

Staphylococcus aureus と *Pseudomonas aeruginosa* の実験的混合肺感染に対する cefozopran の治療効果

高島 勝典・飯沢 祐史・中尾 雅文

武田薬品工業株式会社創薬研究本部創薬第三研究所*

(平成7年10月9日受付・平成8年1月17日受理)

好中球減少マウスに *Staphylococcus aureus* TY5312 と *Pseudomonas aeruginosa* P9 をそれぞれ 10^8 と 10^7 CFU (1,000:1) の組み合わせで点鼻接種することにより混合肺感染モデルを作製した。菌接種直後から両菌は肺内で対数的に増殖し、20時間後の肺内生菌数はともに 10^7 CFU に達した。電子顕微鏡により感染マウスの肺を観察すると、両菌が肺胞ごとに、あるいは同一肺胞内でも棲み分けている像が多数認められた。この *S. aureus* TY5312 と *P. aeruginosa* P9 の混合肺感染に対して cefozopran (CZOP) を投与すると、肺内生菌数は両菌とも顕著に減少し、感染マウスの肺の電顕像では *S. aureus* TY5312 の膨大化、*P. aeruginosa* P9 の伸長化、さらには両菌が溶菌へと移行する様子が観察された。マウス生存率をもとに CZOP の治療効果を cefepime, ceftazidime を対照薬として調べると、50%のマウスを生残させるのに必要な薬剤量は対照薬の 15~22 mg/kg と比べて CZOP は 3.11 mg/kg と低く、CZOP の治療効果は対照薬より明らかに優れていた。以上の結果から、免疫力が低下した患者における *S. aureus* と *P. aeruginosa* の混合肺感染に対して CZOP が有効に働くことが示唆された。

Key words: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, 混合肺感染, cefozopran

近年、高齢者や糖尿病などの様々な基礎疾患を有する患者および抗癌剤やステロイド剤治療などが原因で免疫能が低下したいわゆる compromised host が増加しているが、こうした compromised host に発生する呼吸器感染症は重篤で、難治性のために臨床上大きな問題となっている。Compromised host では単一の菌種よりも複数の菌種により感染が発症することが多く、その主要菌種としては *Staphylococcus aureus* とグラム陰性桿菌、特に *Pseudomonas aeruginosa* の組み合わせが多い¹⁻³⁾。また、*S. aureus* あるいは *P. aeruginosa* による単独感染の場合でも、抗菌活性が低い薬剤で治療すると耐性菌を誘導したり、また抗菌スペクトルの狭い薬剤で治療すると菌交代症を引き起こすことが論じられている^{4,5)}。したがって、*S. aureus* と *P. aeruginosa* の混合感染症の治療や菌交代症の予防のためにはこれら2菌種にバランス良く、かつ強い抗菌活性を有する薬剤が必要である。

Cefozopran (CZOP) はグラム陽性菌とグラム陰性菌に広範囲な抗菌スペクトルを有する新規注用セフェム薬であるが、特に既存のセフェム薬と比較して *S. aureus* と *P. aeruginosa* にバランスの良い抗菌活性を示すことが報告されており^{6,7)}、臨床での両菌による混合感染に対する有効性が期待できる。

今回、我々は好中球減少マウスを用いて *S. aureus* と *P. aeruginosa* の混合肺感染モデルを作製し、CZOP の治療効

果を調べたところ、CZOP は両菌に殺菌的に作用し、優れた治療効果を発揮することが明らかとなったので報告する。

I. 材料と方法

1. 薬剤

Cefozopran (CZOP), cefepime (CFPM) は武田薬品工業株式会社創薬第三研究所で合成されたものを用いた。また、ceftazidime (CAZ, 日本グラクソ) は市販品を用いた。

2. 菌株

当研究所保存の *S. aureus* TY5312 および *P. aeruginosa* P9 を用いた。

3. 動物

CBA/J マウス、雌、5週齢(日本チャールス・リバー株式会社)を用いた。好中球減少マウスの作製は菌接種4日前に cyclophosphamide (塩野義製薬) 200 mg/kg を腹腔内投与して行った。

4. 薬剤感受性測定

日本化学療法学会標準法⁸⁾に準じ、寒天平板希釈法により以下のように測定した。*S. aureus* TY5312 および *P. aeruginosa* P9 は Mueller-Hinton broth (MHB; Difco Laboratories, Detroit, Mich.) で 37℃ 20時間培養後、MHB で 1,000倍希釈した。2倍希釈系列の薬剤を含んだ Mueller-Hinton agar (Difco) 平板に Microplanter (佐久間製作所) を用いて希釈菌

液 5 μ l (約 10^4 CFU) をこの寒天平板上に接種した。この寒天平板を 37 $^{\circ}$ C 20 時間培養後、肉眼判定により最小発育阻止濃度 (MIC) を求めた。

5. 混合肺感染モデルの作製

S. aureus TY5312 および *P. aeruginosa* P9 はともに Brain heart infusion broth (Difco) で 37 $^{\circ}$ C 一夜培養した。各菌の培養菌液をそれぞれ Trypticase soy broth (TSB; BBL Microbiology Systems, Cockeysville, Md.) で適宜希釈し、等量混合したものを感染菌液とした。この感染菌液をネプタール (ペントバルビタールナトリウム; Abbott Laboratories, North Chicago, Ill.) 50 mg/kg を腹腔内に投与した麻酔下のマウス鼻腔内に 40 μ l 接種した。

6. 薬効判定

薬剤投与後の走査電子顕微鏡による形態変化の観察および肺内生菌数の測定により感染マウスにおける CZOP の殺菌効果を検討した。また、CZOP および対照薬剤の治療効果をマウス生残率を指標として判定した。

1) 走査電子顕微鏡による観察

CZOP 80 mg/kg を菌接種 20 時間後から 30 分間隔で 5 回皮下投与した。最終投与から 1 時間後の肺を Nakao ら⁹⁾ の方法で固定し、エタノール系列で脱水後、TF-1 型凍結装置 (エイコーエンジニアリング) を用いて液体窒素中で割断した。本試料を HCP-2 型臨界点乾燥装置 (日立) を用いて乾燥し、E-1030 型イオンスパッター (日立) で割断面に白金-パラジウムコーティングを施して、DS-720 型走査電子顕微鏡 (トプコン) を用い、加速電圧 5kV で観察、撮影した。

2) 肺内生菌数測定

CZOP 20 mg/kg を菌接種 14 および 16 時間後の 2 回皮下投与した。薬剤投与後、所定の時間にマウスをエーテル麻酔下で腋窩動静脈を切断して放血死させた後、肺を無菌的に摘出した。肺は滅菌精製水 4 ml 中でホモジナイズした。肺のホモジネートは TSB により 10 倍希釈系列を作製後、その 0.1 ml を *S. aureus* 分離用培地としてマンニット食塩培地 (栄研化学)、*P. aeruginosa* 分離用培地として NAC 寒天培地 (栄研化学) にそれぞれ塗布し、37 $^{\circ}$ C 一夜培養後のコロニー数から肺内生菌数を算出した。なお、各菌単独の菌液についてそれぞれ選択培地と Trypticase soy agar (BBL)

培地で菌数を測定したところ、ともに差はみられなかった。

3) 生死判定

薬剤投与は菌接種 14 時間後から 30 分間隔で 4 回の皮下投与を 1 クールとして朝、夕 1 日 2 クールを 2 日間行い、菌接種 3 日後における生残マウス数をもとに 50 % のマウスを生残させるのに必要な薬剤量 (SD₅₀) を Probit 法¹⁰⁾ により算出した。

7. 統計学的解析

CZOP と対照薬剤投与群間のマウス生残率および肺内生菌数に関する有意差の検定はそれぞれ Fisher's exact test および Dunnet type test により行った。

II. 結 果

1. 薬剤感受性

S. aureus TY5312 および *P. aeruginosa* P9 の各薬剤に対する感受性を調べた (Table 1)。*S. aureus* TY5312 に対する CZOP の MIC は 1.56 μ g/ml であり、その抗菌活性は CPR の 1/2 であったが、CFPM および CAZ よりもそれぞれ 2 および 8 倍強かった。*P. aeruginosa* P9 に対する CZOP の MIC は 0.78 μ g/ml であり、その抗菌活性は CFPM および CAZ よりも 2 倍、CPR よりも 4 倍強かった。

2. *S. aureus* と *P. aeruginosa* の混合肺感染モデルの作製

1) 接種菌量比の検討

S. aureus TY5312 および *P. aeruginosa* P9 の単独肺感染における virulence を調べたところ、それぞれマウス当たり 10^4 および 10^5 CFU 以上の菌の接種で致死感染が成立した (データは示していない)。そこで、*S. aureus* TY5312 の接種菌量をマウス当たり 10^4 または 10^5 CFU とし、それぞれについて様々な菌量の *P. aeruginosa* P9 を組み合わせて接種したときの菌接種 20 時間後の肺内生菌数を調べた (Fig. 1)。菌接種 20 時間後の肺内生菌数は *S. aureus* TY5312 と *P. aeruginosa* P9 をそれぞれマウス当たり 10^5 および 10^2 CFU 接種したときには両菌とも約 10^8 CFU となり、マウス当たり 10^4 および 10^5 CFU 接種したときには両菌とも約 10^7 CFU となった。すなわち、*S. aureus* TY5312 と *P. aeruginosa* P9 の接種菌量比が 1,000 : 1 の場合に菌接種 20 時間後の両菌の肺内生菌数は同程度となった。また、接種菌量において *P. aeruginosa*

Table 1. Susceptibility of *Staphylococcus aureus* TY5312 and *Pseudomonas aeruginosa* P9 to various β -lactam antibiotics

	MIC (μ g/ml) ^{a)}			
	cefazopran	cefepime	ceftazidime	ceftazidime
<i>S. aureus</i> TY5312	1.56	3.13	0.78	12.5
<i>P. aeruginosa</i> P9	0.78	1.56	3.13	1.56

^{a)} MICs were determined by the agar dilution method (medium, MHA: inoculum size, 10^4 CFU/spot).

P9 の割合が高くなると、混合感染時の *S. aureus* TY5312 の肺内生菌数とその単独感染時に比べて低くなる傾向にあった。

2) 肺内生菌数推移

S. aureus TY5312 および *P. aeruginosa* P9 をそれぞれ 10^4 および 10 CFU の組み合わせで接種したときの肺内生菌数推移を調べた (Fig. 2)。 *S. aureus* TY5312

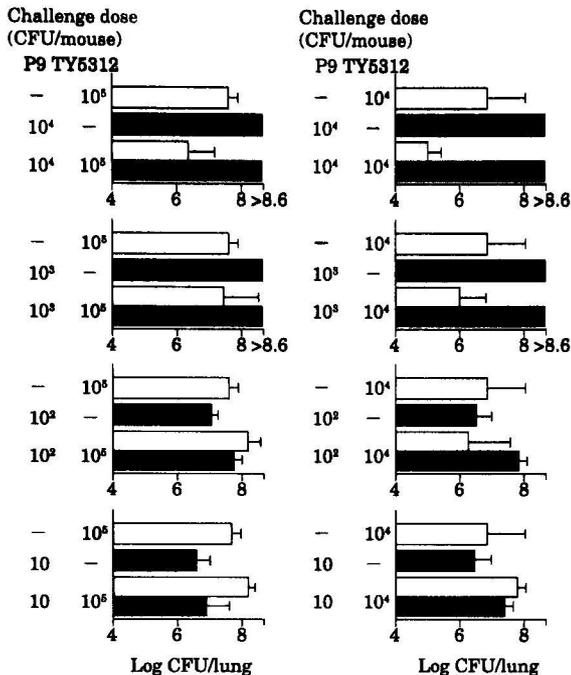


Fig. 1. Effect of challenge doses on experimental respiratory tract infection caused by *Staphylococcus aureus* TY5312 and *Pseudomonas aeruginosa* P9 in neutropenic mice. Bacterial counts in the lungs were made 20 h after infection. Data are expressed as means \pm standard deviation for four mice.

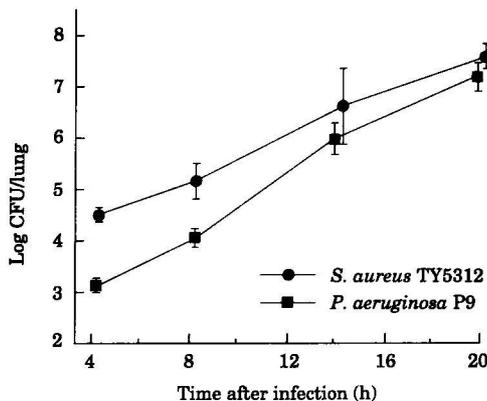


Fig. 2. Kinetics of bacterial counts in the lungs of mice with mixed respiratory tract infection caused by *Staphylococcus aureus* TY5312 and *Pseudomonas aeruginosa* P9 in neutropenic mice. Mice were inoculated intranasally with $40 \mu\text{l}$ of a bacterial suspension containing 1.6×10^4 CFU of *S. aureus* TY5312 and 3.3×10 CFU of *P. aeruginosa* P9. Each point represents the mean \pm standard deviation for four mice.

および *P. aeruginosa* P9 は肺内でもとに対数的に増殖し、菌接種 20 時間後の肺内生菌数はともに 10^7 CFU 以上に達したが、その増殖速度は *P. aeruginosa* P9 の方が明らかに速かった。また、*S. aureus* TY5312 および *P. aeruginosa* P9 をそれぞれ 10^5 および 10^2 CFU の組み合わせで接種した場合も各時点での肺内生菌数はともにさきの接種菌量の時と比べて 10 倍程度高いものの同様の肺内生菌数推移を示した (データは示していない)。

3) 走査電子顕微鏡による肺の観察

S. aureus TY5312 および *P. aeruginosa* P9 をそれぞれ 10^5 および 10^2 CFU の組み合わせで接種したときの菌接種 23 時間後の感染マウスの肺を走査電子顕微鏡により観察した。多くの場合、両菌が肺胞ごとに (Fig. 3A), または同一肺胞内でも棲み分けている像が観察された (Fig. 3B)。一部で同一肺胞内に両菌がともに入り交じって存在する様子も観察されたが、こうした像は全体的にみると少なかった。

3. *S. aureus* と *P. aeruginosa* の混合肺感染に対

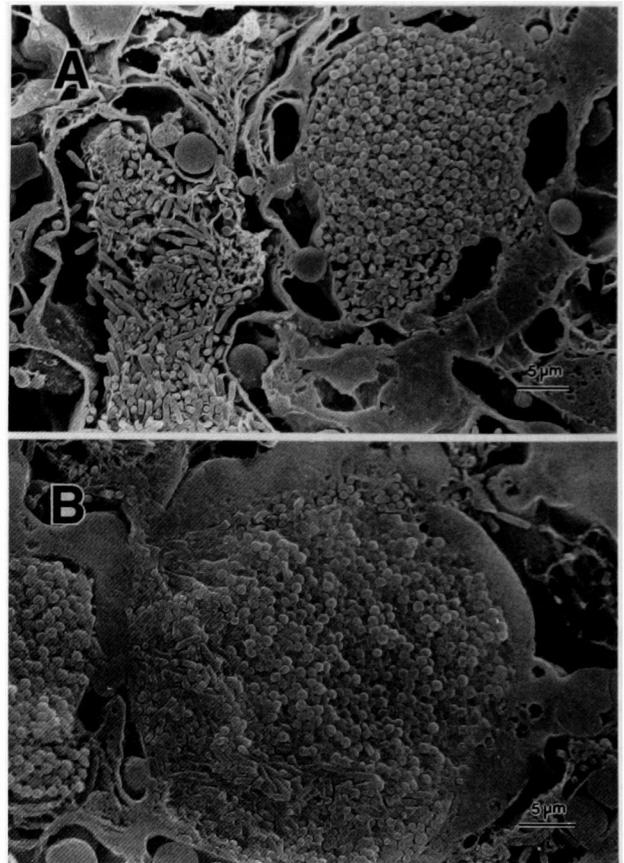


Fig. 3. Scanning electron micrographs of the lungs of mice 23 h after infection. Mice were inoculated intranasally with $40 \mu\text{l}$ of a bacterial suspension containing 1.1×10^5 CFU of *Staphylococcus aureus* TY5312 and 2.4×10^2 CFU of *Pseudomonas aeruginosa* P9. Most of the *S. aureus* TY5312 and *P. aeruginosa* P9 lived apart, in separate alveoli (A), and even in the same alveolar space (B).

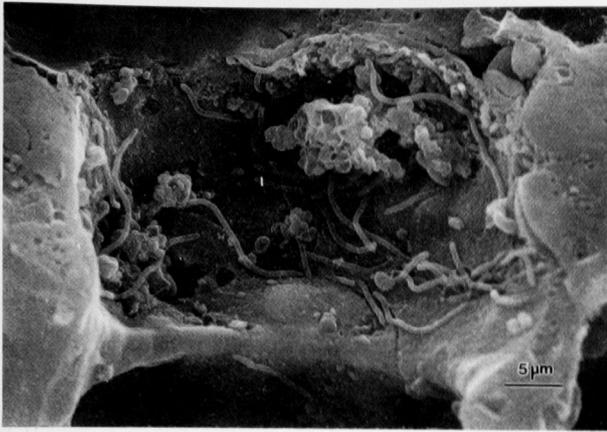


Fig. 4. Scanning electron micrograph of the lungs of mice after treatment with ceftazidime. Mice were inoculated intranasally with 40 μ l of a bacterial suspension containing 1.1×10^8 CFU of *Staphylococcus aureus* TY5312 and 2.4×10^8 CFU of *Pseudomonas aeruginosa* P9. Ceftazidime (80 mg/kg) was administered subcutaneously five times at 30-min intervals starting 20 h after infection. Samples were prepared 1 h after the final dose. Swelling of *S. aureus* TY5312, elongation of *P. aeruginosa* P9, and lysis of both organisms are observed.

する治療効果

1) 感染マウスにおける CZOP の殺菌効果

① 走査電子顕微鏡による形態学的検討

S. aureus TY5312 および *P. aeruginosa* P9 をそれぞれ 10^8 および 10^8 CFU の組み合わせで接種して 20 時間後から CZOP 80 mg/kg を 30 分間隔で 5 回投与したときの感染マウスの肺を走査電子顕微鏡により観察した (Fig. 4)。薬剤非投与群 (Fig. 3) に比べて両菌とも肺胞内の菌数は減少傾向にあった。形態学的には *S. aureus* TY5312 の膨大化および *P. aeruginosa* P9 の伸長化が観察され、さらに両菌とも溶菌へと移行する像が観察された。

② 肺内生菌数測定

S. aureus TY5312 および *P. aeruginosa* P9 をそれぞれ 10^8 および 10^8 CFU の組み合わせで接種して 14 および 16 時間後に CZOP 20 mg/kg を投与したときの肺内生菌数推移を調べた (Fig. 5)。初回および 2 度目の CZOP 投与 2 時間後の肺内生菌数は両菌とも薬剤非投与群と比べてそれぞれ 1/10 および 1/100 程度に減少した。

2) 感染マウスにおける治療効果

S. aureus TY5312 および *P. aeruginosa* P9 をそれぞれ 10^8 および 10^8 CFU の組み合わせで接種して 14 時間後から 30 分間隔で 4 回の投与を 1 クールとして 1 日 2 クール 2 日間投与したときの治療効果を菌接種 3 日後の生残マウス数をもとに調べた (Table 2)。薬剤非投与群は菌接種 2 日後には全例死亡した。各薬剤とも投与量依存性の治療効果を示したが、CZOP の SD_{50} は

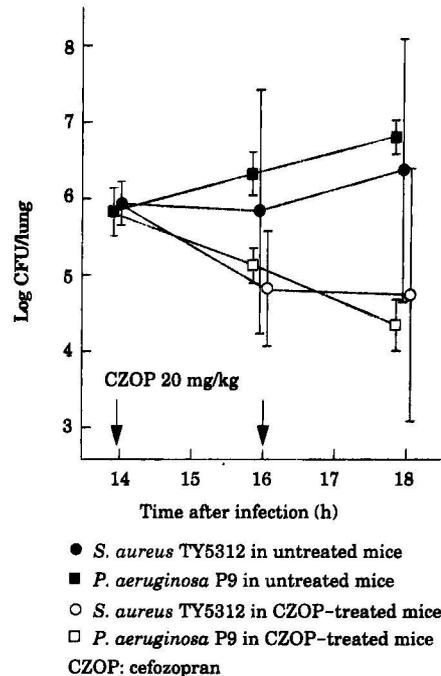


Fig. 5. Bacterial counts in the lungs of mice after subcutaneous administration of 20 mg/kg of ceftazidime 14 and 16 h after infection. Mice were inoculated intranasally with 40 μ l of a bacterial suspension containing 1.1×10^8 CFU of *Staphylococcus aureus* TY5312 and 1.9×10^8 CFU of *Pseudomonas aeruginosa* P9. The arrows indicate times of administration. Each point represents the mean \pm standard deviation for five mice.

3.11 mg/kg であり、その治療効果は CFPM (SD_{50} , 14.6 mg/kg) より 5 倍、CPR (SD_{50} , 21.9 mg/kg) および CAZ (SD_{50} , 20.2 mg/kg) より 7 倍優れていた。特に 6.25 mg/kg 投与群のマウス生残率で比較すると、CFPM, CPR, CAZ のマウス生残率がいずれも 10% 以下であったのに対し、CZOP のそれは 80% と有意に高かった (いずれも $P < 0.01$)。そこで、この治療効果に明確な差が認められた 6.25 mg/kg 投与群で 1 日 (2 クール) 投薬翌日の肺内生菌数を調べた (Fig. 6)。薬剤非投与群の *S. aureus* TY5312 の肺内生菌数が平均 2.3×10^8 CFU/肺であったのに対し、CZOP 投与群のそれは平均 4.2×10^4 CFU/肺であり、約 4 オーダー減少した。CFPM および CPR 投与群の肺内生菌数もそれぞれ平均 3.0×10^8 CFU/肺および 1.7×10^8 CFU/肺まで減少し、CZOP 投与群との間に有意な差は認められなかった。しかしながら、CAZ 投与群の肺内生菌数は平均 2.8×10^8 CFU/肺と薬剤非投与群と同程度であり、CZOP 投与群より有意に高かった ($P < 0.05$)。一方、薬剤非投与群の *P. aeruginosa* P9 の肺内生菌数は平均 1.1×10^{10} CFU/肺であったのに対し、CZOP 投与群のそれは平均 2.6×10^7 CFU/肺と約 3 オーダー減少した。しかしながら、CFPM, CPR, CAZ 投与群の肺内生菌数はそれぞれ平均 4.6×10^8 CFU/肺, 8.3×10^8 CFU/肺,

Table 2. Therapeutic effect of ceftazidime and reference compounds on experimental mixed respiratory tract infection caused by *Staphylococcus aureus* TY5312 and *Pseudomonas aeruginosa* P9 in neutropenic mice^{a)}

Drug ^{b)}	Dose (mg/kg) ^{c)}	Survival rate ^{d)}	SD ₅₀ (mg/kg) ^{e)}
None		0 of 10	
Cefozopran	0.39	0 of 5	
	1.56	2 of 10	
	6.25	8 of 10	3.11 (1.68-5.56)
	25	10 of 10	
	100	5 of 5	
Cefepime	1.56	1 of 10	
	6.25	1 of 10	14.6 (7.37-38.7)
	25	7 of 10	
	100	4 of 4	
Cefpirome	6.25	1 of 10	
	25	5 of 10	21.9 (11.8-53.4)
	100	5 of 5	
Ceftazidime	6.25	0 of 10	
	25	9 of 10	20.2 (NC ^{f)})
	100	5 of 5	

^{a)} Five-week-old CBA/J female mice were intraperitoneally injected with 200 mg/kg of cyclophosphamide on day 4 before infection. Mice were inoculated intranasally with 40 μ l of a bacterial suspension containing 10⁶ CFU of *S. aureus* TY5312 and 10 CFU of *P. aeruginosa* P9.

^{b)} Drug administration was performed twice daily for 2 days starting 14 h after infection. Each administration consisted of four subcutaneous injections at 30-min intervals.

^{c)} Doses are expressed as amount of drug per injection.

^{d)} Survival rate on day 3 after infection.

^{e)} SD₅₀ values were calculated by the probit method. Values in parentheses indicate the 95% confidence limit.

^{f)} Not calculated.

7.4×10⁶ CFU/肺と CZOP 投与群の肺内生菌数より高く, CPR および CAZ 投与群において CZOP 投与群との間に有意な差が認められた (いずれも P<0.05)。

III. 考 察

Compromised host において臨床上頻繁に起こる複数菌感染症を想定し, 好中球減少マウスを用いて *S. aureus* と *P. aeruginosa* による混合肺感染モデルの作製を試みた。感染モデル作製に際して両菌の接種菌量比を検討したところ, *S. aureus* TY5312 と *P. aeruginosa* P9 をそれぞれ 10⁵ と 10³ CFU または 10⁴ と 10 CFU の組み合わせ, すなわち接種菌量比 1,000:1 で接種すると 20 時間後の肺内生菌数がそれぞれ 10⁶, 10⁷ CFU と同程度になる混合肺感染が成立した。*S. aureus* TY5312 と *P. aeruginosa* P9 の接種菌量比が 10:1 や 1:1 の場合, *S. aureus* TY5312 の混合感染時の肺内生菌数は単独感染時の 1/10 以下と低く, 接種菌液中の *P. aeruginosa* P9 の割合が高くなるにつれて *S. aureus* TY5312 の増殖は抑制された。*P. aeruginosa* が産生する pyocyanin などの色素¹¹⁾ や非色素性低分子物質の 2-heptyl-4-hydroxy quinoline N-oxide¹²⁾, protease の 1 つである LasA¹³⁾ は *S. aureus* の増殖抑

制作用を有することが報告されており, 臨床的に *S. aureus* の感染で *P. aeruginosa* への菌交代症への移行がたびたびみられる原因とも考えられている。したがって, 今回の実験においても接種菌液中の *P. aeruginosa* P9 の割合が高くなると, *P. aeruginosa* P9 が産生する *S. aureus* 増殖抑制物質が増え, *S. aureus* TY5312 の増殖が抑制された可能性がある。また, *S. aureus* TY5312 と *P. aeruginosa* P9 をそれぞれ 10⁶ と 10² CFU の組み合わせで接種して 23 時間後の肺を電子顕微鏡により観察すると, 両菌が同一肺胞内で入り交じって存在する像は全体的に少なく, 肺胞ごとに, あるいは同一肺胞内でも棲み分けている像が多数観察された。このことは *S. aureus* TY5312 が優勢な場所では逆に *P. aeruginosa* P9 の増殖を阻害している可能性を示唆しており興味深い。こうした結果は *S. aureus* と *P. aeruginosa* の混合肺感染の病態を理解するうえで重要な知見であるといえる。

電子顕微鏡による形態観察においては大量の菌の存在が必要なために両菌の肺内生菌数が 10⁶ CFU に達する *S. aureus* TY5312 の 10⁶ CFU と *P. aeruginosa* P9 の 10² CFU の接種方法を用いた。この場合, CZOP

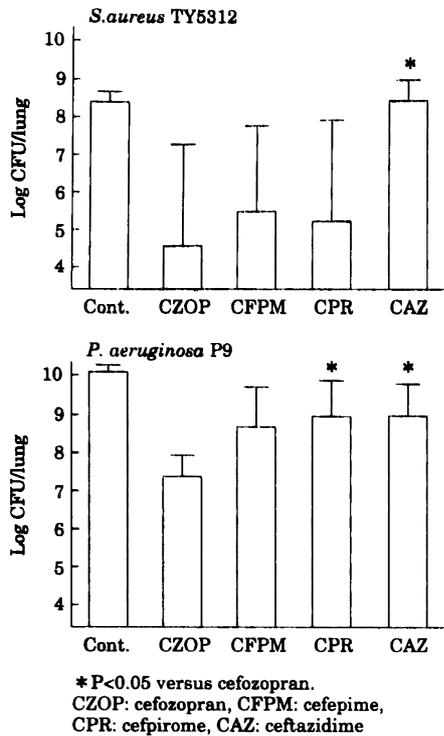


Fig. 6. Effect of ceftazopran, cefepime, cefpirome, and ceftazidime on bacterial counts in the lungs of neutropenic mice with mixed respiratory tract infection caused by *Staphylococcus aureus* TY5312 and *Pseudomonas aeruginosa* P9. Mice were inoculated intranasally with 40 μ l of a bacterial suspension containing 2.8×10^4 CFU of *S. aureus* TY5312 and 1.7×10^4 CFU of *P. aeruginosa* P9. Doses of 6.25 mg/kg were administered subcutaneously 14 and 22 h after infection. The dosage regimen consisted of four injections at 30-min intervals. Bacterial counts in the lungs were made 16 h after the final dose. Data are expressed as means \pm standard deviation for five mice.

80 mg/kg の投与により肺胞内で両菌の溶菌像が観察された。一方、*S. aureus* TY5312 の 10^4 CFU および *P. aeruginosa* P9 の 10 CFU の低菌量接種の感染を用いて肺内生菌数におよぼす CZOP の影響を調べたところ、人の常用量に相当する 20 mg/kg の投与により両菌の肺内生菌数の明瞭な減少が認められた。これらの結果から、CZOP は肺内においても *S. aureus* と *P. aeruginosa* の両方に同時に殺菌的に作用することが明らかとなった。

この *S. aureus* TY5312 と *P. aeruginosa* P9 の混合肺感染モデルを用いて CZOP の治療効果を CFPM, CPR, CAZ を対照薬剤として調べた。投薬は肺全体に充血、気管支周囲に赤変が認められる菌接種 14 時間後から開始した。なお、いずれの薬剤もマウスにおいてきわめて類似した体内動態を示すが、ヒトに投与された時に比べて血中半減期が短く、速やかに消失することが知られている^{14,15)}。したがって、本モデルにおいては 1 回の投薬での血中薬剤濃度をある程度維持させる

ために、30 分間隔での 4 回投与を 1 クールとして投薬を行った。その結果、CZOP の SD_{50} 値はいずれの対照薬剤よりも 5~7 倍低く、CZOP は対照薬剤よりも優れた治療効果を示した。特に 6.25 mg/kg 投与群でのマウス生残率を比較すると、CZOP 投与群のマウス生残率はいずれの対照薬剤投与群よりも有意に高かった。そこで、この治療効果に明確に差が認められた 6.25 mg/kg 投与群で 1 日 (2 クール) 投薬翌日の *S. aureus* TY5312 および *P. aeruginosa* P9 の肺内生菌数を調べたところ、CZOP と対照薬剤投与群では両菌に対する抗菌活性をある程度反映した肺内生菌数の差がみられ、CZOP の両菌に対するバランスのとれた強い抗菌活性が治療効果に反映されたと考えられた。特に *P. aeruginosa* P9 の肺内生菌数において CZOP と対照薬剤投与群の差がより明瞭であり、6.25 mg/kg 投与での治療効果の差には *P. aeruginosa* P9 に対する抗菌活性の差が大きく影響していると考えられた。このことは両菌とも好中球減少マウスの肺内では対数的に増殖するものの、*P. aeruginosa* P9 の方が明らかに増殖速度が速いため、マウスの死亡には *P. aeruginosa* P9 の増殖が大きく寄与していることを示唆している。

以上、好中球減少マウスを用いて作製した *S. aureus* と *P. aeruginosa* の混合肺感染に対して CZOP がバランスのとれた強い抗菌活性を反映して有効に働くことを明らかにした。CZOP は臨床での免疫能が低下した患者における *S. aureus* と *P. aeruginosa* の混合感染に対する治療および単独感染の治療時における菌交代症の予防において高い効果が期待できる。

文 献

- 1) 副島林造, 二木芳人, 中川義久: グラム陽性菌感染症。日本臨床 45: 520~525, 1987
- 2) 佐藤篤彦, 岡野昌彦: 臨床病態からみた過去 5 年間の肺炎症例における起炎菌の変遷。感染症誌 66: 1276~1282, 1992
- 3) 林 泉: 院内感染としての呼吸器感染症。医学のあゆみ 172: 46~51, 1995
- 4) 戸塚恭一: 薬剤側要因。日本臨床 52: 339~343, 1994
- 5) 永武 毅: 呼吸器科。化学療法の領域 11: 1921~1927, 1995
- 6) Nakao M, Noji Y, Iwahi T, Yamazaki T: Antibacterial properties of SCE-2787, a new cephem antibiotic. J Antimicrob Chemother 29: 509~518, 1992
- 7) Iwahi T, Okonogi K, Yamazaki T, Shiki S, Kondo M, Miyake A, Imada A: In vitro and in vivo activities of SCE-2787, a new parenteral cephalosporin with a broad antibacterial spectrum. Antimicrob Agents Chemother 36: 1358~1366, 1992
- 8) 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
- 9) Nakao M, Kondo M, Imada A, Tsuchiya K: An electron microscopic study of pathogenesis of urinary tract infection caused by *Pseudomonas aerugi-*

- nosa* P9 in mice. Zbl Bakt Hyg 260: 369~378, 1985
- 10) Litchfield J T Jr., Wilcoxon F: A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J Pharmacol Exp Ther 96: 99~113, 1949
 - 11) Hassan H M, Fridovich I: Mechanism of the antibiotic action of pyocyanine. J Bacteriol 141: 156~163, 1980
 - 12) Machan Z A, Taylor G W, Pitt T L, Cole P J, Wilson R: 2-Heptyl-4-hydroxyquinoline N-oxide, an antistaphylococcal agent produced by *Pseudomonas aeruginosa*. J Antimicrob Chemother 30: 615~623, 1992
 - 13) Kessler E, Safrin M, Olson J C, Ohman D E: Secreted LasA of *Pseudomonas aeruginosa* is a staphylolytic protease. J Biol Chem 268: 7503~7508, 1993
 - 14) Kita Y, Yamazaki T, Imada A: Comparative pharmacokinetics of SCE-2787 and related antibiotics in experimental animals. Antimicrob Agents Chemother 36: 2481~2486, 1992
 - 15) Kessler R E, Bies M, Buck R E, Chisholm D R, Pursiano T A, Tsai Y H, Misiak M, Price K E, Leitner F: Comparison of a new cephalosporin, BMY 28142, with other broad-spectrum β -lactam antibiotics. Antimicrob Agents Chemother 27: 207~216, 1985

Therapeutic effect of cefozopran in neutropenic mice with experimental mixed respiratory tract infection caused by *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*

Katsunori Takashima, Yuji Iizawa and Masafumi Nakao

Pharmaceutical Research Laboratories III, Takeda Chemical Industries, Ltd.,
2-17-85, Jusohonmachi, Yodogawa-ku, Osaka 532, Japan

Experimental mixed respiratory tract infection with *Staphylococcus aureus* TY5312 and *Pseudomonas aeruginosa* P9 was induced in neutropenic mice by intranasal instillation of a bacterial suspension containing 10^4 CFU and 10 CFU of *S. aureus* TY5312 and *P. aeruginosa* P9. Both infecting organisms grew logarithmically in the lungs, and the bacterial counts reached 10^7 CFU per lung by 20 h after inoculation. Electron microscopic examination of the lungs of the infected mice revealed that *S. aureus* TY5312 and *P. aeruginosa* P9 lived apart, in separate alveoli, and even in the same alveolar space. The bactericidal effect of cefozopran (CZOP) on *S. aureus* TY5312 and *P. aeruginosa* P9 in the lungs was then assessed. Administration of CZOP clearly reduced the bacterial counts of *S. aureus* TY5312 and *P. aeruginosa* P9 in the lungs when compared with untreated mice. Morphological examination with an electron microscope revealed swelling of *S. aureus* TY5312, elongation of *P. aeruginosa* P9, and lysis of both organisms after treatment with CZOP. The therapeutic effect of CZOP was compared with that of cefepime (CFPM), cefpirome (CPR), and ceftazidime (CAZ) on the basis of survival rate on day 3 after infection. The 50% survival dose of CZOP was 3.11 mg/kg body weight, and lower than that of CFPM, CPR, and CAZ (15-22 mg/kg). These findings suggest that CZOP is useful in treating mixed respiratory tract infection caused by *S. aureus* and *P. aeruginosa* in a compromised host.