除いて、すべて BHI を用いて 37°C で一夜培養した。*Streptococcus* 属および *H. influenzae* は、各々 10 % ウシ血液加 TSA および 5 % Fildes Enrichment 加 BHI を用いて 37°C で一夜培養した。培養菌液は、*S. pneumoniae* を BHI に懸濁した以外は、すべて所定の菌量を 8 % mucin (Difco) に懸濁した。感染は、菌懸濁液を 0.5 ml ずつ 4 週齢の Slc : ICR 雄性マウス (体重、19~23 g) の腹腔内に接種することにより作製した。感染菌量は 50 % 致死量の 30~100 倍の範囲になるように調製した。薬剤無投与マウスは全例感染後 2 日以内に死亡した。薬剤液は、感染直後に 1 回、1 投与量当たり 5 匹の感染マウスに 0.2 ml ずつ皮下投与した。投与量は 1 薬剤につき 5 ないしそれ以上の濃度段階を含むように調製した。実験は 3 回以上繰り返した。50 % 有効量 (ED₅₀) は、感染 5 日後の生残率より Probit 法¹⁰⁾を用いて算出した。

II. 実験結果

1. 抗菌スペクトル

主要な好気性病原細菌の実験室標準株に対する抗菌力を寒天平板希釈法により測定した (Table 1)。CZOP は DMPPC 感性 *Staphylococcus* 属、*Streptococcus* 属、Enterobacteriaceae 科の各種細菌、*P. aeruginosa* および *H. influenzae* の大部分の株の発育を 0.78 μ g/ml 以下の濃度で阻止し、極めて幅広い菌種に強い抗菌力を示した。

2. 臨床分離株に対する抗菌力

各種臨床分離株に対する CZOP の抗菌力を対照 β -ラクタム剤との比較において液体希釈法により調べた (Table 2)。試験菌株の 90 % 以上の発育を阻止するのに必要な MICs (MIC_{90S}) を指標に CZOP と対照薬剤との抗菌力を比較すると、CZOP は *S. aureus* および *S. epidermidis* の DMPPC 感性株に対しては CAZ および CFCL より 8~16 倍強く、FMOX および CPR とほぼ同等の抗菌力を示した (MIC_{90S}, 0.78 および 1.56 $\mu\text{g/ml}$)。 *S. aureus* および *S. epidermidis* の DMPPC 耐性株に対してはいずれの対照薬剤よりも強い抗菌力を示した (MIC_{90S}, 25 および 3.13 $\mu\text{g/ml}$)。 *Streptococcus* 属に対しても、CAZ および FMOX より 4~32 倍強く、CPR とほぼ同等の抗菌力を示した (MIC_{90S}, ≤ 0.1 $\mu\text{g/ml}$)。 *E. faecalis* に対しては、MIC₉₀ (25 $\mu\text{g/ml}$) は必ずしも小さくはないが、対照薬剤よりも強い抗菌力を示した。 CZOP は *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Providencia rettgeri* および *Providencia stuartii* のいずれに対しても極めて小さい MIC_{90S} (≤ 0.2 $\mu\text{g/ml}$) を示し、CAZ および FMOX より 2~8 倍強く、CPR に匹敵する抗菌力を示した。 *Citrobacter freundii* および *Enterobacter cloacae* に対しても CAZ および FMOX より 8~64 倍強く、CPR とほぼ同等の抗菌力を示した (MIC_{90S}, 0.2 および 6.25 $\mu\text{g/ml}$)。また、*Proteus mirabilis* および *Serratia marcescens* に対しても CAZ および CPR とほぼ同等の抗菌力を示した (MIC_{90S}, 0.2 および 3.13 $\mu\text{g/ml}$)。しかし、CZOP の *Proteus vulgaris* に対する MIC₉₀ (12.5 $\mu\text{g/ml}$) はいずれの対照薬剤の値よりも大きく、*Morganella morganii* に対する MIC₉₀ (0.78 $\mu\text{g/ml}$) も、CAZ および FMOX の値よりも小さいが、CPR の値よりも 4 倍大きかった。 CZOP の *P. aeruginosa* に対する抗菌力 (MIC₉₀, 6.25 $\mu\text{g/ml}$) は、CFCL よりはやや弱い、CPR よりも 4~8 倍強く、CAZ に匹敵した。 CZOP は *H. influenzae* に対しても FMOX よりも 8 倍強く、CAZ および CPR とほぼ同等の抗菌力を示した (MIC₉₀, 0.2 $\mu\text{g/ml}$)。

3. IPM/CS および CAZ 耐性株に対する抗菌力

S. aureus, *S. epidermidis* および *P. aeruginosa* の臨床分離株中に含まれる IPM/CS 耐性株ならびに *C. freundii*, *E. cloacae* および *P. aeruginosa* の臨床分離株中に含まれる CAZ 耐性株に対する CZOP および対照 β -ラクタム剤の抗菌力を寒天平板希釈法により調べた (Table 3)。本実験では、IPM/CS あるいは CAZ の MIC が ≥ 12.5 $\mu\text{g/ml}$ である株を各々の薬剤に耐性な株として用いた。 CZOP は *S. aureus* の IPM/CS 耐

性株に対しては実用的な抗菌力を示さなかったが、*S. epidermidis* および *P. aeruginosa* の IPM/CS 耐性株に対しては比較的強い抗菌力を示した (MIC_{90S}, 12.5 $\mu\text{g/ml}$)。また、CZOP は *C. freundii* および *E. cloacae* の CAZ 耐性株に対して、CAZ 感性株に対する程強くはないが、その MIC_{90S} (3.13 および 12.5 $\mu\text{g/ml}$) は CAZ および FMOX の値よりも 1 ないし 2 オーダー小さく、CPR および CFCL に匹敵する抗菌力を示した。しかし、*P. aeruginosa* 中の CAZ 耐性株に対しては実用的な抗菌力を示さなかった。

4. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

CZOP の抗菌力に及ぼす培地の種類、培地 pH、接種菌量および血清添加の影響を *S. aureus*, *E. coli*, *C. freundii* および *P. aeruginosa* の実験室標準株を用いて調べた。培地の種類を変えても、CZOP の MIC は、CAZ および FMOX の場合と同様に、いずれの菌株でも殆ど変動しなかった (Table 4)。培地 pH については、一部の菌株に対する MIC がアルカリ側で低くなったが、多くの菌株に対する MIC は、CAZ および FMOX の場合と同様に、pH を変えても殆ど変動しなかった (Table 5)。ウマ血清の添加により、一部の菌株で MIC が低くなる場合がみられたが、多くの菌株で、CAZ および FMOX の場合と同様に、明瞭な影響はみられなかった (Table 6)。 CZOP の MIC は、菌量が多くなるにつれて大きくなったが、その程度は対照薬剤と同程度か小さく、 10^8 CFU/ml 菌液を接種したときの MIC が 10^5 CFU/ml 菌液を接種したときの値より 4 倍以上高い値を示すことはなかった (Table 7)。

5. 耐性菌出現率

C. freundii, *E. cloacae*, *S. marcescens* および *P. aeruginosa* の CAZ 感性株に CZOP および対照 β -ラクタム剤を寒天平板上で作用させたときの耐性コロニーの出現頻度を比較検討した (Table 8)。 *C. freundii* および *E. cloacae* では、CAZ を作用させた場合には 0.78~12.5 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で増殖可能な耐性コロニーが 10^{-4} ~ 10^{-7} の頻度で出現したが、CZOP を作用させた場合には 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度では耐性コロニーが出現しなかった。 *S. marcescens* および *P. aeruginosa* では、耐性コロニーの出現頻度において CZOP と対照 β -ラクタム剤との間に明瞭な差異はみられなかった。

6. マウス腹腔内感染症における感染防御効果

各種細菌腹腔内感染マウスにおける CZOP の感染防御効果を対照 β -ラクタム剤との比較において調べた (Table 9)。 CZOP は *S. aureus* (MSSA) 感染には

Table 1. Antibacterial spectra of ceftazidime and reference antibiotics against laboratory standard strains of aerobic bacteria

Organism		MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}					
		ceftazidime	cefazolin	cefuroxime	cefepime	ceftriaxone	cefepime
<i>Staphylococcus aureus</i>	FDA 209 P	0.39	6.25	0.39	0.2	0.39	6.25
<i>Staphylococcus aureus</i>	308 A-1	0.39	6.25	0.39	0.39	0.39	6.25
<i>Staphylococcus aureus</i>	1840	0.78	6.25	0.39	0.39	0.78	12.5
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	N 295	12.5	50	12.5	6.25	12.5	50
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	N 241	50	>100	100	50	100	>100
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	IFO 3762	0.39	6.25	0.39	0.2	0.78	6.25
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (MRSE) OH 4		0.78	50	6.25	12.5	3.13	6.25
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (MRSE) OH 20		3.13	100	50	50	12.5	50
<i>Streptococcus pyogenes</i>	E-14 ^{b)}	0.025	0.1	≤ 0.006	0.39	0.013	0.05
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Type I ^{b)}	0.05	0.2	0.013	0.2	0.025	0.39
<i>Enterococcus faecalis</i>	IFO 3989 ^{b)}	12.5	>100	50	100	12.5	100
<i>Enterococcus faecium</i>	IFO 3181 ^{b)}	25	>100	>100	25	50	>100
<i>Listeria monocytogenes</i>	EGP	12.5	>100	6.25	3.13	12.5	50
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Toronto ^{b)}	0.1	3.13	0.39	0.2	0.39	0.39
<i>Moraxella catarrhalis</i>	BN-2	0.39	0.025	0.1	0.013	0.1	1.56
<i>Escherichia coli</i>	NIH JC-2	0.05	0.2	0.1	0.05	0.1	0.1
<i>Escherichia coli</i>	O-111	0.025	0.05	0.025	0.025	0.025	0.05
<i>Escherichia coli</i>	T 7	0.1	0.39	0.39	0.1	0.39	0.39
<i>Citrobacter freundii</i>	IFO 12681	0.05	0.2	0.2	0.2	0.05	0.1
<i>Citrobacter freundii</i>	TN 474	0.78	50	3.13	100	0.78	0.39
<i>Salmonella typhimurium</i>	Watson	0.05	0.2	0.1	0.05	0.1	0.1
<i>Salmonella enteritidis</i>	T-1	0.1	0.2	0.2	0.05	0.1	0.2
<i>Shigella dysenteriae</i>	EW-1	0.05	0.1	0.025	0.05	0.05	0.1
<i>Shigella flexneri</i>	EW-10	0.025	0.1	0.025	0.1	0.05	0.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DT	0.05	0.05	0.013	0.05	0.025	0.1
<i>Enterobacter cloacae</i>	IFO 12937	0.1	0.1	0.1	0.78	0.1	0.1
<i>Enterobacter cloacae</i>	TN 583	0.78	12.5	25	100	0.78	0.39
<i>Serratia marcescens</i>	IFO 12648	0.1	0.1	0.1	0.2	0.05	0.1
<i>Proteus vulgaris</i>	IFO 3988	0.2	0.05	0.1	0.39	0.1	0.2
<i>Proteus mirabilis</i>	IFO 3849	0.78	0.1	0.39	0.39	0.39	1.56
<i>Morganella morganii</i>	IFO 3168	0.2	0.2	0.1	0.39	0.1	0.2
<i>Providencia rettgeri</i>	IFO 13501	≤ 0.006	≤ 0.006	≤ 0.006	≤ 0.006	≤ 0.006	≤ 0.006
<i>Providencia stuartii</i>	IFO 12930	0.013	0.05	≤ 0.006	0.05	0.013	0.025
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IFO 3455	0.2	0.39	6.25	>100	1.56	0.2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IFO 13275	0.39	1.56	12.5	>100	1.56	0.39
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	P 9	0.78	1.56	50	>100	6.25	0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	U 31	3.13	6.25	50	>100	6.25	0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	GN 3407	0.78	1.56	25	>100	3.13	0.39
<i>Pseudomonas cepacia</i>	IFO 14595	3.13	0.78	3.13	50	1.56	1.56
<i>Pseudomonas putida</i>	IFO 14164	1.56	6.25	50	>100	1.56	0.78
<i>Xanthomonas maltophilia</i>	IFO 14161	25	6.25	6.25	12.5	25	1.56
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	IFO 12552	1.56	6.25	50	50	6.25	3.13
<i>Haemophilus influenzae</i>	NN 400 ^{c)}	0.1	0.1	0.013	0.78	0.05	0.2
<i>Bordetella pertussis</i>	Higashihama ^{d)}	0.39	0.2	0.2	0.39	0.39	0.2
<i>Campylobacter jejuni</i>	455 ^{e)}	1.56	12.5		25	0.78	6.25
<i>Helicobacter pylori</i>	NCTC 11637 ^{e)}	3.13	1.56		0.78	1.56	25

^{a)} Determined by the agar dilution method on Mueller-Hinton agar (Difco) with a bacterial suspension of ca. 10^6 CFU/ml.^{b)} Tested with Mueller-Hinton agar (Difco) supplemented with 10 % horse serum.^{c)} Tested with Brain Heart Infusion agar (BBL) supplemented with 5 % Fildes Enrichment (Difco).^{d)} Tested with Iso-Sensitest agar (Oxoid) supplemented with 5 % bovine blood.^{e)} Determined by the agar dilution method on Brucella agar (BBL) supplemented with 7 % horse serum using a bacterial suspension of ca. 10^6 CFU/ml. The plates were incubated at 37°C for 3 days in GasPak jars (BBL) with Campy Paks (BBL).

Table 2. Comparative activities of cefozopran and reference antibiotics against clinical isolates

Organism (no.of strain)	Antibiotic	MIC (μg/ml) ^{a)}		
		Range	50 %	90 %
<i>S. aureus</i> MS ^{b)} (81)	cefazopran	0.39 ~ 3.13	0.78	0.78
	ceftazidime	3.13 ~ 25	6.25	12.5
	cefuzonam	0.2 ~ 1.56	0.39	0.39
	flomoxef	0.2 ~ 0.78	0.39	0.39
	cefpirome	0.39 ~ 1.56	0.78	0.78
	cefclidin	1.56 ~ 25	12.5	12.5
	methicillin	0.78 ~ 6.25	1.56	3.13
<i>S. aureus</i> MR ^{b)} (30)	cefazopran	0.78 ~ 100	25	25
	ceftazidime	12.5 ~ >100	100	>100
	cefuzonam	0.78 ~ >100	50	>100
	flomoxef	1.56 ~ 100	12.5	50
	cefpirome	0.78 ~ 100	25	100
	cefclidin	6.25 ~ >100	50	100
	methicillin	12.5 ~ >100	100	>100
<i>S. epidermidis</i> MS (35)	cefazopran	0.1 ~ 1.56	0.39	1.56
	ceftazidime	1.56 ~ 50	6.25	25
	flomoxef	0.2 ~ 6.25	0.39	3.13
	cefpirome	0.1 ~ 3.13	0.39	3.13
	cefclidin	1.56 ~ 50	6.25	25
	methicillin	0.2 ~ 6.25	3.13	6.25
<i>S. epidermidis</i> MR (20)	cefazopran	0.78 ~ 6.25	1.56	3.13
	ceftazidime	25 ~ >100	50	>100
	flomoxef	3.13 ~ 100	25	100
	cefpirome	0.78 ~ 50	6.25	50
	cefclidin	6.25 ~ 100	12.5	25
	methicillin	25 ~ >100	>100	>100
<i>S. pyogenes</i> (50)	cefazopran	0.0125~ 0.025	0.0125	0.025
	ceftazidime	0.1 ~ 0.39	0.2	0.2
	cefuzonam	≤0.003 ~ 0.006	0.006	0.006
	flomoxef	0.1 ~ 0.2	0.1	0.2
	cefpirome	0.006 ~ 0.0125	0.0125	0.0125
<i>S. pneumoniae</i> (48)	cefazopran	0.0125~ 1.56	0.05	0.1
	ceftazidime	0.1 ~ 25	0.2	3.13
	cefuzonam	≤0.003 ~ 0.39	0.006	0.05
	flomoxef	0.025 ~ 12.5	0.2	0.39
	cefpirome	0.006 ~ 0.78	0.025	0.1
<i>E. faecalis</i> (46)	cefazopran	1.56 ~ >100	12.5	25
	ceftazidime	3.13 ~ >100	>100	>100
	cefuzonam	0.2 ~ >100	12.5	100
	flomoxef	0.78 ~ >100	100	>100
	cefpirome	0.39 ~ >100	12.5	50
<i>E. coli</i> (50)	cefazopran	0.05 ~ 0.26	0.05	0.1
	ceftazidime	0.05 ~ 0.39	0.1	0.2
	cefuzonam	0.025 ~ 0.39	0.05	0.1
	flomoxef	0.025 ~ 1.56	0.05	0.1
	cefpirome	0.025 ~ 0.39	0.05	0.1
	cefclidin	0.05 ~ 0.39	0.1	0.2
<i>C. freundii</i> (61)	cefazopran	0.05 ~ 3.13	0.05	0.2
	ceftazidime	0.1 ~ 25	0.39	12.5
	cefuzonam	0.05 ~ 12.5	0.2	3.13
	flomoxef	0.05 ~ >100	0.2	25
	cefpirome	0.025 ~ 3.13	0.1	0.2
	cefclidin	0.1 ~ 3.13	0.1	0.39
<i>K. pneumoniae</i> (50)	cefazopran	0.025 ~ 0.78	0.05	0.1
	ceftazidime	0.1 ~ 3.13	0.2	0.39
	cefuzonam	0.05 ~ 0.78	0.1	0.2
	flomoxef	0.025 ~ 3.13	0.05	0.1
	cefpirome	0.025 ~ 3.13	0.05	0.1

Continued on following page

Table 2. Continued

Organism (no. of strain)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}		
		Range	50 %	90 %
<i>K. oxytoca</i> (43)	cefazopran	0.05 ~ 0.39	0.05	0.05
	ceftazidime	0.05 ~ 0.39	0.2	0.39
	cefuzonam	0.025 ~ 0.39	0.05	0.2
	flomoxef	0.025 ~ 0.78	0.05	0.1
	cefprome	0.025 ~ 1.56	0.05	0.1
<i>E. cloacae</i> (60)	cefazopran	0.025 ~ 12.5	0.05	6.25
	ceftazidime	0.025 ~ >100	0.2	50
	cefuzonam	0.025 ~ >100	0.2	100
	flomoxef	0.05 ~ >100	1.56	>100
	cefprome	0.025 ~ 25	0.1	6.25
	cefclidin	0.1 ~ 25	0.2	1.56
<i>S. marcescens</i> (49)	cefazopran	0.1 ~ 12.5	0.39	3.13
	ceftazidime	0.1 ~ 12.5	0.78	3.13
	cefuzonam	0.2 ~ 12.5	1.56	3.13
	flomoxef	0.39 ~ >100	50	>100
	cefprome	0.05 ~ > 6.25	0.78	3.13
<i>P. vulgaris</i> (52)	cefazopran	0.1 ~ 25	0.2	12.5
	ceftazidime	0.025 ~ 0.78	0.05	0.2
	cefuzonam	0.025 ~ 1.56	0.1	0.78
	flomoxef	0.1 ~ 0.78	0.2	0.39
	cefprome	0.1 ~ 12.5	0.2	3.13
<i>P. mirabilis</i> (50)	cefazopran	0.1 ~ 12.5	0.2	0.2
	ceftazidime	0.025 ~ 0.39	0.05	0.1
	cefuzonam	0.025 ~ 0.78	0.1	0.1
	flomoxef	0.1 ~ 1.56	0.2	0.2
	cefprome	0.05 ~ 12.5	0.1	0.2
<i>M. morgani</i> (49)	cefazopran	0.1 ~ 1.56	0.2	0.78
	ceftazidime	0.05 ~ 25	0.1	6.25
	cefuzonam	0.006 ~ 3.13	0.05	1.56
	flomoxef	0.2 ~ 6.25	1.56	6.25
	cefprome	0.025 ~ 0.39	0.05	0.2
<i>P. rettgeri</i> (47)	cefazopran	0.006 ~ 0.2	0.05	0.1
	ceftazidime	0.025 ~ 3.13	0.1	0.78
	cefuzonam	≤ 0.003 ~ 3.13	0.025	0.39
	flomoxef	0.025 ~ 1.56	0.1	0.39
	cefprome	0.006 ~ 0.2	0.1	0.2
<i>P. stuartii</i> (30)	cefazopran	0.0125 ~ 0.78	0.05	0.2
	ceftazidime	0.0125 ~ 3.13	0.1	0.39
	cefuzonam	0.006 ~ 3.13	0.05	0.39
	flomoxef	0.025 ~ 6.25	0.1	0.2
	cefprome	0.0125 ~ 1.56	0.1	0.39
<i>P. aeruginosa</i> (90)	cefazopran	0.1 ~ 25	0.78	6.25
	ceftazidime	0.1 ~ 100	0.78	6.25
	cefuzonam	3.13 ~ >100	25	>100
	flomoxef	>100	>100	>100
	cefprome	0.2 ~ >100	3.13	25
<i>H. influenzae</i> (49)	cefclidin	0.1 ~ 6.25	0.78	1.56
	cefazopran	0.05 ~ 0.2	0.1	0.2
	ceftazidime	0.05 ~ 0.2	0.1	0.1
	cefuzonam	0.006 ~ 0.025	0.0125	0.025
	flomoxef	0.39 ~ 1.56	0.78	1.56
	cefprome	0.05 ~ 0.1	0.1	0.1

^{a)} Determined by the micro-broth dilution method in Mueller-Hinton broth (Difco) with an inoculum of ca. 10^3 CFU. 50 % and 90 %, MICs for 50 and 90 % of the strains tested, respectively.

^{b)} MS, methicillin susceptible (MIC, $< 12.5 \mu\text{g/ml}$); MR, methicillin resistant (MIC, $\geq 12.5 \mu\text{g/ml}$).

Table 3. Comparative activities of cefozopran and reference antibiotics against clinical isolates resistant to imipenem/cilastatin and ceftazidime

Organism (no.of strain)	Antibiotic	MIC (μg/ml) ^{a)}		
		Range	50 %	90 %
<i>S. aureus</i> IPM-R ^{b)} (18)	cefzopran	25 ~ 100	50	100
	ceftazidime	100 ~ >100	>100	>100
	flomoxef	6.25~>100	100	100
	cefprome	25 ~>100	100	100
	cefclidin	50 ~>100	>100	>100
	imipenem/cilastatin	12.5 ~ 100	50	100
<i>S. epidermidis</i> IPM-R (20)	cefzopran	1.56~ 12.5	3.13	12.5
	ceftazidime	25 ~>100	100	>100
	flomoxef	3.13~ 100	50	50
	cefprome	3.13~ 50	12.5	50
	cefclidin	6.25~ 100	25	50
	imipenem/cilastatin	12.5 ~ 100	50	50
<i>C. freundii</i> CAZ-R ^{c)} (13)	cefzopran	0.39~ 3.13	1.56	3.13
	ceftazidime	25 ~>100	100	>100
	flomoxef	12.5 ~>100	100	>100
	cefprome	0.2 ~ 3.13	0.78	3.13
	cefclidin	0.1 ~ 3.13	0.78	1.56
	imipenem/cilastatin	0.1 ~ 0.78	0.39	0.78
<i>E. cloacae</i> CAZ-R (29)	cefzopran	0.39~ 12.5	3.13	12.5
	ceftazidime	25 ~>100	100	>100
	flomoxef	50 ~>100	>100	>100
	cefprome	0.39~ 50	1.56	12.5
	cefclidin	0.2 ~ 25	0.78	3.13
	imipenem/cilastatin	0.2 ~ 3.13	0.39	1.56
<i>P. aeruginosa</i> IPM-R (18)	cefzopran	0.78~ 25	3.13	12.5
	ceftazidime	0.78~ 6.25	3.13	6.25
	cefprome	3.13~ 100	12.5	50
	cefclidin	0.78~ 50	1.56	6.25
	imipenem/cilastatin	12.5 ~ 50	25	50
<i>P. aeruginosa</i> CAZ-R (27)	cefzopran	12.5 ~>100	50	>100
	ceftazidime	12.5 ~>100	100	>100
	cefprome	25 ~>100	100	>100
	cefclidin	1.56~ 50	6.25	25
	imipenem/cilastatin	0.39~ 6.25	1.56	3.13
<i>P. aeruginosa</i> CAZ-R & IPM-R (21)	cefzopran	6.25~ 100	25	50
	ceftazidime	12.5 ~ 100	50	100
	cefprome	12.5 ~>100	100	100
	cefclidin	1.56~ 12.5	6.25	12.5
	imipenem/cilastatin	12.5 ~ 25	25	25

^{a)} Determined by the agar dilution method on Mueller-Hinton agar (Difco) with a bacterial suspension of ca. 10⁶ CFU/ml. 50 % and 90 %, MICs for 50 % and 90 % of the strains tested, respectively.

^{b)} IPM-R, imipenem resistant (MIC, ≥12.5 μg/ml).

^{c)} CAZ-R, ceftazidime resistant (MIC, ≥12.5 μg/ml).

FMOX および CPR とほぼ同等, CAZ および CFCL より明らかに強い効果を示した。MRSA 感染に対しても, CZOP の ED₅₀ は試験薬剤中最も小さく, 比較的良好な効果を示した。 *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *C. freundii*, *E. cloacae*, *S. marcescens* および *P. vulgaris* 感染に対しても, 一部対照薬剤より弱い場合もみられたが, 多くの場合対照薬剤と同等ないしはそれらより強い効果を示した。 *P. aeruginosa* 感染には CFCL とほぼ同等, CAZ とほぼ同等かやや強く, CPR より明らかに強い効果を示した。また, *H. influenzae*

感染に対しても, CZON より弱い^が, CAZ および CPR とほぼ同等の効果を示した。

III. 考 察

セファロスポリンを化学修飾することにより, 数多くの有用な抗菌薬が開発されてきた。しかし, *Staphylococcus* 属と *P. aeruginosa* の両方に同時に強い抗菌力を有する薬剤を創製することは困難であった¹⁾。 CZOP は CAZ, CZON, FMOX, CPR および CFCL との比較において, *Staphylococcus* 属に対しては CZON, FMOX および CPR に, *P. aeruginosa* に対しては CAZ

Table 4. Effect of culture medium on antibacterial activities of cefozopran

Organism	Medium	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}		
		cefazopran	ceftazidime	flomoxef
<i>S. aureus</i> FDA 209 P	MHA	0.78	6.25	0.39
	TSA	0.78	6.25	0.39
	NA	0.39	6.25	0.39
	HIA	0.78	6.25	0.39
	BHIA	0.78	6.25	0.39
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	MHA	0.05	0.2	0.05
	TSA	0.05	0.2	0.1
	NA	0.1	0.2	0.1
	HIA	0.05	0.2	0.05
	BHIA	0.05	0.25	0.1
<i>C. freundii</i> IFO 12681	MHA	0.1	0.39	0.39
	TSA	0.05	0.39	0.2
	NA	0.1	0.2	0.39
	HIA	0.05	0.2	1.56
	BHIA	0.1	0.39	0.78
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	MHA	0.78	0.39	>100
	TSA	0.39	0.39	100
	NA	0.39	0.78	100
	HIA	0.39	0.2	50
	BHIA	0.39	0.39	50

^{a)} Determined by the agar dilution method on Mueller-Hinton agar (MHA, Difco), Trypticase soy agar (TSA, BBL), Nutrient agar (NA, Eiken), Heart Infusion agar (HIA, Difco) or Brain Heart Infusion agar (BHIA, Difco) with a bacterial suspension of ca. 10^6 CFU/ml.

Table 5. Effect of medium pH on antibacterial activities of cefozopran

Organism	pH	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}		
		cefazopran	ceftazidime	flomoxef
<i>S. aureus</i> FDA 209 P	6	0.78	6.25	0.39
	7	0.78	6.25	0.39
	8	0.39	3.13	0.39
	9	0.2	6.25	0.39
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	6	0.05	0.2	0.05
	7	0.05	0.2	0.05
	8	0.025	0.1	0.05
	9	0.05	0.2	0.1
<i>C. freundii</i> IFO 12681	6	0.05	0.39	0.39
	7	0.1	0.39	0.39
	8	0.05	0.39	0.2
	9	0.1	1.56	1.56
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	6	0.78	0.78	>100
	7	0.78	0.39	>100
	8	0.78	0.39	>100
	9	0.78	0.39	50

^{a)} Determined by the agar dilution method on Mueller-Hinton agar (Difco) with a bacterial suspension of ca. 10^6 CFU/ml.

に、それぞれ匹敵する抗菌力を示した。また、*Streptococcus* 属、*P. vulgaris* を除く Enterobacteriaceae 科の各種細菌および *H. influenzae* に対しても CPR とほぼ同等の抗菌力を示した。したがって、CZOP の抗菌スペクトルは、対照薬剤中 CPR のスペクトルに最も良く類似していた。しかし、CZOP は次の 2 点において CPR よりも優れていた。CZOP は、第一に、*P. aeruginosa* に対して CPR よりも明らかに強い抗菌力

を示した。第二に、*Staphylococcus* 属中の DMPPC 感性株に対しては CPR とほぼ同等であるが、DMPPC 耐性株、特に *S. epidermidis* 中の耐性株に対して、CPR より数倍強い抗菌力を示した。しかし、CZOP の DMPPC 耐性 *S. epidermidis* に対する臨床での有効性については、今後更に検討する必要がある。今回の実験では対照薬剤に含まれていないが、最近開発された広域スペクトルセファロsporin である cefepime

Table 6. Effect of inoculum size on antibacterial activities of cefozopran

Organism	Inoculum size (CFU/ml)	MIC (μg/ml) ^{a)}		
		cefazopran	ceftazidime	flomoxef
<i>S. aureus</i> FDA 209 P	10 ⁵	0.78	3.13	0.39
	10 ⁶	0.78	6.25	0.39
	10 ⁷	0.78	6.25	0.39
	10 ⁸	0.78	12.5	0.39
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	10 ⁵	0.05	0.2	0.05
	10 ⁶	0.05	0.2	0.05
	10 ⁷	0.05	0.2	0.1
	10 ⁸	0.1	0.39	0.2
<i>C. freundii</i> IFO 12681	10 ⁵	0.05	0.2	0.2
	10 ⁶	0.05	0.39	0.39
	10 ⁷	0.1	0.39	3.13
	10 ⁸	0.1	0.78	50
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	10 ⁵	0.39	0.39	>100
	10 ⁶	0.78	0.78	>100
	10 ⁷	0.78	0.78	>100
	10 ⁸	1.56	1.56	>100

^{a)}Determined by the agar dilution method on Mueller-Hinton agar (Difco) with a bacterial suspension of ca. 10⁵-10⁸ CFU/ml.

Table 7. Effect of horse serum on antibacterial activities of cefozopran

Organism	Horse serum (%)	MIC (μg/ml) ^{a)}		
		cefazopran	ceftazidime	flomoxef
<i>S. aureus</i> FDA 209 P	0	0.78	3.13	0.39
	10	0.78	6.25	0.78
	20	0.78	6.25	0.78
	50	0.39	6.25	0.39
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0	0.05	0.2	0.05
	10	0.05	0.2	0.05
	20	0.05	0.2	0.05
	50	0.025	0.1	0.05
<i>C. freundii</i> IFO 12681	0	0.1	0.39	0.39
	10	0.05	0.39	0.78
	20	0.1	0.39	3.13
	50	0.1	0.78	3.13
<i>P.aeruginosa</i> IFO 3445	0	0.78	0.39	>100
	10	0.78	0.39	>100
	20	0.78	0.39	>100
	50	0.2	0.1	0.2

^{a)}Determined by the agar dilution method on Mueller-Hinton agar (Difco) with a bacterial suspension of ca. 10⁶ CFU/ml.

(CFPM) も、*Staphylococcus* 属と *P. aeruginosa* の両方に対する抗菌力の増強を特長としている^{11,12)}。しかし、CFPM の抗菌力は、*Staphylococcus* 属では CPR の 1/2~1/4 であり、*P. aeruginosa* では CAZ の約 1/2 であることが数施設より報告されている^{13~15)}。したがって、CZOP の抗菌力は、CFPM に比べ、*Staphylococcus* 属では 2~4 倍、*P. aeruginosa* では約 2 倍優れていると思われる。五島ら¹⁶⁾および西野ら¹⁷⁾は、両薬剤の直接比較により、この点を確認している。三宅ら⁴⁾は、CZOP の構造-活性相関について検討を行い、3 位側鎖上の imidazo-pyridazinium 基は抗菌スペクトルの拡大に、7 位側鎖上の aminothiadiazoly 基は *P. aeruginosa*

や DMPPC 耐性 *Staphylococcus* 属に対する抗菌力の増強に寄与していることを示している。

CZOP は *C. freundii* や *E. cloacae* の CAZ 感性株に対しては CAZ に比べ 2~8 倍強い抗菌力を示したにすぎなかったが、CAZ 耐性株に対しては CAZ に比べ 1 ないし 2 オーダー強い抗菌力を示した。*Citrobacter* 属や *Enterobacter* 属では、cefotaxime や CAZ のような広域スペクトルセファロスポリンによる治療中に耐性菌が速やかに出現し、しばしば化学療法の実敗や感染の再発を引き起こすことが指摘されている^{2,3)}。これらの菌種は Bush group 1 に分類される誘導型の染色体性の β -lactamases を産生する¹⁸⁾が、セ

Table 8. Frequency of emergence of spontaneous resistance to cefozopran and reference antibiotics in *C. freundii*, *E. cloacae*, *S. marcescens* and *P. aeruginosa*

Organism	Antibiotic	MIC ^{a)} ($\mu\text{g/ml}$)	Frequency of emergence of resistance ^{b)} at concentration ($\mu\text{g/ml}$) of:		
			0.78	3.13	12.5
<i>C. freundii</i> IFO 12681	cefazopran	0.05	3×10^{-7}	$< 8 \times 10^{-9}$	$< 8 \times 10^{-9}$
	caftazidime	0.39	5×10^{-6}	4×10^{-7}	3×10^{-7}
	cefprome	0.05	4×10^{-7}	5×10^{-8}	$< 8 \times 10^{-9}$
	cefclidin	0.1	2×10^{-7}	$< 8 \times 10^{-9}$	$< 8 \times 10^{-9}$
<i>C. freundii</i> K-10-70	cefazopran	0.1	4×10^{-7}	$< 6 \times 10^{-9}$	$< 6 \times 10^{-9}$
	caftazidime	0.78	1×10^{-6}	5×10^{-7}	5×10^{-7}
	cefprome	0.1	1×10^{-7}	$< 6 \times 10^{-9}$	$< 6 \times 10^{-9}$
	cefclidin	0.1	$< 6 \times 10^{-9}$	$< 6 \times 10^{-9}$	$< 6 \times 10^{-9}$
<i>C. freundii</i> M-10-163	cefazopran	0.1	2×10^{-7}	$< 4 \times 10^{-9}$	$< 4 \times 10^{-9}$
	caftazidime	0.78	3×10^{-7}	3×10^{-7}	2×10^{-7}
	cefprome	0.2	8×10^{-8}	$< 4 \times 10^{-9}$	$< 4 \times 10^{-9}$
	cefclidin	0.2	4×10^{-9}	$< 4 \times 10^{-9}$	$< 4 \times 10^{-9}$
<i>E. cloacae</i> IFO 12937	cefazopran	0.1	9×10^{-7}	$< 4 \times 10^{-9}$	$< 4 \times 10^{-9}$
	caftazidime	0.39	1×10^{-4}	1×10^{-4}	4×10^{-5}
	cefprome	0.1	1×10^{-8}	$< 4 \times 10^{-9}$	$< 4 \times 10^{-9}$
	cefclidin	0.1	$< 4 \times 10^{-9}$	$< 4 \times 10^{-9}$	$< 4 \times 10^{-9}$
<i>E. cloacae</i> K-9-207	cefazopran	0.1	3×10^{-8}	$< 9 \times 10^{-9}$	$< 9 \times 10^{-9}$
	caftazidime	0.39	2×10^{-7}	7×10^{-7}	4×10^{-7}
	cefprome	0.1	5×10^{-8}	$< 9 \times 10^{-9}$	$< 9 \times 10^{-9}$
	cefclidin	0.1	$< 9 \times 10^{-9}$	$< 9 \times 10^{-9}$	$< 9 \times 10^{-9}$
<i>E. cloacae</i> M-9-215	cefazopran	0.05	9×10^{-8}	$< 6 \times 10^{-9}$	$< 6 \times 10^{-9}$
	caftazidime	0.78	3×10^{-6}	7×10^{-7}	1×10^{-6}
	cefprome	0.05	$< 6 \times 10^{-9}$	$< 6 \times 10^{-9}$	$< 6 \times 10^{-9}$
	cefclidin	0.1	$< 6 \times 10^{-9}$	$< 6 \times 10^{-9}$	$< 6 \times 10^{-9}$
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	cefazopran	0.1	$< 9 \times 10^{-9}$	$< 9 \times 10^{-9}$	$< 9 \times 10^{-9}$
	caftazidime	0.1	5×10^{-8}	$< 9 \times 10^{-9}$	$< 9 \times 10^{-9}$
	cefprome	0.025	$< 9 \times 10^{-9}$	$< 9 \times 10^{-9}$	$< 9 \times 10^{-9}$
	cefclidin	0.1	2×10^{-8}	$< 9 \times 10^{-9}$	$< 9 \times 10^{-9}$
<i>S. marcescens</i> K-8-231	cefazopran	0.78	2×10^{-6}	$< 1 \times 10^{-9}$	$< 1 \times 10^{-9}$
	caftazidime	1.56	—	1×10^{-6}	$< 1 \times 10^{-9}$
	cefprome	0.39	2×10^{-5}	$< 1 \times 10^{-9}$	$< 1 \times 10^{-9}$
	cefclidin	0.78	2×10^{-7}	6×10^{-8}	$< 1 \times 10^{-9}$
<i>P. aeruginosa</i> P 9	cefazopran	0.78	7×10^{-6}	5×10^{-7}	$< 5 \times 10^{-9}$
	caftazidime	1.56	—	3×10^{-8}	$< 5 \times 10^{-9}$
	cefprome	3.13	—	3×10^{-6}	$< 5 \times 10^{-9}$
	cefclidin	0.39	2×10^{-7}	2×10^{-8}	$< 5 \times 10^{-9}$
<i>P. aeruginosa</i> K-7-311	cefazopran	0.39	1×10^{-6}	2×10^{-7}	$< 1 \times 10^{-9}$
	caftazidime	0.78	6×10^{-6}	1×10^{-7}	$< 1 \times 10^{-9}$
	cefprome	0.78	2×10^{-6}	5×10^{-7}	$< 1 \times 10^{-9}$
	cefclidin	0.2	1×10^{-7}	$< 1 \times 10^{-9}$	$< 1 \times 10^{-9}$

^{a)}Determined by the agar dilution method with a bacterial suspension of ca. 10^6 CFU/ml.^{b)}Volumes of 0.1 ml of appropriate dilutions of a bacterial suspension were spread on agar plates with and without antibiotic. After 48 h of incubation at 37°C, single colonies grown on the plates were counted.

ファロスポリンに対する速やかな耐性化は β -lactamases産生性の構成型への変異と密接に関連している^{3,19)}。変異により Bush group 1 β -lactamasesが過剰に産生され、この β -lactamasesによってセファロスポリンが菌体のペリプラスミド中で捕獲されるか、ゆっくりとではあるが水解されるか、あるいはそれらの両方の機構で作用点に到達し難くなるために耐性化すると考えられている¹⁹⁾。CZOPは*C. freundii*,

E. cloacae, *S. marcescens* および *P. aeruginosa* によって産生される Bush group 1 β -lactamasesに、CAZと同様に極めて安定であるが、CAZに比べこれらの β -lactamasesとの親和性が1オーダー以上低い²⁰⁾。したがって、CZOPは、CAZに比べ、 β -lactamasesと反応し難いので、仮に変異により β -lactamasesが過剰に産生されてもペリプラスミド中で捕獲され難く、作用点に到達し易いと考えられる。いずれにしても、CZOP

Table 9. Protective effects of cefozopran and reference antibiotics against experimental intraperitoneal infection in mice.

Organism (Challenge dose, CFU/mouse)	Antibiotic	MIC ^{a)} (μ g/ml)	ED ₅₀ ^{b)} (mg/kg)
<i>S. aureus</i> 308 A-1 (10 ⁷) (MSSA)	cefazopran	0.39	1.15 (0.844-1.58)
	ceftazidime	6.25	16.1 (12.0-21.4)
	cefuzonam	0.39	2.46 (2.17-2.72)
	flomoxef	0.39	0.645 (0.534-0.912)
	cefpirome	0.39	1.58 (1.17-2.19)
<i>S. aureus</i> N 133 A (10 ⁸) (MRSA)	cefazopran	12.5	14.5 (11.9-17.9)
	ceftazidime	100	>100
	cefuzonam	50	>100
	flomoxef	25	31.4 (24.1-41.0)
	cefpirome	50	37.9 (26.7-52.0)
<i>S. pyogenes</i> E-14 (10 ⁴)	cefazopran	0.025	0.053 (0.041-0.068)
	ceftazidime	0.1	0.388 (0.31-0.48)
	cefuzonam	<0.006	0.082 (0.067-0.097)
	cefpirome	0.013	0.028 (0.022-0.036)
<i>S. pneumoniae</i> Type I (10 ¹)	cefazopran	0.05	4.57 (2.69-6.98)
	ceftazidime	0.2	9.74 (5.61-24.0)
	cefuzonam	0.013	0.842 (0.349-1.39)
	cefpirome	0.025	2.56 (1.59-3.92)
<i>E. coli</i> O-111 (10 ⁵)	cefazopran	0.025	0.013 (0.010-0.018)
	ceftazidime	0.05	0.020 (0.014-0.026)
	cefuzonam	0.025	0.008 (0.005-0.011)
	cefpirome	0.025	0.011 (0.008-0.015)
<i>E. coli</i> T 7 (10 ⁴)	cefazopran	0.1	0.230 (0.175-0.306)
	ceftazidime	0.39	0.585 (0.447-0.769)
	cefuzonam	0.39	1.16 (0.934-1.45)
	cefpirome	0.39	0.611 (0.464-0.801)
<i>C. freundii</i> TN 518 (10 ⁵)	cefazopran	0.05	0.054 (0.040-0.071)
	ceftazidime	0.2	0.201 (0.157-0.255)
	cefuzonam	0.1	0.286 (0.258-0.315)
	cefpirome	0.05	0.044 (0.030-0.060)
<i>E. cloacae</i> TN 618 (10 ⁴)	cefazopran	0.1	0.067 (0.0477-0.0897)
	ceftazidime	0.2	0.120 (0.0877-0.159)
	cefuzonam	0.2	0.247 (0.177-0.330)
	cefpirome	0.1	0.047 (0.0362-0.060)
<i>E. cloacae</i> N-9-201 (10 ⁴)	cefazopran	6.25	2.30 (2.01-2.68)
	ceftazidime	50	50.7 (31.4-120)
	cefuzonam	>100	>100
	cefpirome	12.5	2.66 (2.06-3.42)
<i>S. marcescens</i> TN 66 (10 ³)	cefazopran	0.1	0.533 (0.398-0.704)
	ceftazidime	0.1	0.201 (0.149-0.270)
	cefuzonam	0.05	0.450 (0.354-0.572)
	cefpirome	0.05	0.115 (0.078-0.154)
<i>P. vulgaris</i> C 5775 (10 ⁶)	cefazopran	0.39	2.45 (1.56-3.69)
	ceftazidime	0.1	0.186 (0.136-0.249)
	cefuzonam	0.2	0.417 (0.327-0.535)
	cefpirome	0.2	0.465 (0.264-0.678)
<i>P. aeruginosa</i> P 9 (10 ³)	cefazopran	0.78	1.21 (0.821-1.63)
	ceftazidime	1.56	3.10 (2.35-4.04)
	cefuzonam	50	>100
	cefpirome	6.25	7.03 (4.49-9.90)
<i>P. aeruginosa</i> GN 3407 (10 ⁶)	cefclidin	0.78	1.82 (1.22-2.51)
	cefazopran	0.78	19.3 (8.10-36.2)
	ceftazidime	1.56	33.2 (19.8-65.1)
	cefpirome	3.13	>100
	cefclidin	0.39	24.1 (14.8-38.4)

Continued on following page

Table 9 Continued

Organism (Challenge dose, CFU/mouse)	Antibiotic	MIC ^{a)} (μ g/ml)	ED ₅₀ ^{b)} (mg/kg)
<i>P. aeruginosa</i> NC-5 (10 ³)	cefazopran	1.56	0.951 (0.413-1.59)
	ceftazidime	3.13	1.63 (0.798-3.08)
	ceftiofome	6.25	6.11 (3.24-11.3)
	cefclidin	0.78	1.27 (0.694-2.00)
<i>H. influenzae</i> H 73 (10 ⁶)	cefazopran	0.1	1.16 (0.748-2.17)
	ceftazidime	0.1	1.42 (0.792-2.61)
	cefuzonam	0.006	0.133 (0.088-0.224)
	ceftiofome	0.05	1.29 (0.793-2.23)

^{a)}Determined by the agar dilution method with a bacterial suspension of ca. 10⁶ CFU/ml.

^{b)}ED₅₀, 50% effective dose. Antibiotics were given subcutaneously immediately after infection. The 95% confidence limits are given in parentheses.

Table 10. Antibacterial activities of cefazopran and its related compounds against laboratory standard strains of aerobic bacteria

Organism		MIC (μ g/ml) ^{a)}						
		cefazopran	Compound I	Compound II (Δ^3 -体)	Compound III (anti-体)	Compound IV (epi-体)	Compound V (aldehyde-体)	Compound VI (lactone-体)
<i>S. aureus</i>	FDA 209 P	0.78	>100	>100	1.56	>100	>100	25
<i>S. aureus</i>	308 A-1	0.78	>100	100	1.56	>100	>100	6.25
<i>S. aureus</i>	N 133	25	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>E. faecium</i>	IFO 3128	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>E. faecalis</i>	IFO 12580	25	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>E. coli</i>	NIHJ JC-2	0.05	>100	12.5	12.5	50	>100	25
<i>E. coli</i>	O-111	0.025	>100	12.5	6.25	25	>100	12.5
<i>E. coli</i>	T-7	0.2	>100	100	>100	>100	>100	100
<i>C. freundii</i>	IFO 12681	0.05	>100	25	25	50	>100	50
<i>K. pneumoniae</i>	DT-S	0.05	>100	25	12.5	50	>100	25
<i>K. pneumoniae</i>	IFO 3321	0.05	>100	12.5	12.5	25	>100	25
<i>E. cloacae</i>	CS 4495	0.1	>100	25	25	50	>100	50
<i>E. cloacae</i>	CN 5788	0.1	>100	100	>100	100	>100	>100
<i>E. cloacae</i>	CS 4494	0.1	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>S. marcescens</i>	IFO 12648	0.1	>100	50	50	100	>100	50
<i>P. vulgaris</i>	IFO 3988	0.2	>100	50	50	100	>100	25
<i>M. morgani</i>	IFO 3168	0.1	>100	50	25	50	>100	50
<i>P. aeruginosa</i>	IFO 3445	0.78	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i>	P 9	0.78	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i>	NC-5	0.78	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>P. aeruginosa</i>	U 31	6.25	>100	>100	>100	>100	>100	>100

^{a)}Determined by the agar dilution method on Mueller-Hinton agar (Difco) with a bacterial suspension of ca. 10⁶ CFU/ml.

はCAZ耐性株にも強い抗菌力を発揮するので、CZOPでは*Citrobacter*属や*Enterobacter*属による感染症の治療中に耐性菌が出現する危険性も低いと考えられる。CFPM²¹⁾、CPR²²⁾およびCFCL⁹⁾も*C. freundii*や*E. cloacae*のCAZ耐性株に対して比較的強い抗菌力を示すが、その主要な要因としてこれらの薬剤の β -lactamasesとの低親和性が指摘されている。

さらに、CZOPの特長の一つとして、*Staphylococcus*属のDMPPC耐性株、特に*S. epidermidis*中の耐性株に対して、FMOXおよびCPR等の対照薬剤より数倍強い抗菌力を示す点も注目される。*Staphylococcus*属のDMPPC耐性株は、感性株では検出されない β -ラクタム系薬剤と結合し難いペニシリン結合タンパク質

(PBP2'あるいはPBP2a)を産生するが、 β -ラクタム系薬剤耐性の発現はこの特異なペニシリン結合タンパクの産生と密接に関連している²³⁾。CZOPは、対照薬剤に比べ、PBP2'と結合し易い²⁴⁾。したがって、CZOPが*Staphylococcus*属のDMPPC耐性株に対して比較的強い抗菌力を示すのは、一つにはこのPBP2'との比較的高い親和性に基づいていると考えられる。しかし、*Staphylococcus*属のDMPPC耐性株に対する β -ラクタム系薬剤のMICは、培養温度、培地中のNaCl濃度、培地pHなどの測定条件により、変動することが指摘されている²⁵⁾ので、これらの耐性株に対するCZOPの抗菌力については更に精査する必要があると思われる。

CZOP は種々のグラム陰性および陽性菌により惹起されたマウスでの全身感染症に対して、対照薬剤との比較において、概ね *in vitro* での強い抗菌力に対応した良好な防御効果を示した。CZOP はマウスを含む各種動物で CAZ, CPR および CFCL と極めて良く類似した薬動力学的性状を示す²⁶⁾。したがって、CZOP の良好な *in vivo* 効果は、主としてその強い抗菌力を反映したものであると考えられる。

以上の成績より、CZOP は種々のグラム陽性および陰性菌に幅広く強い *in vitro* および *in vivo* 抗菌力を有する新しい注射用セフェム系抗生物質であると考えられる。

文 献

- 1) Neu H C: β -Lactam antibiotics: structural relationships affecting *in vitro* activity and pharmacologic properties. Rev Infect Dis 8: S237~S259, 1986
- 2) Sanders C C, Sanders W E Jr.: Microbial resistance to newer generation β -lactam antibiotics: clinical and laboratory implications. J Infect Dis 151: 399~406, 1985
- 3) Livermore D M: Clinical significance of beta-lactamase induction and stable derepression in gram-negative rods. Eur J Clin Microbiol 6: 439~445, 1987
- 4) 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 β -[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
- 5) O'Callaghan C H, Acred P, Harper P B, Ryan D M, Kirby S M, Harding S M: GR 20263, a new broad-spectrum cephalosporin with antipseudomonal activity. Antimicrob Agent Chemother 17: 876~883, 1980
- 6) Hikida M, Inoue M, Mitsuhashi S: *In vitro* antibacterial activity of L-105, a new cephalosporin. Program Abstr. 24th Intersci. Conf. Antimicrob Agent Chemother, abstr. 733, 1984
- 7) Tsuji T, Satoh H, Narisada M, Hamashima Y, Yoshida T: Synthesis and antibacterial activity of 6315-S, a new member of the oxacephem antibiotic. J Antibiot 38: 466~476, 1985
- 8) Seibert G, Klesel N, Limbert M, Schrinner E, Seeger K, Winkler I, Lattrell R, Blumbach J, Durckheimer W, Fleischmann K, Kirrstetter R, Mencke B, Ross B C, Scheunemann K H, Schwab W, Wieduwilt M: HR 810, a new parenteral cephalosporin with a broad antibacterial spectrum. Arzneimittel Forsh 33: 1084~1086, 1983
- 9) Watanabe N, Katsu K, Moriyama M, Kitoh K: *In vitro* evaluation of E1040, a new cephalosporin with potent antipseudomonal activity. Antimicrob Agent Chemother 32: 693~701, 1988
- 10) Finney D J: Probit analysis, a statistical treatment of the sigmoid response curve, 2nd ed. Cambridge University Press, London, 1952
- 11) Kessler R E, Bies M, Buck R E, Chisholm D R, Pursiano T A, Tsai Y H, Misiek M, Price K E, Leitner F: Comparison of a new cephalosporin, BMY 28142, with other broad-spectrum β -lactam antibiotics. Antimicrob Agent Chemother 27: 207~216, 1985
- 12) Tsuji A, Maniatis A, Bertram A, Young L S: *In vitro* activity of BMY-28142 in comparison with those of other β -lactam antimicrobial agents. Antimicrob Agent Chemother 27: 515~519, 1985
- 13) Clarke A M, Zemcov S J V, Wright J M: HR810 and BMY-28142, two new cephalosporins with broad-spectrum activity: an *in vitro* comparison with other β -lactam antibiotics. J Antimicrob Chemother 15: 305~310, 1985
- 14) Fuchs P C, Jones R N, Barry A L, Thornsberry C: Evaluation of the *in vitro* activity of BMY-28142, a new broad-spectrum cephalosporin. Antimicrob Agent Chemother 27: 679~682, 1985
- 15) Neu H C, Chin N X, Novelli A: *In vitro* activity of E-1040, a novel cephalosporin with potent activity against *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agent Chemother 32: 1666~1675, 1988
- 16) Goto S, Miyazaki S, Kaneko Y, Tsuji A, Kuwahara S: *In vitro* anti-bacterial activity of SCE-2787, a new parenteral cephalosporin. Program Abstr. 29th Intersci. Conf. Antimicrob Agent Chemother, abstr. 488, 1989
- 17) Nishino T, Otsuki M, Noji Y, Tsuchimori N: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of SCE-2787, a new parenteral cephalosporin. Program Abstr. 29th Intersci. Conf. Antimicrob Agent Chemother, abstr. 490, 1989
- 18) Bush K: Characterization of β -lactamases. Antimicrob Agent Chemother 33: 259~263, 1989
- 19) Sanders C C: Chromosomal cephalosporinases responsible for multiple resistance to newer β -lactam antibiotics. Annu Rev Microbiol 41: 573~593, 1987
- 20) 小此木研二, 岩日朋幸, 山崎俊幸, 今田 哲: 新セフェム系抗生物質 cefozopran の β -lactamase に対する安定性, 親和性および β -lactamase 産生菌に対する抗菌力。Chemotherapy 41(S-4): 105~111, 1993
- 21) Phelps D J, Carlton D D, Farrell C A, Kessler R

- E: Affinity of cephalosporins for β -lactamases as a factor in antibacterial efficacy. Antimicrob Agent Chemother 29: 845~848, 1986
- 22) Kobayashi S, Arai S, Hayashi S, Fujimoto K: β -lactamase stability of cefpirome (HR810), a new cephalosporin with a broad antimicrobial spectrum. Antimicrob Agent Chemother 30: 713~718, 1986
- 23) Hackbarth C J, Chambers H F: Methicillin-resistant staphylococci: genetics and mechanisms of resistance. Antimicrob Agent Chemother 33: 991~994, 1989
- 24) 中尾雅文, 野路弓子, 岩日朋幸, 山崎俊幸, 今田 哲: 新セフェム系抗生物質 cefozopran のペニシリン結合タンパク質への親和性, 殺菌作用ならびに形態変化誘発作用. Chemotherapy 41(S-4): 112~120, 1993
- 25) Hackbarth C J, Chambers H F: Methicillin-resistant staphylococci: detection methods and treatment of infections. Antimicrob Agent Chemother 33: 995~999, 1989
- 26) 喜多八洲男, 木村義昭, 山崎俊幸, 今田 哲: 新セフェム系抗生物質 cefozopran の実験動物における体内動態. Chemotherapy 41(S-4): 121~130, 1993

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

Tomoyuki Iwahi, Shikiko Shiki, Takako Naito,
Ryogo Hayashi, Toshiyuki Yamazaki and Akira Imada
Research and Development Division, Takeda Chemical Industries, Ltd.

Cefozopran (CZOP) was evaluated for its *in vitro* and *in vivo* activities in comparison with those of ceftazidime (CAZ), cefuzonam (CZON), flomoxef (FMOX), cefpirome (CPR) and cefclidin (CFCL). CZOP exhibited a well-balanced spectrum of activities, with MIC₉₀s ranging from 0.025 to 6.25 μ g/ml for clinical isolates of methicillin (DMPPC)-susceptible *Staphylococcus* species, *Streptococcus* species, most members of the family Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* and *Haemophilus influenzae*. Against DMPPC-susceptible strains of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, CZOP was 8- to 16-fold more active than CAZ and CFCL and as active as CZON, FMOX and CPR, with MIC₉₀s of 0.78 and 1.56 μ g/ml, respectively. CZOP was also active against *P. aeruginosa*, for which the MIC₉₀ was 6.25 μ g/ml, which was 2- to 4-fold lower than that of CPR and comparable to that of CAZ. The activities of CZOP against *Streptococcus* species, members of the family Enterobacteriaceae except *Proteus vulgaris*, and *H. influenzae* exceeded those of CAZ and FMOX and were comparable to those of CPR. MIC₉₀s of CZOP were significantly lower than those of CAZ for CAZ-resistant isolates of *Citrobacter freundii* and *Enterobacter cloacae*. Furthermore, CZOP showed relatively potent activity against DMPPC-resistant *S. epidermidis*, with MIC₉₀ of 3.13 μ g/ml, although its activities against DMPPC-resistant *S. aureus* and *Enterococcus faecalis* were moderate. The *in vitro* activity of cefozopran was reflected by its efficacy in mouse protection tests.