

## 【原著・基礎】

## 臨床分離株に対する doripenem の抗菌力

桑原京子・平松啓一

順天堂大学医学部細菌学\*

(平成17年1月11日受付・平成17年3月16日受理)

新規注射用カルバペネム系抗菌薬, Doripenem (DRPM, S-4661) の methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA), methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* の臨床分離株に対する MIC<sub>90</sub> は, 0.1, 50, 25, 25, 0.2, 0.006, 6.25, >100, 0.025, 1.56, 0.1, 0.2, 6.25, 0.39, 1.56, 6.25, 12.5 μg/mL であった。DRPM の PBP<sub>s</sub> に対する親和性は, 感受性の *S. aureus* 209P の PBP<sub>3</sub> に対して imipenem (IPM) より若干親和性が低かったが, 高度耐性 MRSA の PBP<sub>2</sub>' に対して若干高い親和性を示した。ポピュレーション解析においても DRPM は, 耐性度の低い菌に対して IPM より抗菌力が弱かったが, 耐性度の高い菌に対しては IPM より抗菌力が若干強い傾向がみられた。*P. aeruginosa* PAO1 の PBP<sub>3α</sub>, 3β に対する結合親和性は, IPM より高かった。

**Key words:** doripenem, carbapenem, antibacterial activity, PBP, population analysis

Doripenem (DRPM, S-4661) は, 塩野義製薬が開発した 1-methylcarbapenem 系の新規静注薬である<sup>1,2)</sup>。本薬剤は, グラム陽性菌に対して imipenem (IPM) に次ぐ抗菌力を, グラム陰性菌に対しては meropenem (MEPM) に次ぐ抗菌力をもち, 既存のカルバペネムよりもバランスの取れた広域スペクトルの抗菌薬である。また, β-lactamase や dehydropepidase I (DHP-I) に対して安定な薬剤であり, IPM のように cilastatin<sup>3)</sup> を panipenem (PAPM) のように betamipron<sup>4)</sup> と合剤にすることなく単剤で有効な薬剤である。本研究は, 臨床分離株に対する抗菌活性, methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA), methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa* のペニシリン結合蛋白 (PBP) に対する親和性およびヘテロ耐性 MRSA, およびホモ耐性 MRSA に対するポピュレーション解析を行い, 本薬剤と既存のカルバペネム系抗菌薬である IPM, MEPM, biapenem (BIPM), PAPM と比較検討した。

## I. 材料と方法

## 1. 使用薬剤

Doripenem (DRPM, S-4661) は, 塩野義製薬 (大阪) から供与された。対照薬として imipenem (IPM: メルク 万有, 東京), meropenem (MEPM: 住友製薬, 大阪), biapenem (BIPM: ワイスレダリー, 東京), panipenem (PAPM: 山之内, 東京), Methicillin (DMPPC: sigma, Missouly, USA), penicillin G (PCG: sigma, Missouly, USA) の純末を使用した。

## 2. 使用菌株

1987 年度に東京大学附属病院臨床検査室から分与された methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) 64 株, および順天堂大学附属病院中央検査室で 1990 年から 1995 年に分離された methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) 40 株, *Staphylococcus epidermidis* 54 株, *Staphylococcus haemolyticus* 54 株, *Streptococcus pneumoniae* 40 株, *Streptococcus pyogenes* 41 株, *Enterococcus faecalis* 39 株, *Enterococcus faecium* 41 株, *Moraxella catarrhalis* 19 株, *Haemophilus influenzae* 54 株, *Escherichia coli* 53 株, *Klebsiella pneumoniae* 52 株, *Proteus vulgaris* 54 株, *Morganella morganii* 47 株, *Enterobacter cloacae* 50 株, *Serratia marcescens* 50 株, *Pseudomonas aeruginosa* 53 株を使用した。

PBP<sub>s</sub> の検討には教室保存の *S. aureus* 209P, *S. aureus* N315LR5-P1, *S. aureus* N315LR5-P1-IPM8-1 (MRSA), および *P. aeruginosa* PAO1 を使用した。ポピュレーション解析には, N315LR5-P1 株<sup>5)</sup> (ヘテロ MRSA) および N315LR5-P1-IPM8-1 株<sup>5)</sup> (ホモ MRSA) を使用した。

## 3. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定方法

日本化学療法学会法<sup>6)</sup>による平板希釈法で測定した。すなわち被検菌を L-broth 中で一夜浸透培養し, OD<sub>578nm</sub> で 0.25 ~ 0.35 に調節した後, 新鮮 L-broth で 10 倍希釈し, これを接種菌液とした。

\* 東京都文京区本郷 2 1 1

ただし, *S. pyogenes* には Heart Infusion (HI: Difco, Detroit, USA) broth を用い, *H. influenzae* には HI broth に Fildes extract (Oxoid, Hampshire, UK) を 5% 添加した培地を用いた。また *S. pneumoniae* の接種菌液は 5% ヒツジ脱繊維血液(日本バイオテスト研究所, 東京) 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 になるよう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, Detroit, USA) に接種菌液をマイクロプランター(佐久間製作所, 東京)でスポット接種し, 37 一夜培養後の菌増殖の有無から MIC を求めた。ただし *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* は, HI agar を基礎培地とした血液寒天培地を *H. influenzae* は Fildes extract 加 HI agar で一夜培養した。

#### 4. ペニシリン結合蛋白質(PBP)に対する結合親和性の検討

Spratt<sup>7)</sup>の方法を改変した著者らの方法で検討した。すなわち, *S. aureus* 209P, *S. aureus* N315LR5-P1, *S. aureus* N315LR5-P1-IPM8-1(MRSA), および *P. aeruginosa* PAO1 の対数増殖期後期の菌を集め, 10 mM MgCl<sub>2</sub> 加 0.05M リン酸緩衝液(pH7.0)に懸濁した。Branson sonifier(出力 50W, 効率 20%, 120 秒×10 回)で菌体を破壊し, 遠心で菌体を除いた後, その上清を超遠心して膜画分を得た。同緩衝液で 1 回洗浄し 10~15 μg/mL になるように膜画分浮遊液を作製した。30 μL の膜画分に終末濃度 0.1~12.5 μg/mL, 耐性菌に対しては 0.1~1,000 μg/mL になるように DRPM または IPM を加え, 30, 10 分間反応後, 3 μL <sup>14</sup>C-benzylpenicillin(PCG, 373 μg/1.85 MBq/mL: AMERSHAM)を加え, 再度 30, 10 分間反応させた。Sarkosyl と非放射性 PCG の等量混合液を加えて反応を止め, 不溶画分を除いた。上清 30 μL に bromophenol blue 加 SDS 緩衝液 15 μL を加え, 100, 2 分間煮沸した後, その全量を 10% acrylamide-0.06% bis-acrylamide スラブゲル電気泳動した。*S. aureus* には 8% acrylamide-0.06% bis-acrylamide スラブゲルを使用した。メタノールと酢酸で蛋白を固定した後, dimethyl sulfoxide(DMSO)で脱水し, 2,5-deiphenyloxazole を染み込ませ, 減圧下でゲルを乾燥させた。乾燥したゲルと KO-DAK X-Omat フィルムを密着し, -70, 14 日間感光させラジオオートグラフィーを行った。また, デンシトメーター(Master scan: Billerica, USA)を使い, 各バンドに対する intensity を測定した。

#### 5. ヘテロ耐性 MRSA およびホモ耐性 MRSA に対するポピュレーション解析

被検菌として, ヘテロ耐性を示す MRSA である N315LR5-P1 と, ホモ耐性 MRSA である N315LR5-P1-IPM8-1 を使用した。L-broth で一夜振盪培養し, OD<sub>578nm</sub> 0.25~0.35 になるように調整した菌液の 10 倍希釈系列を 7 段階作製し, それらを塗末用菌液とした。2 倍希釈系列の薬

剤 1,024~0.5 μg/mL を含む HI agar に調整済み菌液 50 μL を AUTOPLATE MPDEL 3000(Spiral Biotech, Inc., Bethesda, MD, USA) を使用して接種した。37, 48 時間培養後, 平板上に発育してきたコロニー数を測定した。

## II. 結 果

### 1. Doripenem の試験管内抗菌力

各種細菌臨床分離株に対する試験管内抗菌力を Table 1 に示した。

Methicillin 感受性の *S. aureus* (MSSA) 40 株に対する本薬剤の MIC<sub>90</sub> は, 0.1 μg/mL であり, IPM, PAMP より 1~2 管劣ったが, BIPM と同等であり, MEPM より 1 管優れていた。Methicillin に対する MIC 値が 6.25 μg/mL 以上の MRSA 64 株に対する本薬剤の MIC<sub>90</sub> は, 50 μg/mL であり, MEPM, PAMP と同等, IPM, BIPM より 1 管優れていた。*S. epidermidis* 54 株に対する本薬剤の MIC<sub>90</sub> は, 25 μg/mL であり, PAMP と同等で, IPM, MEPM, BIPM よりも 1 管優れていた。*S. haemolyticus* 54 株に対する本薬剤の MIC<sub>90</sub> は, 25 μg/mL であり, IPM, MEPM, BIPM, PAMP より 1 管優れていた。*S. pneumoniae* 40 株に対する本薬剤の MIC<sub>90</sub> は, 0.2 μg/mL であり, PAMP より 2 管, IPM より 1 管劣ったものの, MEPM, BIPM と同等であった。*S. pyogenes* 41 株の本薬剤の MIC<sub>90</sub> は, 0.006 μg/mL であり, すべての他比較薬剤と同等であった。*E. faecalis* 39 株に対する本薬剤の MIC<sub>90</sub> は, 6.25 μg/mL であり, IPM および PAMP より 2 管劣っていたが, MEPM, BIPM より 1 管優れていた。*E. faecium* 41 株に対する本薬剤の MIC<sub>90</sub> は, >100 μg/mL であり, 他比較薬剤と同様にほとんど抗菌力を示さなかった。*M. catarrhalis* 19 株に対する本薬剤の MIC<sub>90</sub> は, 0.025 μg/mL であり, MEPM より 2 管劣ったものの, PAMP と同等であり, IPM, BIPM より 1~2 管優れていた。*H. influenzae* 54 株に対する本薬剤の MIC<sub>90</sub> は, 1.56 μg/mL であり, IPM, MEPM, PAMP と同等で, BIPM より 2 管優れていた。*E. coli* 53 株に対する本薬剤の MIC<sub>90</sub> は, 0.1 μg/mL であり, MEPM より 2 管劣っていたが, PAMP より 1 管, IPM, BIPM より 2 管優れていた。*K. pneumoniae* 52 株に対する本薬剤の MIC<sub>90</sub> は, 0.2 μg/mL であり, MEPM より 1 管, IPM, BIPM, PAMP より 2 管優れており, 比較薬剤中最も優れていた。*P. vulgaris* 54 株に対する本薬剤の MIC<sub>90</sub> は, 6.25 μg/mL であり, MEPM より 3 管劣っていたが, IPM, BIPM, PAMP より 1 管優れていた。*M. Morganii* 47 株に対する本薬剤の MIC<sub>90</sub> は, 0.39 μg/mL であり, MEPM より 2 管劣っていたが, BIPM および PAMP より 2 管, IPM より 3 管優れていた。*E. cloacae* 50 株に対する本薬剤の MIC<sub>90</sub> は, 1.56 μg/mL であり, MEPM より 2 管劣っていたが, BIPM より 1 管優れており, IPM および PAMP と同等であった。*S. marcescens* 50 株に対する本薬剤の MIC<sub>90</sub> は, 6.25

Table 1. Antibacterial activity of DRPM and reference antibiotics against gram-positive clinical isolates

Organism				
( No. of strains )	Drug	Range	50%	90%
<i>Staphylococcus aureus</i> ( MSSA ) 40	DRPM ( S-4661 )	0.025-0.1	0.05	0.1
	Imipenem	0.013-0.05	0.025	0.025
	Meropenem	0.1-0.2	0.1	0.2
	Biapenem	0.05-0.2	0.1	0.1
	Panipenem	0.025-0.05	0.05	0.05
	Methicillin	1.56-3.13	3.13	3.13
methicillin-resistant <i>S. aureus</i> ( MRSA ) 64	DRPM ( S-4661 )	0.2-50	25	50
	Imipenem	0.2-100	50	100
	Meropenem	0.2-50	25	50
	Biapenem	0.2-100	50	100
	Panipenem	0.2-100	25	50
	Methicillin	0.2- > 100	> 100	> 100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 54	DRPM ( S-4661 )	0.013-50	3.13	25
	Imipenem	0.006-50	0.39	50
	Meropenem	0.05-50	6.25	50
	Biapenem	0.025-100	3.13	50
	Panipenem	0.013-50	0.78	25
	Methicillin	1.56- > 100	25	> 100
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> 54	DRPM ( S-4661 )	0.05-50	0.78	25
	Imipenem	0.013-100	0.1	50
	Meropenem	0.1-100	1.56	50
	Biapenem	0.05- > 100	1.56	50
	Panipenem	0.025-100	0.2	50
	Methicillin	1.56- > 100	6.25	> 100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> 40	DRPM ( S-4661 )	0.006-0.39	0.013	0.2
	Imipenem	0.006-0.2	0.006	0.1
	Meropenem	0.006-0.39	0.025	0.2
	Biapenem	0.006-0.39	0.013	0.2
	Panipenem	0.006-0.1	0.006	0.05
	Penicillin G	0.006-3.13	0.05	1.56
<i>Streptococcus pyogenes</i> 41	DRPM ( S-4661 )	0.006-0.025	0.006	0.006
	Imipenem	0.006-0.025	0.006	0.006
	Meropenem	0.006-0.1	0.006	0.006
	Biapenem	0.006-0.1	0.006	0.006
	Panipenem	0.006-0.025	0.006	0.006
	Penicillin G	0.006-0.013	0.006	0.013
<i>Enterococcus faecalis</i> 39	DRPM ( S-4661 )	0.2-6.25	6.25	6.25
	Imipenem	0.2-3.13	0.78	1.56
	Meropenem	0.2-12.5	6.25	12.5
	Biapenem	0.2-12.5	6.25	12.5
	Panipenem	0.2-3.13	1.56	1.56
<i>Enterococcus faecium</i> 41	DRPM ( S-4661 )	0.78- > 100	> 100	> 100
	Imipenem	0.39- > 100	> 100	> 100
	Meropenem	1.56- > 100	> 100	> 100
	Biapenem	0.78- > 100	> 100	> 100
	Panipenem	0.2- > 100	> 100	> 100
<i>Moraxella catarrhalis</i> 19	DRPM ( S-4661 )	0.006-0.025	0.013	0.025
	Imipenem	0.006-0.1	0.05	0.1
	Meropenem	0.006- 0.006	0.006	0.006
	Biapenem	0.013-0.05	0.05	0.05
	Panipenem	0.006-0.05	0.25	0.025

( Continue )

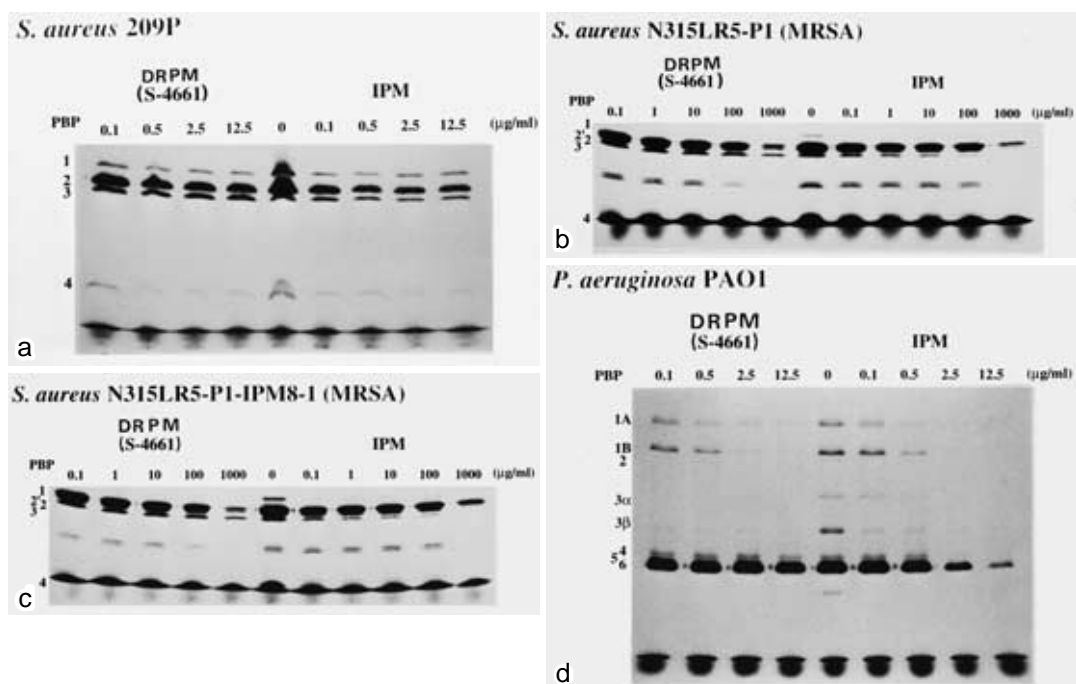
(No. of strains)	Drug	Range	50%	90%
<i>Haemophilus influenzae</i> 54	DRPM ( S-4661 )	0.05-1.56	0.78	1.56
	Imipenem	0.05-6.25	1.56	1.56
	Meropenem	0.05-1.56	1.56	1.56
	Biapenem	0.1-12.5	0.78	6.25
	Panipenem	0.1-6.25	0.78	1.56
<i>Escherichia coli</i> 53	DRPM ( S-4661 )	0.013-6.25	0.025	0.1
	Imipenem	0.025-6.25	0.2	0.39
	Meropenem	0.006-6.25	0.025	0.025
	Biapenem	0.013-6.25	0.05	0.39
	Panipenem	0.05-12.5	0.1	0.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 52	DRPM ( S-4661 )	0.0125-0.39	0.1	0.2
	Imipenem	0.1-1.56	0.2	0.78
	Meropenem	0.025-0.39	0.1	0.39
	Biapenem	0.05-3.13	0.2	0.78
	Panipenem	0.05-0.78	0.2	0.78
<i>Proteus vulgaris</i> 54	DRPM ( S-4661 )	0.2-12.5	0.78	6.25
	Imipenem	0.2-50	3.13	12.5
	Meropenem	0.06-1.56	0.2	0.78
	Biapenem	0.1-25	6.25	12.5
	Panipenem	0.2-50	3.13	12.5
<i>Morganella morganii</i> 47	DRPM ( S-4661 )	0.006-0.39	0.1	0.39
	Imipenem	0.025-3.13	1.56	3.13
	Meropenem	0.78-3.13	0.1	0.1
	Biapenem	0.025-3.13	0.78	1.56
	Panipenem	0.025-1.56	0.78	1.56
<i>Enterobacter cloacae</i> 50	DRPM ( S-4661 )	0.05-6.25	0.2	1.56
	Imipenem	0.1-3.13	0.39	1.56
	Meropenem	0.025-3.13	0.1	0.39
	Biapenem	0.05-6.25	0.39	3.13
	Panipenem	0.1-6.25	0.39	1.56
<i>Serratia marcescens</i> 50	DRPM ( S-4661 )	0.05-25	0.1	6.25
	Imipenem	0.2-12.5	0.39	1.56
	Meropenem	0.025-25	0.05	6.25
	Biapenem	0.05-25	0.78	6.25
	Panipenem	0.2-25	0.39	6.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 53	DRPM ( S-4661 )	0.05- > 100	0.39	12.5
	Imipenem	0.39-50	1.56	6.25
	Meropenem	0.1- > 100	0.78	12.5
	Biapenem	0.1-100	0.78	6.25
	Panipenem	0.2-50	3.13	25

$\mu\text{g}/\text{mL}$ であり, IPMより2管劣るもののMEPM, BIPM, PAPMと同等であった。*P. aeruginosa* 53株に対する本薬剤のMIC<sub>90</sub>は, 12.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり, IPM, BIPMより1管劣るものの, MEPMと同等であり, PAPMより1管優れていた。

## 2. DRPMのペニシリン結合蛋白に対する親和性

感受性の黄色ブドウ球菌, ヘテロ耐性およびホモ耐性黄色ブドウ球菌, および緑膿菌の主要PBP<sub>s</sub>に対する結合親和性の強さをデンストメーターで測定した。薬剤を作用させていないコントロールのバンドのintensityを100%とした時, 各バンドのintensityをコントロールに対する比率(%)で表すと, *S. aureus* 209PのPBP<sub>3</sub>対

するintensityは, IPM 0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 添加時, コントロールの44%に低下したのに対し, DRPM 12.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 添加しても, コントロールの69.0%に低下しただけであった。PBP<sub>2</sub>に対しても, 12.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 添加した時, DRPMではコントロールの64%であったのに対し, IPMはコントロールの39.4%に低下しており, Fig. 1aのごとくPBP<sub>2</sub>および3に対するDRPMの結合親和性は, IPMより低かった。ヘテロ耐性のMRSAである*S. aureus* N315LR5-P1株のPBP<sub>3</sub>に対する親和性は, DRPM 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 添加した時, コントロールの59.0%に低下したのに対し, IPM 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 添加した時では, 3.6%でありIPMのほうがより強い親和性を示した。IMP 1,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 添加時



DRPM: doripenem, IPM: imipenem

a: *S. aureus* 209P, b: *S. aureus* N315LR5-P1 ( MRSA ) c: *S. aureus* N315LR5-P1-IPM8-1 ( MRSA )

d: *P. aeruginosa* PAO1

Fig. 1. Competition of doripenem and imipenem for penicillin binding proteins.

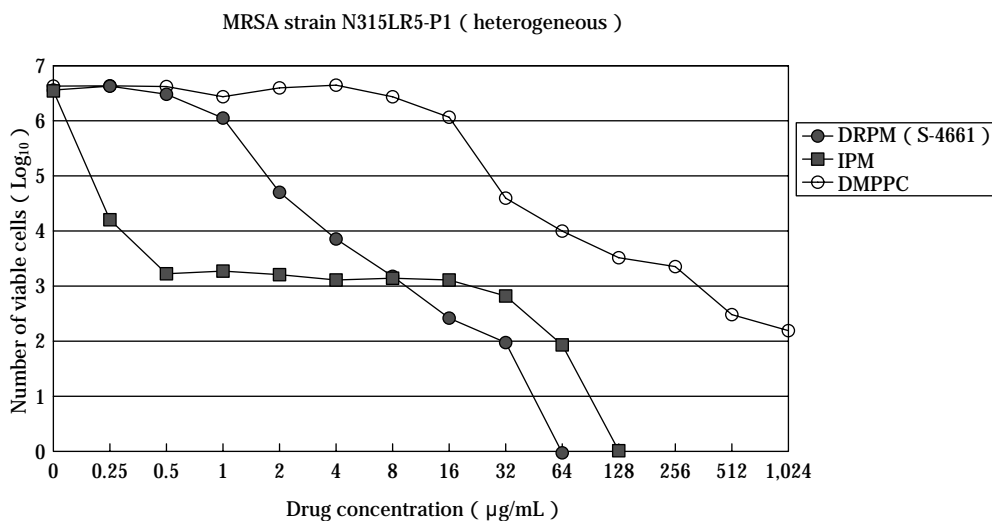


Fig. 2. Population analysis of heterogeneous MRSA.

では, PBP2 および 3 のバンドが消失するのに対し, DRPM 1,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  添加では消失しない。しかし, PBP 2 'の intensity を測定すると, DRPM ではコントロールの 20.5% ,IPM では 24.9% であったことから ,PBP2 'に対する結合親和性は DRPM のほうが若干強かった( Fig. 1b )。ホモ耐性の MRSA である *S. aureus* N315LR5-P1-IPM8-1 株の PBP s に対する本薬剤の親和性も PBP2 および 3 に対して IPM より低かった。IMP 1,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  添加時で

は, PBP2 および 3 のバンドは消失するのに対し, DRPM 1,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  添加しても PBP2 ' , 2 および 3 のバンドが残った。しかし, PBP2 'については DRPM でコントロールの 18.5% に低下したのに対し, IPM では 47.2% であり, DRPM のほうが強い親和性を示した( Fig. 1c )。

カルバペネムの *P. aeruginosa* PAO1 の PBP s に対する結合親和性は, PBP3 $\alpha$  ,  $\beta$  , 1A および 2B の順番に強く結合した。DRPM 0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  PBP3 $\beta$  のバンドの inten-

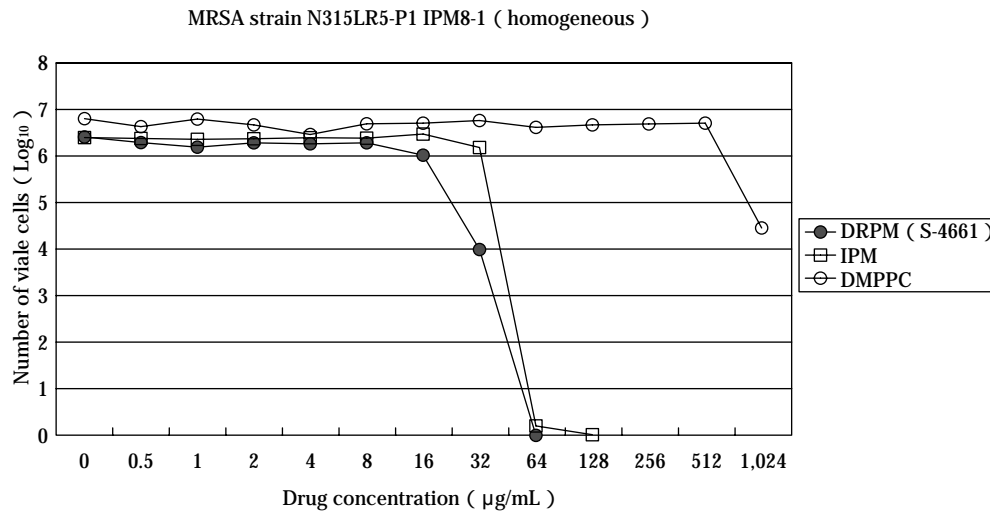


Fig. 3. Population analysis of homogeneous MRSA.

sity は、コントロールの 0.1% であったのに対し、IPM 0.1 µg/mL では 2.9% であり、IPM より若干高い親和性を示した (Fig. 1d)。

### 3. ヘテロ耐性 MRSA およびホモ耐性 MRSA に対するポピュレーション解析

DRPM のヘテロ耐性 MRSA である N315LR5P-1 株およびホモ耐性 MRSA である N315LR5P-1-IPM8-1 株に対するポピュレーション解析のパターンを Figs. 2, 3 に示す。N315LR5-P1 株において 4 µg/mL 以下の低濃度では IPM のほうが抗菌力が強かったが、16 µg/mL 以上の高濃度では、DRPM のほうが IPM よりも生菌数が低く推移し、DRPM 64 µg/mL ですべての菌を阻止し、IPM より 1 管優れていた。ホモ耐性 MRSA である N315LR5-P1-IPM8-1 株に対しても、DRPM は 64 µg/mL で接種したすべての菌の生育を阻止し、IPM および DMPPC より優れていた。

### III. 考 察

DRPM の抗菌特性は、グラム陽性菌に対して IPM に次ぐ抗菌力を、グラム陰性菌に対しては MEPM に次ぐ抗菌力をもつことでグラム陽性菌では、MEPM より、グラム陰性菌では、IPM より優れた抗菌力をもつことになり、既存の carbapenem 系抗菌薬の中では最もバランスのとれた広域スペクトルの抗菌薬と考えられる。β ラクタム薬は、黄色ブドウ球菌の PBP1, PBP2 および PBP3 に対する親和性が高く、それらに結合することにより、細胞壁の合成が阻害され、感受性菌を死に至らしめる<sup>8)</sup>。DRPM の感受性黄色ブドウ球菌に対する MIC が IPM より劣っている理由としては、感受性の黄色ブドウ球菌である *S. aureus* 209P の PBP2 および PBP3 に対し、IPM より親和性が低下していたからと考えられた。ヘテロ耐性 MRSA のポピュレーション解析においても、4 µg/mL 以下の感受性株において IPM のほうが強い抗菌力を示したのは、PBP2 および PBP3 に対する結合親和性が

DRPM より優れていたからと示唆された。一方、耐性の MRSA では、PBP2 'に対する結合親和性によって抗菌活性が示される。DRPM は、PBP2 および PBP3 に対する結合親和性は、IPM より劣るものの、PBP2 'に対しては、デントメーターの測定結果から IPM よりも優れていることが示された。ヘテロ耐性株において、32 µg/mL 以上の耐性では DRPM のほうが強い抗菌力を示したのは、PBP2 'への結合親和性が若干 IPM より優れていたからと推測された。また、ホモ耐性の MRSA においても同様に PBP2 'に対する結合親和性が IPM より優れていたため、DRPM のほうが優れた抗菌力を示したと思われる。

*P. aeruginosa* PAO1 の PBP3 $\alpha$ ,  $\beta$  に対する親和性が高く、この PBP のバンドパターンは、われわれが以前行った BIPM の PBP パターンと非常に酷似した結果であった<sup>9)</sup>。生方らは、緑膿菌の PBP3 と PBP1B + PBP4 に、より強い親和性のみられる薬剤が抗菌活性を強めると報告している<sup>10)</sup>。本薬剤の緑膿菌に対する抗菌活性は、PBP への強い結合親和性によって、BIPM および MEPM と同程度の抗菌力を示すことが示唆された。

また、本薬剤は尿路感染症の原因菌<sup>11)</sup>や、呼吸器感染症の原因菌<sup>12)</sup>に良好な抗菌力を示しているという報告もあり、臨床に期待できる薬剤であると思われ、今後臨床での使用に期待できる薬剤であると思われた。

### 謝 辞

本研究に当たり、ご協力いただきました元順天堂大学医学部細菌学講師 (現北里研究所抗感染症薬研究センター) 花木秀明博士、および元助手の堀典子氏、佐々木和美氏、元研究生の稲葉陽子氏に感謝いたします。

### 文 献

- 1) Iso Y, Irie T, Nishino Y, et al: A novel 1B-methylcarbapenem antibiotic, S-4661 Synthesis and structure-activity relationships of 2-(5-substituted pyrrolidin-3-ylthio)-1 $\beta$ -methylcarbapenems. *J Antibiotics* 49:199 ~

- 209, 1996
- 2) Iso Y, Irie T, Iwaki T, et al: Synthesis and modification of a novel 1 $\beta$ -Methyl carbapenem antibiotic, S-4661. *J Antibiotics* 49: 478 ~ 484, 1996
  - 3) Kahan J S, Kahan F M, Geggelman R, et al: Thienamycin, a new beta-lactam antibiotic I. Discovery, taxonomy, isolation, and physical properties. *J Antibiot* 32: 1 ~ 12, 1979
  - 4) Shimada J, Kawahara Y: Overview of a new carbapenem, panipenem/betamipron. *Drugs Exp Clin Res* 20: 241 ~ 245, 1994
  - 5) Asada K, Inaba Y, Tateda-Suzuki E, et al: Evolution and resistance expression of MRSA. Evaluation of beta-lactam antibiotics against a set of isogenic strains with different types of phenotypic expression. *Acta Biochim Pol* 42: 517 ~ 524, 1995
  - 6) 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
  - 7) Spratt R G: Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation and shape of *Escherichia coli* K12. *proc natl Acad Sci USA* 72: 2999 ~ 3003, 1975
  - 8) Chambers H: Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clinical Microb Review*: 781 ~ 791, 1977
  - 9) 桑原京子 横田 健：Biapenem の細菌学的研究。 *Chemotherapy* 42 ( Suppl 4 ) 26 ~ 36, 1994
  - 10) 生方公子, 千葉菜穂子, 小林玲子, 他：緑膿菌に対する biapenem, meropenem, および ceftazidime の抗菌作用の比較。 *Chemotherapy* 50: 1 ~ 10, 2002
  - 11) Nomura S, Nagayama A: *In Vitro* antibacterial activity of S-4661, a new parenteral carbapenem, against urological pathogens isolated from patients with complicated urinary tract infections. *J Chemother* 14: 155 ~ 160, 2002
  - 12) Watanabe A, Takahashi H, Kikuchi T, et al: Comparative *in vitro* activity of S-4661, a new parental carbapenem, and other antimicrobial agents against respiratory pathogens. *Chemotherapy* 46: 187 ~ 187, 2000

### *In vitro* activity of doripenem against gram-positive and gram-negative bacteria isolates

Kyoko Kuwahara-Arai and Keiichi Hiramatsu

Department of Bacteriology, School of Medicine, Juntendo University,  
2-1-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan

The 90% minimum inhibitory concentrations ( MIC<sub>90</sub> ) of the new 1-methylcarbapenem ( DRPM ( Shionogi & Co., Ltd., Osaka ) ) against clinical isolates of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* ( MSSA ) methicillin-resistant *S. aureus* ( MRSA ), *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* were 0.1, 50, 25, 25, 0.2, 0.006, 6.25, > 100, 0.025, 1.56, 0.1, 0.2, 6.25, 0.39, 1.56, 6.25, and 12.5  $\mu$ g/mL, DRPM showed well-balanced activity against both gram-positive and gram-negative bacteria.

The PBPs binding inhibitory pattern of DRPM against MSSA and MRSA was almost the same as that of imipenem. Below 4  $\mu$ g/mL concentrations, IPM manifested antibiotic activity against *S. aureus*, stronger than that of DRPM.

DRPM exhibited higher binding affinity than imipenem to PBPs 3 $\alpha$ ,  $\beta$  of *P. aeruginosa*.