

Cefluprenam の細菌学的検討

館田 映子¹⁾・横田 健²⁾・平松 啓一¹⁾

1) 順天堂大学医学部細菌学教室*, 2) 順天堂医療短期大学

Cefluprenam (CFLP) の試験管内抗菌力は, *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *S. aureus*, coagulase-negative staphylococci, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, β -streptococci, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* CS 2 (R+), *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Providencia rettgeri*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Xanthomonas maltophilia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* および *Bacteroides fragilis* の 15-51 臨床分離株に対する MIC₉₀ として, それぞれ 12.5, 25, 6.25, 0.025, 0.025, 0.05, 6.25, >100, 0.05, 12.5, 0.1, 3.13, 0.78, 0.1, 3.13, 3.13, 6.25, 25, 25, 25, >100, >100, および 0.78 μ g/ml であった。CFLP は *E. faecium*, *X. maltophilia*, *B. fragilis* を除く各菌種に対して幅広い抗菌力を示し, その強さは cefpirome とほぼ同等だった。また *E. faecalis* に対しては被検薬剤中最も強い抗菌力を示した。CFLP は *S. aureus* の PBP 1, 2, 4 に強い親和性を示し, MRSA の PBP 2' に対しても ceftazidime より優れた結合親和性を示した。また本剤は *E. coli*, *S. marcescens*, *P. vulgaris* の PBP 2, 3 に, *P. aeruginosa* の PBP 1A にもっとも強い結合親和性を示した。CFLP は *E. coli* に対し低濃度で血清補体と強い協力的殺菌作用を示し, マウス培養マクロファージとは 1/8 MIC 以上の本剤存在下で強い協力的殺菌作用が認められた。

Key words: cefluprenam, E 1077, CFLP, PBPs, マウス培養マクロファージ

Cefluprenam (CFLP) はエーザイ株式会社で開発された注射用セファロsporin 剤である。本剤は, β -lactamase に安定で, ブドウ球菌を含むグラム陽性菌から緑膿菌を含むグラム陰性菌まで幅広い抗菌スペクトルを有することが報告されている^{1,2)}。本研究では, CFLP の基礎的検討として, 試験管内抗菌力, 作用点 PBPs への結合親和性, 血清補体またはマウス培養マクロファージとの協力作用について検討した¹⁻⁴⁾。

1. 材料および方法

1. 菌 株

順天堂大学附属病院中央検査室および東京都老人研究所附属病院中央検査室から 1981 年から 1988 年の間に分離された *Staphylococcus aureus* 49 株, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) 48 株, coagulase-negative staphylococci (CNS) 43 株, *Streptococcus pneumoniae* 20 株, *Streptococcus pyogenes* 48 株, β -streptococci 15 株, *Enterococcus faecalis* 38 株, *Enterococcus faecium* 42 株, *Escherichia coli* CS 2(R+)51 株, *Klebsiella pneumoniae* 47 株, *Proteus mirabilis* 48 株, *Proteus vulgaris* 35 株, *Providencia rettgeri* 27 株, *Morganella morganii* 50 株, *Citrobacter freundii* 50 株, *Serratia marcescens* 50 株, *Enterobacter cloacae* 50 株, *Acinetobacter calcoaceticus* 27 株, *Pseudomonas aer-*

uginosa 50 株, *Pseudomonas cepacia* 33 株, *Xanthomonas maltophilia* 48 株, ampicillin (ABPC)-resistant *Haemophilus influenzae* 18 株, および *Bacteroides fragilis* 38 株を用いた。R plasmid 保有 *E. coli* は *E. coli* CS 2 に順天堂大学附属病院中央検査室の臨床分離株から得られた R plasmid (ampicillin 耐性の *E. coli* および *K. pneumoniae* 由来の R plasmid) を当教室で接合伝達したものである。

2. 使用薬剤

CFLP はエーザイ株式会社から, cefpirome (CPR) は日本ルセル株式会社から, cefuzonam (CZON) は日本レダグリー株式会社から, ceftazidime (CAZ) は日本グラクソ株式会社から, cefotaxime (CTX) は中外製薬株式会社から, methicillin (DMPPC) は万有製薬株式会社から分与された純末を使用した。

3. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定法

日本化学療法学会法³⁾による平板希釈法で測定した。すなわち被検菌を L-broth 中で一夜振盪培養し, グラム陽性菌の場合は 100 倍に, グラム陰性菌の場合は 1,000 倍に希釈し, これを 10⁶CFU/ml の接種菌液とした。ただし, *S. pyogenes* には Heart infusion (HI) broth を用い, *H. influenzae* には HI broth に Fildes extract (Oxoid) を 5% 添加した培地を用い, *B. fragilis* は GAM

broth (日水製薬) 中で前培養した。また *S. pneumoniae* の接種菌液はヒツジ脱繊維血液平板上に増殖した集落をかき取り、HI broth に懸濁し適当に希釈して 10^6 CFU/ml になる様にしたものを用いた。2 倍希釈系列にした濃度の薬剤を含む Mueller-Hinton agar (Difco) に、接種菌液をマイクロプランター (佐久間製作所) でスポット接種し、 37°C 一夜培養後の菌増殖の有無から MIC を求めた。ただし、Streptococcus 属の菌はすべて血液寒天で、*H. influenzae* は Fildes extract 加 HI agar で一夜培養し、*B. fragilis* には GAM agar を使用し、ガスバック法 (BBL) で 37°C 一夜嫌気培養した。

4. 作用点ペニシリン結合蛋白 (PBPs) に対する結合親和性の検討

S. aureus 209 P, MRSA 108-1, *E. coli* NIHJ JC 2, *S. marcescens* 13, *P. vulgaris* 33, *P. aeruginosa* PAO 1 を被験菌とし、Spratt⁴⁾ の方法に準じ非放射性各薬剤と ^{14}C -penicillin G (^{14}C -PCG: Amersham $50 \mu\text{Ci}/\mu\text{mole/ml}$) との競合結合実験から検討した。すなわち 200 ml の L-broth 中で 37°C 4 時間振盪培養した菌細胞を集め、BRANSON sonifier で細胞を破壊した後、その $3,000 \times g$ 20 分遠心上清を $100,000 \times g$ 30 分超遠心を行い膜画分を得た。それを 10 mM MgCl_2 を含む 0.05 M のリン酸緩衝液 (pH 7.0) に浮遊し、10~15 mg/ml protein/ml になるように調製した。これに $3 \mu\text{l}$ の CFLP または ceftazidime 溶液を加え、最終濃度 0.1~800 $\mu\text{g/ml}$ になるように調製した。さらに $3 \mu\text{l}$ の ^{14}C -PCG を添加し 30°C 10 分間反応した。Sarcosine で内膜を溶かし、 $10,000 \times g$ 30 分の遠心で外膜等不溶成分を除き、その全量を acrylamide 平板電気泳動にかけた。*S. aureus* には分離ゲルとして 8% acrylamide-0.06% bis-acrylamide 組成のものを、グラム陰性菌には 10% acrylamide-0.06% bis-acrylamide 組成のものを使用した。電気泳動終了後、メタノールと酢酸で蛋白を固定しゲルを水洗した後、増感剤を染みこませ乾燥してレントゲンフィルム (KODAK X-Omat) に密着して、カセット中で -80°C 20 日間感光させた。

5. 血清・補体との協力的殺菌作用の検討法

E. coli NIHJ JC 2 を被験菌とした。4 本の 10 ml L broth に約 5×10^4 CFU/ml になるように菌を接種した。1 本は対照、2 本目にはそれぞれの菌の発育に影響を与えない補体の最高量 (0.75 units/ml) と 20% 非働化ヒト血清を、3 本目には 5 時間後に接種時の 50% に生菌数を低下させる量の CFLP を (ID_{50})、4 本目には補体・ヒト血清および ID_{50} の CFLP を加えた。 37°C で振盪培養を続けながら 1, 3, 5, 24 時間後に培養液の一部を取り、適当に希釈して平板法で生菌数を測定した。

6. マウス培養マクロファージとの協力的食菌殺菌作用

ICR 7 週齢マウスの腹腔を 8 ml の 5% fetal calf

serum 加 F 12 培地 (日水) で洗い腹腔マクロファージを採取した。同培地 5 ml に浮遊し、洗浄後 10^5 cells/ml の浮遊液を作った。カバースリップを沈めた 24 穴 FALCON multi-dish の各 well に細胞浮遊液 0.1 ml を接種し、5% CO_2 存在下で 30 分静置後、同培地を 1 ml ずつ加え、一夜 CO_2 培養した。翌日培地を除き、20% L-CM (conditioned medium L-929)⁵⁾ 加 F 12 培地 1 ml と交換し、2 時間 CO_2 培養を行ってマクロファージを活性化した。L-broth 中に 37°C 一夜振盪培養した *E. coli* NIHJ JC 2 菌液を適当に希釈し、マクロファージの 50 倍量 (5×10^5 cells/well) になるように接種した。一部の well には CFLP を 1-1/16 MIC になるように加えて 5 時間培養を続けた。カバースリップを取り出し、Saline G で洗浄しメタノール固定して Giemsa 染色を行い顕像を撮影した。

Ⅱ. 成績

1. 試験管内抗菌力

CFLP の試験管内抗菌力を、22 菌種の 15-50 臨床分離株に対し検討した (Table 1)。

S. aureus 49 株に対する CFLP の MIC_{90} は 12.5 $\mu\text{g/ml}$ で CPR のそれと同等で CZON より 4 倍、CTX, CAZ より 8 倍以上優れた抗菌力を示した。MRSA 48 株に対しては、CFLP は MIC_{90} が 25 $\mu\text{g/ml}$ で CPR や CZON より 2 倍、CAZ や CTX より 4 倍以上強い抗菌力を示し、被検薬剤中もっとも優れた成績だった。CNS 43 株に対しても、同様に CFLP の MIC_{90} 値は 6.25 $\mu\text{g/ml}$ で他剤より 2 倍から 16 倍強い抗菌力を示した。*S. pneumoniae* 20 株に対する CFLP の MIC_{90} は 0.025 $\mu\text{g/ml}$ で、CPR や CTX より 2 倍、CPR より 4 倍強い値を示し、被検薬剤中もっとも優れた抗菌力を示した。*S. pyogenes* 48 株に対する CFLP の MIC_{90} は 0.025 $\mu\text{g/ml}$ だが、CZON, CTX より若干劣る抗菌力だった。 β -streptococci 15 株に対しては、CFLP の MIC_{90} は 0.025 $\mu\text{g/ml}$ で CPR, CTX と同等だが CZON より 2 倍劣る成績だった。*E. faecalis* 38 株に対しては、CFLP の MIC_{90} は 6.25 $\mu\text{g/ml}$ で CPR より 8 倍、他剤より 16 倍強い抗菌力を示し、被検薬剤中もっとも優れた成績だった。*E. faecium* 42 株に対しては CFLP の MIC_{90} は 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上で他剤同様効果は期待できない。

E. coli CS 2 (R+) 51 株に対しては、CFLP の MIC_{90} は 0.05 $\mu\text{g/ml}$ で、CPR, CZON, CTX 等より 2 倍強い優れた抗菌力を示した。*K. pneumoniae* 50 株に対しては、CFLP の MIC_{90} は 0.025 $\mu\text{g/ml}$ で優れた成績だが、 MIC_{90} は 12.5 $\mu\text{g/ml}$ で他剤より若干劣る抗菌力を示した。*P. mirabilis* 48 株に対しては、CFLP の MIC_{90} は、0.1 $\mu\text{g/ml}$ で、CTX より 4 倍劣るが、CPR, CZON, CAZ と同等だった。*P. vulgaris* 35 株に対しては、CFLP の MIC_{90} は 3.13 $\mu\text{g/ml}$ で CPR より 2 倍、CZON, CAZ, CTX より 4 倍以上劣る成績だった。*P. rettgeri* 27 株に

Table 1-1. Antibacterial activities of cefluprenam and reference drugs against clinical isolates

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>S. aureus</i> (49)	CFLP	0.39—50	0.78	12.5
	CPR	0.39—50	0.78	12.5
	CZON	0.05—100	0.2	50
	CAZ	3.13—>100	25	>100
	CTX	0.78—>100	3.13	100
MRSA (48)	CFLP	0.78—>100	6.25	25
	CPR	0.78—100	12.5	50
	CZON	0.39—>100	6.25	50
	CAZ	12.5—>100	100	>100
	CTX	3.13—>100	>100	>100
CNS (43)	CFLP	0.05—>100	1.56	6.25
	CPR	0.025—>100	0.78	12.5
	CZON	0.05—>100	0.78	12.5
	CAZ	3.13—>100	12.5	100
	CTX	0.2—>100	6.25	50
<i>S. pneumoniae</i> (20)	CFLP	≤ 0.013 —0.1	0.025	0.025
	CPR	≤ 0.013 —0.05	0.025	0.05
	CZON	≤ 0.013 —0.39	≤ 0.013	0.1
	CAZ	0.1—12.5	0.2	0.39
	CTX	≤ 0.013 —0.1	0.025	0.05
<i>S. pyogenes</i> (48)	CFLP	≤ 0.013 —0.1	0.025	0.025
	CPR	≤ 0.013 —0.05	≤ 0.013	0.05
	CZON	≤ 0.013 —0.05	≤ 0.013	≤ 0.013
	CAZ	0.05—0.39	0.1	0.2
	CTX	≤ 0.013 —0.05	≤ 0.013	≤ 0.013
β -streptococci (15)	CFLP	0.025—0.2	0.05	0.05
	CPR	≤ 0.013 —0.1	0.05	0.05
	CZON	≤ 0.013	≤ 0.013	≤ 0.013
	CAZ	0.05—0.39	0.1	0.2
	CTX	≤ 0.013 —0.2	0.05	0.05
<i>E. faecalis</i> (38)	CFLP	1.56—12.5	3.13	6.25
	CPR	0.1—100	25	50
	CZON	0.39—>100	50	100
	CAZ	3.13—>100	>100	>100
	CTX	>100	>100	>100
<i>E. faecium</i> (42)	CFLP	100—>100	>100	>100
	CPR	12.5—>100	>100	>100
	CZON	0.05—>100	>100	>100
	CAZ	0.2—>100	>100	>100
	CTX	12.5—>100	>100	>100
<i>E. coli</i> CS2(R+) (51)	CFLP	≤ 0.013 —0.2	0.025	0.05
	CPR	≤ 0.013 —0.2	0.05	0.1
	CZON	≤ 0.013 —0.2	0.05	0.1
	CAZ	0.05—0.39	0.2	0.39
	CTX	≤ 0.013 —0.2	0.05	0.1
<i>K. pneumoniae</i> (47)	CFLP	≤ 0.013 —25	0.025	12.5
	CPR	0.025—3.13	0.05	3.13
	CZON	0.025—6.25	0.1	6.25
	CAZ	0.025—1.56	0.2	0.78
	CTX	≤ 0.013 —25	0.05	6.25
<i>P. mirabilis</i> (48)	CFLP	0.025—0.2	0.05	0.1
	CPR	0.025—0.2	0.05	0.1
	CZON	0.025—0.1	0.1	0.1
	CAZ	0.05—0.1	0.1	0.1
	CTX	≤ 0.013 —0.05	0.025	0.025

Table 1-2. Antibacterial activities of cefluprenam and reference drugs against clinical isolates

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>P. vulgaris</i> (35)	CFLP	≤ 0.013 —25	0.1	3.13
	CPR	0.025—12.5	0.2	1.56
	CZON	0.05—25	0.2	0.78
	CAZ	0.05—0.78	0.05	0.2
	CTX	≤ 0.013 —3.13	0.05	0.39
<i>P. rettgeri</i> (27)	CFLP	≤ 0.013 —0.78	0.2	0.78
	CPR	≤ 0.013 —3.13	1.56	3.13
	CZON	≤ 0.013 —6.25	1.56	6.25
	CAZ	0.05—25	3.13	12.5
	CTX	≤ 0.013 —3.13	0.78	3.13
<i>M. morganii</i> (50)	CFLP	≤ 0.013 —6.25	0.025	0.1
	CPR	0.025—0.2	0.05	0.2
	CZON	≤ 0.013 —6.25	0.2	3.13
	CAZ	0.05—25	0.2	6.25
	CTX	≤ 0.013 —12.5	0.05	3.13
<i>C. freundii</i> (50)	CFLP	≤ 0.013 —>100	0.2	3.13
	CPR	≤ 0.013 —50	0.39	3.13
	CZON	0.1—>100	3.13	25
	CAZ	0.2—>100	3.13	100
	CTX	0.1—>100	3.13	>100
<i>S. marcescens</i> (50)	CFLP	0.05—>100	0.1	3.13
	CPR	0.025—>100	0.05	6.25
	CZON	0.1—>100	0.39	25
	CAZ	0.1—>100	0.2	6.25
	CTX	0.1—>100	0.2	50
<i>E. cloacae</i> (50)	CFLP	≤ 0.013 —>100	0.39	6.25
	CPR	0.025—>100	3.13	25
	CZON	0.05—>100	25	>100
	CAZ	0.05—>100	100	>100
	CTX	0.1—>100	0.2	50
<i>A. calcoaceticus</i> (27)	CFLP	0.1—50	1.56	25
	CPR	0.78—100	3.13	50
	CZON	0.1—100	25	100
	CAZ	0.1—25	6.25	25
	CTX	0.1—>100	12.5	>100
<i>P. aeruginosa</i> (50)	CFLP	0.39—>100	3.13	25
	CPR	0.39—100	6.25	25
	CZON	3.13—>100	50	>100
	CAZ	0.78—>100	3.13	50
	CTX	3.13—>100	25	>100
<i>X. maltophilia</i> (45)	CFLP	1.56—>100	100	>100
	CPR	6.25—>100	100	>100
	CZON	0.78—100	12.5	50
	CAZ	0.39—>100	3.13	100
	CTX	3.13—>100	100	>100
<i>P. cepacia</i> (45)	CFLP	12.5—>100	25	25
	CPR	3.13—100	6.25	12.5
	CZON	3.13—12.5	6.25	12.5
	CAZ	0.78—3.13	1.56	3.13
	CTX	3.13—100	6.25	25
<i>H. influenzae</i> (ABPC ^r) (18)	CFLP	0.025—0.78	0.05	0.78
	CPR	0.025—0.2	0.05	0.1
	CZON	≤ 0.013 —0.05	0.025	0.05
	CAZ	0.1—0.78	0.2	0.78
	CTX	≤ 0.013 —0.1	0.025	0.1

Table 1-3. Antibacterial activities of cefluprenam and reference drugs against clinical isolates				
Organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>B. fragilis</i> (38)	CFLP	1.56->100	6.25	>100
	CPR	1.56->100	25	>100
	CZON	0.78->100	3.13	100
	CAZ	>100	>100	>100
	CTX	1.56->100	3.13	>100

CFLP: cefluprenam, CPR: cefpirome, CZON: cefuzonam, CAZ: ceftazidime, CTX: cefotaxime

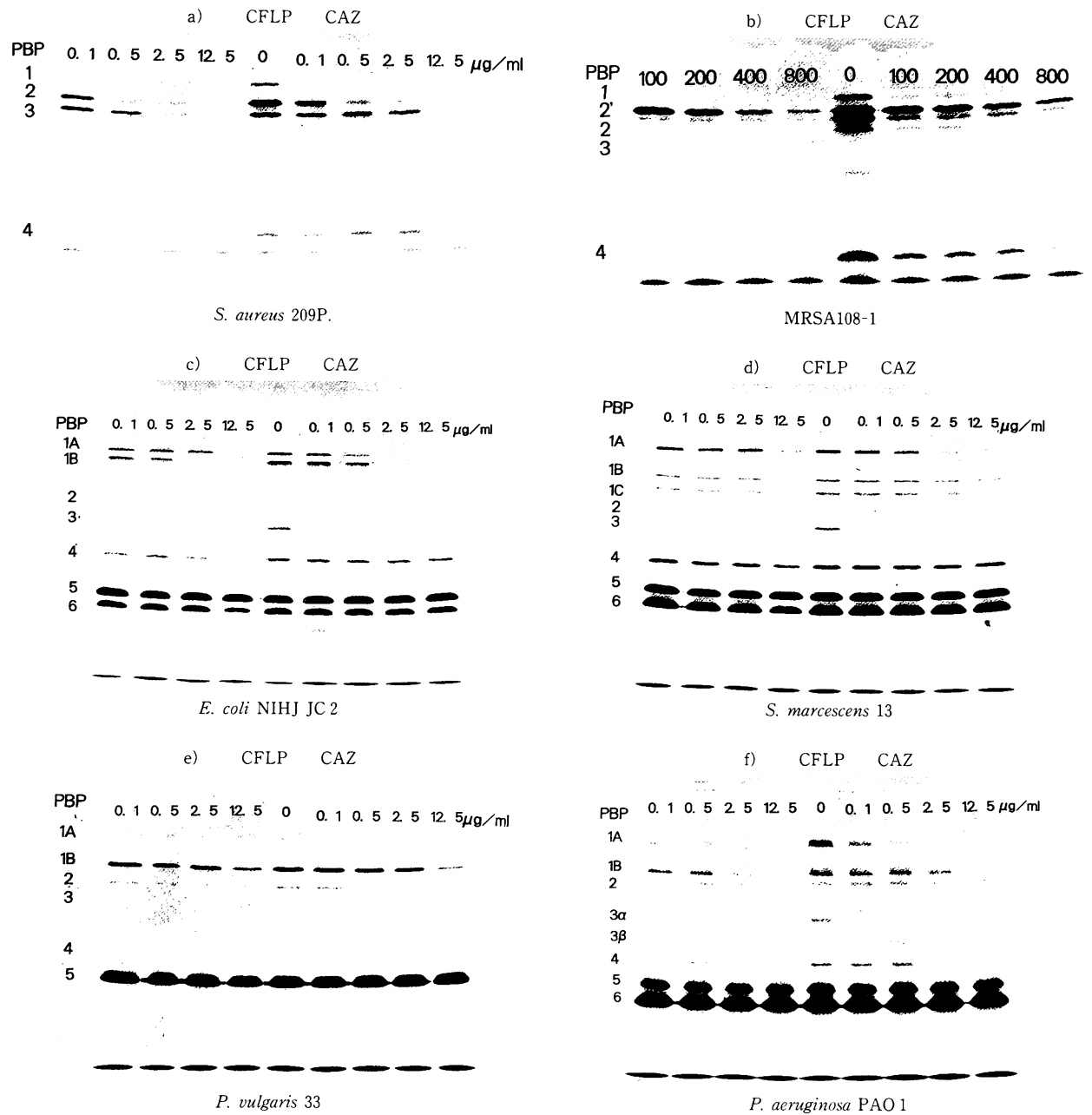


Fig. 1. Competition of cefluprenam and ceftazidime for penicillin-binding proteins.

対しては、CFLPのMIC₉₀は0.78 µg/mlで被検薬剤中もっとも強い抗菌力を示した。*M. morganii* 50株に対しても、同様にCFLPのMIC₉₀は0.1 µg/mlと優れた値を示し、他剤より優れていた。*C. freundii* 50株に対しては、CFLPのMIC₉₀は3.13 µg/mlでCPRと同様で他剤より優れていた。*S. marcescens* 50株に対してもCFLPのMIC₉₀は3.13 µg/mlで、CPR, CAZより2倍優れた抗菌力を示した。*E. cloacae* 50株に対するCFLPのMIC₉₀は6.25 µg/mlでCPRより4倍強く、被検薬剤中もっとも優れた抗菌力を示した。*A. calcoaceticus* 27株に対するCFLPのMIC₉₀は25 µg/mlで、CAZと同等でCPR, CZON, CTXより優れていた。*P. aeruginosa* 50株に対してはMIC₉₀は25 µg/mlでCPRと同等で他剤より優れた成績だった。*X. maltophilia* 45株に対するCFLPのMIC₉₀は100 µg/ml以上で他剤同様抗菌力は期待できない。*P. cepacia* 33株に対してはCFLPのMIC₉₀は25 µg/mlでCTXと同等で、CPR, CZONより2倍劣る抗菌力だった。ABPC耐性*H. influenzae* 18株に対しては、CFLPのMIC₉₀は0.78 µg/mlでCAZと同等で、CPR, CZON, CTXより8倍から16倍劣る成績だった。*B. fragilis* 38株に対しては、CFLPのMIC₉₀は100 µg/ml以上で他のセフェム剤同様抗菌力は弱かった。

2. 作用点PBP_sに対する結合親和性

CFLPのPBP_sに対する結合親和性をCAZと比較検討した結果をFig. 1に示す。

S. aureus 209 PのPBP_sに対するCFLPの結合親和性をCAZのそれと比較すると、本剤はPBP 1, 2, 4に強い親和性を示し、またすべての画分についてCAZと比較して強い親和性を示した。一方、MRSA特有のPBP 2'に対する親和性もCAZより優れた成績を示した。*E. coli* NIHJ JC 2のPBP_sに対しては、CFLPはPBP 2, 3にもっとも強く、次いで1Bに強い結合親和性を示した。CAZの親和性と比較すると、PBP 1B, 2, 3, 4に対する親和性は本剤の方が強いが、PBP 1Aに対しては、CAZの方が強い結合親和性を示した。*S. marcescens* 13のPBP_sに対してはCFLPは、PBP 3, 2, 1B, 1Cの順にCAZより強い結合親和性を示したが、PBP 1Aに対してはCAZの方が強かった。*P. vulgaris* 33のPBP_sに対してはCFLPは、PBP 2, 3に強い親和性を示した。PBP 2に対しては、CFLPの方が強い親和性を示したが、他のPBP画分に対してはCAZと同等だった。*P. aeruginosa* PAO 1のPBP_sに対しては、CFLPはPBP 1A, 3に強い結合親和性を示した。CAZの親和性と比較すると、すべての画分に対してはCFLPの方が強い結合親和性を示した。

3. 血清補体およびマウス培養マクロファージとの協力的食菌殺菌作用

ID₅₀ 値のCFLP (0.025 µg/ml) と、この菌の増殖に影響を与えない最高量の補体 (0.75 units/ml) を共存させ、CFLPと補体との協力的殺菌作用を検討した。その結果、本剤と補体の共存下では3時間後に薬剤単独時よりも約1/60以下に生菌数が減少し、5時間後では1/1,000以下に生菌数が減少し、本剤と補体との協力的殺菌作用が顕著に認められた (Fig. 2)。

マウス培養マクロファージを20% L-CMで活性化し、それに*E. coli* NIHJ JC 2の生菌を50倍量接種後5時間後の光学顕微鏡像をFig. 3に示す。CFLP非存在下では、培養マクロファージが生体内ほどの殺菌力を持たないためか、食菌された*E. coli*が細胞内で分裂し、Fig. 3-aのごとくマクロファージを破壊している像が観察された。これに1-1/2 MICのCFLPを共存させるとFig. 3-b, cのごとくスフェロプラスト化した*E. coli*細胞は良く食菌消化され、消化の終わった食空胞も見られる。1/4-1/8 MIC存在下でも一部スフェロプラスト化した*E. coli*細胞もマクロファージに食菌されている像が観察される (Fig. 3-d, e)。1/16 MIC共存下ではマクロファージの殺菌力と菌の増殖力とがほぼ平行し、マクロファージ細胞外での*E. coli*の増殖が見られる (Fig. 3-f)。

Ⅲ. 考 察

CFLPは*E. faecium*, *X. maltophilia*, *B. fragilis*を除く各種グラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して幅広い抗菌スペクトラムを示した。MRSAを含む*S. aureus*に対するCFLPの抗菌力はCPR, CZONより2倍強い活性を示し、セフェム剤に感受性の低い*E. faecalis*に対してもCPR等の他剤より8倍以上強い優れた抗菌力を示した。*P. vulgaris*, *K. pneumoniae*を除く腸内細菌科の各菌種に対しては、CFLPはCPR, CZONと同等あるいは2倍から16倍以上の強い抗菌力を示し、特にセフェム耐性株の多い*E. cloacae*, *S. marcescens*, *C. freundii*にも強い抗菌力を有した。*K. pneumoniae*, *P. vulgaris*

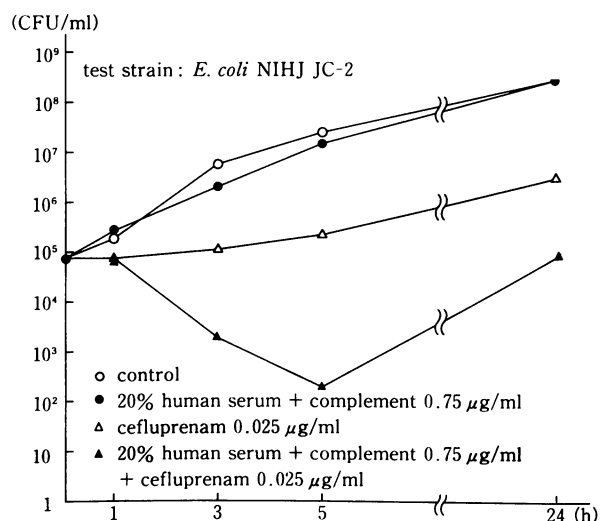


Fig. 2. Synergy of bactericidal effect with serum complement (cefluprenam: 0.025 µg/ml).

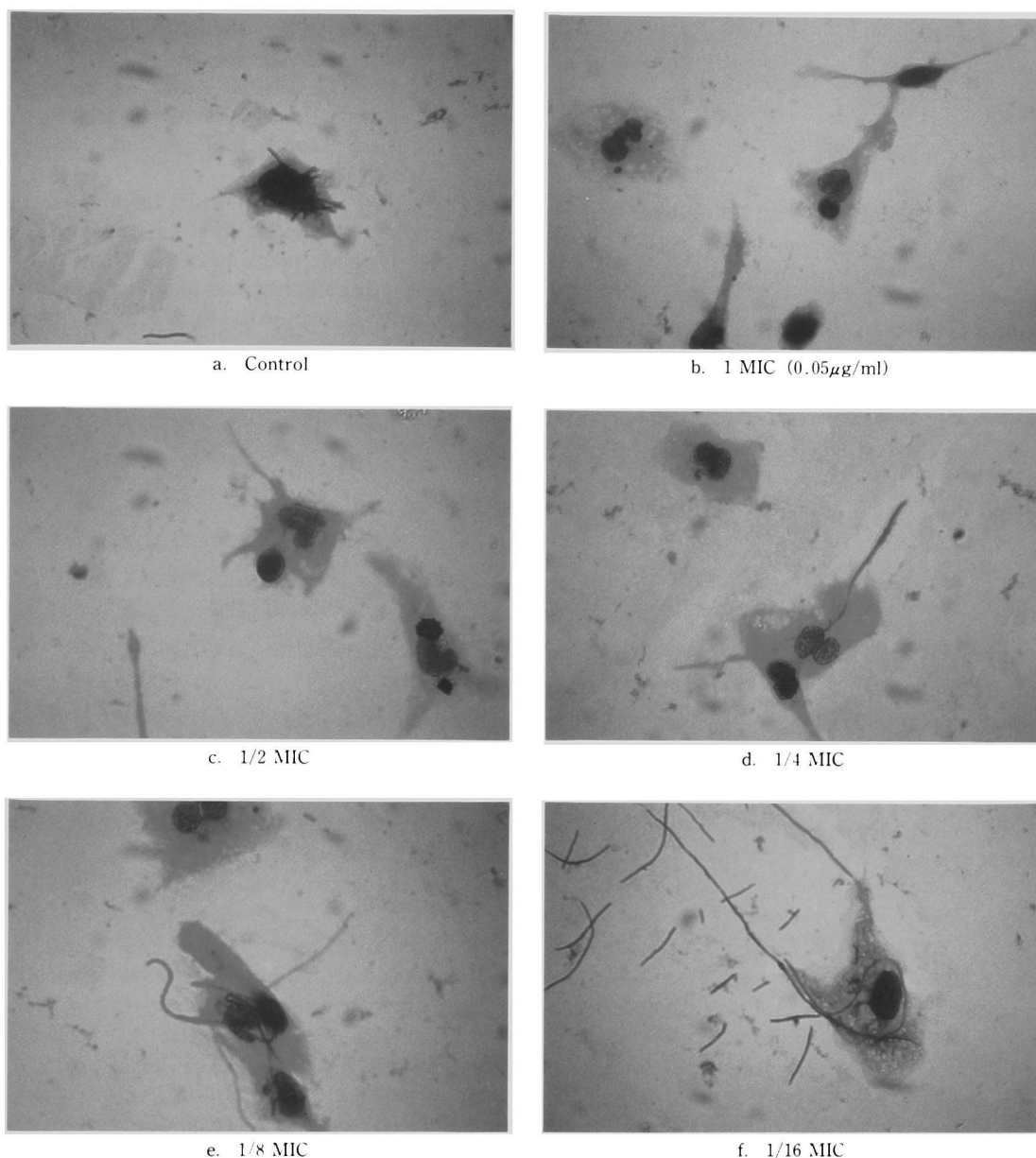


Fig. 3. Phagocytosis of *Escherichia coli* NIHJ JC2 by mouse cultured macrophages in the presence of 1-1/16 MIC of cefluprenam.

に対しては CPR, CZON より 2 倍から 4 倍劣る抗菌力だった。*P. aeruginosa* に対しては, CFLP は CPR と同等で CAZ より 2 倍強い抗菌力だった。

CFLP は *S. aureus* 209 P のすべての PBP の画分に対して CAZ より強い結合親和性を示し, 特に PBP 4 に対する親和性は強かった。このことは本剤が *S. aureus* に他のセフェム剤より優れた抗菌力を有する理由と考えられる。MRSA 特有の PBP 2' に対する結合親和性も CAZ より強かった。一方, *E. coli*, *S. marcescens*, *P. vulgaris* などのグラム陰性菌の PBP に対しては, CFLP は PBP 2, 3 に CAZ より強い親和性を示した。*P. aeruginosa* の PBP には, CFLP は PBP 1 A, 3 に強く結合し, その強さは全 PBP の画分について CAZ より

若干強かった。CFLP は β -lactamase に対して安定であり, 且つ酵素に対しても親和性が低いことが, 本剤の R plasmid 保有菌に対して抗菌力を発揮する一因である。これに加えて PBP に対する親和性が強いことは R plasmid 保有菌と感受性菌間で MIC が変化しない理由と考えられる。CFLP の大きな特徴は *E. coli* の隔壁合成酵素とされる PBP 3, 桿状の形を決定するトランスペプチダーゼ活性を持った PBP 2 に強い結合親和性を示すことである。その結果 CFLP 存在下で培養した菌は, 大型のスフェロプラスト状細胞になる。また, CFLP は *E. coli* に対し, 低濃度で血清補体との協力的殺菌作用が顕著に認められた。またマウス培養マクロファージとは 1/8 MIC 以上の本剤存在下で協力作用が認められ, そ

の強さは他のセフェム剤と比べても同等以上だった。

以上の結果より, CFLP は幅広い抗菌力を示し, また抗菌剤の生体内効果に影響する宿主感染防御因子との協力作用も顕著なので, 今後多くの感染症において臨床効果の期待される薬剤であろう。

文 献

- 1) Watanabe N, Hiruma R, Katsu K: *In vitro* evaluation of E-1077, a new cephalosporin with a broad antibacterial spectrum. *Antimicrob. Agents Chemother.* 36: 589~597, 1992
- 2) Yokota T, Suzuki E: Program Abstr. 30th Intersci. Conf. *Antimicrob. Agents Chemother.*, abstr. 853,

1991

- 3) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法について. *Chemotherapy* 29: 76~79, 1981
- 4) Spratt R G: Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation, and shape of *Escherichia coli* K 12. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 72: 2999~3003, 1975
- 5) Nozawa R T, Yokota T: Inhibition by glucocorticoids and cholera toxin of the conditional growth of poorly adherent mononuclear phagocytes of newborn hamster liver and lung (hormonal control of macrophage growth) *Cell. Physiol.* 100: 351~364, 1979

In vitro antibacterial activity of cefluprenam

Eiko Tateda¹⁾, Takeshi Yokota²⁾, Keiichi Hiramatsu¹⁾

- 1) Department of bacteriology, School of Medicine, Juntendo University
2-1-1 Hongo, Bunkyo-ku Tokyo 113, Japan
- 2) Juntendo Medical College of Nursing

Cefluprenam (CFLP) is a novel parenteral cephalosporin with a wide spectrum of potent antibacterial activity against aerobic and anaerobic gram-positive and gram-negative bacteria. MIC₉₀s of CFLP against clinical isolates of *Staphylococcus aureus* (49 strains), MRSA (48 strains), CNS (43 strains), *Streptococcus pneumoniae* (20 strains), *Streptococcus pyogenes* (48 strains), β -streptococci (15 strains), *Enterococcus faecalis* (38 strains), *Enterococcus faecium* (42 strains), *Escherichia coli* CS 2 (R+) (51 strains), *Klebsiella pneumoniae* (47 strains), *Proteus mirabilis* (48 strains), *Proteus vulgaris* (35 strains), *Providencia rettgeri* (27 strains), *Morganella morganii* (50 strains), *Citrobacter freundii* (50 strains), *Serratia marcescens* (50 strains), *Enterobacter cloacae* (50 strains), *Acinetobacter calcoaceticus* (27 strains), *Pseudomonas aeruginosa* (50 strains), *Xanthomonas maltophilia* (48 strains), *Pseudomonas cepacia* (33 strains), ampicillin (ABPC) resistant *Haemophilus influenzae* (18 strains), *Bacteroides fragilis* (38 strains), were 12.5, 25, 6.25, 0.025, 0.025, 0.05, 6.25, > 100, 0.05, 12.5, 0.1, 3.13, 0.78, 0.1, 3.13, 3.13, 6.25, 25, 25, > 100, 25, 0.78, > 100 μ g / ml, respectively. CFLP manifested almost the same activity to *S. aureus* as cefpirome, however, it showed 2 times stronger anti-MRSA activity than cefpirome (CPR) and cefzonam (CZON). Against *E. faecalis*, CFLP was the most active one of the cephalosporins tested and was at least 8 fold more active than CPR. CFLP was the most active one of the cephalosporins tested against members of the family Enterobacteriaceae, except for *K. pneumoniae* and *P. vulgaris*. Against *P. aeruginosa*, CFLP was 2-fold more active than ceftazidime (CAZ), and as active as CPR. CFLP manifested greater binding affinities to PBPs 1, 2, 3 and 4 of *S. aureus* 209P than ceftazidime, and had a greater affinity to PBP 2' of an MRSA strain 108-1 than CAZ. The binding affinities of CFLP to PBPs 2 and 3 of *E. coli* NIHJ JC 2, *S. marcescens* 13 and *P. vulgaris* 33 were stronger than those of CAZ. CFLP showed greater binding affinities to PBPs 1A and 3 of *P. aeruginosa* PAO 1 than those of CAZ. CFLP, at rather low concentration, manifested a strong synergy of bactericidal effect on *E. coli* NIHJ JC 2 with complement. Cultured mouse macrophages well engulfed and digested *E. coli* cells in the presence of more than 1/8 MIC of CFLP.