

【原著・基礎】

Streptococcus pneumoniae と *Haemophilus influenzae* の混合培養系における cefoselis の抗菌力

松本 佳巳・塩川 晶子・若井 芳美・波多野和男・池田 文昭

藤沢薬品工業株式会社薬理研究所*

(平成 12 年 3 月 21 日受付・平成 12 年 4 月 10 日受理)

近年日本国内においても増加傾向にあるペニシリン耐性 *Streptococcus pneumoniae* (PRSP) と β -lactamase 非産生アンピシリン耐性 *Haemophilus influenzae* (BLNAR) による複数菌感染に対する cefoselis (CFSL) の有用性を評価するため、両菌種の臨床分離株に対する *in vitro* および *in vivo* 抗菌力を検討し以下の成績を得た。

1. CFSL は PRSP および BLNAR に MIC₉₀: 2 μ g/mL と優れた抗菌力を示し、PRSP を含む *S. pneumoniae* および BLNAR を含む *H. influenzae* に対する活性は、cefazopran (CZOP) より 4~8 倍優れた。

2. CFSL は MIC 以上の濃度において混合培養した PRSP および BLNAR を著明に殺菌し、CZOP より低濃度で優れた殺菌性を示した。また、血清中濃度の 10% が移行すると仮定して求めた喀痰中濃度のシミュレーション系においても混在する両菌を CZOP および imipenem/cilastatin (IPM/CS) より効果的に殺菌した。

3. PRSP および BLNAR によるマウス呼吸器複数菌感染系において CFSL は 20 mg/kg の投与量で肺内菌数を有意に減少させ、CZOP, ceftazidime (CAZ) および flomoxef (FMOX) より優れた治療効果を示した。さらに、ヒトの血漿中濃度推移をマウスに再現した *in vivo* pharmacokinetic model による検討で CFSL は 0.5 g ヒト相当量で顕著な肺内菌数減少効果を示し、IPM/CS と比較しても優れる傾向を示した。

ペニシリン結合蛋白の変異によるこれらの耐性菌にも CFSL は優れた活性を示し両菌の複数菌感染の頻度が高い呼吸器感染症における CFSL の有用性が示唆された。

Key words: cefoselis, PRSP, BLNAR-*Haemophilus influenzae*, 複数菌感染

Haemophilus influenzae および *Streptococcus pneumoniae* は市中の呼吸器感染症の主要起因菌であるが、近年、国内におけるペニシリン耐性 *S. pneumoniae* (PRSP) の顕著な増加傾向¹⁻⁴⁾に加え、 β -lactamase 非産生の ABPC 耐性 *H. influenzae* (BLNAR) の増加も問題となっている⁵⁻⁸⁾。これらは β -lactam 系薬の作用点であるペニシリン結合蛋白 (PBPs) が変異することにより耐性化していることが明らかにされている⁹⁻¹³⁾が、ペニシリン系薬だけでなく各種のセファロsporin 系薬およびカルバペネム系薬にも耐性化することが知られている^{1,2,6,7)}。また、両菌は複数菌感染として検出されることも多く^{14,15)}、経口抗菌薬では治療に難渋するケースが増えており^{3,6)}、注射薬の投与を必要とする症例も多い。

Cefoselis (CFSL) は PRSP を含む *S. pneumoniae* および BLNAR を含む *H. influenzae* に優れた抗菌力を示すことから^{16,17)}両菌の複数菌感染に対する有用性が期待される。そこで PRSP と BLNAR による *in vitro* および *in vivo* 複数菌感染モデルを作製し、cefoselis の治療効果を検討した。

I. 材料と方法

1. 使用菌株

S. pneumoniae は、1995 年および 1997 年の臨床分離株をそれぞれ 4 株および 95 株用い、NCCLS の基準に従い PSSP (penicillin-sensitive *S. pneumoniae*: PCG MIC < 0.125 μ g/mL) 44 株、PISP (penicillin-intermediately resistant *S. pneumoniae*: 0.125 \leq PCG MIC \leq 1 μ g/mL) 25 株、PRSP (PCG MIC \geq 2 μ g/mL) 30 株に分類した。*H. influenzae* は、1996~1999 年の分離株 50 株を使用した。また、BLNAR として 1996~1999 年に分離された ABPC の MIC が \geq 2 μ g/mL で β -lactamase を産生しない⁵⁾ *H. influenzae* 21 株を用いた。

2. 使用薬剤

CFSL および penicillin G (PCG) は原末 (藤沢薬品工業株式会社) を用いた。Cefazopran (CZOP, 武田薬品工業株式会社), ceftazidime (CAZ, 日本グラクソ株式会社), flomoxef (FMOX, 塩野義製薬株式会社), imipenem/cilastatin (IPM/CS, 萬有製薬株式会社), aztreonam (AZT, エーザイ株式会社), vancomycin (VCM, 塩野義製薬株式会社) は市販のものを用いた。

*大阪府大阪市淀川区加島 2-1-6

3. 実験動物

ICR系SPFマウス(雄, 4週齢, 入荷時体重17~19g, 日本エスエルシー)は, 十分な予備飼育の後実験に供した。実験動物の飼育および使用に関しては, 日本国が定める「動物の保護および管理に関する法律」および「実験動物の飼育および保管等に関する基準」を遵守した。

4. 薬剤感受性測定

日本化学療法学会標準法¹⁸⁾に準じ, 寒天平板希釈法により測定した。すなわち*S. pneumoniae*および*H. influenzae*の前培養および測定培地としてMueller-Hinton agar (MHA, Difco)を基礎培地とし, *S. pneumoniae*には5%馬脱纖血(日本生物材料センター)を添加した血液寒天培地を, *H. influenzae*には5%馬脱纖血を添加したチョコレート寒天培地を用いた。*S. pneumoniae*は5~6時間, *H. influenzae*は20時間前述したそれぞれの寒天平板培地にて37℃, 5%炭酸ガス下で前培養し, Mueller-Hinton broth (MHB, Difco)にMcFarland No. 0.5~1の濁度に懸濁した。これをMHBで100倍希釈した菌液をマルチポイントイノキュレーター(佐久間製作所)を用いて2倍希釈系列の薬剤含有プレートに接種し(10^8 ~ 10^2 cfu/spot), 18時間37℃, 5%炭酸ガス培養後に発育の有無を判定した。

5. 混合培養菌に対する一定濃度作用時の殺菌性

S. pneumoniae No.15047 (PRSP)および*H. influenzae* No.17005 (BLNAR)を混合培養し, 一定濃度(0.5, 1, 2 μg/mL)の抗菌薬を作用させて殺菌性を検討した。測定培地としてMHBに5%馬血清 (IRVINE SCIENTIFIC)およびNAD (SIGMA)とhemin (SIGMA)をそれぞれ10 μg/mL添加したものをを用いた。前述の寒天平板に37℃, 5%炭酸ガス下16時間培養しMHBに0.5~1 McFarland standardの濁度に懸濁した菌液を*S. pneumoniae*は10%, *H. influenzae*は1%測定培地に接種した。37℃, 5%炭酸ガス下で1時間静置培養した後, 菌液と10倍濃度の薬液を9:1に混合し, さらに37℃, 5%炭酸ガス下で静置培養した。この培養液から経時的にサンプリングした菌液はMHBで段階希釈し0.1 mLずつを各選択培地にコンラージし, 20時間培養後に発育したコロニー数から生菌数を算出した。*S. pneumoniae*の選択培地として5%馬血清およびAZT 1 μg/mLを添加したMHA, *H. influenzae*の選択培地としてNADとheminをそれぞれ10 μg/mLおよびVCM 1 μg/mLを添加したMHAを用いた。

殺菌性測定に用いた同じ液体培地を用い, microdilution法を用いて同様の接種菌量および培養条件にて18時間培養後に被検薬の被検菌株に対するMICを測定し, 参考とした。

6. 混合培養菌に対する喀痰中濃度のシミュレーション系を用いた殺菌効果

CFSLおよびCZOPの1g, IPM/CSの0.5gを単回点滴静注した時のヒト血清中濃度変化からその1/10が移行すると仮定して求めた喀痰中濃度推移をオートシミュレーター (PASS-400, 大日本精機)を用いて液体培地中に再現する*in vitro*の評価系を用い, 寒天ブロックに混合して包埋した*S. pneumoniae* No.15047と*H. influenzae* No.17005にCFSL, CZOPおよびIPM/CSを作用(0~8時間)させ, 殺菌効果を比較検討した。測定培地は, 上記5.と同じものを用いた。血中濃度推移は文献値^{19~21)}を参照した。寒天平板で培養した*S. pneumoniae*および*H. influenzae*はMHBにそれぞれMcFarland No.1の濁度に懸濁し, 固化しない程度に暖めたMHAに*S. pneumoniae*は10%, *H. influenzae*は1%接種し, 96 wellプレートに200 μLずつ分注して寒天ブロックを作製した。寒天ブロックは測定培地中で37℃, 1時間培養した後, 薬剤を作用させた。薬剤作用2, 4, 6, 8時間後にそれぞれ2個の寒天ブロックを取り出し, 4.6 mLの生理食塩水でホモジナイズ後, MHBで適宜希釈し, 上記5.と同様に生菌数を測定した。

7. 複数菌感染防御実験

PRSPとBLNARによるマウス呼吸器複数菌感染モデルを用いた。血液寒天培地で培養した*S. pneumoniae* No.15047は5%馬血清含有Brain heart infusion broth (BHIB, Difco) 5 mLに1白金耳接種し, 5%炭酸ガス下37℃で18時間培養し, 新たな培地に2%接種し, 5時間振盪培養後6,000 rpm, 20分の遠心にて集菌し, BHIBを加え所定の濁度に調整した。*H. influenzae* No.17005は5%FILDES EXTRACT (OXOID)含有チョコレート寒天培地で培養後, BHIBに懸濁し所定の濁度に調整した。1群5匹のマウスに感染4日前と1日前にcyclophosphamide (塩野義製薬株式会社)を200 mg/kg腹腔内投与することにより顆粒球減少マウスを作製し, *S. pneumoniae* No. 15047と*H. influenzae* No.17005の混合菌液を経鼻接種して呼吸器複数菌感染モデルを作製した。被検薬は5, 20および80 mg/kgを感染後3, 18および26時間後に計3回皮下投与した。感染2日後にマウスの肺を摘出し, ホモジネート後両菌の生菌数を測定した。*S. pneumoniae*の選択にはBrain heart infusion agar (BHIA, Difco)に5%馬血清およびAZT 1 μg/mLを添加した培地による混釈法を, *H. influenzae*の選択にはVCM 1 μg/mLを添加した5%FILDES EXTRACT含有チョコレート寒天培地によるコンラージ法を用いた。37℃, 5%炭酸ガス下, 20時間培養後, 発育したコロニー数から生菌数を算出した。

ヒトの血漿中濃度推移をマウスに再現する*in vivo* pharmacokinetic model (PKモデル)²²⁾を用いた呼吸器複数菌感染に対する効果は, cyclophosphamideを前投

与したマウスに菌接種 16 時間後から 0.5 ないし 1 時間ごとに 9 ないし 12 回皮下投与することによりそれぞれの抗菌薬を 1 g あるいは 0.5 g (IPM/CS は 0.5 g と 0.25 g) 投与したときのヒト血中濃度推移に近似した濃度変化を再現し、薬剤投与 24 時間後に前述した方法によりマウス肺中の *S. pneumoniae* および *H. influenzae* の生菌数を測定し比較した。

統計的解析は生菌数の対数値間で ANOVA および Tukey-Kramer の多重比較による有意差検定を行った。

II. 結 果

1. *S. pneumoniae* および *H. influenzae* に対する抗菌力

S. pneumoniae 99 株および *H. influenzae* 71 株に対する CFSL の抗菌力を他剤と比較した (Tables 1, 2)。

S. pneumoniae 99 株に対する CFSL の抗菌力は MIC₉₀ が 1 μg/mL で、IPM/CS の MIC₉₀ 0.25 μg/mL には劣ったものの、CZOP (2 μg/mL), CAZ (16 μg/mL) および FMOX (8 μg/mL) より優れた。PRSP に対しても CFSL は MIC₉₀ が 2 μg/mL と十分な抗菌力を

維持しており、IPM/CS にはおよばないものの MIC₉₀ で CZOP より 4 倍優れ、CAZ より 16 倍、FMOX より 8 倍優れた。

BLNAR を除く *H. influenzae* 50 株に対する CFSL の抗菌力は MIC₉₀ が 0.25 μg/mL で、CAZ と同等、CZOP, FMOX および IPM/CS より優れた。また、BLNAR 21 株に対する CFSL の抗菌力は MIC₉₀ が 2 μg/mL で CAZ には劣ったものの、CZOP より 8 倍、FMOX より 8 倍、IPM/CS より 16 倍優れた。

2. PRSP と BLNAR の混合培養系における一定濃度作用時の殺菌性 (Fig. 1)

S. pneumoniae No. 15047 (PRSP) および *H. influenzae* No. 17005 (BLNAR) 混合培養系での CFSL の殺菌性を 0.5, 1, 2 μg/mL の作用濃度で CZOP および IPM/CS と比較した。CFSL は優れた MIC を反映し、0.5, 1 μg/mL といった低濃度においても混合培養した両菌を著明に殺菌し、両耐性菌に抗菌力が弱い CZOP よりも明らかに優れた殺菌性を示した。IPM/CS との比較では、PRSP には 0.5 μg/mL での殺菌効果で劣ったものの BLNAR には IPM/CS の 0.5 μg/mL で 8 時間

Table 1. Antibacterial activity of cefoselis against clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*

Organism	Antibiotic	MIC (μg/mL)		
		distribution	MIC ₉₀	MIC ₉₅
<i>S. pneumoniae</i> (PSSP) n = 44	cefoselis	0.0078 ~ 0.5	0.0313	0.125
	cefazopran	0.0156 ~ 1	0.0625	0.25
	ceftazidime	0.0625 ~ 8	0.25	2
	flomoxef	0.0625 ~ 0.25	0.125	0.25
	imipenem/cilastatin	≤0.0039 ~ 0.778	0.0078	0.0078
	penicillin G	0.0078 ~ 0.0625	0.0313	0.0625
<i>S. pneumoniae</i> (PISP) n = 25	cefoselis	0.0625 ~ 2	0.5	0.5
	cefazopran	0.125 ~ 2	1	2
	ceftazidime	0.5 ~ 16	8	8
	flomoxef	0.5 ~ 16	2	4
	imipenem/cilastatin	0.0313 ~ 2	0.125	0.25
	penicillin G	0.25 ~ 1	1	1
<i>S. pneumoniae</i> (PRSP) n = 30	cefoselis	0.5 ~ 4	1	2
	cefazopran	1 ~ 16	2	8
	ceftazidime	8 ~ 128	16	32
	flomoxef	2 ~ 16	4	16
	imipenem/cilastatin	0.125 ~ 1	0.25	0.5
	penicillin G	2 ~ 8	2	4
<i>S. pneumoniae</i> (PSSP) n = 99	cefoselis	0.0078 ~ 4	0.5	1
	cefazopran	0.0156 ~ 16	1	2
	ceftazidime	0.0625 ~ 128	8	16
	flomoxef	0.0625 ~ 16	1	8
	imipenem/cilastatin	≤0.0039 ~ 2	0.0625	0.25
	penicillin G	0.0078 ~ 8	0.5	4

MICs were determined by serial twofold dilutions of the agents in Mueller-Hinton agar supplemented with 5% defibrinated horse blood after 18 hours incubation at 37°C in 5% CO₂.

PSSP: penicillin-sensitive *S. pneumoniae*

PISP: penicillin-intermediate resistant *S. pneumoniae*

PRSP: penicillin-resistant *S. pneumoniae*

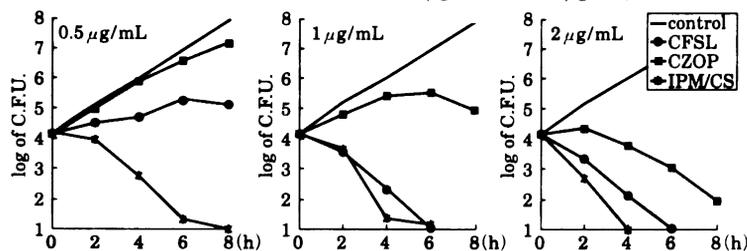
Table 2. Antibacterial activity of cefoselis against clinical isolates of *Haemophilus influenzae*

Organism	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/mL}$)		
		distribution	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>H. influenzae</i> n = 50 (except BLNAR)	cefoselis	0.0313 ~ 0.5	0.625	0.25
	cefazopran	0.0625 ~ 4	0.25	1
	ceftazidime	0.0313 ~ 0.5	0.125	0.25
	flomoxef	0.5 ~ 16	1	4
	imipenem/cilastatin	0.25 ~ 32	2	8
	ampicillin	0.25 ~ 64	0.5	8
<i>H. influenzae</i> (BLNAR) n = 21	cefoselis	0.125 ~ 4	0.5	2
	cefazopran	0.5 ~ 32	2	16
	ceftazidime	0.125 ~ 1	0.25	0.5
	flomoxef	2 ~ 32	8	16
	imipenem/cilastatin	1 ~ 32	8	32
	ampicillin	2 ~ 16	2	8

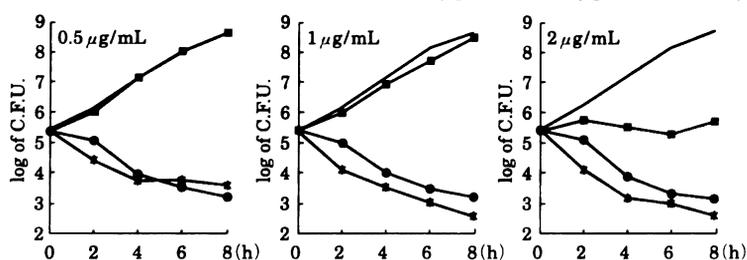
MICs were determined by serial twofold dilutions of the agents in Mueller-Hinton agar supplemented with 5% defibrinated horse blood (chocolate agar) after 18 hours incubation at 37 °C in 5% CO₂.

BLNAR: β -lactamase-negative ampicillin resistant

S. pneumoniae No. 15047 (MIC in broth: CFSL 1 $\mu\text{g/mL}$, CZOP 2 $\mu\text{g/mL}$, IPM/CS 0.25 $\mu\text{g/mL}$)



H. influenzae No. 17005 (MIC in broth: CFSL 0.5 $\mu\text{g/mL}$, CZOP 4 $\mu\text{g/mL}$, IPM/CS 1 $\mu\text{g/mL}$)



CFSL: cefoselis, CZOP: cefazopran, IPM/CS: imipenem/cilastatin

Fig. 1. Bactericidal activity of cefoselis, cefazopran and imipenem/cilastatin against mixed culture of *Streptococcus pneumoniae* No.15047 and *Haemophilus influenzae* No.17005.

以降殺菌力の減弱が認められたのに対し CFSL では 24 時間まで殺菌的に作用した (Data not shown)。

用いた BLNAR に対する CFSL および CZOP の MIC は測定法により変わらなかったが IPM/CS の MIC は寒天平板法で 16 $\mu\text{g/mL}$ 、液体培地希釈法で 1 $\mu\text{g/mL}$ と大きな差が見られた。この系での殺菌性においては液体培地での MIC を反映した結果が得られたことから Fig. 1 には液体培地希釈法による MIC を参考として示した。

3. ヒト喀痰中濃度シミュレーション系を用いた混

合培養系での殺菌効果 (Fig. 2)

PRSP と BLNAR の複数菌感染に対する CFSL の臨床効果を推定するために、ヒト喀痰中濃度シミュレーション系における PRSP および BLNAR の混合培養菌に対する殺菌性を検討した。CFSL 1 g, CZOP 1 g および IPM/CS 0.5 g 点滴静注時のヒト血清中濃度の 1/10 が移行すると仮定して求めた喀痰中濃度推移を再現することにより CFSL は両菌に対して優れた殺菌性を示したが、CZOP および IPM/CS では 4 時間以降両菌の再増殖が認められた。

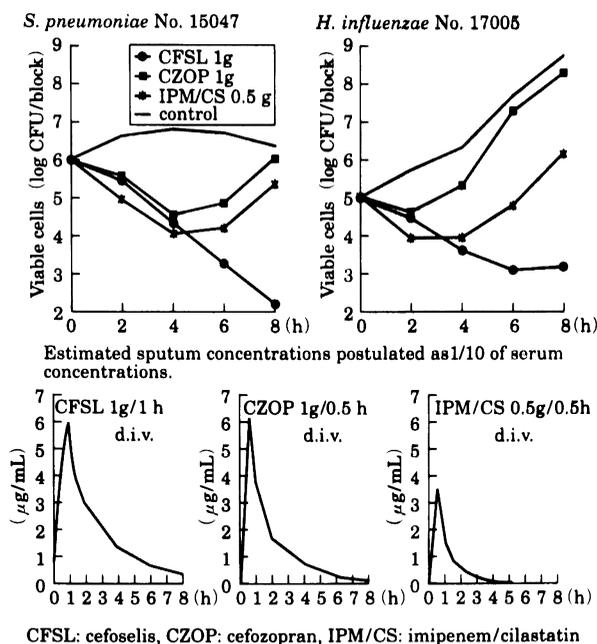
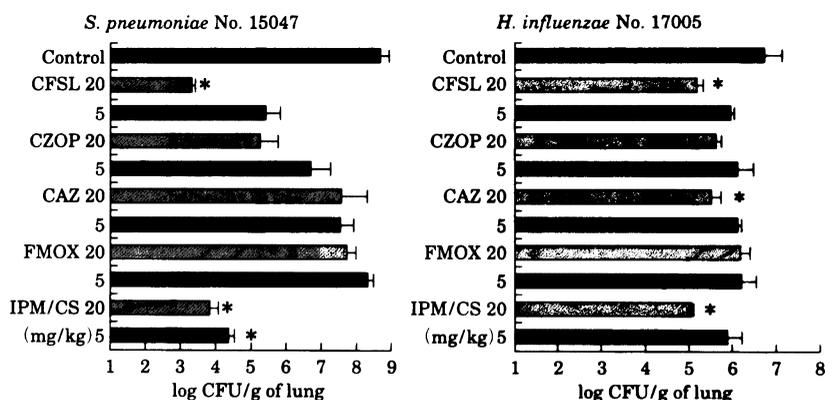


Fig. 2. Bactericidal activity of cefoselis, ceftazidime and imipenem/cilastatin against mixed culture of *Streptococcus pneumoniae* No.15047 and *Haemophilus influenzae* No.17005 in an *in vitro* pharmacokinetic model simulating human sputum concentrations.



CFSL: cefoselis, CZOP: ceftazidime, CAZ: ceftazidime, FMOX: flomoxef, IPM/CS: imipenem/cilastatin

Mice: ICR, male, 4 weeks old, 5/group, 200 mg/kg of cyclophosphamide was intraperitoneally administered 1 and 4 days before infection.

Infection: *S. pneumoniae* No.15047 (1.4×10^6 CFU/mouse) and *H. influenzae* No.17005 (2.0×10^8 CFU/mouse) were intranasally inoculated.

Therapy: Antibiotics were administered subcutaneously 3, 18 and 26 h. after infection.

Results: Viable cells in the lungs were counted after 48 h. Values are means \pm SE. Statistical significances refer to ANOVA and Turkey-Kramer-type multiple comparison for differences.

* means significant difference from the control ($p < 0.01$).

MICs determined by the agar-dilution method (*S. pneumoniae* No.15047, *H. influenzae* No.17005): CFSL (1, 0.5 μ g/mL), CZOP (2, 4 μ g/mL), CAZ (8, 0.5 μ g/mL), FMOX (8, 8 μ g/mL), IPM/CS (0.25, 16 μ g/mL)

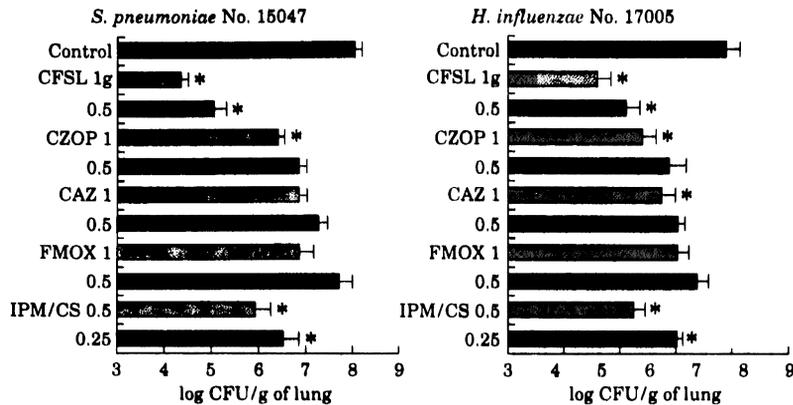
Fig. 3. Therapeutic effects of cefoselis and reference antibiotics against respiratory tract mixed-infection caused by *Streptococcus pneumoniae* No.15047 and *Haemophilus influenzae* No.17005 in mice.

4. PRSP および BLNAR による呼吸器複数菌感染に対する CFSL の防御効果

Cyclophosphamide により易感染状態を惹起したマウスを用いた *S. pneumoniae* No.15047 と *H. influenzae* No.17005 による呼吸器複数菌感染モデルにおける効果を Fig. 3 に感染 2 日後の肺内生菌数で示した。CFSL は PRSP に対して 20 mg/kg 投与群で無治療群に比べて有意 ($P < 0.01$) な菌数減少効果を示し、この効果は IPM/CS 投与群と同等で、CZOP, CAZ および FMOX 投与群より優れた。BLNAR に対しても、CFSL は 20 mg/kg 投与群で無治療群に比べて有意 ($P < 0.01$) な菌数減少効果を示し、CAZ, IPM/CS 投与群と有意な差はなかったものの、CZOP, FMOX 投与群より優れた防御効果を示した。すなわち、CFSL は IPM/CS とはほぼ同等であったものの CZOP, CAZ および FMOX より両菌を著明に減少させた。

5. PK モデルにおける呼吸器複数菌感染に対する CFSL の防御効果

ヒト血中濃度推移をマウスに再現した PK モデルを用いて検討した呼吸器複数菌感染における薬剤投与 24 時間後の両菌の肺内生菌数を Fig. 4 に示した。本 PK モデルにおける CFSL 1 g の呼吸器複数菌感染に対する効



CFSL: cefoselis, CZOP: ceftazidime, CAZ: ceftazidime, FMOX: flomoxef, IPM/CS: imipenem/cilastatin

Mice: ICR, male, 4 weeks old, 5/group, 200 mg/kg of cyclophosphamide was intraperitoneally administered 1 and 4 days before infection.

Infection: *S. pneumoniae* No.15047 (2.6×10^6 CFU/mouse) and *H. influenzae* No.17005 (2.3×10^6 CFU/mouse)

Therapy: Human plasma concentration-versus-time curves of antibiotics were reproduced in mouse plasma.

Results: Viable cells in the lung were counted after 48 h. Values are means \pm SE. Statistical significances refer to ANOVA and Turkey-Kramer-type multiple comparison for differences. * means significant difference from the control ($p < 0.01$).

Fig. 4. Therapeutic effects of cefoselis and reference antibiotics against respiratory tract infection caused by *Streptococcus pneumoniae* No.15047 and *Haemophilus influenzae* No.17005 in mice in an *in vivo* pharmacokinetic model simulating human plasma concentrations²⁰.

果は IPM/CS 0.5 g と比較しても優れる傾向を示し、両菌に対し比較抗菌薬のなかでもっとも優れた菌数減少効果を示した。

III. 考 察

PBP の変異による PRSP や BLNAR といった耐性菌はその耐性レベルは低いものの、感染部位の特性から汎用される β -lactam 系抗菌薬治療に抵抗する⁹。 *S. pneumoniae* と *H. influenzae* はともに呼吸器感染症の主要起炎菌で高頻度に複数菌感染することが知られ^{15,16}、これらの耐性菌の増加¹⁻⁹は既存抗菌薬の有効性の低下を招いている。感染局所への十分な濃度の到達が難しい経口抗菌薬に換えて耐性菌にも優れた活性を示す注射薬が必要とされる症例も多い。

CFSL は PRSP および BLNAR に対する MIC₉₀ が 2 μ g/mL (Tables 1, 2) と、耐性菌を含む両菌種の臨床分離株に対して MIC₉₀ がブレイクポイント²³以下の優れた抗菌力を示し、混合培養菌に対する殺菌性においても CFSL は MIC 以上の濃度において両菌を著明に殺菌し、両耐性菌に弱い CZOP よりも明らかに優れた殺菌性を示した (Fig. 1)。結果に記したように IPM/CS は BLNAR に対し測定法により大きく異なる MIC を示したが、液体培地での低い MIC を反映し寒天平板法で得られた MIC より低濃度で優れた殺菌性を示した。寒天平板法では微量含まれる耐性セルが MIC 値を上げる原因となったことが推定され、液体培地では発育が遅いた

めに耐性セルの存在が顕在化しなかった可能性が考えられた。

抗菌薬の有効性は感染病巣中の起炎菌の感受性とその部位に到達する抗菌薬濃度の関係で決まり、呼吸器感染症における治療効果は喀痰中や気管支分泌物中の抗菌薬濃度が MIC より上がるかどうかが大きく影響するといわれている^{24,25}。測定例が少なく十分な実測データは得られなかったが、一般的にセフェム系薬の最高血中濃度に対する最高喀痰中濃度の比は 0.1~8% と報告されており²⁴、CFSL 1 g 投与時の最高喀痰中濃度は 0.04~12.5 μ g/mL、最高喀痰中濃度/最高血中濃度は 0.07~21.8% とばらつきがあった²⁶⁻³⁰。CZOP 1 g 投与時では同様に 1.0~5.6 μ g/mL で 1.2~13.2%³¹⁻³⁵、IPM/CS 0.5 g 投与時では 0.16~1.6 μ g/mL で 0.57~7.9%^{36,37}と報告されている。また、セファロsporin およびカルバペネムの喀痰中への移行性は血中濃度推移のパターンとは異なりラグタイムが存在する²⁵⁻³⁶、最高喀痰中濃度および喀痰中濃度下面積は最高血清中濃度および血清中濃度下面積のおおむね 10% 程度あるいはそれ以下であることから、喀痰中に血清中濃度の 1/10 が移行すると仮定してヒト喀痰中濃度推移を再現した *in vitro* simulation 系における殺菌性を検討した (Fig. 2)。CZOP や IPM/CS では有効濃度の持続時間が短く、薬剤濃度の低下に伴い菌の再増殖が認められたのに対し、CFSL は MIC 以上の濃度の持続時間が長く両菌に対し優れた殺菌効果

を示した。今回は便宜上いずれの薬剤も血中濃度の10%が移行するものと仮定したが、さらに低濃度で検討する必要もあると考えられる。

マウス呼吸器複数菌感染モデルにおいても通常の投与方法ではCFSLはこれら両菌種に対して20 mg/kgで有意な菌数減少効果を示し、IPM/CSと同等でCZOP、CAZおよびFMOXより優れた (Fig. 3)。人の血漿中濃度推移をマウスに再現したPKモデルにおいてはCFSLは0.5 g ヒト相当量で有効でCZOP、CAZおよびFMOXより明らかに優れ、IPM/CSとの比較においてもより優れた防御効果を示し臨床での有効性が示唆された (Fig. 4)。CFSLは両菌に対して低濃度から優れた殺菌性を示すことに加え、半減期が2.3時間とカルバペネムや一般的なセフェム剤より長い傾向を示し、有効濃度の維持時間が長いことが優れた感染防御効果に反映されたものと考えられる。

以上、耐性化が問題となっている *S. pneumoniae* および *H. influenzae* による呼吸器感染症におけるCFSLの有用性が示唆された。

謝 辞

H. influenzae の新鮮臨床分離株を提供していただきました天理よろず相談所病院検査部の相原先生およびBLNARを提供していただきました(財)微生物化学研究所の生方公子先生に深謝致します。

文 献

- 1) 渡辺 彰: ペニシリン耐性肺炎球菌。医学のあゆみ 185: 308~312, 1998
- 2) 渡邊信介, 二木芳人, 吉田耕一郎, 他: 肺炎球菌感染症の臨床的検討。日治療会誌 47: 23~29, 1999
- 3) 遠藤廣子, 末武光子, 入間田美保子: 入院加療を必要とした乳幼児急性中耳炎, 下気道炎の検討。日治療会誌 47: 30~34, 1999
- 4) 紺野昌俊, 生方公子: 改訂ペニシリン耐性肺炎球菌, (株)協和企画通信, 東京, 1999
- 5) Seki H, Kasahara Y, Ohta K, et al.: Increasing prevalence of ampicillin-resistant, non-beta-lactamase-producing strains of *Haemophilus influenzae* in children in Japan. *Chemotherapy* 45: 15~21, 1999
- 6) 高橋孝行, 辻原佳人, 原田雅明, 他: インフルエンザ菌に対する経口β-ラクタム薬の *in vitro* 抗菌力の比較。 *Jap. J. Antibiotics* 52: 292~301, 1999
- 7) 小栗豊子, 三澤成毅, 中村文子, 他: インフルエンザ菌の薬剤感受性一年次推移を中心に。化学療法の領域 14: 1147~1156, 1998
- 8) 黒木春郎, 黒崎知道: 呼吸器感染症におけるインフルエンザ菌の役割 (小児)。化学療法の領域 14: 1185~1190, 1998
- 9) 生方公子: PRSPとBLNAR (話題の耐性菌とその耐性機構)。臨床病理 特 111: 17~25, 2000
- 10) 生方公子, 旭 泰子, 紺野昌俊: ペニシリン耐性肺炎球菌における耐性化のメカニズム。日本臨床 55: 1213~1218, 1997
- 11) Parr, T, Bryan L E: Mechanism of resistance of an ampicillin-resistant, β-lactamase-negative clinical isolate of *Haemophilus influenzae* Type b to β-lactam antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* 25: 747~753, 1984
- 12) Clairoux N, Picard M, Brochu A, et al.: Molecular basis of the non-β-lactamase-mediated resistance to β-lactam antibiotics in strains of *Haemophilus influenzae* isolated in Canada. *Antimicrob. Agents Chemother.* 36: 1504~1513, 1992
- 13) 生方公子, 千葉菜穂子, 中山信子, 他: 薬剤耐性機構からみたβ-ラクタマーゼ非産生アンピシリン耐性インフルエンザ菌 (BLNAR) の特徴。日臨徴誌 9: 22~29, 1999
- 14) 三笠桂一, 澤木政好, 古西 満, 他: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌及びペニシリン耐性肺炎球菌に関する近畿地区疫学調査報告。感染症学雑誌 72: 701~706, 1998
- 15) 池田紀男, 志摩りか子, 仲井真由美, 他: 呼吸器感染症における喀痰の塗末所見と分離菌の検討。日臨徴誌 8: 26~33, 1998
- 16) 松本佳巳, 池本晶子, 若林重紀子, 他: 新規注射用セフェム系抗菌薬 Cefoselis の抗菌力の特徴。 *Pharma Medica* 16: 99~116, 1998
- 17) 星野和夫, 小川美保, 岩井有紀, 他: 第四世代セフェム Cefoselis の各種臨床分離株に対する抗菌作用。 *Pharma Medica* 17: 115~131, 1999
- 18) 抗菌薬感受性測定法検討委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。 *Chemotherapy* 29: 76~79, 1981
- 19) 中島光好, 植松俊彦, 長嶋 悟, 他: FK 037 の第I相臨床試験。日治療会誌 42 (S-3): 72~113, 1994
- 20) 柴 孝也, 吉田正樹, 堀 誠治, 他: Cefozopran の基礎的・臨床的検討。 *Chemotherapy* 41 (S-4): 187~194, 1993
- 21) 中川圭一, 小山 優, 早瀬 清, 他: Imipenem (MK-0787), Cilastatin sodium (MK-0791), MK-0787/MK-0791 臨床第一相試験。 *Chemotherapy* 33 (S-4): 357~378, 1985
- 22) Hatano K, Wakai Y, Watanabe Y, et al.: Simulation of human plasma levels of β-lactams in mice by multiple dosing and the relationship between the therapeutic efficacy and pharmacodynamic parameters. *Chemother* 40: 1~7, 1994
- 23) 日本化学療法学会抗菌薬感受性測定法検討委員会: 呼吸器感染症および敗血症におけるブレイクポイント—新規抗菌薬および既存抗菌薬の追加 (1997年: 案) 一。日治療会誌 45: 757~761, 1997
- 24) 力富直人: セフェム系薬剤—感染時における体内濃度測定の意義—。日本臨床 53 (増上): 1020~1023, 1995
- 25) 渡辺 彰: Breakpoint から見た抗菌薬の肺組織・喀痰移行測定の意義。化学療法の領域 10: 470~476, 1994
- 26) 稲松孝思, 深山牧子, 増田義重, 他: 内科領域におけるFK 037 の基礎的・臨床的検討。 *Chemotherapy* 42 (S-3): 153~157, 1994
- 27) 青木ますみ, 西谷 肇, 宮司厚子, 他: FK 037 に関する基礎的・臨床的検討。 *Chemotherapy* 42 (S-3): 158~162, 1994
- 28) 今井健郎, 桜井 磐, 吉川晃司, 他: FK 037 に関する基礎的・臨床的検討。 *Chemotherapy* 42 (S-3):

- 163~171, 1994
- 29) 渡辺 浩, 大森明美, 渡辺貴和雄, 他: 呼吸器感染症における FK 037 の基礎的・臨床的研究。Chemotherapy 42 (S-3): 210~219, 1994
- 30) 山崎 透, 生田真澄, 平松和史, 他: 新セフェム系抗生物質 FK 037 の基礎的研究および呼吸器感染症への臨床的研究。Chemotherapy 42 (S-3): 220~225, 1994
- 31) 小田切繁樹, 鈴木周雄, 高橋 宏, 他: 呼吸器感染症における cefozopran の臨床的検討。Chemotherapy 41 (S-4): 200~206, 1993
- 32) 杉本勇二, 松本行雄, 小西龍也, 他: 呼吸器感染症における cefozopran の基礎的・臨床的検討。Chemotherapy 41 (S-4): 216~220, 1993
- 33) 東山康仁, 山下祐子, 光武耕太郎, 他: 呼吸器感染症に対する cefozopran の基礎的ならびに臨床的検討。Chemotherapy 41 (S-4): 233~244, 1993
- 34) 廣瀬英彦, 高橋 淳, 渡辺貴和雄, 他: 新第3世代注射用 cephem 系抗生剤 cefozopran の呼吸器感染症における細菌学的, 臨床的検討。Chemotherapy 41 (S-4): 245~255, 1993
- 35) 普久原浩, 稲留 潤, 嘉数朝一, 他: 呼吸器感染症に対する cefozopran の基礎的, 臨床的検討。Chemotherapy 41 (S-4): 261~268, 1993
- 36) 鈴山洋司, 長沢正夫, 古賀宏延, 他: Imipenem/Cilastatin sodium (MK-0787/MK-0791) に関する基礎的・臨床的研究。Chemotherapy 33 (S-4): 694~711, 1985
- 37) 力富直人, 宇塚良夫, 永武 毅, 他: 呼吸器感染症を場とする Imipenem/Cilastatin sodium (MK-0787/MK-0791) に関する基礎的・臨床的研究—濃度測定法と慢性気道感染症を中心として—。Chemotherapy 33 (S-4): 712~725, 1985

Efficacy of cefoselis against mixed infection caused by penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* (PRSP) and β -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* (BLNAR)

Yoshimi Matsumoto, Akiko Shiokawa, Yoshimi Wakai,
Kazuo Hatano and Fumiaki Ikeda

Department of Infectious Diseases, Medicinal Biology Research Laboratories, Fujisawa Pharmaceutical Co., LTD, 2-1-6, Kashima, Yodogawa-ku, Osaka 532-8514, Japan

Recently, penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* (PRSP) and β -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* (BLNAR) are frequently being isolated from patients with respiratory tract infections in Japan, and they are often isolated at the same time. We investigated the usefulness of cefoselis (CFSL) against mixed infection caused by PRSP and BLNAR by using *in vitro* and *in vivo* models, and compared them with other antibiotics. The following results were obtained:

1) CFSL had potent antibacterial activity against clinical isolates of *S. pneumoniae* and *H. influenzae*. The MIC₉₀ values of CFSL against PRSP and BLNAR were both 2 μ g/mL and 4 to 8 times lower than those of cefozopran (CZOP).

2) CFSL showed superior bactericidal activity to CZOP against mixed cultures of PRSP and BLNAR at 1 μ g/mL. CFSL (1 g) also exhibited potent bactericidal activity against mixed cultures of PRSP and BLNAR in an *in vitro* pharmacokinetic model simulating human sputum concentrations. By contrast, re-growth was observed 8 hours after dosing with CZOP (1 g) and imipenem/cilastatin (IPM/CS: 0.5 g).

3) At a dose of 20 mg/kg CFSL had potent protective activity against mixed respiratory tract infection by PRSP and BLNAR in mice. It was more effective than CZOP, ceftazidime (CAZ), and flomoxef (FMOX), and almost as effective as IPM/CS.

4) CFSL showed a potent therapeutic effect at a dose of 0.5 g in a model simulating human serum levels in mice. It was more effective than CZOP, CAZ, FMOX and IPM/CS.

These results suggest that CFSL has potential for clinical use against mixed infections with *S. pneumoniae* and *H. influenzae* containing PRSP and BLNAR.