

化膿性腹膜炎における抗生剤の体内濃度と 除菌効果に関する実験的研究 (I)

和歌山県立医科大学消化器外科

東 芳典, 谷村 弘, 青木 洋三

明治製菓中央研究所

石井 孝弘, 五井 仁

〔原稿受付: 平成元年 6 月 20 日〕

Pharmacokinetics and Antimicrobial Effect of Cefminox in Serum and Ascitic Fluid for Experimental Purulent Peritonitis in Mice

YOSHINORI AZUMA*, HIROSHI TANIMURA*, YOZO AOKI*,
TAKAHIRO ISHII**, HITOSHI GOI**

*Department of Gastroenterological Surgery, Wakayama Medical College,

**Meiji Seika Kaisha, Ltd. Pharmaceutical Research Center

An appropriate choice of antibiotics plays an important role in the treatment of purulent peritonitis. We examined the pharmacokinetics and antimicrobial effect of cefminox (CMNX) on experimental purulent peritonitis made by intraperitoneal injection of *E. coli* and/or *B. fragilis* in mice from elimination of bacteria in peripheral blood and ascitic fluid.

1) *E. coli* in blood and ascitic fluid decreased within one or two hrs after intravenous injection of CMNX or latamoxef (LMOX) in a dose of 25 or 100 mg/kg.

The bacteria-elimination effect of CMNX was superior to that of LMOX.

2) Comparing with the effect of LMOX, *B. fragilis* in ascitic fluid acceleratively decreased in shorter period by the intravenous administration of CMNX. This indicated that peritoneal transfer of CMNX was better than that of LMOX.

3) Clearance of *E. coli* and *B. fragilis* from blood was accomplished by single dose (25 mg/kg) intravenous administration of CMNX, whereas it was not by the same dose of LMOX, resulting in LD₅₀ of CMNX and LMOX were 5.0 and 39.3 mg/kg, respectively.

Thus, we should select some antibiotics which shows good clearance of the causative organ-

Key words: purulent peritonitis in mice, cefminox, *B. fragilis*, antibacterial effect, pharmacokinetics.

索引語: マウス化膿性腹膜炎, セフミノックス, バクテロデスフラジリス, 抗菌力, 体内動態.

Present address: Department of Gastroenterological Surgery, Wakayama Medical College, 7-27, Wakayama 640, Japan.

ismus from blood and ascitic fluid as well as antimicrobial effect as a therapeutics for acute purulent peritonitis caused by *E. coli* and/or *B. fragilis*.

はじめに

化膿性腹膜炎は消化器外科領域においては日常しばしば遭遇する疾患であるが、その治療に難渋することが少なくない。特に、下部消化管穿孔による化膿性腹膜炎は、上部消化管の穿孔例に比べ糞便の存在と腸内細菌叢の違いから、直ちに化膿性腹膜炎を引き起こし、汎発性腹膜炎、さらには敗血症、グラム陰性桿菌による septic shock, DIC, MOF となり不幸な転帰をとることも多い。したがって、化膿性腹膜炎の治療には、術前術後を問わず、抗生物質の適切な選択が最も重要な課題である。

そこで、下部消化管穿孔による化膿性腹膜炎で、*E. coli* と *B. fragilis* が起炎菌として多いという臨床的事実に基づき、この菌による化膿性腹膜炎モデルを作成し、7位側鎖にD-アミノ酸を有し、優れた短時間殺菌作用を示すといわれる CMNX (セフミノックス, 明治製菓) の除菌効果を血中および腹水中における除菌速度から検討した。

実験方法

1. 腹膜炎の作成方法

体重 27~28 g の Slc-ICR 系雄性マウス、5週令、を使用し、*E. coli* No. 29 は GAM broth で好氣的に、*B. fragilis* No. 36 は GAM broth で GAS pak を使用して嫌気条件下で、37°C、20時間培養したものを用いた。*E. coli* No. 29 は GAM broth で50倍に希釈し、*B. fragilis* No. 36 は GAM broth で500倍に希釈し、それぞれ 7.2×10^7 CFU/ml, 8.8×10^6 CFU/ml に調整し、その 0.5 ml をマウスの腹腔内に注入した。

2. 実験方法

薬剤は CMNX と、比較薬としてオキサセフェムで、グラム陰性桿菌および嫌気性菌に強い抗菌力を持つ LMOX を使用した。

CMNX は粉末結晶を生理食塩水にて溶解し、所定の濃度とし、LMOX も同様に粉末結晶を生理食塩水にて溶解し、所定の濃度とした後、それぞれ 0.2 ml 尾静脈より投与した。

実験は、CMNX 投与群、LMOX 投与群のほか、対照として、抗生物質を投与しない非投与群を設けた。抗

生剤投与群は、投与した抗生物質の量により、さらに2群に細分した。

腹膜炎作成2時間後、CMNX または、LMOX を 25 mg/kg および 100 mg/kg 尾静脈より1回投与し、1, 2, 3, 5, 8, 24時間後に、血液はマウスの腋下より放血して採取し、同時に開腹して腹腔内を 1~2 ml の生理食塩水で洗浄し、すべての洗浄液を採取し腹水とした。各群はそれぞれ各時間ごとに3匹のマウスを用いた。

抗生物質非投与群でも、投与群と同様に、各時間毎に3匹ずつのマウスを用い、同じ時間に同じ方法で各検体を採取した。

血液及び腹水中の生菌数の測定は採取した血液または腹水を10倍段階に希釈し、*E. coli* No. 29 は Heart infusion agar で好氣的に、*B. fragilis* No. 36 は GAM agar (DKB 100 µg/ml 含有) で希釈して嫌気条件下で、37°C で 20~24時間培養し、生育したコロニー生菌数を測定した。

これら3群のほか、薬剤濃度測定群、および感染治療効果判定群を設けた。

薬剤濃度測定群は、腹膜炎を作成後に同様の方法で薬剤の投与をし、薬剤投与後30分、1, 2, 3, 5時間後に血液と腹水を採取して薬剤濃度を測定した。各時間毎のマウスは3匹ずつ用いた。

薬剤濃度の測定は *Vibrio percolans* ATCC 8461 を検定菌としたペーパーディスク法で Bioassay にて測定した。

さらに、感染治療効果判定は同様に腹膜炎を作成2時間後に、CMNX、あるいは LMOX を、尾静脈よりそれぞれ50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56 mg/kg 1回投与した。各薬剤量毎に6匹ずつのマウスを用い、1週間生存数を観察し、観察期間終了後、マウスの生存数より Litchfield wilcoxon 法により ED₅₀ 値を算定した。

成 績

1 抗生物質の体内動態

a) 血中濃度の持続時間

CMNX 25 mg/kg 静注後30分には、9.3 µg/ml で、1, 2, 3時間後にはそれぞれ、5.7, 2.1, 0.4 µg/ml であった (図1)。

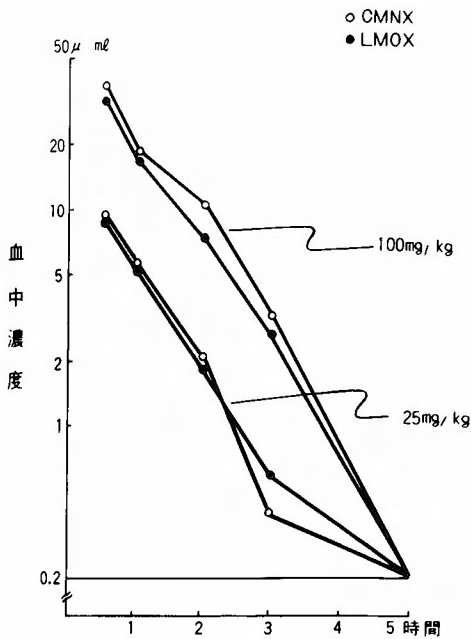


図1 血中薬剤濃度の経時的変化 (腹膜炎マウス)

LMOX 25 mg/kg 静注後30分には、9.0 µg/ml で、1, 2, 3時間後にはそれぞれ、5.3, 1.8, 0.7 µg/ml とほぼ同様であった。

一方、CMNX 100 mg/kg 静注後30分には、38.3 µg/ml で、1, 2, 3時間後にはそれぞれ、19.3, 10.

3, 3.2 µg/ml であり、LMOX 100 mg/kg 静注後30分の 32.5 µg/ml, 1, 2, 3時間後のそれぞれ 17.7, 7.6, 2.7 µg/ml より高値であった (図1)。

b) 腹水中濃度の推移

CMNX 25 mg/kg 投与では静注後30分には 2.8 µg/ml で、1時間後には 8.9 µg/ml とピークに達し、その後、2, 3時間後にはそれぞれ 1.8, 0.5 µg/ml となった (図2)。

また、CMNX 100 mg/kg 投与では、静注後30分には 11.2 µg/ml で、1時間後には 28.7 µg/ml とピークに達し、その後、2, 3時間後にはそれぞれ 5.1, 1.5 µg/ml を維持した (図2)。

これに対し、LMOX 25 mg/kg 投与では、静注後30分には 2.2 µg/ml で、1時間後は 5.0 µg/ml にとどまり、その後、2, 3時間後にはそれぞれ、1.0, 0.6 µg/ml であり、また、LMOX 100 mg/kg 静注後でも、30分に 10.5 µg/ml, 1時間後の 16.6 µg/ml に達したが、2, 3時間後にはそれぞれ 4.4, 1.3 µg/ml と低下した。

したがって、腹水中濃度の投与5時間までの AUC をみると、CMNX 25 mg/kg では 2.2 µg·hr/ml と LMOX の 1.4 µg·hr/ml より高く、さらに CMNX 100 mg/kg では 6.9 µg·hr/ml で LMOX の 4.8 µg·hr/ml と、CMNX の方が1.44~1.57も大きかった。

2. 腹水中細菌に対する除菌効果での比較

抗生物質非投与群では、E. coli No. 29 投与時に

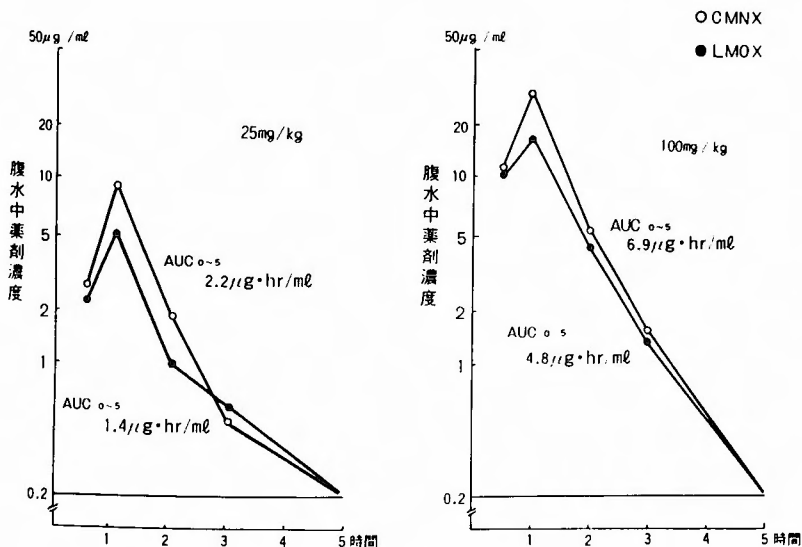


図2 腹水中薬剤濃度の経時的変化 (腹膜炎マウス)

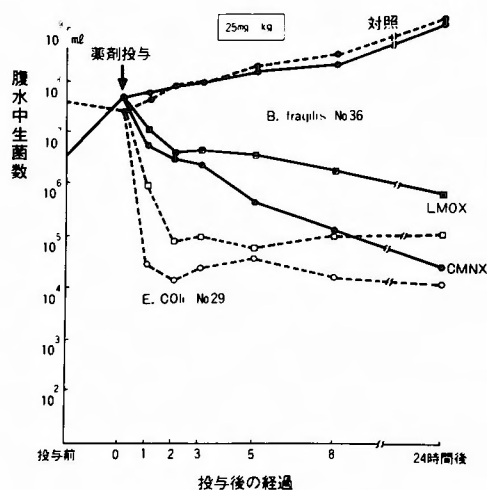


図3 腹水中細菌に対する
CMNX, LMOX の除菌効果

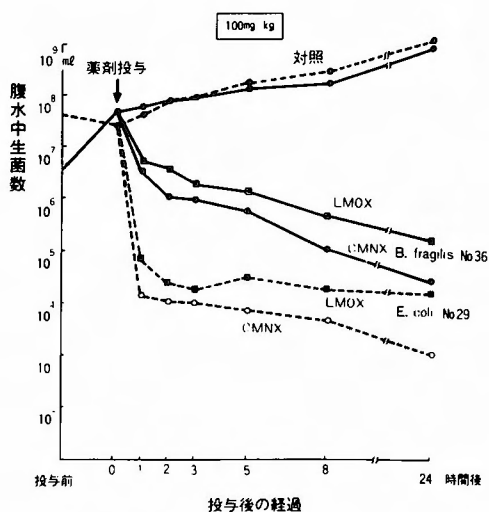


図4 腹水中細菌に対する
CMNX, LMOX の除菌効果

7.2×10^7 CFU/ml であった細菌数が2時間後にいったん 2.4×10^7 CFU/ml となったが、その後、1, 2, 3, 5, 8, 24時間後にはそれぞれ 3.4×10^7 , 6.5×10^7 , 8.0×10^8 , 1.8×10^8 , 2.9×10^8 , 1.2×10^9 CFU/ml と増殖した。

CMNX 25 mg/kg 投与では1時間後には 2.6×10^4 に減少し、2時間以後には、 1.6×10^4 , 2.6×10^4 , 4.0×10^4 , 1.6×10^4 , 1.1×10^4 /ml であった (図3)。

これに対し、CMNX 100 mg/kg 投与すると、投与後1時間後には 1.4×10^4 /ml に減少し、2時間後 1.1×10^4 CFU/ml, 3, 5, 8, 24時間後もそれぞれ、 9.8×10^3 , 7.0×10^3 , 4.6×10^3 , 1.0×10^3 CFU/ml と経時的に減少した (図4)。

一方、LMOX 25 mg/kg 投与では、1時間後には 7.7×10^4 CFU/ml に減少し、2, 3, 5, 8, 24時間後にはそれぞれ、 6.9×10^4 , 1.0×10^5 , 5.2×10^4 , 9.3×10^4 , 8.1×10^4 CFU/ml にとどまった。

LMOX 100 mg/kg 投与にすると、1時間後は 6.6×10^4 CFU/ml であったが、2, 3, 5, 8, 24時間後にはそれぞれ 2.2×10^4 , 1.9×10^4 , 3.1×10^4 , 1.8×10^4 , 1.6×10^4 と CMNX 25 mg/kg と同程度に減少した。

抗生剤非投与では、*B. fragilis* No. 36 投与時に 8.8×10^6 CFU/ml であった細菌数が2時間後には 4.7×10^7 /ml に増加し、その後、1, 2, 3, 5, 8, 24時間後にはそれぞれ 4.8×10^7 , 7.2×10^7 , 8.6×10^7 ,

1.4×10^8 , 1.8×10^8 , 8.0×10^8 /ml と経時的に漸増した。

CMNX 25 mg/kg 投与では1時間後に 4.8×10^6 /ml と減少し、2, 3, 5, 8, 24時間後でもそれぞれ、 2.8×10^6 , 2.1×10^6 , 4.7×10^5 , 1.2×10^5 , 2.2×10^4 CFU/ml と経時的に減少した。(図3)

さらに、CMNX 100 mg/kg 投与にすると、投与後1時間後には 3.3×10^6 CFU/ml まで減少し2, 3, 5, 8, 24時間後にはそれぞれ 1.1×10^6 , 8.7×10^5 , 5.6×10^5 , 1.1×10^5 , 2.6×10^4 CFU/ml と経時的に減少した。(図4)

一方、LMOX 25 mg/kg 投与では、1時間後には 1.0×10^7 CFU/ml で、2, 3, 5, 8, 24時間後にもそれぞれ 4.0×10^6 , 6.0×10^6 , 3.2×10^6 , 1.5×10^6 , 5.0×10^5 CFU/ml にとどまった。

しかも、LMOX 100 mg/kg 投与としても、1時間後には 5.4×10^6 CFU/ml に減少し、2, 3, 5, 8, 24時間後にはそれぞれ 3.8×10^6 , 1.8×10^6 , 1.3×10^6 , 4.9×10^5 , 1.5×10^5 CFU/ml と経時的に減少しはしたが、CMNX と1株の差を生じた。

3. 敗血症に対する血中除菌効果での比較

抗生物質非投与群では、*E. coli* No. 29 腹腔内投与2時間後には 3.5×10^5 CFU/ml であった細菌数が、さらに1時間後には 3.9×10^5 CFU/ml と増殖し、2, 3, 5, 8時間後にはそれぞれ、 3.9×10^6 CFU/ml, 4.0×10^6 CFU/ml, 3.8×10^6 CFU/ml, 3.7×10^6 CFU/ml と増殖した。

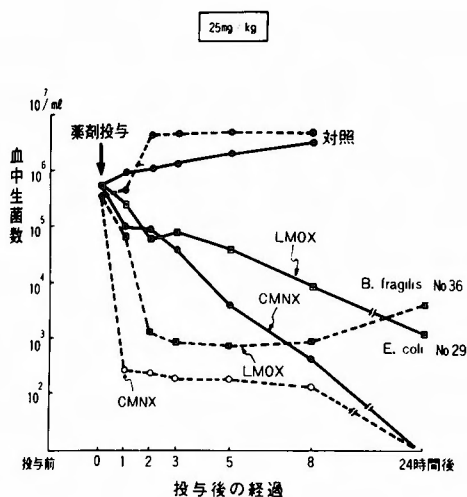


図5 敗血症に対する
CMNX, LMOX の除菌効果

CMNX 25 mg/kg 投与では、1時間後には 3.0×10^2 CFU/ml となったが、2, 3, 5, 8, 時間後にはそれぞれ 2.3×10^2 , 1.7×10^2 , 1.8×10^2 , 1.3×10^2 CFU/ml と減少して時間がかかったが、24時間後には 0/ml となった (図5)。

これを CMNX 100 mg/kg 投与にすると、1時間後にはすでに完全に除菌されそれ以後3時間後にも菌は検出できなかった。その後いったん5時間後には 8.0×10^1 /ml を示したが、8, 24時間後には完全に除菌されたままであった (図6)。

一方、LMOX 25 mg/kg 投与では、1時間後には 7.0×10^4 CFU/ml と CMNX より多く、2, 3, 5, 8, 24時間後にはそれぞれ 1.3×10^3 , 8.4×10^2 , 6.8×10^2 , 7.7×10^2 , 5.5×10^3 CFU/ml と消失しなかった。

しかも、LMOX 100 mg/kg 投与にしても、1時間後には 4.0×10^2 /ml といったん減少したが、2, 3, 5, 8時間後にはそれぞれ 3.8×10^2 , 2.7×10^2 , 8.0×10^1 , 1.3×10^2 /ml と持続し、やっと24時間後には除菌された。

抗生物質非投与群では、*B. fragilis* No. 36 を腹腔内投与2時間後に 5.3×10^5 CFU/ml であった細菌数が、さらに1時間後には 8.5×10^5 CFU/ml と増殖し、その後、2, 3, 5, 8時間後にはそれぞれ 9.1×10^5 , 1.2×10^6 CFU/ml, 1.8×10^6 CFU/ml, 2.4×10^6 CFU/ml と増殖した。

CMNX 25 mg/kg 投与では、1時間後には $8.0 \times$

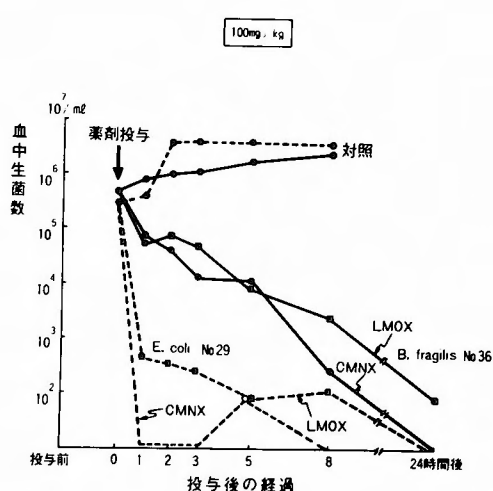


図6 敗血症に対する
CMNX, LMOX の除菌効果

10^4 CFU/ml となり、2, 3, 5, 8時間後にはそれぞれ 8.3×10^4 , 3.7×10^4 , 4.2×10^3 , 4.2×10^2 CFU/ml と漸時減少し、24時間後には完全に除菌された (図5)。

これを CMNX 100 mg/kg 投与すると、1時間後には 7.5×10^4 CFU/ml であったが、2, 3, 5, 8時間後にはそれぞれ 4.2×10^4 , 1.5×10^4 , 1.2×10^4 , 2.9×10^2 CFU/ml と減少し、24時間後には完全に除菌された (図6)。

一方、LMOX 25 mg/kg 投与では、1時間後には 2.3×10^5 CFU/ml となり、2, 3, 5, 8, 24時間後にはそれぞれ 5.5×10^4 , 7.4×10^4 , 3.6×10^4 , 8.4×10^3 , 1.2×10^3 CFU/ml にとどまった。

さらに LMOX 100 mg/kg 投与としても、1時間後には 6.1×10^4 CFU/ml となり、2, 3, 5, 8, 24時間後にはそれぞれ 8.4×10^4 , 4.8×10^4 , 8.1×10^3 , 2.4×10^3 , 8.0×10^1 CFU/ml と除菌できなかった。

4. 腹膜炎マウスに対する治療効果

ED₅₀ 値は CMNX 投与では 5.00 mg/kg であり、LMOX 投与の 39.28 mg/kg より優れていた。(表1)

考 察

我々がここで取り上げた *E. coli* や *B. fragilis* は一般に消化管の穿孔によって腹腔内に散布されるが、今回のマウス腹膜炎の実験において抗生剤非投与時には

表1 腹膜炎マウスに対する CMNX, LMOX の治療効果 (ED₅₀)

試 験 菌	接 種 菌 量	MIC* (μg/ml)		E D ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)
		CMNX	LMOX	
E. coli No. 29	3.6×10 ⁷ CFU/mouse	1.56	0.20	CMNX: 5.00 (2.36~10.36) LMOX: 39.28 (19.18~80.54)
B. fragilis No. 36	4.4×10 ⁸ CFU/mouse	3.13	6.25	

* 10⁶ cells/ml

1時間後にすでに敗血症の状態となり、3時間後には E. coli は 10⁶ CFU/ml 以上の濃度となり、それ以降は平衡状態となることがわかった。このように、腹水中の細菌数が1時間後には 10⁷ CFU/ml 以上となることから推察すると、消化管穿孔によって短時間のうち敗血症に進展すると思われる。臨床的にも、下部消化管穿孔例の予後は非常に悪く、特に高齢者の場合には septic shock, MOF の危険にさらされているのは周知の事実である。たとえば、倉光ら¹⁾の下部消化管穿孔29例の死亡率は34.5%に及び、その死因は septic shock か MOF であったという。

しかし、たとえ穿孔性腹膜炎が発生しても、適切な治療により汎発性腹膜炎を防止することができれば、septic shock や MOF への進行を食い止めることができ、炎症を腹腔内に限局させることによって予後の改善が期待されるはずである。

この観点から、E. coli や B. fragilis に起因する腹膜炎を実験的に作成し、抗生物質の血中および腹水中の薬剤濃度と除菌効果について検討したところ、十二分量の抗生物質の静脈投与によって、1回投与後1時間にて E. coli の血中細菌数は除菌することができることを明らかにした。B. fragilis もこれよりやや劣るものの、1回投与により24時間後には除菌することができた。通常使用量の場合でも、CMNX 25 mg/kg の静脈的投与では、大量投与よりもやや遅い除菌速度ではあるが、E. coli や B. fragilis に対して24時間後には血中から完全に除菌できた。

一方、類似の抗生物質を選択して比較してみると、E. coli に対する血中除菌効果は大量投与ではやや遅いようであるが、同様に24時間後には血中細菌数を0にすることができたが、通常使用量では、24時間後でも 5.5×10³ CFU/ml の E. coli が残留した。また、血中 B. fragilis は時間を追って減少したが、24時間後

に大量投与でも 8.0×10¹ CFU/ml、通常量投与では 1.2×10³ CFU/ml も細菌が残留し、完全除菌できなかった。

比較した2剤の MIC はそれぞれ E. coli については 1.56 μg/ml, 0.20 μg/ml で、B. fragilis については 3.13 μg/ml, 6.25 μg/ml であったが、1回投与では、3～5時間後の血中の薬剤濃度はすべて MIC 以下となっていた。しかし、subMIC の濃度でも血中細菌数が減少した事実は、MIC が 10⁶ CFU/ml の細菌濃度に対し設定されていること以外に、Postantibiotic effect (PAE) といわれる現象として、血清補体との協力的殺菌作用やマクロファージの関与を推察させる。

したがって、LMOX 1回投与が24時間後に血中細菌数のすべてを除菌できなかったことで、臨床的除菌効果が劣ると即断することはできない。とはいえ、除菌速度からみると、CMNX が LMOX よりもより早く、穿孔性腹膜炎のような持続した細菌の汚染時には臨床的により効果が高いといえる。

腹膜炎の治療の第一歩は原因の除去と洗浄後の腹膜ドレナージであるが、同時に、いかに細菌を腹腔内に限局させて敗血症を防ぐかという点にある。したがって、血中細菌に対して除菌効果が早い薬剤こそが臨床的には有用である。

今回、選択した CMNX は通常のセファマイシン系抗生物質の構造である β-ラクタム部分と7位側鎖に D-アミノ酸部分を同一分子内に持つため、この2つの部分がグラム陰性菌に同時に働き、いわゆる dual action によって、速い除菌速度が得られる特徴があるといわれている。今回の成績も、より良好な除菌効果が得られたのはこの dual action に負うところが大きいと考えられ、血中細菌の速やかな除去は ED₅₀ の結果に反映されている。

さて、静脈内投与した抗生物質の腹水中への移行も

また腹腔内に残存した細菌に対して、腹膜炎の治療効果を左右することは、すでに多くの薬剤で投与し証明してきた²⁻⁶⁾。今回、腹水への両薬剤の移行は、静脈的投与後2時間目に最高濃度となったが、ややCMNXの方が高濃度を示した。E. coli に対して、CMNX が早い時期に除菌効果が発現しており、薬剤のもつ dual action の効果と腹水中濃度が LMOX より高いためと考えられた。B. fragilis に対しては薬剤投与後早期には両薬剤に差はなかったが、時間の経過とともに腹水中生菌数の測定結果に差が出現しており、CMNX の方がやや良好な除菌作用が観察されたのも、これらの理由によると考えられる。

以上の成績から、腹膜炎に際して選択する薬剤としては、血中、腹水中とも良好な除菌効果が得られるような薬剤濃度と作用機序をもつものが、臨床的にも期待できる薬剤であるといえよう。今後は投与回数の検討と、腹腔洗浄による菌数減少との関連性を検討し、より適切な治療方針の根拠としたい。

ま と め

マウスに E. coli No. 29 と B. fragilis No. 36 を腹腔内に投与して実験的腹膜炎を作成し、抗生剤2剤の除菌効果を比較検討した。その結果、

- 1) 血中、ならびに腹水中 E. coli の菌数は CMNX または LMOX 25 mg/kg ないし 100 mg/kg の1回投与で1~2時間のうちに減少したが、とくに CMNX の除菌作用が優れていた。
- 2) 腹水中 B. fragilis の菌数は、LMOX では緩やかな減少であったが、CMNX では短時間で殺菌力を示し、菌数は加速度的に減少した。その理由として、

腹水中移行が CMNX が LMOX より優れていることも関与していると思われる。

3) CMNX は 25 mg/kg 1回投与でも血中から E. coli, B. fragilis を24時間後には消失させ、優れた除菌効果を示したが、これに対し LMOX 25 mg/kg 1回投与では血中で完全に除菌できなかった。その結果、ED₅₀ 値は CMNX 5.0 mg/kg, LMOX 39.3 mg/kg と CMNX の優れた除菌効果を示唆する全身感染防御効果が得られた。したがって、E. coli, B. fragilis に起因する急性化膿性腹膜炎の治療法として選択すべき抗生剤は、優れた抗菌力を有するもののうち、血中、腹水中除菌速度の良いものが有用であるといえる。

参 考 文 献

- 1) 倉光秀磨, 花野祥子, 益田美也子, その他: 下部消化管穿孔. 救急医学, 5(5): 499-504, 1981.
- 2) 谷村 弘, 小澤和恵, 小林展章, その他: 腹膜炎の化学療法 (VI)-Carumonam の腹水中移行とその臨床効果について. Chemotherapy, 35(2): 552-563, 1987.
- 3) 谷村 弘, 日笠頼則: 腹膜炎の化学療法. 外科治療, 48(1): 29-36, 1983.
- 4) 谷村 弘, 日笠頼則, 小林展章: 腹膜炎の化学療法 (V)-AC-1370 の腹水中移行とその臨床効果について. Chemotherapy, 32 (9): 532-545, 1984.
- 5) 谷村 弘, 日笠頼則, 小林展章, その他: 腹膜炎の化学療法 (II)-とくに Cefizoxime による臨床効果について. Chemotherapy, 28(5): 533-541, 1980.
- 6) 谷村 弘, 日笠頼則, 向原純雄, その他: 化膿性腹膜炎に対する Cefizoxime と Cefazolin の二重盲検法薬効比較試験. Chemotherapy, 29(6): 698-713, 1981.