

新規注射用セフェム剤 cefluprenam の細菌学的検討

井上 邦雄・浜名 洋子・三橋 進

エビゾーム研究所*

新規注射用セフェム剤 cefluprenam (CFLP) の抗菌力試験を ceftazidime (CAZ), cefuzonam (CZON), cefpirome (CPR) および cefozopran (CZOP) と比較検討を行った。

1. CFLP はグラム陽性菌, グラム陰性菌に対して幅広い抗菌スペクトラムと強い抗菌力を示した。その抗菌力は一部の菌種を除き, 比較薬剤を上回る優れたものであった。特に, セフェム剤に感受性の低い *Enterococcus faecalis* に対して CFLP は強い抗菌力 (MIC₉₀: 3.13 μg/ml) を有し, CZOP, CPR の 4~8 倍, CZON, CAZ より 16 倍以上高い活性であった。また, 第三世代セフェム耐性株の多い, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae* にも CFLP は CPR, CZOP の 4~8 倍, CZON, CAZ より 32~128 倍高い活性を示し, 0.78 μg/ml の濃度で 90% の発育を阻止した。

2. CFLP は *Staphylococcus aureus* Smith および *Escherichia coli* ML 4707 に対して対照薬剤と同様強い殺菌作用を示した。

3. CFLP は oxyiminocephalosporinase を除く各種 β-lactamase に対しきわめて安定であった。この高い安定は *E. cloacae*, *C. freundii* および *Klebsiella pneumoniae* のような β-lactamase 産生菌株に対して優れた抗菌活性を示した。

Key words: cefluprenam, 注射用セフェム, 細菌学的検討, β-lactamase

Cefluprenam (CFLP) はエーザイ株式会社で開発された新規の半合成の注射用セファロsporin 剤である (Fig. 1)。CFLP はグラム陽性菌, グラム陰性菌に対して強い抗菌力と幅広いスペクトラムを有し, 特にセフェム剤に感受性の低い *Enterococcus faecalis* に強い抗菌力を示していることが報告されている^{1,2)}。今回, 我々は CFLP の有効性を知る目的で日本化学療法学会標準菌株, 各種臨床分離菌株および β-lactamase 産生菌株に対する抗菌力, 増殖曲線におよぼす影響, β-lactamase に対する安定性について検討したので報告する。なお, 比較薬剤として ceftazidime (CAZ), cefuzonam (CZON), cefpirome (CPR), cefozopran (CZOP) を用いた。

I. 材料と方法

1. 使用薬剤

CFLP はエーザイ株式会社から, CZOP は武田薬品工業, CZON は日本レダグリー, CPR はヘキスト・ジャバ

ン, CAZ は日本グラクソからそれぞれ分与されたものを使用した。また, penicillin G (PCG) は明治製菓, cephaloridine (CER) は塩野義製薬, methicillin (DMPPC) は萬有製薬より分与されたものを使用した。

2. 使用菌株

日本化学療法学会設定の標準菌株³⁾, 各種臨床分離菌株, β-lactamase 産生菌株は当研究所保存株を用いた。なお, 臨床分離菌株は 1985 年以降に日本各地の医療施設で分離されたものを使用した。

3. 使用培地と薬剤感受性測定法

最小発育阻止濃度 (MIC) の測定は日本化学療法学会⁴⁾に準じて行った。使用培地は試験菌種によって異なるため Table 1 にまとめた。*Staphylococcus aureus* の場合は 30°C⁵⁾, その他の菌種は 37°C で, 一夜静置培養した菌液を 2 × 10⁶ CFU/ml になるように Buffered Saline Gelatin (BSG) で希釈し, その約 5 μl (10⁴ CFU/plate) をマイクロプランター (佐久間製作所) を用いて薬剤含有寒天平板上に接種した。37°C, 18~24 時間培養後, 肉眼的に発育の認められない最小薬剤濃度を MIC とした。なお, *Neisseria gonorrhoeae* および *Haemophilus influenzae* の培養はロウソク培養で行い, *Bacteroides fragilis* の培養は嫌気条件下で行った。

4. 増殖曲線におよぼす影響

STB 培地を用い, 試験菌の一夜培養液を新鮮 STB に接種し, 37°C で振とう培養した。菌数が, 10⁶ CFU/ml 前

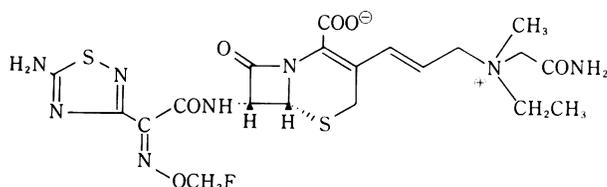


Fig. 1. Chemical structure of cefluprenam.

後に達した時に薬剤 (1/4, 1/2, 1, 2 MIC) を加え、さらに振とう培養を継続し、2, 4, 6, 24 時間後に菌液を採集して、生菌数を測定した。

5. β -lactamase に対する安定性

β -lactamase は、当研究所に保存 (-40°C) されている精製標品⁶⁾を用いた。各薬剤(100 μM)の β -lactamase による加水分解速度は spectrophotometric assay⁷⁾ によ

り 30°C で測定した。Cephalosporinase (CSase) および oxyiminocephalosporinase (CXase) は CER を 100 とし、penicillinase (PCase) は PCG を 100 とした時の相対加水分解速度で、 β -lactamase に対する安定度を表した。

II. 結 果

1. 標準菌株に対する抗菌力

CFLP の標準菌株に対する抗菌力を CAZ, CZON, CPR, CZOP と比較し、Table 2 に示した。CFLP は *Streptococcus pyogenes*, *Micrococcus luteus* および腸内細菌群に対しては $\leq 0.006\sim 0.05 \mu\text{g/ml}$, *S. aureus*, *Bacillus subtilis* および *Pseudomonas aeruginosa* は $0.2\sim 1.56 \mu\text{g/ml}$ の MIC 値を示した。CFLP の抗菌力は、グラム陽性菌に対して CZON, CPR とほぼ同等で CAZ, CZOP よりも優れていた。さらに CFLP はグラム陰性菌に対し、CZON に若干劣る菌種もあるものの CAZ, CPR, CZOP よりも優れた抗菌活性を示した。また、*P. aeruginosa* に対してもどの対照薬よりも優れていた。

2. 臨床分離株に対する抗菌力

臨床分離株の 21 種類の菌種に対する CFLP の抗菌力を各菌種ごとに MIC₅₀ および MIC₉₀ として Table 3 に示した。

Methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA, DMPPC MIC: $\leq 6.25 \mu\text{g/ml}$) 66 株に対する CFLP の MIC₉₀ 値 $1.56 \mu\text{g/ml}$ を示し、この値は CZON, CPR と同等で、

Table 1. Media used for preculture and MIC determination

Media	Organisms
For preculture	
BHIB	<i>Streptococcus pyogenes</i>
BHIB+5% horse blood	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
BHIB+5% Fildes Enrichment(Difco)	<i>Haemophilus influenzae</i>
GCA+1% Haemoglobin(Difco)+1% Iso VitaleX(BBL)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
GAMB	<i>Bacteroides fragilis</i>
STB+0.4% KNO ₃	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
STB	Other organisms
For MIC determination	
BHIA	<i>Streptococcus pyogenes</i>
SDA-N+5% horse blood	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
SDA-N+5% Fildes Enrichment(Difco)	<i>Haemophilus influenzae</i>
GCA+1% Haemoglobin(Difco)+1% Iso VitaleX(BBL)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
GAMA	<i>Bacteroides fragilis</i>
SDA-N	Other organisms

Abbreviations: BHIB, Brain heart infusion broth (Difco); GCA, GC agar base (Difco); GAMB, GAM broth (Nissui); STB, Sensitivity test broth (Nissui); BHIA, Brain heart infusion agar; SDA-N, Sensitivity disk agar-N (Nissui); GAMA, GAM agar (Nissui).

Table 2. Antibacterial spectrum of ceftuprenam against standard strains

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	ceftuprenam	ceftazidime	cefuzonam	ceftiprome	cefazopran
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209PJC-1	0.39	12.5	0.78	0.78	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	0.20	3.13	0.20	0.10	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> MS353	0.20	3.13	0.20	0.20	0.39
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	0.05	0.05	0.013	0.013	0.05
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.78	6.25	0.78	0.39	1.56
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.025	0.78	≤ 0.006	0.025	0.10
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.013	0.10	0.10	0.025	0.10
<i>Escherichia coli</i> K12 C600	0.025	0.20	0.10	0.025	0.10
<i>Enterobacter cloacae</i> 963	0.013	0.10	0.10	0.025	0.10
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	0.025	0.20	0.20	0.05	0.20
<i>Klebsiella pneumoniae</i> PCI-602	0.013	0.05	≤ 0.006	0.025	0.10
<i>Salmonella typhimurium</i> HD 971	0.025	0.10	0.05	0.05	0.10
<i>Salmonella typhi</i> 901	0.025	0.20	0.20	0.05	0.20
<i>Salmonella paratyphi</i> 1015	0.013	0.025	≤ 0.006	0.013	0.20
<i>Salmonella schottmuelleri</i> 8006	0.025	0.20	0.05	0.025	0.10
<i>Salmonella enteritidis</i> G14	0.013	0.10	≤ 0.006	0.013	0.10
<i>Serratia marcescens</i> IAM 1184	0.05	0.05	0.20	0.025	0.20
<i>Morganella morganii</i> IFO 3848	≤ 0.006	0.013	≤ 0.006	0.013	0.20
<i>Proteus mirabilis</i> IFO 3849	0.05	0.05	0.10	0.10	0.20
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	0.025	0.05	≤ 0.006	0.05	0.39
<i>Proteus vulgaris</i> HX-19	0.013	0.025	≤ 0.006	0.025	0.39
<i>Providencia rettgeri</i> IFO 3850	≤ 0.006	0.025	0.013	0.013	0.05
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 3445	0.78	1.56	25	3.13	3.13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC 10490	0.39	0.39	6.25	1.56	1.56
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO 1	1.56	3.13	25	6.25	3.13

Agar dilution method.

Inoculum size: 10^6 CFU/ml.

Table 3-1. Antibacterial activities of cefluprenam against clinical isolates

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Methicillin-susceptible <i>Staphylococcus aureus</i> (66)	cefluprenam	0.20-3.13	0.39	1.56
	ceftazidime	6.25-50	12.5	25
	cefuzonam	0.39-3.13	0.39	1.56
	cefprome	0.39-12.5	0.78	1.56
	cefozopran	0.78-12.5	1.56	3.13
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (42)	cefluprenam	0.78-100	12.5	50
	ceftazidime	6.25->100	>100	>100
	cefuzonam	1.56->100	50	>100
	cefprome	1.56-100	25	100
	cefozopran	3.13->100	50	100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (40)	cefluprenam	0.20-50	0.78	6.25
	ceftazidime	3.13-100	12.5	25
	cefuzonam	0.10-100	0.78	3.13
	cefprome	0.10-25	0.78	6.25
	cefozopran	0.39-25	1.56	6.25
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (31)	cefluprenam	$\leq 0.006-0.025$	≤ 0.006	0.013
	ceftazidime	0.025-0.20	0.05	0.05
	cefuzonam	$\leq 0.006-0.025$	0.013	0.013
	cefprome	$\leq 0.006-0.05$	0.013	0.025
	cefozopran	0.013-0.10	0.025	0.05
<i>Streptococcus pyogenes</i> (94)	cefluprenam	$\leq 0.006-0.05$	0.025	0.025
	ceftazidime	0.10-0.39	0.20	0.39
	cefuzonam	$\leq 0.006-0.013$	≤ 0.006	≤ 0.006
	cefprome	$\leq 0.006-0.013$	0.013	0.013
	cefozopran	0.05-0.10	0.05	0.05
<i>Enterococcus faecalis</i> (102)	cefluprenam	0.78-12.5	1.56	3.13
	ceftazidime	25->100	>100	>100
	cefuzonam	0.78-100	12.5	50
	cefprome	1.56-50	6.25	25
	cefozopran	6.25-50	12.5	12.5
<i>Escherichia coli</i> (100)	cefluprenam	$\leq 0.006-0.10$	0.013	0.025
	ceftazidime	0.025-0.78	0.10	0.20
	cefuzonam	0.013-0.78	0.10	0.10
	cefprome	$\leq 0.006-0.20$	0.025	0.05
	cefozopran	0.05-0.20	0.10	0.10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (128)	cefluprenam	$\leq 0.006-0.78$	0.025	0.05
	ceftazidime	0.025-6.25	0.10	0.39
	cefuzonam	0.013-3.13	0.10	0.20
	cefprome	0.013-1.56	0.05	0.10
	cefozopran	0.05-3.13	0.20	0.20
<i>Citrobacter freundii</i> (93)	cefluprenam	0.013-3.13	0.025	0.78
	ceftazidime	0.10->100	0.39	100
	cefuzonam	0.05-100	0.20	25
	cefprome	0.025-25	0.05	3.13
	cefozopran	0.025-25	0.10	6.25
<i>Enterobacter cloacae</i> (104)	cefluprenam	0.013-6.25	0.05	0.78
	ceftazidime	0.05->100	0.39	50
	cefuzonam	0.05->100	0.39	50
	cefprome	0.025-12.5	0.10	3.13
	cefozopran	0.10-25	0.20	6.25
<i>Serratia marcescens</i> (108)	cefluprenam	0.025->100	0.39	100
	ceftazidime	0.05->100	0.39	>100
	cefuzonam	0.05->100	0.78	50
	cefprome	0.013->100	0.20	100
	cefozopran	0.20->100	0.78	>100
<i>Proteus mirabilis</i> (101)	cefluprenam	0.013-0.39	0.025	0.05
	ceftazidime	0.025-0.39	0.025	0.10
	cefuzonam	0.025-0.78	0.10	0.20
	cefprome	0.025-0.39	0.10	0.20
	cefozopran	0.10-0.78	0.20	0.39

Agar dilution method.

Inoculum size: 10^6 CFU/ml.

Table 3-2. Antibacterial activities of ceftuprenam against clinical isolates

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Proteus vulgaris</i> (95)	ceftuprenam	0.025-100	0.78	6.25
	ceftazidime	0.05-1.56	0.10	0.20
	cefuzonam	0.025-6.25	0.20	0.39
	ceftirome	0.05-25	0.20	1.56
	cefzopran	0.20-100	1.56	12.5
<i>Providencia rettgeri</i> (38)	ceftuprenam	$\leq 0.006-0.39$	≤ 0.006	0.05
	ceftazidime	$\leq 0.006-0.78$	0.05	0.20
	cefuzonam	$\leq 0.006-0.78$	0.025	0.20
	ceftirome	$\leq 0.006-0.78$	0.013	0.10
	cefzopran	$\leq 0.006-0.39$	0.013	0.10
<i>Morganella morganii</i> (70)	ceftuprenam	0.013-1.56	0.025	0.05
	ceftazidime	0.05-100	0.20	12.5
	cefuzonam	0.025-12.5	0.10	3.13
	ceftirome	0.025-1.56	0.05	0.10
	cefzopran	0.10-25	0.39	3.13
<i>Haemophilus influenzae</i> (70)	ceftuprenam	0.013-0.20	0.025	0.05
	ceftazidime	0.025-0.39	0.10	0.20
	cefuzonam	$\leq 0.006-0.10$	0.013	0.025
	ceftirome	0.025-0.20	0.05	0.05
	cefzopran	0.05-0.78	0.10	0.20
<i>Moraxella subgenus</i> <i>Brankamella catarrhalis</i> (41)	ceftuprenam	0.013-0.78	0.05	0.39
	ceftazidime	0.025-0.10	0.05	0.10
	cefuzonam	0.05-1.56	0.10	0.78
	ceftirome	0.05-3.13	0.39	1.56
	cefzopran	0.39-6.25	1.56	6.25
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (44)	ceftuprenam	$\leq 0.006-0.05$	≤ 0.006	0.013
	ceftazidime	$\leq 0.006-0.10$	0.013	0.05
	cefuzonam	$\leq 0.006-0.10$	0.013	0.025
	ceftirome	$\leq 0.006-0.10$	0.013	0.025
	cefzopran	$\leq 0.006-0.20$	0.025	0.10
	ampicillin	0.05->100	0.20	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (123)	ceftuprenam	0.39-50	1.56	25
	ceftazidime	0.39-100	3.13	50
	cefuzonam	6.25->100	25	>100
	ceftirome	0.78->100	6.25	50
	cefzopran	0.78->100	3.13	50
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (34)	ceftuprenam	0.78-25	1.56	12.5
	ceftazidime	3.13-25	6.25	12.5
	cefuzonam	25-100	50	100
	ceftirome	1.56-25	3.13	12.5
	cefzopran	0.78-6.25	1.56	6.25
<i>Bacteroides fragilis</i> (30)	ceftuprenam	0.78->100	6.25	>100
	ceftazidime	1.56->100	25	>100
	cefuzonam	1.56->100	12.5	>100
	ceftirome	3.13->100	25	>100
	cefzopran	1.56->100	25	>100

Agar dilution method.

Inoculum size: 10^6 CFU/ml.

CZOP, CAZ よりも 2~16 倍強い抗菌力であった。一方, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA, DMPPC MIC: $\geq 12.5 \mu\text{g/ml}$) 42 株に対する CFLP (MIC₉₀: 50 $\mu\text{g/ml}$) の抗菌力は弱く, 比較薬剤と同様であった。

Staphylococcus epidermidis 40 株に対する CFLP の MIC₉₀ 値は CPR, CZOP と同様 6.25 $\mu\text{g/ml}$ を示し, この抗菌力の強さは CZON に比べ 2 倍弱いものの CAZ よりは 4 倍強かった。

Streptococcus pneumoniae 31 株, *S. pyogenes* 94 株に対しては, どの薬剤も非常に優れており 0.39 $\mu\text{g/ml}$ の

濃度ですべての試験菌株の発育を阻止した。その中でも CFLP は *S. pneumoniae* に対して CZON と同様に最も強く *S. pyogenes* に対しては CFLP は CZON, CPR に次ぐ抗菌力を示した。

E. faecalis 102 株に対する CFLP の抗菌力は調べた薬剤の中で最も強く 3.13 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で試験菌株の約 91% の菌株の発育を抑えたのに比べ, 対照薬剤の中で最も優れた CZON でも同一の濃度で 27% の菌株しか抑えることができなかった。

Escherichia coli 100 株, *Klebsiella pneumoniae* 128 株

に対する CFLP の MIC 値は 0.013~0.025 $\mu\text{g/ml}$ の濃度に集中しており MIC₉₀ はそれぞれ 0.025, 0.05 $\mu\text{g/ml}$ であった。この CFLP の抗菌力は対照薬剤のそれらよりも 2~8 倍強かった。

CFLP の *Citrobacter freundii* 93 株および *Enterobacter cloacae* 104 株に対する MIC₉₀ は双方とも 0.78 $\mu\text{g/ml}$ を示し、この抗菌力は CPR, CZOP より 4~8 倍強く、また CAZ, CZON よりも断然強かった。

Serratia marcescens 108 株に対する CFLP の MIC₅₀ 値は 0.39 $\mu\text{g/ml}$ で CPR より 2 倍劣ったものの CAZ と同等で CZON, CZOP よりは 2 倍優れていた。しかし、MIC₉₀ 値で比較するとどの薬剤も $\geq 50 \mu\text{g/ml}$ を示し、その抗菌力は弱かった。

Proteus mirabilis 101 株, *Providencia rettgeri* 38 株に対する CFLP の MIC₉₀ 値は双方とも 0.05 $\mu\text{g/ml}$ に存在し、この値はいずれの対照薬剤よりも 2~8 倍強い抗菌力が認められた。

Proteus vulgaris 95 株に対し、CFLP の MIC₉₀ は 6.25 $\mu\text{g/ml}$ と、中等度ながら CZOP よりも 2 倍程度良好な抗菌力であったが、CAZ, CZON, CPR にはおよばなかった。

Morganella morganii 70 株に対する CFLP の MIC₉₀ 値は 0.05 $\mu\text{g/ml}$ で、CPR とほぼ同様に比較的高い感受性を示した。他の 3 剤は一部の菌株に抗菌力は弱く、CFLP に比べるとかなり劣っていた。

Ampicillin 耐性を示す株が比較的多い *H. influenzae* 70 株, *Moraxella subgenus*, *Moraxella catarrhalis* 41 株および *N. gonorrhoeae* 44 株に対して CFLP の MIC₉₀ 値は、それぞれ 0.05, 0.39, 0.013 $\mu\text{g/ml}$ を示し、3 菌種の中で *N. gonorrhoeae* に非常に高い感受性を示した。CFLP の抗菌力を対照薬と比較すると *H. influenzae* に対し CZON にややおよばなかったものの CPR と同等で CAZ, CZOP よりも優れていた。また、*M. (B.) catarrhalis* に対して CFLP は CAZ におよばなかったものの他の 3 剤に比べ 2~16 倍強い抗菌力を示した。一方、*N. gonorrhoeae* に対し、CFLP の抗菌力は、いずれの対照薬も上回る成績であった。

P. aeruginosa 123 株に対する CFLP の MIC₅₀ および MIC₉₀ 値は、それぞれ 1.56, 25 $\mu\text{g/ml}$ を示し、その抗菌活性は CAZ, CPR, CZOP よりも 2~4 倍強い抗菌力が認められた。CZON は被験薬剤中もっとも弱かった。

Acinetobacter calcoaceticus 34 株に対し、CFLP の MIC₅₀ 値は CZOP と同等 1.56 $\mu\text{g/ml}$ を示し、CPR, CAZ より 2~4 倍強く、CZON よりははるかに強い抗菌力を示した。

B. fragilis 30 株に対し、CFLP は試験菌の半数に感受性 (MIC: $\leq 3.13 \mu\text{g/ml}$) を示した。この成績は対照薬より良好であったが、残りの約半数の株に対してはすべての対照薬と同様 $\geq 25 \mu\text{g/ml}$ の耐性菌であった。

3. 殺菌力

S. aureus Smith および *E. coli* ML 4707 の増殖におよぼす CFLP の効果を CAZ, CPR と比較した。*S. aureus* Smith に対し、CFLP は MIC 以上の濃度で 6 時間目まで生菌数の減少が認められたが、24 時間後には MIC の濃度で僅かながら菌の再増殖が見られた。一方、CAZ, CPR は両剤とも 1/2 MIC の濃度で 2 時間目まで菌の増殖が認められたもののその後、MIC 以上の濃度と同様に 6 時間目まで生菌数の減少が認められた。24 時間後では CPR の 2 MIC 以外の濃度で菌の再増殖が見られた (Fig. 2)。

E. coli ML 4707 に対し、CFLP は 1/2 MIC 以上の濃度で、6 時間目まで生菌数の減少が認められた。24 時間後は MIC の濃度で僅かに菌の再増殖が見られたものの 2 MIC では生菌数の減少が継続された。一方、CAZ は MIC 以上、CPR は 1/2 MIC 以上の濃度で 6 時間目まで CFLP と同様に生菌数の減少が認められたものの 24 時間目までは両剤とも 2 MIC でも生菌数の減少が継続されなかった (Fig. 3)。

4. Table 4 は各菌種の β -lactamase 産生菌に対する CFLP の抗菌力を対照薬と比較している。CFLP はプラスミド由来 penicillinase 産生菌 12 株, 染色体性 penicillinase 産生菌 1 株, *P. vulgaris* GN 4413, GN 7919, *X. maltophilia* を除く oxyimino-cephalosporinase および cephalosporinase 産生菌 23 株

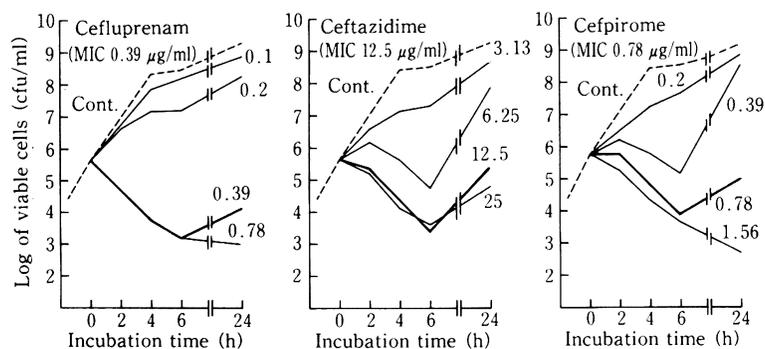


Fig. 2. Bactericidal activity of cefluprenam against *Staphylococcus aureus* Smith.

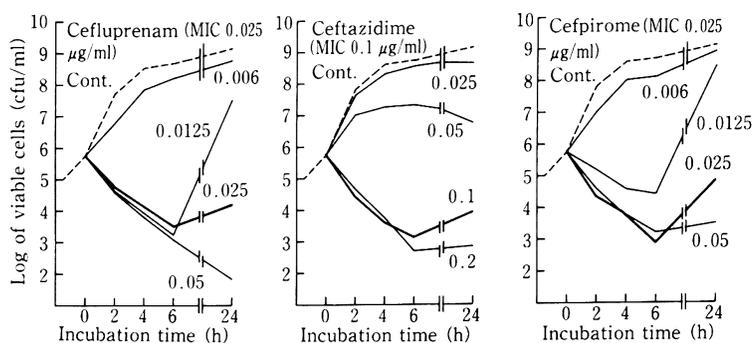


Fig. 3. Bactericidal activity of cefluprenam against *Escherichia coli* ML 4707.

Table 4. Antibacterial activity of cefluprenam against β -lactamase-producing strains

β -lactamase-producing strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}				
	cefluprenam	ceftazidime	cefzonam	cefpirome	cefzopran
Penicillinase-producing strains					
<i>Escherichia coli</i> ML4901 ^{b)}	0.025	0.20	0.10	0.05	0.05
<i>Escherichia coli</i> ML4901/Rms212	0.025	0.20	0.10	0.05	0.05
<i>Escherichia coli</i> ML4901/Rms213	0.025	0.20	0.20	0.20	0.10
<i>Escherichia coli</i> ML4901/Rte16	0.025	0.39	0.20	0.05	0.05
<i>Escherichia coli</i> ML4901/Rms149	0.025	0.10	0.10	0.05	0.05
<i>Escherichia coli</i> ML4901/TEM-1	0.025	0.10	0.10	0.05	0.05
<i>Escherichia coli</i> ML4901/TEM-2	0.05	0.39	0.20	0.20	0.10
<i>Escherichia coli</i> ML4901/OXA-1	0.025	0.10	0.20	0.20	0.05
<i>Escherichia coli</i> ML4901/OXA-2	0.10	6.25	0.10	0.10	0.10
<i>Escherichia coli</i> ML4901/PSE-1	0.025	0.10	0.10	0.05	0.05
<i>Escherichia coli</i> ML4901/PSE-3	0.025	0.10	0.10	0.05	0.05
<i>Escherichia coli</i> ML4901/SHV-1	0.05	0.39	0.10	0.10	0.10
<i>Staphylococcus aureus</i> MS15009 ^{b)}	0.05	0.78	0.05	0.05	0.05
<i>Staphylococcus aureus</i> MS15009/p1258	0.20	6.25	0.39	0.39	0.39
<i>Klebsiella pneumoniae</i> GN69	0.025	0.20	0.05	0.05	0.025
Cephalosporinase-producing strains					
<i>Escherichia coli</i> GN5482	0.013	0.78	0.39	0.025	0.05
<i>Escherichia coli</i> GN14929	0.025	0.20	0.10	0.05	0.05
<i>Escherichia coli</i> GN14930	0.025	0.78	0.78	0.05	0.05
<i>Citrobacter freundii</i> GN346	0.20	50	12.5	0.78	1.56
<i>Citrobacter freundii</i> GN7391	3.13	>100	50	12.5	12.5
<i>Enterobacter cloacae</i> GN5797	0.05	0.39	0.39	0.05	0.10
<i>Enterobacter cloacae</i> GN7467	0.025	3.13	6.25	0.10	0.20
<i>Enterobacter cloacae</i> GN7471	0.05	3.13	6.25	0.20	0.20
<i>Serratia marcescens</i> GN10857	0.78	1.56	3.13	1.56	0.78
<i>Serratia marcescens</i> GN14931	0.05	0.20	0.10	0.05	0.20
<i>Serratia marcescens</i> GN14932	0.05	0.39	0.39	0.10	0.10
<i>Morganella morganii</i> GN5307	0.013	0.05	0.025	0.025	0.10
<i>Morganella morganii</i> GN5375	0.013	0.05	0.05	0.025	0.10
<i>Morganella morganii</i> GN5407	0.013	0.10	0.05	0.025	0.10
<i>Providencia rettgeri</i> GN4430	≤ 0.006	0.10	0.05	0.025	0.10
<i>Providencia rettgeri</i> GN4762	0.20	0.78	0.78	0.78	0.39
<i>Providencia rettgeri</i> GN5284	0.013	0.20	0.10	0.05	0.025
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> GN918	1.56	3.13	100	6.25	1.56
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> GN10362	0.78	1.56	25	6.25	0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> GN10367	0.78	3.13	25	6.25	1.56
Oxyminocephalosporinase-producing strains					
<i>Klebsiella oxytoca</i> GN10650	0.39	0.20	0.39	0.78	0.39
<i>Proteus vulgaris</i> GN76	0.05	0.05	0.20	0.20	0.39
<i>Proteus vulgaris</i> GN4413	100	0.20	1.56	6.25	>100
<i>Proteus vulgaris</i> GN7919	100	3.13	6.25	50	>100
<i>Pseudomonas cepacia</i> GN11164	1.56	0.78	3.13	6.25	3.13
<i>Xanthomonas maltophilia</i> GN12873	>100	50	100	>100	>100

^{a)} MIC was determined by two-fold serial agar dilution method with 1 loopful of 10^8 CFU/ml suspension of test bacteria.

^{b)} Penicillinase non-producing.

Table 5. Stability of cefluprenam against various β -lactamase

β -lactamase type/source of enzyme	Relative rate of hydrolysis ^{a,b)}				
	cefluprenam	ceftazidime	cefuzonam	cefpirome	cefozopran
Penicillinase ^{a)}					
<i>Escherichia coli</i> ML4901/Rms212(Type I)	<0.1	<0.1	0.2	0.2	<0.1
<i>Escherichia coli</i> ML4901/Rms213(Type II)	1.2	<0.1	8.6	64.0	5.6
<i>Escherichia coli</i> ML4901/Rte16(Type III)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
<i>Escherichia coli</i> ML4901/Rms149(Type IV)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
<i>Staphylococcus aureus</i> MS15009/p1258(Type V)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
Cephalosporinase ^{b)}					
<i>Escherichia coli</i> GN5482	<0.1	<0.1	<0.1	0.3	0.2
<i>Citrobacter freundii</i> GN7391	<0.1	<0.1	<0.1	0.3	0.2
<i>Serratia marcescens</i> GN10857	<0.1	<0.1	0.5	0.4	<0.1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> GN10362	<0.1	<0.1	0.2	0.2	<0.1
Oxyiminocephalosporinase ^{b)}					
<i>Klebsiella oxytoca</i> GN10650	5.3	<0.1	10.2	5.3	1.6
<i>Proteus vulgaris</i> GN7919	12.6	0.2	72.5	14.2	14.6
<i>Xanthomonas maltophilia</i> GN12873(L-2)	30.6	1.9	53.1	24.2	26.2
<i>Xanthomonas maltophilia</i> GN12873(L-1)	55.5	34.3	309.8	55.8	3.8

Method: Spectrophotometric method.

^{a)} Penicillin G hydrolysis as 100.

^{b)} Cephaloridine hydrolysis as 100.

に対し $\leq 0.006 \sim 3.13 \mu\text{g/ml}$ の濃度で菌株の発育を抑えた。この成績は対照薬に比べ同等以上の抗菌力を示し、特に *C. freundii* に抗菌力を示さない CAZ, CZON に比べ CFLP は強い抗菌活性を示した。

5. 各種の β -lactamase に対する安定性

CFLP の penicillinase, cephalosporinase および oxyiminocephalosporinase に対する安定性を CAZ, CZON, CPR, CZOP と比較し Table 5 に示した。CFLP は CAZ と同様に 4 種類の cephalosporinase にきわめて安定であり、その他の対照薬も比較的安定であった。4 種類の oxyiminocephalosporinase に対し CFLP は CPR および CZON と同様に加水分解された。CFLP (1.2) は II 型の penicillinase にわずかに加水分解されたものの、その加水分解速度は CZON (8.6), CPR (64), CZOP (5.6) に比べ、それぞれ 7, 64, 5 倍高い安定性を示した。残りの I, III, IV および V 型の penicillinase に対して CFLP は全ての対照薬と同等以上できわめて安定であった。

Ⅲ. 考 察

実験結果から、CFLP はグラム陽性菌、グラム陰性菌に対して幅広い抗菌スペクトラムと強い抗菌力を示した。臨床分離株の MSSA に対する CFLP の抗菌力は CZON と同様、CPR より 2 倍高い活性であった。セフェム剤に感受性の低い *E. faecalis* に対して CFLP は強い抗菌力 (MIC: $3.13 \mu\text{g/ml}$) を示し、CZOP, CPR, CZON の 4 ~ 16 倍、CAZ より 32 倍高い活性であった。この事は本剤の 1 つの特徴であり、他施設から報告されている成績^{1,2)} と一致した。*P. vulgaris* を除く腸内細菌科およびナイセリア科の菌株に対する CFLP の抗菌力は強く、用いた対照薬に比べ同等以上であった。このように本剤の

優れた抗菌力は、今回の実験から penicillinase, cephalosporinase に対して非常に安定で、さらに、薬剤の作用点である PBP_s への結合親和性が高い⁸⁾ ためであると考えられる。第三世代セフェム耐性株の多い *C. freundii*, *E. cloacae* に対して CFLP の抗菌力は CPR, CZOP の 4 ~ 8 倍、CZON, CAZ より 32 ~ 128 倍高い活性を示し、 $0.78 \mu\text{g/ml}$ で 90% の株の発育を抑えた。この結果から CFLP と CAZ の抗菌力に大きな差が見られた。これは、細菌の細胞膜 (外膜) を透過した薬剤がペリプラズム内で高濃度に産生している cephalosporinase と、たとえば CAZ はこの酵素と結合親和性が非常に高いため、トラッピング (薬剤補足) という現象をおこし、薬剤の作用点である PBP_s に到達できず耐性を示す。一方、CFLP は酵素との結合親和性が非常に低く酵素の影響を受けずに作用点に到達し高い抗菌活性を示す事が想定される。事実、CAZ は cephalosporinase と結合親和性が高く、CFLP には非常に低いことが報告されている²⁾。*S. marcescens*, *P. aeruginosa* に対する CFLP の抗菌力の結果、それぞれ 11/108 株 (MIC: $\geq 100 \mu\text{g/ml}$), 20/123 株 (MIC: $\geq 25 \mu\text{g/ml}$) の割合で耐性菌が分離された。これは細菌の外膜蛋白のポーリン欠損により β -lactam 剤の外膜透過減少によって耐性を生ずるものと考えられる。また、CFLP は *P. vulgaris* および *B. fragilis* に対しても耐性菌が認められた。これは、本剤が oxyiminocephalosporinase に加水分解を受けるためで説明されよう。Oxyiminocephalosporinase は、多くの β -lactams 剤を分解できる extended-spectrum Beta-lactamase (EXTase) に属し、現在のところ EXTase 産生菌種は限られている。しかし、臨床的に問題となる cephalosporinase および penicillinase に対して CFLP は

安定であり、各種の β -lactamase 産生菌株に対して強い抗菌力を示したことで今後、注目される薬剤であると思う。

文 献

- 1) Hata K, Otsuki M, Nishino T: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of E 1077, a novel parenteral cephalosporin with a broad antibacterial spectrum. *Antimicrob Agent Chemother* 36: 1894~1901, 1992
- 2) Watanabe N, Hiruma R, Katsu K: *In vitro* evaluation of E 1077, a new cephalosporin with a broad antibacterial spectrum. *Antimicrob Agent Chemother* 36: 589~597, 1992
- 3) 三橋 進, 井上松久: MIC 測定用標準菌株. *Chemotherapy* 27: 561, 1979
- 4) 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: 76~79, 1981
- 5) Tamura A, Mitsuhashi S, Okubo T, Inoue M: Antibacterial activity of β -lactam antibiotics against *Staphylococcus aureus*: effect of inoculum size and β -lactamase stability. *Chemotherapy* 37: 1~4, 1988
- 6) Mitsuhashi S, Inoue M: Mechanism of resistance to β -lactam antibiotics. *β -Lactam Antibiotics* (Mitsuhashi S, ed.), Japan Scientific Societies Press: 41~56, 1981
- 7) Waley S G: A spectrophotometric assay of beta-lactamase action on penicillin. *Biochem J* 139: 780~789, 1974
- 8) 熊澤浄一, 島田 馨: 第42回日本化学療法学会総会, 新薬シンポジウム. E 1077, 福岡, 1994

Cefluprenam, a novel parenteral cephem antibiotic, *in vitro* antibacterial activity

Kunio Inoue, Yohko Hamana, Susumu Mitsuhashi

Episome Institute

2220 Kogure, Fujimi-mura, Seta-gun, Gunma 371-01, Japan

The antibacterial activity of a new cephem antibiotic cefluprenam (CFLP), was compared with those of ceftazidime (CAZ), cefuzonam (CZON), cefpirome (CPR) and ceftazopran (CZOP). The results are summarized as follows.

1. CFLP had a broad and well-balanced spectrum against gram-positive and gram-negative bacteria including MRSA (DMPPC MIC: $\leq 12.5\sim 50 \mu\text{g/ml}$) and *Pseudomonas aeruginosa*. The *in vitro* activity of CFLP against *Staphylococci*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, most species of the family Enterobacteriaceae, *P. aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* and family Neisseria was equivalent to or greater than those of CAZ, CZON, CPR and CZOP.

2. CFLP showed a high bactericidal activity against *Staphylococcus aureus* Smith and *Escherichia coli* ML 4707.

3. CFLP was quite stable to various types of β -lactamase, but was hydrolyzed by oxyiminocephalosporinase. Due to this high degree of stability, CFLP exhibited the potent activity of CFLP against β -lactamase-producing strains of *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* and *Klebsiella pneumoniae*.