

# 抗菌薬による緑膿菌からのエンドトキシン遊離

—Imipenem, ceftazidime を中心に—

宮良 高維・伊志嶺朝彦・齋藤 厚

琉球大学医学部第一内科\*

(平成6年8月17日受付・平成6年12月21日受理)

マウスの緑膿菌による腹腔内感染モデルを同菌に対して作用点の異なる imipenem (IPM) と ceftazidime (CAZ) の2つの  $\beta$ -lactam 系抗菌薬で治療し、抗菌薬により誘発されたエンドトキシン血症のパターンを検討した。グラム陰性桿菌 (GNR) に対し、その隔壁形成に關与する penicillin binding protein (PBP) 3 に比較的親和性の強い抗菌薬は菌体にフィラメント化をきたす。その結果、菌体の容積が増大し、carbapenem 系抗菌薬のように主に PBP 2 を阻害する抗菌薬と比較して、溶菌の際に菌体から放出されるエンドトキシン量が多くなるという *in vitro* の検討にもとづいた報告がこれまで多くなされている。しかし、本稿における *in vivo* の成績は、治療後早期に高いエンドトキシン血症を起こしたのはむしろ IPM の方であった (2時間値,  $p < 0.05$ )。また、我々の *in vitro* の検討結果では、inoculum size が小さい系 ( $10^6$ CFU/ml) では形態変化にほとんど差を認めず、殺菌速度、遊離エンドトキシン量も両薬剤間で差は認められなかった。しかし、inoculum size が大きい系 ( $10^7$ CFU/ml) では IPM は強力な殺菌力を維持するが、CAZ の殺菌力は低下する結果が得られた。したがって、IPM の強力な殺菌が短時間に進行するため、抗菌薬添加後早期では培養液中に遊離されるエンドトキシンは IPM の方が有意に高い成績が得られた ( $p < 0.05$ )。これらから、*in vivo* でエンドトキシンは常に scavenging を受け末梢血から除去されるため、inoculum effect を受けにくい IPM の強力な殺菌力が感染菌量の多い敗血症マウスにおいては一過性のエンドトキシン値の上昇をきたしたと考えられた。以上の成績から、抗菌薬に誘発されるエンドトキシン血症を *in vitro* の検討から予想する場合においては、scavenging を考慮するとエンドトキシン遊離速度が最も重要な指標となると考えられる。

**Key words:** antibiotic-induced endotoxemia, endotoxin, sepsis, *Pseudomonas aeruginosa*

$\beta$ ラクタム薬の抗菌力は各 penicillin binding protein (PBP) に対する親和性の強さで特徴づけられる。そして、抗菌薬と菌種によりそれぞれの PBP に対する親和性の順位が異なる。また、この抗菌薬の作用点となる PBP への親和性の相違により、菌の特徴的な形態変化が生じることも知られている。グラム陰性桿菌 (GNR) においては、PBP 2, PBP 3 のそれぞれの阻害により、特に静菌濃度の抗菌薬で処理した際には前者では菌の球形化、後者では菌体の伸長化という形態的变化を生じる<sup>1)</sup>

こういったことから *in vitro* の系では、使用する抗菌薬により菌の形態変化に起因するグラム陰性桿菌のエンドトキシン放出量に差があることが諸家により報告されてきた<sup>2-5)</sup>。

著者らは GNR の代表として *Pseudomonas aeruginosa* を用い、本菌の PBP 2 に親和性の高い抗菌薬として imipenem (IPM) を、PBP 3 に親和性の高い抗菌薬として ceftazidime (CAZ) を選択し、同様の現象が緑膿菌をマウスの腹腔内に感染させた敗血症モデルの治療に際しても起こるかどうかを検討した。

## I. 材料と方法

### 1. 使用菌株

当院の呼吸器検体から得た *P. aeruginosa* 臨床分離株から、IPM と CAZ に対して寒天平板希釈法で  $0.78 \mu\text{g/ml}$  と同一の MIC を示す株 (KL 56) を使用した。本菌株をスキムミルク中で  $-70^\circ\text{C}$  に保存し、各実験毎に新しく溶解してこれを用いた。

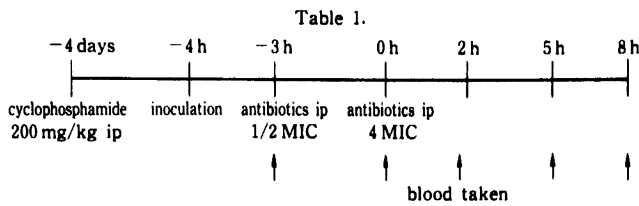
### 2. 抗菌薬

Imipenem (IPM: 萬有製薬株式会社), ceftazidime 5-hydrate (CAZ: 日本グラクソ) は、それぞれ力価のわかっている原末を用いた。

### 3. エンドトキシン測定法

合成発色基質法によるエンドトキシン測定キット (エンドスペシー: 生化学工業社) を用いて、希釈した培養液およびマウスの全血中のエンドトキシン量を測定した。全血の測定は Triton X (生化学工業社) により前処理を行って得た上清を希釈して行った<sup>6)</sup>。

標準エンドトキシンは同社製の *Escherichia coli* 0111 B4



株の Westphal type の標品を用い、これとの重量または活性値換算で表した。

#### 4. 動物

ICR 系 SPF マウス、雄、7~8 週齢 (日本 SLC) を用いた。

#### 5. 抗菌薬誘発エンドトキシン遊離の *in vivo* における検討

Table 1 に示した。ICR 系 SPF マウスに実験 4 日前に cyclophosphamide 200 mg/kg を腹腔内注射し、好中球を減少させ、好中球による接種菌の食殺菌を減弱させた。実験当日に Mueller-Hinton broth で 37°C, 7 時間の前培養を行った菌を PBS で 2 回洗浄して pH 7.0 の 1/15 M 磷酸緩衝生理食塩水 (PB-Saline) に浮遊、吸光度計を用いて菌量を調節し 4 ml の菌液を腹腔内に注射した。この 1 時間後、抗菌薬を PB-Saline に溶解し、さきに腹腔内に接種した菌液中の最終濃度が 1/2 MIC となるように調製して腹腔内に注射した。これから 3 時間後には、subMIC の CAZ 投与群の腹腔内容物中では菌体の伸長化が認められ、IPM 治療群ではこういった変化がみられないことを確認した。この後、腹腔内の抗菌薬の最終濃度が 4 MIC となるように抗菌薬を溶解し、これを腹腔内に注射した。この時点をも 0 時間とし、-3, 0, 2, 5 時間における血中エンドトキシン濃度を測定した。採血は麻酔後、皮弁を腋窩に形成し、上腕動脈の切断部位から行った。

#### 6. 抗菌薬誘発エンドトキシン遊離の *in vitro* における検討

スキムミルクに保存した菌株を Mueller-Hinton Broth に溶解して、37°C, 振盪, 4 時間の前培養を行った。この 100  $\mu$ l を pH 7.0 の 1/15 M 磷酸緩衝液 (PBS) で作製した Mueller-Hinton Broth 培養液 10 ml に添加してさらに、37°C で振盪培養した。培養開始 1 時間後の対数増殖期早期と 7 時間後の対数増殖期中期に最終濃度が 4 MIC の抗菌薬を添加し、その後の生菌数の変化、菌の形態変化、エンドトキシンの遊離量、菌体に結合しているエンドトキシンを含めたエンドトキシン総量を測定した。

この培養液 100  $\mu$ l を 1/15 M PBS で 10 倍希釈して混和後、ただちにその半量を 0.22  $\mu$ m 径の filter (MIREX-GV: Millipore Products Division, Bedford) で濾過した。濾過検体を培養液中への遊離エンドトキシン量の測定に、非濾過検体は菌体へ結合したのも含めたエンドトキシン総量の測定に供した。

エンドトキシン総量の測定に際しては Kropp らの方法<sup>9)</sup>にもとづき cation bridge で菌体に結合しているエンドトキシンを 0.02 M EDTA (Sigma Chemical Co. St. Louis USA) により室温で 30 分間処理し、遊離させて測定した。

菌の形態は sampling した培養液をスライドガラス上で風乾、熱固定し、グラム染色を施した後、顕微鏡で観察した。

## II. 結 果

### 1. 抗菌薬誘発エンドトキシン遊離の *in vivo* における検討 (Fig. 1)

腹腔内の菌が 1/2 MIC の抗菌薬に接触している -3 時間と 0 時間は、IPM 投与群と CAZ 投与群の間で血中を循環しているエンドトキシン量に差は認められなかった。4 MIC の抗菌薬で治療した 2 時間後の血中エンドトキシン値は subMIC 量の CAZ 治療群の腹腔内で菌体の伸長化が生じていることを確認しているにも関わらず、IPM 治療群の方が有意に高い末梢血エンドトキシン値を呈した。その後 5 時間目の測定までにはすみやかに血中濃度が低下した。CAZ 治療群の血中エンドトキシン値はこの観察時間の間には有意な上昇を示さなかった。また、time course の 0 時間の時点では腹腔内にはフィブリン塊が形成されるものが多く、感染局所での菌数の変化は観察できなかった。

### 2. *In vitro* における抗菌薬誘発エンドトキシン遊離量の検討

培養開始 1 時間後に菌数が  $10^5$  CFU/ml となった時点で 4 MIC の抗菌薬を加えた系では、両抗菌薬ともほぼ同等の殺菌速度で *P. aeruginosa* を速やかに殺菌した (Fig. 2 a)。この時点では CAZ 処理菌にごく軽度の伸

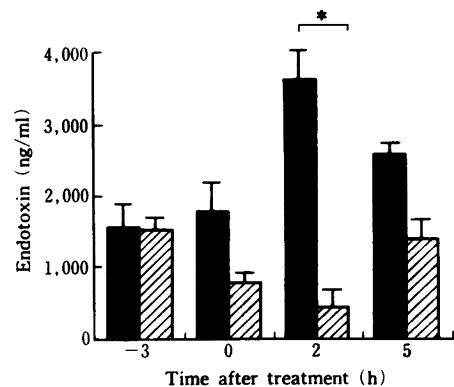


Fig. 1. Antibiotic-induced endotoxemia in a *Pseudomonas aeruginosa* sepsis model.  $10^7$  CFU/body organism was infected. The solid column represents the endotoxin level in peripheral blood of imipenem-treated mice. The hatched column represents that of ceftazidime-treated mice. Data are means of three mice. \* $p < 0.05$

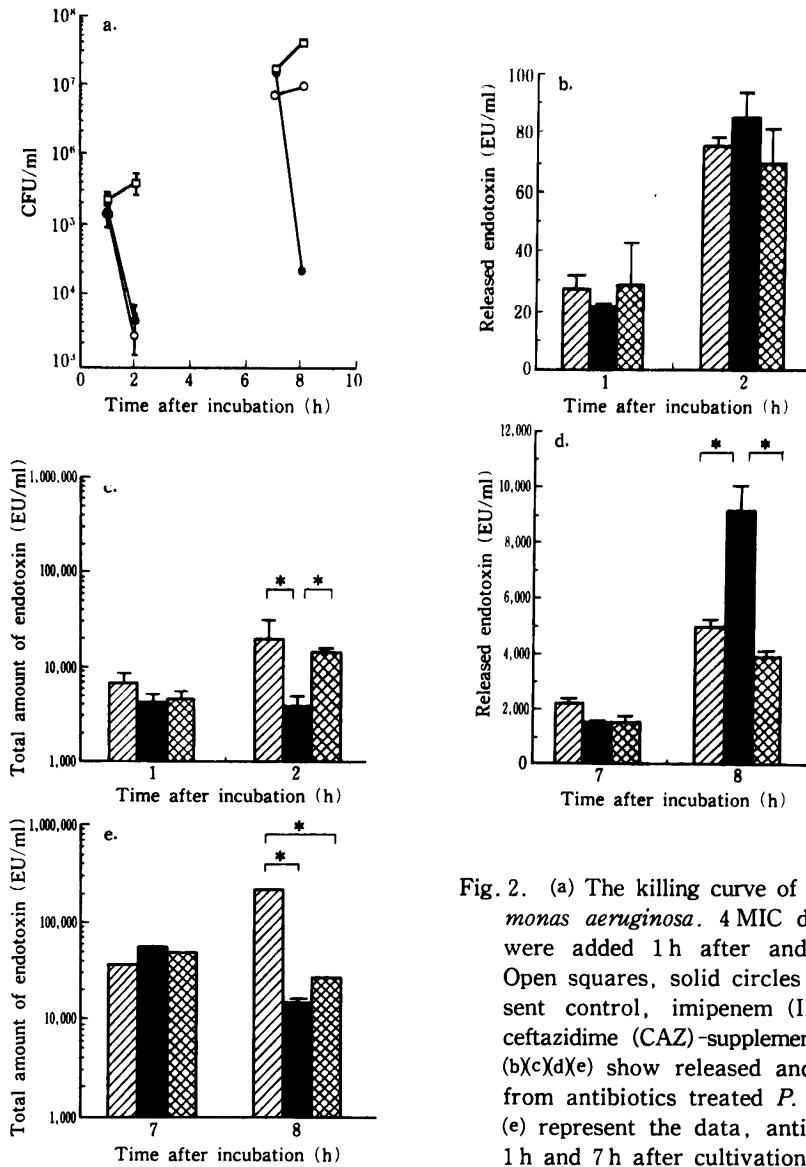


Fig. 2. (a) The killing curve of antibiotic-treated *Pseudomonas aeruginosa*. 4 MIC doses of each antibiotic were added 1 h after and 7 h after cultivation. Open squares, solid circles and open circles represent control, imipenem (IPM)-supplemented and ceftazidime (CAZ)-supplemented media, respectively. (b)(c)(d)(e) show released and total amount of LPS from antibiotics treated *P. aeruginosa*. (b)(c) and (d) (e) represent the data, antibiotics supplemented in 1 h and 7 h after cultivation respectively. The solid column, hatched column and shaded column represent the endotoxin level of IPM-supplemented, CAZ-supplemented and control cultivated media, respectively.

張化があるのみで、遊離されたエンドトキシン量には差を認めなかった (Fig. 2 b)。しかし、菌体に結合した分のエンドトキシン量では CAZ が IPM より増加していた (Fig. 2 c)。

培養開始 7 時間後で菌量が  $10^7$  CFU/ml となった時点で同量の抗菌薬を添加した場合は、CAZ は IPM と比較して殺菌速度が著明に低下した (Fig. 2 a)。この結果、IPM 処理菌で高いエンドトキシン遊離が認められた (Fig. 2 d)。一方 CAZ 処理菌では菌体の伸張化を生じており、菌体結合分のエンドトキシンは IPM と比較して著明に増大していた (Fig. 2 e)。しかし、溶菌量が IPM より少ないため、遊離したエンドトキシン量は IPM より少なかった (Fig. 2 d)。

### 3. 殺菌速度とエンドトキシン遊離速度の検討

この殺菌速度に差を生じる条件におけるエンドトキシンの遊離速度の変化を上述の方法で培養開始 7 時間後に 4 MIC の抗菌薬を添加し、生菌数の変化 (Fig. 3 a)、抗菌薬で誘発されたエンドトキシン遊離量 (Fig. 3 b) と遊離速度 (Fig. 3 c) をその後 3 時間にわたって経時的に検討した。

抗菌薬の影響を受けずに増殖を続けるコントロールではエンドトキシン遊離速度は観察時間中は一定であった。IPM 添加群は、エンドトキシン遊離速度が最初の 1 時間でもっとも速く、後になるほど低下した。CAZ 添加群では、エンドトキシン遊離速度は 2 時間から 3 時間の 1 時間において他より高い値を示した。

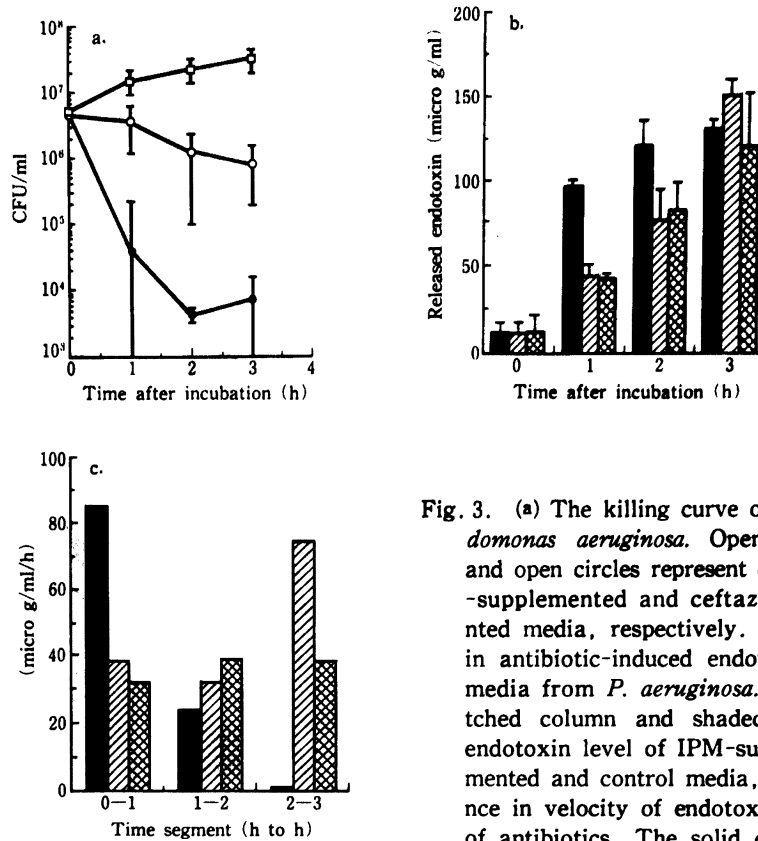


Fig. 3. (a) The killing curve of antibiotic-treated *Pseudomonas aeruginosa*. Open squares, solid circles and open circles represent control, imipenem (IPM)-supplemented and ceftazidime (CAZ)-supplemented media, respectively. (b) Chronological change in antibiotic-induced endotoxin release into broth media from *P. aeruginosa*. The solid column, hatched column and shaded column represent the endotoxin level of IPM-supplemented CAZ-supplemented and control media, respectively. (c) Difference in velocity of endotoxin release after addition of antibiotics. The solid column, hatched column and shaded column represent the endotoxin level of IPM-supplemented CAZ-supplemented and control cultivated media, respectively. Both antibiotics were added 7 h after cultivation. Data are means of three mice.

菌の形態変化はCAZ添加群で著しい伸張化をきたしたが、IPM添加群では伸張化は認められなかった。

### III. 考 察

感染症の病態を形成する因子の一つは菌の産生する毒素による組織あるいは機能の障害、もう一つは菌体そのものあるいは毒素に対する生体側の炎症反応や免疫応答の大きく二つからなると考えられる。

また、GNRによる感染症に際して、治療のための抗菌薬投与により溶菌が起こった際にエンドトキシン遊離が生じることはこれまでに知られており、これに起因して生じる可能性のあるエンドトキシンショックに関しては、以前から危惧され検討がなされてきた<sup>7-9)</sup>。

これまで、carbapenem系抗菌薬であるIPMとその他の $\beta$ -lactam系抗菌薬によるGNRからの抗菌薬誘発エンドトキシン遊離に関する基礎的検討は、菌の*in vitro*における抗菌薬処理を中心になされてきた<sup>2-5)</sup>。その際、PBP3に親和性の強い抗菌薬がGNRに作用すると菌体の伸張化による容積の増大が認められ、結果としてエンドトキシン遊離量がPBP2に作用の中心をおく抗菌薬と比較して増加すると報告されている。また、単

球系細胞にエンドトキシンを含む培養濾液を加え、遊離エンドトキシンによるTNF産生を検討した報告でも、菌体を伸張化させる抗菌薬でTNFの放出量が多いとする報告もなされている<sup>4)</sup>。

今回著者らが検討した緑膿菌もこれらの報告の中で、CAZは隔壁形成に関与しているPBP3に親和性が高く、IPMはPBP2に親和性が高い抗菌薬として検討されてきた<sup>2,3)</sup>。しかし本稿における*in vivo*での検討では、sub-MICの抗菌薬の前投与で感染局所の菌を伸張化させて行ったにもかかわらず、これまでの*in vitro*における検討の報告から予想された結果とは逆に、IPM治療を施したマウスの群において治療後早期に有意に高い血中エンドトキシン値を示した。しかし、この差は感染菌量が多い実験系では認められたが、10<sup>5</sup>CFUで行った予備検討では差を認めなかった。

こうした差を生じる原因の一つは、IPMは他の $\beta$ -lactam系抗菌薬と異なり、minimal bactericidal concentration (MBC)のinoculum effectによる変化が小さいこと<sup>10)</sup>があげられるであろう。また、西野らは*in vitro*における検討で、対数増殖期後期ではPBP-2に親和性の高いcarbapenem系薬のpanipenemと比較して

PBP 3 に親和性の高いその他の  $\beta$ -lactam 薬の殺菌速度がより低下することを報告しており<sup>11)</sup>, inoculum size と菌の増殖速度という二つの因子の影響が両系薬で異なることがその原因と考えられた。

そこで, この *in vivo* の結果とこれまでの *in vitro* の検討報告との解離を再び *in vitro* において検討したわけである。

我々が抗菌薬で処理後 1 時間の殺菌量とエンドトキシン遊離量を併せて *in vitro* で検討した結果では, CAZ の場合は菌数に比較して十分量の抗菌薬が存在する状態 ( $10^5$ CFU/ml) では, 菌体の強い形態変化は生ぜずに溶菌し, エンドトキシン遊離量に IPM との間で差は生じない。しかし, これより菌数が  $10^3$  程度増加した場合は, CAZ で処理した菌体は溶菌が遅れ菌体が伸長化していた。エンドトキシンの遊離量は同量の抗菌薬による処理でも溶菌の進行する IPM で高かった。ここで CAZ の場合に十分量の抗菌薬が存在することは, もっとも親和性の高い PBP 以外へも順次抗菌薬が結合することにより, 溶菌に関与する PBP 1 A, 1 B, 7<sup>1)</sup> 等への結合が生じやすいことによると考えられた。

以上の結果からも著者らは, これまでの諸家の *in vitro* の検討と感染菌量の多い著者らの *in vivo* の検討結果に差が生じた原因として第一に inoculum size による MBC の変化が IPM では他の  $\beta$ -lactam 薬と比較して小さいという特徴<sup>10)</sup>を考える。

原因のもう一つは, *in vivo* では末梢血のエンドトキシンは肝臓等で常に scavenging されている<sup>12-15)</sup>ことが *in vitro* の検討条件とは異なることが挙げられる。好中球も生体における末梢の scavenging 機構の一つに含まれるという考えもあるが<sup>16)</sup>, 著者らの *in vivo* モデルにおいては好中球を減少させているものエンドトキシンの scavenging が行われていることは結果 (Fig. 1) に現れている。したがって, *in vivo* モデルにおいて抗菌薬誘発エンドトキシン血症が観察されるのは, 感染部位よりの単位時間あたりのエンドトキシン遊離量が, 生体の scavenging 量を上回る時に血中で測定されることになり, 生体内で測定される血中エンドトキシン値はエンドトキシン遊離速度と生体側の scavenging 速度との差により規定されることが考えられる。一方, *in vitro* での抗菌薬誘発エンドトキシン遊離の検討では, *in vivo* と異なりエンドトキシンの scavenging が起こらない。すなわち, 培養液中で測定しているエンドトキシン量は, 放出された単位時間あたりのエンドトキシン量の積算値を示していることになる (Fig. 3 b)。

これまでの諸家の報告では, 用いられた抗菌薬濃度は Jackson<sup>3)</sup> らは両抗菌薬に対して 0.5~2 MIC あるいは IPM を 100 MIC に対して CAZ を 50 MIC, また Dofferhoff<sup>4)</sup> らは IPM を 80~800 MIC に対して CAZ 量は 40~400 MIC<sup>4)</sup>, さらに松田<sup>5)</sup> らは IPM を 0.32~2 MIC に

対して CAZ 量は 1~62.6 MIC など様々である。抗菌薬との接触時間は 2 時間から 24 時間で, *in vitro* のエンドトキシンの積算値のみを指標としている。また, 接種菌量は  $10^4$  から  $10^6$ CFU/ml 前後の範囲でのみ検討がなされている。そして, エンドトキシン遊離量の差異の原因は主に菌の形態変化の差に帰結している。

以上の実験系では, 両抗菌薬の特徴により生体内に到達し得る抗菌薬濃度と感染菌量と感染菌の MIC の組み合わせにより, 生じ得る可能性のある短時間殺菌能の差が表出されない場合もあること。また, *in vitro* における遊離エンドトキシンの積算値のみに注目した場合は, 生体内では血中エンドトキシン値として表現されるであろうその遊離速度が考慮されないものと考えられた。

以上より, これまでの *in vitro* の検討方法で得られた結果は, 実際の臨床において治療に用いられる際の結果とは必ずしも一致しないと考えられた。

また, 著者らが *in vivo* での検討に用いた腹腔感染による敗血症モデルは, 臨床的には腹部の術後感染, 下部消化管穿孔をはじめとして, 腹部に感染巣を有する敗血症に相当すると考えられ, 臨床的にも本検討と同様の現象が観察される可能性が存在すると考える。

今回著者らが検討した両モデルにおいては, CAZ 処理菌は条件により菌体伸長化に伴う容積増大をきたし, このような菌から放出されるエンドトキシンの積算量は伸長化していない菌が保有していた総エンドトキシン量よりも増加することは充分理解できる。しかし, エンドトキシンの敗血症性ショックにおける役割についてはまだ未解明な点も多く<sup>17)</sup>, エンドトキシン血症パターンの差が生体に与える影響は今後さらに検討されなければならない。

## 文 献

- 1) Bryan L E, Godfrey A J:  $\beta$ -lactam antibiotics. Mode of action and bacterial resistance. In Antibiotics in laboratory medicine 3rd ed. (Lorian V ed.), p.599~644, Williams and Wilkins, Baltimore, 1991
- 2) Dofferhoff A S M, Nijland J H, de Vries-Hospers H G, Mulder P O M, Weits J, Bom V J J: Effects of different types and combinations of antimicrobial agents on endotoxin release from gram-negative bacteria: an *in vitro* and *in vivo* study. Scand J Infect Dis 23: 745~754, 1991
- 3) Jackson J J, Kropp H:  $\beta$ -Lactam antibiotic-induced release of free endotoxin: *in vitro* comparison of penicillin-binding protein (PBP) 2-specific imipenem and PBP 3-specific ceftazidime. J Infect Dis 165: 1033~1041, 1992
- 4) Dofferhoff A S M, Esselink M T, de Vries-Hospers H G: The release of endotoxin from antibiotic-treated *Escherichia coli* and the production of tumor necrosis factor by human monocytes. J Antimicrob Chemother 31: 373~384, 1993
- 5) 松田耕二, 柴田兼良, 真田 実, 中川 晋, 川上正

- 也: グラム陰性菌からのエンドトキシン遊離に及ぼす影響—イミペネムと他剤の比較—. *Chemotherapy* 41: 345~350, 1993
- 6) 田村弘志, 田中重則, 大林民典, 古田 稔, 林 和, 河合 忠: 全血を用いる新しいエンドトキシン定量法の基礎的 臨床的検討. *臨床病理* 38: 1341~1346, 1990
  - 7) Goto H, Nakamura S: Liberation of endotoxin from *Escherichia coli* by addition of antibiotics. *Japan J Exp Med* 50: 35~43, 1980
  - 8) Shenep J L, Barton R P, Mogan K A: Role of antibiotic class in the rate of liberation of endotoxin during therapy for experimental gram-negative bacterial sepsis. *J Infect Dis* 151: 1012~1018, 1985
  - 9) Shenep J L, Mogan K A: Kinetics of endotoxin release during antibiotic therapy for experimental gram negative bacterial sepsis. *J Infect Dis* 150: 380~388, 1984
  - 10) Davey P G, Barza M: The inoculum effect with gram-negative bacteria in vitro and in vivo. *J Antimicrob Chemother.* 20: 634~644, 1987
  - 11) 西野武志, 福岡 隆, 本村琢哉: Panipenem/betamipron の in vitro および in vivo 抗菌力について. *Chemotherapy* 39: (S-3) 55~74, 1991
  - 12) Pranning-van Dalen D P, Brouwer A, Knock D L: Clearance capacity of rat liver Kupffer, endothelial, and parenchymal cells. *Gastroenterology* 81: 1036~1044, 1981
  - 13) Fruedenberg M A, Fruedenberg N, Galanos C: Time course of cellular distribution of endotoxin in liver, lungs and kidneys of rats. *Br J Exp Pathol* 63: 56~65, 1982
  - 14) Wardle E N: Kupffer cells and their function. *Liver* 7: 63~75, 1987
  - 15) Saba T M: Physiology and physiopathology of the reticuloendothelial system. *Arch Intern Med* 126: 1031~1052, 1970
  - 16) Walker R I: The contribution of intestinal endotoxin to mortality in hosts with compromised resistance. *Exp Haematol* 6: 172~184, 1978
  - 17) Hurley J C: Antibiotic-induced release of endotoxin: A reappraisal. *Clin Infect Dis* 15: 840~854, 1992

## Antibiotic-induced endotoxin release from *Pseudomonas aeruginosa* —effects of imipenem and ceftazidime—

Takayuki Miyara, Tomohiko Ishimine and Athshi Saito

First Department of Internal Medicine, University of the Ryukyus, Okinawa, Japan

*Pseudomonas aeruginosa*-infected septic mice were experimentally treated with imipenem (IPM) and ceftazidime (CAZ), and differences in the pattern of antibiotic-induced endotoxemia. The inhibition of PBP 2 in the gram-negative bacilli results in the formation of spherical cells, whereas that of PBP 3 leads to the formation of filaments. Based on these findings, many *in vitro* investigations on antibiotic-induced endotoxin release using IPM and other beta-lactams have been reported. In those studies it was reported that the amount of endotoxin released from IPM-treated bacteria was less than that from bacteria treated with other beta-lactams, because of an increase in cell volume in the former case. However *in vivo* results were in contrast to those predicted by the previous *in vitro* studies, as after treatment, significant elevation of peripheral blood endotoxin was noted in IPM-treated mice ( $p < 0.05$ ). Our succeeding *in vitro* study clarified that at a small inoculum size, there was no difference between the two agents in endotoxin released. Nor was there any significant difference in morphological change or bactericidal activity. Whereas IPM had strong bactericidal effects even at a large inoculum size ( $10^7$ CFU/ml), but CAZ failed to show increased bacterial killing with increases in inoculum size. The rapid killing activity of IPM caused a high velocity release of endotoxin ( $p < 0.05$ ). And *in vivo*, endotoxin is continuously scavenged and removed from peripheral blood. Therefore this strong bactericidal activity of IPM, independent of inoculum size, was responsible for the transient elevation of endotoxin level in the peripheral blood of septic mice infected with a large inoculum size and treated with IPM. This study suggests that to evaluate antibiotic-induced endotoxemia, the velocity of endotoxin released should be considered an essential index.