

Doripenem の細菌学的検討

辻 雅克・古谷 信彦・松本 哲哉・石井 良和
大野 章・館田 一博・宮崎 修一・山口 恵三

東邦大学医学部微生物学講座*

(平成 17 年 1 月 11 日受付・平成 17 年 3 月 2 日受理)

新しいカルバペナム系抗菌薬 doripenem(DRPM , S-4661)の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力について , imipenem(IPM) , panipenem(PAMP) , meropenem(MEPM) , biapenem(BIPM) , cefpirome(CPR) , ceftazidime (CAZ) あるいは cefotaxime (CTX) を比較薬として検討した。

臨床分離株 methicillin-susceptible *Staphylococcus* 属や penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* などのグラム陽性菌 , *Escherichia coli* や *Enterobacter cloacae* などのグラム陰性の腸内細菌 , *Moraxella catarrhalis* , *Haemophilus influenzae* , *Bordetella pertussis* などに対し , DRPM は強い抗菌力を示し , MIC₉₀ は 1 μg/mL 以下であった。 *Pseudomonas aeruginosa* に対する抗菌力は DRPM が最も強く , 特に IPM 耐性 *P. aeruginosa* に対しても他のカルバペナムに比べて強かった。

Staphylococcus aureus Smith , *E. coli* C-11 および ceftazidime-resistant *P. aeruginosa* TUH302 を用いたマウス全身感染や penicillin-resistant *S. pneumoniae* TUH741 あるいは β-lactamase 産生 *H. influenzae* TUH36 を用いたマウス呼吸器感染モデルにおいて , DRPM は IPM-cilastatin (CS) や MEPM-CS と同程度の良好な治療効果を示した。以上の *in vitro* , *in vivo* 成績から , DRPM の臨床での有効性が期待された。

Key words: doripenem , antibacterial activity , carbapenem , animal model , pharmacokinetic

Doripenem(DRPM , 治験薬番号 : S-4661)は塩野義製薬研究所で合成された新しい carbapenem 系抗菌薬で , 構造上 3 位に methyl 基と 4 位に sulfamoylaminomethyl 置換 pyrrolidinylthio 基を有している (Fig. 1)。今回 , われわれは DRPM の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用について imipenem (IPM) , panipenem(PAMP) , meropenem(MEPM) , biapenem (BIPM) , cefpirome(CPR) , ceftazidime (CAZ) あるいは cefotaxime(CTX)を対照薬として比較検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 使用抗菌薬

DRPM(塩野義製薬) , IPM(萬有製薬) , PAMP(三共) , MEPM (住友製薬) , BIPM (日本レダリー) , CPR (ヘキスト) , CTX (ヘキスト) , CAZ(日本グラクソ) , gentamicin(GM , シェーリングプラウ) , penicillin(PC , 明治製薬) , ciprofloxacin (CPFX , バイエル) および , cilastatin (CS , 萬有製薬) のいずれも力価の明らかな標準品を使用した。なお , IPM および MEPM はマウスの dehydroxypeptidase-I (DHP-I) に対して不安定であるので¹⁾ , 感染治療実験で動物へ投与する際 , CS を等量混合した。この場合 , IPM-CS , MEPM-CS と表記した。DRPM は *P. aeruginosa* E7 を用いた感染治療実験には CS を併用したが , これ以外の全身感染 , 局所感染モデルにおいては

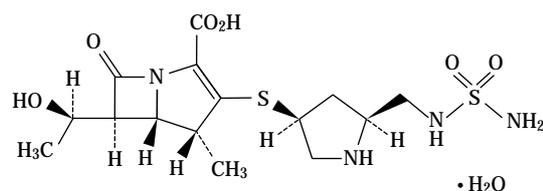


Fig. 1. Chemical structure of doripenem.

単独投与した。

2. 使用菌株

感受性測定には , 1989 ~ 1995 年に臨床材料から分離した教室保存の methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) 30 株 , methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) 30 株 , methicillin-susceptible *Staphylococcus epidermidis* (MSSE) 46 株 , methicillin-resistant *S. epidermidis* (MRSE) 27 株 , *Streptococcus pyogenes* 42 株 , penicillin-susceptible *Streptococcus pneumoniae* 25 株 , penicillin-resistant *S. pneumoniae* 25 株 , *Streptococcus agalactiae* 32 株 , *Enterococcus faecalis* 26 株 , *Enterococcus faecium* 25 株 , *Escherichia coli* 30 株 , *Klebsiella pneumoniae* 30 株 , *Klebsiella oxytoca* 38 株 , *Proteus mirabilis* 27 株 , *Proteus vulgaris* 30 株 , *Providencia*

Table 1. *In vitro* activity of doripenem and other agents against clinical isolates

| Organism (no. of isolates) | Drug | MIC ($\mu\text{g/mL}$) ^{a)} | | |
|---|-------------|--|-------------------|-------------------|
| | | Range | 50% ^{b)} | 90% ^{b)} |
| <i>Staphylococcus aureus</i> Methicillin-susceptible strains (30) | Doripenem | 0.032-0.125 | 0.063 | 0.063 |
| | Imipenem | 0.016-0.032 | 0.032 | 0.032 |
| | Panipenem | 0.032-0.063 | 0.032 | 0.032 |
| | Meropenem | 0.063-0.125 | 0.125 | 0.125 |
| | Biapenem | 0.063-0.125 | 0.125 | 0.125 |
| | Cefpirome | 0.25-1 | 1 | 1 |
| | Ceftazidime | 8-16 | 16 | 16 |
| Methicillin-resistant strains (30) | Doripenem | 4-32 | 16 | 16 |
| | Imipenem | 1-64 | 32 | 32 |
| | Panipenem | 1-32 | 16 | 32 |
| | Meropenem | 8-32 | 16 | 32 |
| | Biapenem | 2-32 | 32 | 64 |
| | Cefpirome | 8-64 | 32 | 64 |
| | Ceftazidime | 32- > 128 | 128 | > 128 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> Methicillin-susceptible strains (46) | Doripenem | 0.032-0.125 | 0.032 | 0.063 |
| | Imipenem | 0.008-0.032 | 0.016 | 0.016 |
| | Panipenem | 0.016-0.063 | 0.016 | 0.032 |
| | Meropenem | 0.063-0.125 | 0.125 | 0.125 |
| | Biapenem | 0.032-0.125 | 0.063 | 0.125 |
| | Cefpirome | 0.125-1 | 0.5 | 0.5 |
| | Ceftazidime | 4-16 | 8 | 8 |
| Methicillin-resistant strains (27) | Doripenem | 8-32 | 16 | 32 |
| | Imipenem | 8-128 | 64 | 128 |
| | Panipenem | 8-64 | 32 | 64 |
| | Meropenem | 8-64 | 32 | 64 |
| | Biapenem | 8-64 | 64 | 128 |
| | Cefpirome | 4-64 | 32 | 64 |
| | Ceftazidime | 16- > 128 | 64 | > 128 |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> (42) | Doripenem | < 0.004 | < 0.004 | < 0.004 |
| | Imipenem | < 0.004-0.008 | < 0.004 | 0.008 |
| | Panipenem | < 0.004-0.008 | < 0.004 | 0.008 |
| | Meropenem | < 0.004-0.008 | 0.008 | 0.008 |
| | Biapenem | < 0.004-0.01 | 0.008 | 0.008 |
| | Cefpirome | 0.008-0.016 | 0.008 | 0.008 |
| | Ceftazidime | 0.125-0.25 | 0.125 | 0.25 |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> Penicillin-susceptible strains (25) | Doripenem | 0.004-0.016 | 0.008 | 0.008 |
| | Imipenem | 0.004-0.008 | 0.008 | 0.008 |
| | Panipenem | < 0.004 | < 0.004 | < 0.004 |
| | Meropenem | 0.008-0.016 | 0.008 | 0.016 |
| | Biapenem | 0.008-0.016 | 0.008 | 0.016 |
| | Cefpirome | 0.008-0.125 | 0.032 | 0.125 |
| | Ceftazidime | 0.125-16 | 0.5 | 2 |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> Penicillin-resistant strains (25) | Doripenem | 0.016-2 | 0.25 | 0.5 |
| | Imipenem | 0.008-2 | 0.25 | 0.25 |
| | Panipenem | 0.004-2 | 0.063 | 0.125 |
| | Meropenem | 0.016-2 | 0.25 | 0.5 |
| | Biapenem | 0.016-4 | 0.25 | 0.5 |
| | Cefpirome | 0.032-2 | 0.5 | 0.5 |
| | Ceftazidime | 0.125-32 | 8 | 32 |

Table 1. continued

| Organism (no. of isolates) | Drug | MIC ($\mu\text{g/mL}$) | | |
|--|-------------|--------------------------|-------|-------|
| | | Range | 50% | 90% |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> (32) | Doripenem | 0.016-0.032 | 0.016 | 0.032 |
| | Imipenem | 0.016-0.032 | 0.016 | 0.016 |
| | Panipenem | 0.016-0.032 | 0.016 | 0.016 |
| | Meropenem | 0.016-0.063 | 0.032 | 0.063 |
| | Biapenem | 0.016-0.032 | 0.032 | 0.032 |
| | Cefpirome | 0.032-0.063 | 0.063 | 0.063 |
| | Ceftazidime | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> (26) | Doripenem | 0.5-16 | 2 | 4 |
| | Imipenem | 0.25-8 | 1 | 1 |
| | Panipenem | 0.25-8 | 1 | 2 |
| | Meropenem | 1-64 | 4 | 8 |
| | Biapenem | 1-32 | 4 | 8 |
| | Cefpirome | 2-128 | 8 | 32 |
| | Ceftazidime | > 128 | > 128 | > 128 |
| <i>Enterococcus faecium</i> (25) | Doripenem | 0.5- > 128 | 128 | > 128 |
| | Imipenem | 0.5- > 256 | 128 | > 128 |
| | Panipenem | 0.25- > 128 | 128 | > 128 |
| | Meropenem | 1- > 128 | 128 | > 128 |
| | Biapenem | 1- > 128 | > 128 | > 128 |
| | Cefpirome | 1- > 128 | > 128 | > 128 |
| | Ceftazidime | 32- > 128 | > 128 | > 128 |
| <i>Escherihia coli</i> (30) | Doripenem | 0.016-0.032 | 0.016 | 0.032 |
| | Imipenem | 0.063-0.25 | 0.125 | 0.125 |
| | Panipenem | 0.063-0.125 | 0.125 | 0.125 |
| | Meropenem | 0.016-0.032 | 0.016 | 0.016 |
| | Biapenem | 0.032-0.063 | 0.032 | 0.063 |
| | Cefpirome | 0.016-0.125 | 0.032 | 0.063 |
| | Ceftazidime | 0.063-1 | 0.25 | 0.25 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> (30) | Doripenem | 0.032-0.125 | 0.032 | 0.063 |
| | Imipenem | 0.063-0.25 | 0.125 | 0.25 |
| | Panipenem | 0.063-0.25 | 0.125 | 0.25 |
| | Meropenem | 0.032 | 0.032 | 0.032 |
| | Biapenem | 0.032-0.25 | 0.063 | 0.125 |
| | Cefpirome | 0.032-0.125 | 0.032 | 0.063 |
| | Ceftazidime | 0.063-0.5 | 0.125 | 0.25 |
| <i>Klebseilla oxytoca</i> (38) | Doripenem | 0.032-0.063 | 0.063 | 0.063 |
| | Imipenem | 0.125-0.5 | 0.25 | 0.5 |
| | Panipenem | 0.125-0.5 | 0.125 | 0.5 |
| | Meropenem | 0.032 | 0.032 | 0.032 |
| | Biapenem | 0.032-1 | 0.125 | 0.5 |
| | Cefpirome | 0.008-0.125 | 0.032 | 0.063 |
| | Ceftazidime | 0.032-0.5 | 0.125 | 0.25 |
| <i>Proteus mirabilis</i> (27) | Doripenem | 0.063-1 | 0.25 | 0.5 |
| | Imipenem | 0.25-8 | 2 | 4 |
| | Panipenem | 0.25-4 | 2 | 2 |
| | Meropenem | 0.032-0.5 | 0.063 | 0.125 |
| | Biapenem | 0.25-8 | 2 | 2 |
| | Cefpirome | 0.063-0.125 | 0.125 | 0.125 |
| | Ceftazidime | 0.032-0.125 | 0.063 | 0.125 |

Table 1. Continued

| Organism (no. of isolates) | Drug | MIC ($\mu\text{g/mL}$) | | |
|------------------------------------|-------------|--------------------------|-------|-------|
| | | Range | 50% | 90% |
| <i>Proteus vulgaris</i> (30) | Doripenem | 0.063-0.5 | 0.25 | 0.5 |
| | Imipenem | 0.25-8 | 2 | 4 |
| | Panipenem | 0.25-4 | 1 | 2 |
| | Meropenem | 0.032-0.25 | 0.125 | 0.125 |
| | Biapenem | 0.063-8 | 1 | 4 |
| | Cefpirome | 0.063-8 | 0.25 | 1 |
| | Ceftazidime | 0.032-8 | 0.063 | 0.125 |
| <i>Providencia rettgeri</i> (21) | Doripenem | 0.063-1 | 0.125 | 0.25 |
| | Imipenem | 0.5-2 | 1 | 1 |
| | Panipenem | 0.25-4 | 0.5 | 0.5 |
| | Meropenem | 0.032-1 | 0.063 | 0.125 |
| | Biapenem | 0.25-2 | 0.5 | 1 |
| | Cefpirome | 0.008-8 | 0.063 | 0.5 |
| | Ceftazidime | 0.032-8 | 0.125 | 4 |
| <i>Morganella morganii</i> (32) | Doripenem | 0.063-0.5 | 0.125 | 0.25 |
| | Imipenem | 0.5-4 | 2 | 2 |
| | Panipenem | 0.5-2 | 1 | 2 |
| | Meropenem | 0.063-0.125 | 0.063 | 0.063 |
| | Biapenem | 0.125-2 | 0.5 | 1 |
| | Cefpirome | 0.016-0.5 | 0.032 | 0.125 |
| | Ceftazidime | 0.032-128 | 0.063 | 2 |
| <i>Citrobacter freundii</i> (22) | Doripenem | 0.032-0.125 | 0.032 | 0.063 |
| | Imipenem | 0.25-1 | 0.25 | 0.5 |
| | Panipenem | 0.125-0.5 | 0.125 | 0.25 |
| | Meropenem | 0.016-0.063 | 0.032 | 0.032 |
| | Biapenem | 0.063-1 | 0.063 | 0.125 |
| | Cefpirome | 0.016-1 | 0.032 | 0.063 |
| | Ceftazidime | 0.25-128 | 0.5 | 1 |
| <i>Enterobacter cloacae</i> (30) | Doripenem | 0.032-0.125 | 0.032 | 0.063 |
| | Imipenem | 0.125-1 | 0.25 | 0.5 |
| | Panipenem | 0.063-1 | 0.125 | 0.5 |
| | Meropenem | 0.016-0.125 | 0.032 | 0.063 |
| | Biapenem | 0.032-0.5 | 0.063 | 0.125 |
| | Cefpirome | 0.016-4 | 0.063 | 4 |
| | Ceftazidime | 0.063- > 128 | 0.25 | 128 |
| <i>Serratia marcescens</i> (30) | Doripenem | 0.063-4 | 0.125 | 0.25 |
| | Imipenem | 0.25-2 | 0.25 | 1 |
| | Panipenem | 0.25-8 | 0.25 | 0.5 |
| | Meropenem | 0.032-8 | 0.063 | 0.125 |
| | Biapenem | 0.125-8 | 0.25 | 1 |
| | Cefpirome | 0.032-32 | 0.063 | 0.5 |
| | Ceftazidime | 0.125-128 | 0.125 | 0.5 |
| <i>Acinetobacter</i> spp. (27) | Doripenem | 0.125-4 | 0.25 | 2 |
| | Imipenem | 0.125-8 | 0.25 | 1 |
| | Panipenem | 0.063-4 | 0.25 | 2 |
| | Meropenem | 0.125-2 | 0.25 | 1 |
| | Biapenem | 0.125-4 | 0.25 | 4 |
| | Cefpirome | 0.5- > 128 | 4 | 64 |
| | Ceftazidime | 2- > 128 | 4 | 32 |

Table 1. Continued

| Organism (no. of isolates) | Drug | MIC ($\mu\text{g/mL}$) | | |
|---|-------------|--------------------------|---------|---------|
| | | Range | 50% | 90% |
| <i>Alcaligenes denitrificans</i> subsp. <i>xylosoxydans</i> (32) | Doripenem | 0.063-128 | 1 | 64 |
| | Imipenem | 0.25-64 | 2 | 16 |
| | Panipenem | 0.125- > 128 | 2 | 128 |
| | Meropenem | 0.063-128 | 0.25 | 32 |
| | Biapenem | 0.25- > 128 | 2 | 64 |
| | Cefpirome | 8- > 128 | > 128 | > 128 |
| | Ceftazidime | 2- > 128 | 8 | 128 |
| <i>Moraxella catarrhalis</i> (46) | Doripenem | 0.008-0.032 | 0.016 | 0.032 |
| | Imipenem | 0.008-0.125 | 0.063 | 0.125 |
| | Panipenem | < 0.004-0.032 | 0.016 | 0.032 |
| | Meropenem | < 0.004-0.008 | < 0.004 | < 0.004 |
| | Biapenem | 0.016-0.063 | 0.063 | 0.063 |
| | Cefpirome | 0.125-2 | 1 | 2 |
| | Ceftazidime | 0.032-0.25 | 0.125 | 0.25 |
| <i>Haemophilus influenzae</i> (50) | Doripenem | 0.032-1 | 0.125 | 0.5 |
| | Imipenem | 0.25-16 | 1 | 4 |
| | Panipenem | 0.125-8 | 0.5 | 2 |
| | Meropenem | 0.032-0.5 | 0.063 | 0.25 |
| | Biapenem | 0.25-16 | 1 | 4 |
| | Cefpirome | 0.016-0.125 | 0.063 | 0.125 |
| | Ceftazidime | 0.063-0.25 | 0.125 | 0.25 |
| <i>Bordetella pertussis</i> (52) | Doripenem | 0.25-0.5 | 0.25 | 0.5 |
| | Imipenem | 0.25-4 | 1 | 1 |
| | Panipenem | 0.25-1 | 0.5 | 1 |
| | Meropenem | 0.125-0.25 | 0.125 | 0.25 |
| | Biapenem | 0.5-8 | 2 | 4 |
| | Cefpirome | 0.25-0.5 | 0.5 | 0.5 |
| | Ceftazidime | 0.125-0.5 | 0.25 | 0.25 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Imipenem-susceptible strain (83) | Doripenem | 0.063-8 | 0.25 | 2 |
| | Imipenem | 0.25-8 | 1 | 8 |
| | Panipenem | 0.25-32 | 4 | 16 |
| | Meropenem | 0.032-8 | 0.25 | 2 |
| | Biapenem | 0.125-8 | 0.5 | 4 |
| | Cefpirome | 2- > 128 | 8 | 32 |
| | Ceftazidime | 0.5-128 | 2 | 32 |
| Imipenem-resistant strain (32) | Doripenem | 2-16 | 8 | 8 |
| | Imipenem | 16-32 | 16 | 32 |
| | Panipenem | 16-64 | 32 | 32 |
| | Meropenem | 2-32 | 8 | 16 |
| | Biapenem | 8-32 | 16 | 32 |
| | Cefpirome | 8-64 | 32 | 64 |
| | Ceftazidime | 1-64 | 32 | 64 |
| Ceftazidime-resistant strain (39) | Doripenem | 0.063-16 | 2 | 8 |
| | Imipenem | 0.5-32 | 8 | 16 |
| | Panipenem | 1-64 | 16 | 32 |
| | Meropenem | 0.063-32 | 4 | 16 |
| | Biapenem | 0.25-32 | 8 | 32 |
| | Cefpirome | 32- > 256 | 64 | 64 |
| | Ceftazidime | 32-128 | 32 | 128 |

Table 1. Continued

| Organism (no. of isolates) | Drug | MIC (µg/mL) | | |
|---|---------------|-------------|-------|-------|
| | | Range | 50% | 90% |
| Ciprofloxacin-resistant strain (16) | Doripenem | 0.125-8 | 0.5 | 8 |
| | Imipenem | 0.25-32 | 1 | 32 |
| | Panipenem | 0.25-64 | 4 | 32 |
| | Meropenem | 0.25-16 | 0.5 | 8 |
| | Biapenem | 0.25-32 | 0.5 | 32 |
| | Cefpirome | 2- > 128 | 16 | > 128 |
| | Ceftazidime | 0.5-128 | 8 | 64 |
| | Ciprofloxacin | 4-64 | 16 | 64 |
| Gentamicin-resistant strain (37) | Doripenem | 0.063-16 | 0.5 | 8 |
| | Imipenem | 0.25-32 | 1 | 16 |
| | Panipenem | 0.25-64 | 4 | 32 |
| | Meropenem | 0.063-32 | 0.5 | 16 |
| | Biapenem | 0.25-32 | 0.5 | 32 |
| | Cefpirome | 2- > 128 | 32 | 64 |
| | Ceftazidime | 0.5-128 | 8 | 64 |
| | Gentamicin | 16- > 128 | > 128 | > 128 |
| <i>Burkholderia cepacia</i> (25) | Doripenem | 4-16 | 8 | 8 |
| | Imipenem | 8-32 | 16 | 32 |
| | Panipenem | 32-128 | 64 | 64 |
| | Meropenem | 2-8 | 4 | 8 |
| | Biapenem | 4-16 | 8 | 16 |
| | Cefpirome | 16- > 128 | 64 | 128 |
| | Ceftazidime | 2-16 | 4 | 8 |
| <i>Stentrophomonas maltophilia</i> (31) | Doripenem | 16- > 128 | 128 | > 128 |
| | Imipenem | 64- > 128 | > 128 | > 128 |
| | Panipenem | 64- > 128 | > 128 | > 128 |
| | Meropenem | 16- > 128 | 128 | > 128 |
| | Biapenem | 64- > 128 | > 128 | > 128 |
| | Cefpirome | 2- > 128 | 128 | > 128 |
| | Ceftazidime | 2- > 128 | 128 | > 128 |
| <i>Bacteroides fragilis</i> (30) | Doripenem | 0.125-32 | 0.25 | 2 |
| | Imipenem | 0.25-8 | 0.5 | 2 |
| | Panipenem | 0.25-16 | 0.5 | 2 |
| | Meropenem | 0.063-64 | 0.25 | 2 |
| | Biapenem | 0.5-4 | 0.5 | 2 |
| | Cefpirome | 4- > 128 | 32 | > 128 |
| | Ceftazidime | 4- > 128 | 32 | 128 |
| <i>Clostridium difficile</i> (16) | Doripenem | 1-32 | 4 | 32 |
| | Imipenem | 8- > 128 | 32 | > 128 |
| | Panipenem | 8-128 | 32 | 128 |
| | Meropenem | 2-32 | 4 | 32 |
| | Biapenem | 4- > 128 | 16 | 128 |
| | Cefpirome | 16- > 128 | 32 | 128 |
| | Ceftazidime | 16- > 128 | 32 | > 128 |

a) Method: broth microdilution except for *Bordetella pertussis*.

b) 50% and 90%, MICs for 50% and 90% of isolates.

rettgeri 21 株, *Morganella morganii* 32 株, *Citrobacter freundii* 22 株, *Enterobacter cloacae* 30 株, *Serratia marcescens* 30 株, *Acinetobacter* spp. 27 株, *Alcaligenes denitrificans* subsp. *xylosoxydans* 32 株, *Moraxella catarhalis* 46 株, *Haemophilus influenzae* 50 株, *Bordetella pertussis* 52 株, *Pseudomonas aeruginosa* 115 株

(IPM 耐性 32 株, CAZ 耐性 39 株, CPF 耐性 16 株, GM 耐性 37 株を含む), *Burkholderia cepacia* 25 株, *Stentrophomonas maltophilia* 31 株, *Bacteroides fragilis* 30 株 および *Clostridium difficile* 16 株を使用した。

P. aeruginosa の外膜欠損分離株は塩野義製薬から分与された。なお, IPM46 (Opr D 欠損), YY100 (Opr E

欠損)は PAO1 を, YY200 (Opr E, Opr D 欠損)は YY100 を親株として分離された株である²⁾。

感染治療実験には, 臨床分離のグラム陽性菌 2 菌種 4 株, グラム陰性菌 3 菌種 5 株を使用した。

3. 感受性測定法

前培養用培地には Mueller-Hinton agar (MHA, Difco) を, 感受性測定培地には Mueller-Hinton broth (MHB, Difco) に Ca^{++} および Mg^{++} イオンを最終濃度がそれぞれ 25 ~ 50 mg/mL, 12.5 ~ 25 mg/mL になるように添加した cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB) を用いて微量液体希釈による MIC 測定法(日本化学療法学会標準法)の一部修正³⁾に従って最小発育阻止濃度(MIC)を求めた。ただし, *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *M. catarrhalis*, *H. influenzae* には 5% 馬溶血液, 5 mg/mL Yeast Extract (OXOID), 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ NAD (Sigma) 添加 CAMHB を使用した。なお, MRSA および MRSE は MHA に 2% NaCl, 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ oxacillin (Sigma) を添加した培地で 35 ~ 24 時間培養して確認した。また, *B. pertussis* は前培養および感受性測定用培地として 15% 馬脱線維血添加 Bordet-Gengou agar (Difco) を使用し, 寒天平板希釈法により行った⁴⁾。培養時間は 48 時間とした。

嫌気性菌は嫌気性菌の微量液体希釈による MIC 測定法³⁾に従って MIC を求めた。すなわち, 前培養用培地として変法 GAM 寒天培地 (GAM agar, modified, 日水) を, 感受性測定培地として GAM broth (日水) を使用し, 培養は嫌気チェンバー (Forma Scientific Anaerobic System model 1024; $\text{N}_2 : \text{CO}_2 : \text{N}_2 = 8 : 1 : 1$) 内で 40 ~ 48 時間培養した。なお, 感受性測定の際, すべての菌の培養は 35 $^{\circ}\text{C}$ で行った。

4. 増殖曲線に及ぼす抗菌薬の影響

CAMHB で前培養した *P. aeruginosa* IPAK-15 (CAZ 耐性株) を新たな同培地に接種し, 35 $^{\circ}\text{C}$ で培養した。*H. influenzae* TUH36 (β -lactamase 産生株) の場合は, 培地として 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ NAD, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ hemin 添加 brain heat infusion broth (BHIB, Difco) を用いた。対数増殖期(約 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL) まで振盪培養した後, 1/4, 1/2, 1, 2, 4 MIC 濃度の各種抗菌薬を作用させ, 以後経時的に 6 時間までの生菌数を測定した。

5. マウス実験感染に対する治療効果

1) 使用動物

全身感染モデル, penicillin-susceptible *S. pneumoniae* および *H. influenzae* を用いた呼吸器感染モデルにおいては ICR, 雄マウス(4 週齢, 入荷時指定体重 17 ~ 19 g) を, penicillin-resistant *S. pneumoniae* を用いた呼吸器感染モデルにおいては CBA/JNCrj 雄マウス(4 週齢, 入荷時指定体重 14 ~ 20 g) を使用した。動物は日本エスエルシー株式会社および日本チャールズリバー株式会社より購入した。

2) マウス全身感染モデル

感染菌株として, *S. aureus* Smith, *S. aureus* TUH1 (MRSA), *E. coli* C11, *P. aeruginosa* E7, *P. aeruginosa* TUH302 (CAZ 耐性株) および *P. aeruginosa* IPM2 (IPM 耐性株) を使用した。また 1 群 8 匹の動物を使用した。凍結保存菌液を使用直前に融解し, heart infusion broth (HIB, 栄研) で適宜希釈した後, 10% mucin と等量混合した。各感染菌液 0.5 mL をマウス腹腔内に接種した。感染 1 時間後に各抗菌薬を 1 回背部に皮下投与し, 感染 7 日目の生存率から probit 法⁵⁾により 50% 有効量 (ED_{50}) と 95% 信頼区間を求めた。

3) 呼吸器感染モデル

(1) Penicillin-susceptible *S. pneumoniae* 感染モデル

感染菌株として *S. pneumoniae* TUH39 を用いた。1 群 8 匹の動物を使用した。5% 馬脱線維血添加 MHA 平板上で一夜培養した菌体を滅菌生理食塩液に懸濁し, 接種用菌液とした。ケタミン, キシラジン混合麻酔下で感染菌液を 40 μL (感染菌量: 1.9×10^6 CFU/mouse) 経鼻接種することにより感染を惹起させた⁶⁾。治療は感染 12 時間後から 1 日 2 回, 2 日間合計 4 回各抗菌薬を皮下投与した。感染 14 日後の生存率から probit 法により ED_{50} 値を求め, 1 回あたりの投与量で示した。

(2) Penicillin-resistant *S. pneumoniae* 感染モデル

感染菌株として *S. pneumoniae* TUH741 (PCG の MIC: 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を用いた。1 群 5 匹の動物を使用した。Tateda らの方法⁷⁾に従い, 凍結保存菌液を 30% 非動化馬血清添加 Todd Hewitt Broth (THB, Difco) に接種し, 対数増殖期まで培養後, 7,000 rpm, 30 min 遠心集菌し, 滅菌生理食塩液にて懸濁した菌体を接種用菌液とした。ケタミン, キシラジン混合麻酔下で感染菌液を 50 μL (感染菌量: 3.0×10^5 CFU/mouse) 経鼻接種することにより感染を惹起させた。治療は感染 36 時間後から 1 日 3 回, 3 日間合計 9 回各抗菌薬を皮下投与した。最終投与翌日(約 20 時間後) に無菌的に肺および気管を摘出し, ホモジナイズ後, 生菌数を測定した。

(3) ABPC 耐性 *H. influenzae* 感染モデル

感染菌株として *H. influenzae* TUH36 (β -lactamase 産生株) を用いた。1 群 5 匹の動物を使用した。気道障害を惹起する目的で, 感染 3 日前にケタミン, キシラジン混合麻酔下の ICR マウスに 1% ホルマリン 40 μL を経鼻注入した。感染菌液は Miyazaki らの方法⁸⁾ (cell-bound organism, CBO 法) に従って作製した。すなわち, マウス胎児肺由来の MFL cell による単層培養細胞を作成した。一方, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ NAD, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ hemin 添加 BHIB に同培地で前培養した *H. influenzae* TUH36 を 5% 接種した。対数増殖期まで培養後, 3,500 rpm, 15 min 遠心集菌し, 滅菌生理食塩液にて洗浄後, 単層培養細胞の入った容器に入れ, 反転させながら付着, 侵入させた。1 時間後, 上清菌液を捨て, 生理食塩液で洗浄することで付着,

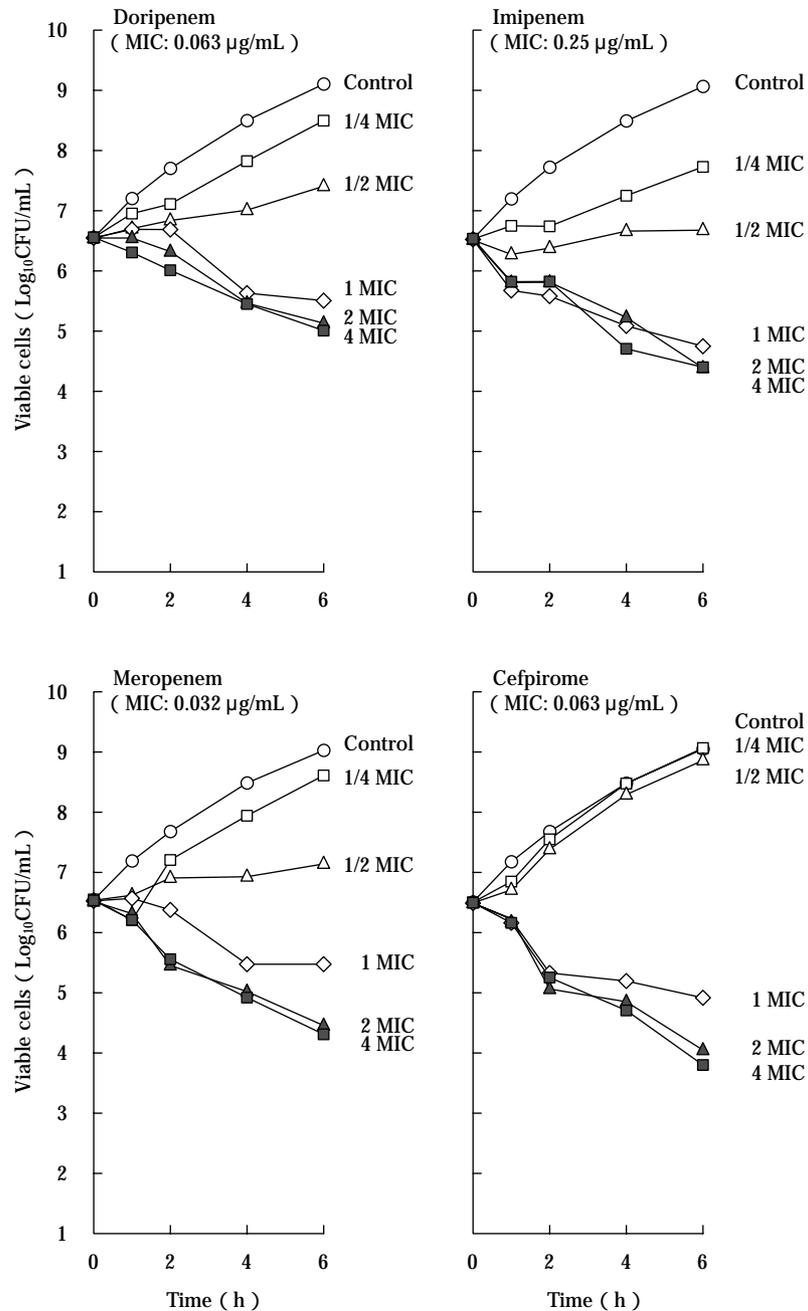
Haemophilus influenzae TUH36

Fig. 2. Bactericidal activity of doripenem, imipenem, meropenem, and ceftiofime against β -lactamase producing *Haemophilus influenzae* TUH36.

侵入していない *H. influenzae* を取り除いた。次に、スクレーパーを用いて菌体が付着侵入した細胞を剥ぎ取り、Eagle's MEM 培地に懸濁し、感染菌液とした。ケタミン、キシラジン混合麻酔下のホルマリン処理マウスに感染菌液を 40 μ L (感染菌量: 1.8×10^4 CFU/mouse) 経鼻接種することにより感染を惹起させた。治療は感染 48 時間後から 1 日 2 回、3 日間合計 6 回各抗菌薬を皮下投与した。最終投与翌日 (約 20 時間後) に無菌的に肺および気管を摘出し、ホモジナイズ後、生菌数を測定した。

6. 血漿中濃度測定

抗菌薬として、DRPM、IPM および MEPM を用いた。CS を混合する場合は 1:1 の併用比とした。1 群 5 匹の動物を使用した。0.4 mg/mouse の各抗菌薬を皮下投与し、0.125、0.25、0.5、1 および 1.5 時間後にヘパリン処理した注射筒を用いて心臓採血した。3,000 rpm、10 min 遠心上清の血漿を測定試料とした。検体の抗菌薬濃度は、検定菌として *E. coli* 7437 を、培地として 1/2 濃度に希釈した MHA を用いた bioassay 法³⁾で測定した。なお、血漿中

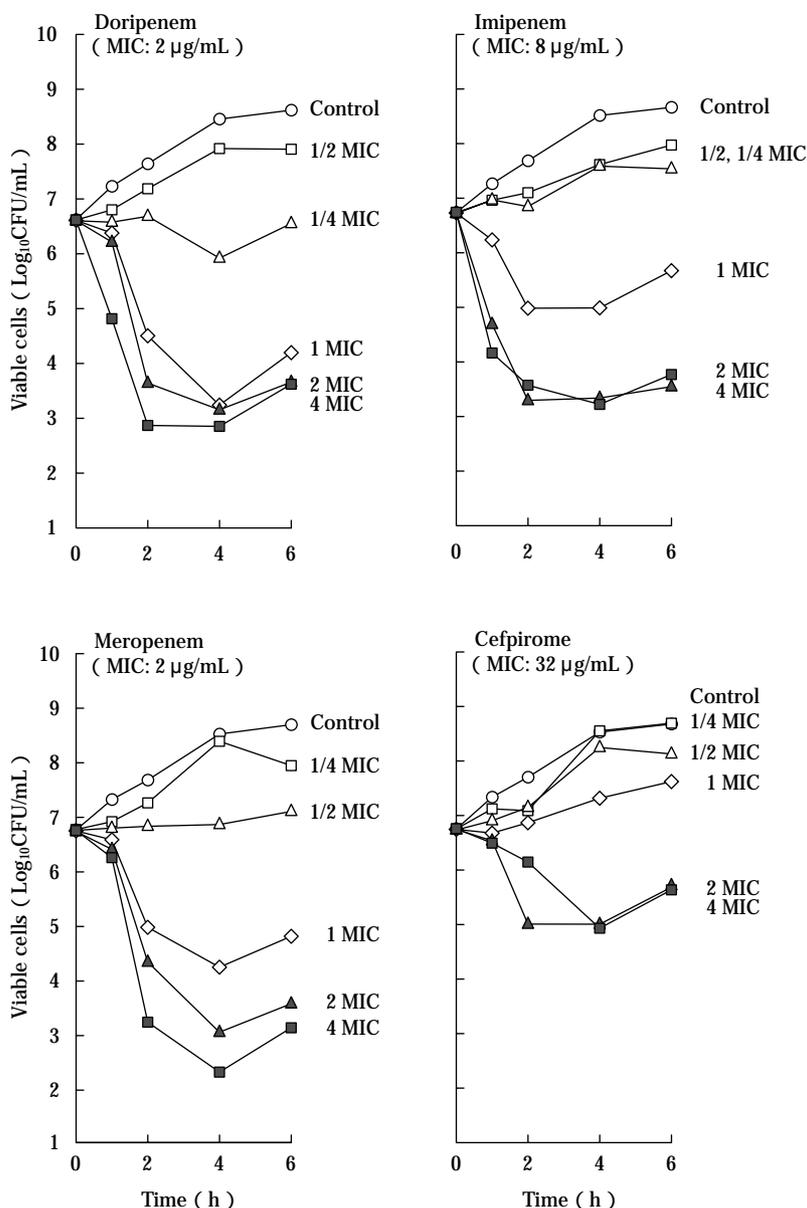
Pseudomonas aeruginosa IPAK-15

Fig. 3. Bactericidal activity of doripenem, imipenem, meropenem, and ceftipime against ceftazidime resistant *Pseudomonas aeruginosa* IPAK-15.

濃度測定値のうち，最高濃度を maximum concentration of the drug in plasma (C_{max}) とした。half life ($t_{1/2}$) および area under the curve from 0 h to infinity ($AUC_{0-\infty}$) は one-compartment model を用いて算出した。

II. 結 果

1. 臨床分離株に対する感受性分布

DRPM および対照抗菌薬の臨床分離株に対する感受性分布を Table 1 に示しており，各抗菌薬の抗菌力の比較は基本的に MIC_{90} で比較した。

Methicillin-susceptible *S. aureus* 30 株に対する DRPM の MIC は $0.032 \sim 0.125 \mu\text{g/mL}$ にピークを有する一峰性の分布を示した。その抗菌力は，IPM，PAPM より 1/2

程度劣っていたが，MEPM，BIPM より 2 倍，CPR より 16 倍優れていた。

Methicillin-resistant *S. aureus* 30 株に対する DRPM の抗菌力は最も優れていたが， MIC_{90} は $16 \mu\text{g/mL}$ であり，一部に耐性株がみられた。

Methicillin-susceptible *S. epidermidis* 46 株に対する DRPM の MIC は $0.032 \sim 0.125 \mu\text{g/mL}$ に分布し，強い抗菌力を示した。本抗菌薬の抗菌活性は IPM，PAPM より 1/2 程度劣ったが，MEPM，BIPM より 2 倍優れていた。

Methicillin-resistant *S. epidermidis* 27 株に対する DRPM の MIC は $8 \sim 32 \mu\text{g/mL}$ に分布していたが，他の比較抗菌薬より優れた抗菌活性を示した。

Table 2. Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* PAO 1, its D2 and E porin-deficient mutants to doripenem and other comparative agents

| Drug | MIC ($\mu\text{g/mL}$) ^{a)} | | | |
|-------------|--|-------------------|------------------|----------------------|
| | PAO 1 | IPM46 (Opr D2 -) | YY100 (Opr E -) | YY200 (OprE - D2 -) |
| Doripenem | 0.25 | 1 | 0.25 | 1 |
| Imipenem | 1 | 4 | 1 | 4 |
| Panipenem | 4 | 4 | 8 | 4 |
| Meropenem | 0.5 | 2 | 0.5 | 2 |
| Cefpirome | 2 | 2 | 2 | 4 |
| Ceftazidime | 1 | 2 | 2 | 4 |

^{a)} Method, broth microdilution.

Table 3. Effect of lysine on carbapenem susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolates^{a)}

| Drug | - Lysine | | + Lysine | |
|-----------|-------------------|-------------------|----------|-----|
| | 50% ^{b)} | 90% ^{b)} | 50% | 90% |
| Doripenem | < 0.063 | 0.125 | 0.125 | 1 |
| Imipenem | 0.5 | 1 | 1 | 4 |
| Panipenem | 0.25 | 0.5 | 1 | 4 |
| Meropenem | < 0.063 | 0.5 | 0.25 | 4 |
| Biapenem | 0.25 | 0.5 | 0.25 | 2 |

^{a)} MIC was determined by broth microdilution with minimum medium (MM) - lysine) or MM plus 50 mM lysine (+ lysine)

^{b)} 50% and 90%, MICs for 50% and 90% of the isolates. 27 clinical isolates were used.

MM broth: K_2HPO_4 10.5 g/L, KH_2PO_4 4.5 g/L, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g/L, sodium gulconate 4.36 g/L

S. pyogenes 42 株に対して, DRPM は $< 0.004 \mu\text{g/mL}$ ですべての株の増殖を阻止し, その抗菌力は対照薬の中で最も優れていた。

Penicillin-susceptible *S. pneumoniae* 25 株に対して, DRPM は $0.004 \sim 0.016 \mu\text{g/mL}$ に分布し, DRPM の抗菌活性は PAMP より劣るものの, IPM と同等で, MEPM, BIPM より 2 倍優れていた。

Penicillin-resistant *S. pneumoniae* 25 株に対して DRPM の抗菌力は, MEPM, BIPM, CPR と同等の抗菌力を示したものの, PAMP より若干劣っていた。

S. agalactiae 32 株に対する DRPM の抗菌力は IPM, PAMP より $1/2$ 程度劣るものの, BIPM と同等, MEPM より 2 倍優れていた。

E. faecalis 26 株に対して, DRPM の MIC は $0.5 \sim 16 \mu\text{g/mL}$ に分布し, 本抗菌薬の抗菌力は IPM, PAMP より劣るものの MEPM, BIPM より優れていた。

E. faecium 25 株に対して DRPM の MIC₉₀ は $> 128 \mu\text{g/mL}$ であり, 他薬剤と同様に抗菌力は弱かった。

臨床分離のグラム陽性菌に対する抗菌力についてまとめると IPM, PAMP $>$ DRPM $>$ BIPM, MEPM の順であるが, メチシリン耐性の *S. aureus*, *S. epidermidis* に関

しては DRPM が比較したカルバペネムの中で最も抗菌力が強かった。

E. coli 30 株に対して, DRPM の MIC は $0.016 \sim 0.032 \mu\text{g/mL}$ に分布し, その抗菌力は MEPM より劣ったものの BIPM, CPR より 2 倍, IPM, PAMP より 4 倍優れていた。

K. pneumoniae 30 株に対して, DRPM の抗菌力は MEPM よりやや劣ったものの CPR と同等で, BIPM より 2 倍, IPM, PAMP より 4 倍優れていた。

K. oxytoca 38 株に対して, DRPM は $0.032 \sim 0.063 \mu\text{g/mL}$ に分布を示し, その抗菌力は MEPM より $1/2$ 程度劣ったものの CPR と同等で他のカルバペネムより 8 倍優れていた。

P. mirabilis 27 株に対して, DRPM は $0.063 \sim 1 \mu\text{g/mL}$ に分布し, 良好な抗菌力を示した。対照薬との比較では MEPM, CPR, CAZ より $1/4$ 程度劣ったものの PAMP, BIPM より 4 倍, IPM より 8 倍優れていた。

P. vulgaris 30 株に対しても DRPM, MEPM は良好な抗菌力を示していた。この両抗菌薬と比較して, IPM, PAMP, BIPM の抗菌力は 4 倍以上劣っていた。

P. rettgeri 21 株に対する各抗菌薬の抗菌力は, MEPM $>$ DRPM $>$ PAMP $>$ IPM, BIPM の順であった。セフェム系薬には一部 MIC の高い菌株もみられた。

M. morgani 32 株に対して DRPM の抗菌力は MEPM, CPR に比べて $1/2 \sim 1/4$ 程度であったが, 他の対照薬よりも優れていた。

C. freundii 22 株に対して, DRPM の MIC は $0.032 \sim 0.125 \mu\text{g/mL}$ に分布し, MEPM 以外のカルバペネムより強い抗菌力を示した。

E. cloacae 30 株に対して DRPM は MEPM と同等で他の抗菌薬より強い抗菌力を示した。

S. marcescens 30 株に対して, DRPM の MIC は $0.063 \sim 4 \mu\text{g/mL}$ に分布し, その抗菌力は, MEPM $>$ DRPM $>$ CPR, CAZ, PAMP $>$ IPM, BIPM の順であった。

Acinetobacter spp. 27 株は CPR, CAZ に対してほとんど感受性を示さなかったが, DRPM は $0.125 \sim 4 \mu\text{g/mL}$ に分布し, その抗菌力は他のカルバペネムと同等であっ

Table 4. *In vivo* efficacy of doripenem and other agents in murine systemic infection

| Organism | Challenge dose (CFU/mouse) | Drug | ED ₅₀ ^{a)} (mg/mouse) | 95% confidence limit | MIC (μg/mL) |
|--|----------------------------|------------------------------------|---|----------------------|-------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> Smith | 1.1 × 10 ⁶ | Doripenem | 0.00132 | 0.000760-0.00340 | 0.032 |
| | | Imipenem-cilastatin ^{c)} | 0.00100 | 0.000620-0.00280 | 0.016 |
| | | Meropenem-cilastatin ^{c)} | 0.00820 | 0.00480-0.0188 | 0.063 |
| | | Ceftazidime | 0.294 | 0.146-0.958 | 8 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> TUH1 (MRSA) | 5.5 × 10 ⁷ | Doripenem | 0.384 | 0.238-0.626 | 4 |
| | | Imipenem-cilastatin | 0.690 | 0.364-1.76 | 16 |
| | | Meropenem-cilastatin | 0.968 | 0.560-2.64 | 16 |
| <i>Escherichia coli</i> C-11 | 9.0 × 10 ⁵ | Doripenem | 0.0284 | 0.0130-0.0896 | 0.032 |
| | | Imipenem-cilastatin | 0.0482 | 0.0258-0.141 | 0.063 |
| | | Meropenem-cilastatin | 0.0124 | 0.00640-0.406 | 0.016 |
| | | Ceftazidime | 0.0338 | 0.0172-0.143 | 2 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> TUH302 Ceftazidime resistant strain | 3.0 × 10 ⁴ | Doripenem | 0.624 | 0.318-2.29 | 2 |
| | | Imipenem-cilastatin | 0.648 | 0.358-1.82 | 8 |
| | | Meropenem-cilastatin | > 2.00 | NC ^{b)} | 4 |
| | | Ceftazidime | > 2.00 | NC | 64 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> IPM2 Imipenem resistant strain | 5.3 × 10 ⁵ | Doripenem | 0.125 | 0.0682-0.224 | 8 |
| | | Imipenem-cilastatin | 0.0484 | 0.0290-0.0864 | 16 |
| | | Meropenem-cilastatin | 0.778 | 0.504-1.17 | 32 |
| | | Ceftazidime | > 2.00 | NC ^{b)} | 32 |

a) 50% effective dose and 95% confidence limits were calculated by probit.

b) Not calculated.

c) Imipenem and meropenem were mixed with cilastatin at a 1:1 ratio.

n=7

Table 5. Therapeutic effect of doripenem and other agents in murine pulmonary infection

| Drug | ED ₅₀ (mg/mouse) | 95% Confidence limit | MIC (μg/mL) |
|----------------------|-----------------------------|----------------------|-------------|
| Doripenem | 0.0046 | 0.0032-0.0060 | 0.008 |
| Imipenem-cilastatin | 0.0048 | 0.0034-0.0064 | 0.008 |
| Meropenem-cilastatin | 0.0090 | 0.0044-0.0176 | 0.008 |
| Biapenem | 0.0062 | 0.0038-0.0092 | 0.008 |
| Ceftaxime | 0.097 | 0.0742-0.143 | 0.125 |

Strain, *Streptococcus pneumoniae* TUH39 (penicillin-susceptible strain)

Challenge dose, 1.9 × 10⁶ CFU/mouse.

Drug were administered subcutaneously, starting at 12 h after infection, twice a day for 2 days.

50% effective dose and 95% confidence limits were calculated by probit.

n=8

た。

A. xylosoxydans 32 株 対 する DRPM の MIC は 0.063 ~ 128 μg/mL と 幅 広 く 分 布 し 一 部 に 耐 性 菌 も み ら れ た が , 他 の 比 較 薬 と 同 等 の 抗 菌 力 を 示 し た。

M. catarrhalis 46 株 対 して DRPM は 優 れ た 抗 菌 力 を 示 し た。 対 照 薬 と の 比 較 で は MEPM より 劣 っ て い た も の の , PAPM と 同 等 で , IPM , BIPM より 優 れ て い た。

H. influenzae 50 株 対 して , DRPM は 良 好 な 抗 菌 力 を 示 し , その 抗 菌 力 は MEPM と 同 等 で 他 の カ ル バ ペ ネ ム より 4 倍 以 上 優 れ て い た。

B. pertussis 52 株 対 して DRPM は 良 好 な 抗 菌 力 を

示 し , その 抗 菌 力 は MEPM , CAZ より 1/2 程 度 劣 っ て い た が , IPM , PAPM より 2 倍 , BIPM より 8 倍 優 れ て い た。

IPM 感 受 性 *P. aeruginosa* 83 株 対 して DRPM は MEPM と 同 等 の 抗 菌 力 で , BIPM より 2 倍 , IPM より 4 倍 優 れ て い た。

IPM 耐 性 *P. aeruginosa* 32 株 お よ び CAZ 耐 性 *P. aeruginosa* 39 株 対 して DRPM は 比 較 薬 中 最 も 強 い 抗 菌 力 を 示 し た。

CPFX 耐 性 *P. aeruginosa* 16 株 対 して DRPM は MEPM と 同 等 の 抗 菌 力 で , IPM , PAPM , BIPM より 4 倍 優 れ て い た。

Table 6. Therapeutic effects of doripenem and other agents against pulmonary infection

| Drug | Dose (mg/mouse) | MIC ($\mu\text{g/mL}$) | Log CFU/g (lung) (mean \pm SD) |
|----------------------|-----------------|--------------------------|----------------------------------|
| Control | | | 7.17 \pm 0.44 |
| Doripenem | 0.8 | 0.25 | 3.30 \pm 0.28 # |
| | 0.2 | | 4.07 \pm 1.30 # |
| Imipenem-cilastatin | 0.8 | 0.125 | 4.13 \pm 0.96 # |
| | 0.2 | | 4.39 \pm 1.08 # |
| Meropenem-cilastatin | 0.8 | 0.25 | 3.55 \pm 0.15 # |
| | 0.2 | | 4.21 \pm 0.49 # |
| Biapenem | 0.8 | 0.25 | 2.94 \pm 0.38 # |
| | 0.2 | | 3.74 \pm 0.23 # |
| Cefotaxime | 0.8 | 0.5 | 4.10 \pm 1.07 # |
| | 0.2 | | 5.62 \pm 0.93 # |

Strain, *S. pneumoniae* TUH741 (penicillin-resistant strain)

Challenge dose, 3.5×10^5 CFU per mouse.

Drug were administered subcutaneously, starting at 36 h after infection, 3 times a day for 3 days.

n = 5

#, P < 0.05 compared to the control group.

Table 7. Therapeutic effects of doripenem and other agents against pulmonary infection

| Drug | Dose (mg/mouse) | MIC ($\mu\text{g/mL}$) | Log CFU/g (lung) (mean \pm SD) |
|----------------------|-----------------|--------------------------|----------------------------------|
| Control | | | 6.36 \pm 0.80 |
| Doripenem | 0.4 | 0.063 | 3.91 \pm 0.99 #e) |
| | 0.08 | | 5.10 \pm 0.91 |
| Imipenem-cilastatin | 0.4 | 0.25 | 4.28 \pm 1.06 # |
| | 0.08 | | 5.25 \pm 2.05 |
| Meropenem-cilastatin | 0.4 | 0.032 | 3.37 \pm 0.51 # |
| | 0.08 | | 4.53 \pm 0.69 |
| Cefpirome | 0.4 | 0.032 | 3.99 \pm 1.08 # |
| | 0.08 | | 5.21 \pm 0.64 |

a) Strain, *H. influenzae* TUH36 (β -lactamase producing strain)

b) Challenge dose, 1.8×10^4 CFU per mouse

c) Drug were administered subcutaneously, starting at 48 h after infection, twice a day for 3 days.

d) n = 5

e) #, P < 0.05 compared to the control group.

GM 耐性 *P. aeruginosa* 37 株に対して DRPM は比較薬中最も強い抗菌力を示した。

B. cepacia 25 株に対して, DRPM の抗菌力は, MEPM, CAZ と同等であった。IPM, PAPM, BIPM, CPR の抗菌力は弱かった。

S. maltophilia 31 株に対して, DRPM は他の対照薬と同様に抗菌力は弱かった。

臨床分離のグラム陰性菌に対する抗菌力についてまとめると MEPM > DRPM > BIPM, IPM, PAPM の順であった。臨床分離の *P. aeruginosa*, 特に, IPM 耐性菌などの薬剤耐性菌に対する抗菌力は DRPM が最も強かつ

た。

B. fragilis 30 株では DRPM は使用したカルバペネムと同等の抗菌力であった。CPR, CAZ の抗菌力は弱かった。

C. difficile 16 株に対して DRPM の MIC は 1 ~ 32 $\mu\text{g/mL}$ と幅広く分布した。DRPM の MIC₅₀, MIC₉₀ は 4 $\mu\text{g/mL}$, 32 $\mu\text{g/mL}$ であり, MEPM と同等の抗菌力であった。両薬剤以外の抗菌力は弱かった。

2. 殺菌曲線

DRPM の殺菌作用について検討した結果を Figs. 2, 3 に示した。

Table 8. Pharmacokinetic parameters of doripenem and reference drugs in mice

| Drug | C _{max} ($\mu\text{g/mL}$) | | <i>t</i> _{1/2} (min) | | AUC _{0-infinity} ($\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$) | | Ratio (CS - / CS +) | |
|-----------|--|------|----------------------------------|------|--|------|------------------------|---------------------------|
| | CS - | CS + | CS - | CS + | CS - | CS + | C _{max} | AUC _{0-infinity} |
| Doripenem | 14.6 | 16.2 | 17.7 | 23.4 | 9.08 | 12.9 | 1.1 | 1.4 |
| Imipenem | 12.0 | 14.4 | 18.5 | 23.3 | 6.99 | 10.2 | 1.2 | 1.5 |
| Meropenem | 14.0 | 19.7 | 10.2 | 24.1 | 5.73 | 13.9 | 1.4 | 2.4 |

a) A dose of 0.4 mg/mouse of each drug was subcutaneously administered in 5 mice in each group.

b) The level of biologically active drug in plasma was determined by bioassay, with *Escherichia coli* 7437 as the indicator organism.

c) Parameters were measured for drugs both in combination with cilastatin (CS +) and without cilastatin (CS -).

Table 9. Effect of cilastatin on *in vivo* efficacy of doripenem and other agents in murine systemic infection

| Drug | ED ₅₀ (mg/mouse) | | ED ₅₀ Ratio (CS - / CS +) | MIC ($\mu\text{g/mL}$) |
|-----------|-----------------------------|--------|---|-----------------------------|
| | CS - | CS + | | |
| Doripenem | 0.200 | 0.0670 | 3.0 | 0.5 |
| Imipenem | 5.14 | 0.143 | 36.7 | 2 |
| Meropenem | 0.516 | 0.142 | 3.6 | 0.5 |
| Biapenem | 0.147 | 0.164 | 0.9 | 1 |

a) Strain, *Pseudomonas aeruginosa* E7.

b) Challenge dose, 2.5×10^4 CFU/mouse.

c) 50% effective doses were measured for drugs both in combination with cilastatin (CS +) and without cilastatin (CS -).

d) Doripenem and reference drugs were mixed with cilastatin at a 1:1 ratio.

H. influenzae TUH36 (β -lactamase 産生株) の場合, DRPM は 1 MIC 以上の濃度で短時間で殺菌的に作用した。この殺菌作用は MEPM や IPM と同程度であったが, CPR よりも強かった (Fig. 2)。

P. aeruginosa IPAK-15 (CAZ 耐性株) の場合, DRPM は 1 MIC 以上の濃度で短時間で殺菌的に作用した。IPM, MEPM は 2 MIC 以上の濃度で殺菌的に作用したが, その作用は DRPM が最も強かった。CPR の殺菌作用は試験したカルバペネムに比べて弱かった (Fig. 3)。

3. 外膜蛋白質欠損緑膿菌に対する DRPM の感受性

P. aeruginosa の外膜欠損株に対する感受性を測定した結果を Table 2 に示した。DRPM は Opr D 欠損株に対して使用したカルバペネムの中で最も強い抗菌力を示していた。しかし, 親株との MIC を比較すると Opr D 欠損によって他のカルバペネムと同様に MIC 値の低下が観察された。E 蛋白欠損によって感受性に変化はみられなかった。

4. カルバペネム系抗菌薬の *P. aeruginosa* に対する

感受性における塩基性アミノ酸 (L-lysine) の影響
培地中に塩基性アミノ酸を添加することによって, カルバペネムの感受性が低下することが知られている¹⁰⁾。DRPM の *P. aeruginosa* に対する感受性における lysine

添加の影響について検討した結果を Table 3 に示した。

DRPM の臨床分離 *P. aeruginosa* 27 株に対する 50 mM lysine 添加 Minimum medium (MM) 培地での抗菌力は MIC₉₀ が $1 \mu\text{g/mL}$ と使用したカルバペネムの中で最も強かった。この抗菌力は MIC₉₀ で比較すると lysine 添加前の 8 倍であり, DRPM は塩基性アミノ酸添加により, 感受性に影響を受けた。これは他のカルバペネムと同程度であった。

5. マウス実験感染モデルにおける治療効果

1) マウス全身感染モデル

感染菌として, *S. aureus* Smith, *S. aureus* TUH1 (MRSA), *E. coli* C-11, *P. aeruginosa* TUH30 α (CAZ 耐性菌) および *P. aeruginosa* IPM2 (IPM 耐性菌) を用い, マウス全身感染モデルに対する DRPM と対照薬の ED₅₀ と 95% 信頼区間を Table 4 に示した。

S. aureus Smith の場合, DRPM の治療効果は IPM-CS と同程度, MEPM-CS の 6 倍であった。一方, CAZ の *in vivo* 活性は弱かった。

Methicillin-resistant *S. aureus* TUH1 の場合, DRPM の治療効果は試験したカルバペネムの中で最も強い活性であった。

E. coli C-11 の場合, DRPM の治療効果は, MEPM-CS

や CAZ と同程度, IPM-CS の約 2 倍強かった。

CAZ 耐性 *P. aeruginosa* TUH302 の場合, DRPM の治療効果は IPM-CS と同程度であった。一方, MEPM-CS や CAZ の *in vivo* 活性は弱かった。

IPM 耐性 *P. aeruginosa* IPM2 の場合, DRPM の治療効果は IPM-CS の 1/3 程度であったが, MEPM-CS の 6 倍強かった。CAZ は 2.00 mg/mouse 以上とほとんど *in vivo* 活性を示さなかった。

2) マウス呼吸器感染モデル

(1) Penicillin-susceptible *S. pneumoniae*

感染菌として, *S. pneumoniae* TUH39 を用い, マウス呼吸器感染モデルに対する DRPM の治療効果について検討した結果を Table 5 に示した。その結果, DRPM の ED₅₀ は 0.0046 mg/mouse と良好な治療効果を示した。対照薬との比較では, IPM-CS, BIPM と同程度の *in vivo* 活性であったが, MEPM-CS より約 2 倍, CTX より約 20 倍優れていた。

(2) Penicillin-resistant *S. pneumoniae*

感染菌として *S. pneumoniae* TUH741 を用い, マウス呼吸器感染モデルに対する DRPM の治療効果について検討した結果を Table 6 に示した。抗菌薬非投与 (control) 群の肺内生菌数が約 10⁷ CFU/g に増殖していたのに対し, DRPM の 0.2 mg/mouse 投与群では約 10⁴ CFU/g, 0.8 mg/mouse 投与群では約 10³ CFU/g と肺内生菌数は減少し, いずれの投与群でも control 群に比べて有意な除菌効果が観察された。DRPM の除菌効果は, IPM-CS, MEPM-CS, BIPM とほぼ同じであった。

(3) *H. influenzae*

感染菌として *H. influenzae* TUH36 を用い, マウス呼吸器感染モデルに対する DRPM の治療効果について検討した結果を Table 7 に示した。抗菌薬非投与 (control) 群の肺内生菌数が約 10⁶ CFU/g に増殖していたのに対し, DRPM の 0.08 mg/mouse 投与群では約 10⁵ CFU/g, 0.4 mg/mouse 投与群では約 10⁴ CFU/g と用量依存的に肺内生菌数は減少し, 0.4 mg/mouse 投与群で control 群に比べて有意な除菌効果が観察された。DRPM の除菌効果は, IPM-CS, MEPM-CS, CPR とほぼ同じであった。

6. 血漿中濃度推移

DRPM, MEPM, IPM を単独あるいは CS を併用してマウスに皮下投与した際の血漿中濃度を測定し, その薬動力学的パラメータを Table 8 に示した。

DRPM の C_{max} は, 投与 7.5 min で 14.6 μg/mL であり, 以後緩やかに減少した。これを IPM, MEPM と比較すると DRPM の血漿中濃度が最も高かった。一方, CS 併用群と比較すると, DRPM 単独投与時と比べて C_{max} ratio は 1.1 と同程度であった。DRPM の半減期は 17.7 min と IPM と同程度であった。いずれの抗菌薬も CS を併用することによって, 半減期が長くなり, その程度は MEPM が最も大きかった。DRPM の AUC_{0-infinity} は 9.08

μg · h/mL と IPM や MEPM に比べて最も大きかった。DRPM の CS 併用時の AUC_{0-infinity} は 12.9 μg · h/mL とやや増加し, その程度は IPM と同程度, MEPM より小さかった。

7. マウス全身感染に及ぼす CS の影響

感染菌として *P. aeruginosa* E7 を用い, マウス全身感染モデルでの ED₅₀ に及ぼす CS の影響について検討した (Table 9)。なお, 使用抗菌薬として DRPM, IPM, MEPM, BIPM を用い, CS を併用する場合, 各抗菌薬と CS を 1:1 で混合した。CS 非添加の場合, DRPM の ED₅₀ は 0.200 mg/mouse と良好な治療効果を示した。DRPM は CS 添加によって ED₅₀ が 1/3 程度に低下した。DRPM の CS 添加による ED₅₀ の低下度は IPM よりは小さかったが, MEPM と同程度であった。一方, BIPM は CS 添加の有無によって ED₅₀ はほとんど変動しなかった。

III. 考 察

カルバペネムは他の β-lactam 系抗菌薬に比べて, 幅広い抗菌スペクトル, 強い殺菌作用を有し, 高齢者や重篤な疾患を有する患者にみられる重症, 難治性の感染症での治療に用いられている。DRPM はカルバペネム系抗菌薬の弱点である DHP-I に対する安定性, 中枢神経系や腎臓に対する安全性の問題を克服し, 単剤として開発され, 臨床試験において, 緑膿菌感染症などに対する有効性が示されている¹¹⁾。

DRPM は幅広い抗菌スペクトルを有し, 特に, 臨床で問題となっている penicillin-resistant *S. pneumoniae* や *E. cloacae* などの腸内細菌に対しても優れた抗菌力を示した。特に, *P. aeruginosa* に対する抗菌活性は強く, IPM 耐性菌を含む薬剤耐性緑膿菌に対してカルバペネム系抗菌薬の中で最も優れた抗菌力を示していた。海外の臨床分離株を用いた DRPM の感受性測定結果もわれわれが検討した成績とほぼ一致していた¹²⁾。

IPM や PAMP と異なり, DRPM の 3 位側鎖には MEPM と同様, メチル基を導入している。DRPM と IPM の抗菌活性を比較すると *Staphylococcus* 属などのグラム陽性菌に対する *in vitro* 抗菌力は IPM が強い傾向にあったが, *E. coli* などのグラム陰性の腸内細菌に対しては逆に IPM の抗菌力が低下していた。3 位側鎖に起因する抗菌スペクトルの変化は MEPM の *in vitro* 抗菌力と類似していた。一方, DRPM の 4 位側鎖には他のカルバペネム系抗菌薬と同様に塩基性置換基が導入されているが, スルファモイル基などを新たに導入している点で MEPM とは異なる。Fung-Tomc らは 4 位側鎖の塩基性の違いが抗緑膿菌活性と関連があることを報告しており¹³⁾, DRPM のこの新しい置換基導入が薬剤耐性緑膿菌に対する抗菌活性の増強に関連していると考えられた。

DRPM の抗緑膿菌活性に及ぼす塩基性アミノ酸の影響は他のカルバペネム系抗菌薬と同程度であった。この成績は, DRPM の *P. aeruginosa* 外膜透過経路が IPM

と同様に Opr D であることを示唆している。しかし、本研究で示したように IPM 耐性 *P. aeruginosa* や Opr D 欠損株に対する抗菌活性が既存のカルバペネムに比べ最も強いことから Opr D 以外にも透過経路があることが示唆された。DRPM は *P. aeruginosa* に存在する多剤排出ポンプのうち RND family に属する MexCD-OprJ や MexXY-OprM の基質となることを Masuda らが報告している¹⁴⁾。緑膿菌の自然耐性の一因は構造的に類似性がない化合物を排出するマルチコンポーネント型排出システムによる抗菌薬の能動的排出である¹⁵⁾。緑膿菌には 30 種以上の多剤排出ポンプが存在しており¹⁶⁾、これらのポンプの排出機構と DRPM の関係をさらに詳細に調べることで、DRPM の優れた抗緑膿菌活性の原因が解明できると推測される。

MEPM はモルモット、イヌ、ヒト由来の DHP-1 に対して安定であるが、マウス、ウサギ由来 DHP-1 に対して不安定である¹⁾。われわれもカルバペネムの血漿中濃度に及ぼす CS の影響について検討した結果、MEPM や IPM はマウス DHP-I に対して不安定であることを確認した。一方、*P. aeruginosa* を用いたマウス腹腔内感染モデルにおいて、DRPM の *in vivo* 活性は対照薬と比較して同程度かあるいは優れていた。しかし、*in vitro* 抗菌活性から予測すると、DRPM の *in vivo* 活性は弱かった。そこで、*in vivo* 効果に及ぼす CS の影響についても検討を加えた結果、マウス全身感染における DRPM の ED₅₀ が MEPM と同程度に変動したことからマウス DHP-I に対する DRPM の安定性は MEPM と同等と思われた。カルバペネム系抗菌薬の治療効果と最も相関性の高い PK/PD パラメータは time above MIC (T > MIC) であると報告されている¹⁷⁾。マウス全身感染モデルにおいても生存率と T > MIC が相関している¹⁸⁾。マウス血中濃度から各抗菌薬の ED₅₀ 値における投与用量での T > MIC をフリー濃度で算出した結果、DRPM 単独投与では 0.92 時間と、MEPM や IPM 単独投与とはほぼ同じであった。一方、CS を併用した DRPM の T > MIC は 0.81 時間と単独投与時と同程度であった。CS 併用の有無にかかわらず *in vivo* 活性に必要な T > MIC が同程度であったことは、IPM や MEPM でも同じであった。以上、マウス全身感染に対するカルバペネム系抗菌薬の治療効果は、*in vitro* 抗菌活性とマウス血中濃度をほぼ反映していた。

P. aeruginosa 3 株に対する DRPM の *in vivo* 活性を IPM と比較すると、DRPM の ED₅₀/MIC ratio が 0.02 ~ 0.31 であったのに対し、IPM-CS は 0.0003 ~ 0.081 と良好であり、特に、IPM 耐性 *P. aeruginosa* における IPM の *in vivo* 活性は *in vitro* 抗菌活性から予測される以上に強かった。通常の MIC 測定に用いる MHB は lysine などの塩基性アミノ酸の含有量が多く、生体内の塩基性アミノ酸濃度を反映していないので、マウスなどの生体内では IPM は通常の MIC 以上に強い抗緑膿菌活性を示

すと報告されている^{10,19)}。しかし、DRPM を含むカルバペネムの *in vitro* 抗菌活性に及ぼす塩基性アミノ酸の影響は IPM と同程度であり、IPM だけが特異的に良好な *in vivo* 活性を示す原因にはならないと考えられる。今後、この原因を詳細に調べる必要があると思われた。

カルバペネムと CPR などの広域セフェム系薬は compromised host に発症した中等度以上の感染症および敗血症や複数菌感染症など同じ治療目的で使用される場合がある。今回、われわれは ABPC 耐性 *H. influenzae* を用いたマウス呼吸器感染モデルにおいて DRPM の治療効果を CPR などと比較したが、その効果は CPR と同程度であった。DRPM や IPM の試験菌に対する *in vitro* 抗菌力は CPR や MEPM の 1/2 ~ 1/4 程度であったが、4 薬剤の除菌効果は同程度であった。試験菌に対する DRPM の殺菌作用が CPR よりも強かったことから、この強い殺菌作用が *in vivo* 治療効果に現れた原因の一つと考えられた。DRPM は近年臨床で問題となっている penicillin-resistant *S. pneumoniae* や ABPC 耐性 *H. influenzae* を起炎菌とする呼吸器感染モデルにおいても良好な治療効果を示したことから、呼吸器感染症での高い治療効果が期待された。

文 献

- 1) 住田能弘, 能田浩司, 多田央子, 他: Meropenem の各種実験動物における体内動態。日化療会誌 40 (Suppl 1) 123 ~ 131, 1992
- 2) Yoneyama H, Yamano Y, Nakae T: Role of porins in the antibiotic susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*: construction of mutants with deletions in the multiple porin genes. Biochem Biophys Res Commun 213: 88 ~ 95, 1995
- 3) 日本化学療法学会抗菌薬感受性測定法検討委員会報告: 微量液体希釈による MIC 測定法 (日本化学療法学会標準法) の一部修正。日化療会誌 38: 183 ~ 189, 1993
- 4) Kurzynski T A, Boehm D M, Rott-Petri J A, et al: Antimicrobial susceptibilities of *Bordetella* species isolated in a Multicenter Pertussis Surveillance Project. Antimicrob Agents Chemother 32: 137 ~ 140, 1988
- 5) Miller L C: Estimation of the ED₅₀ and its error by means of logarithmic probit graph paper. Pro Soc Exp Biol Med 57: 261 ~ 264, 1944
- 6) Tsuji M, Ishii Y, Ohno A, et al: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of S-1090, a new oral cephalosporin. Antimicrob Agents Chemother 42: 94 ~ 99, 1998
- 7) Tateda K, Takashima K, Miyazaki H, et al: Noncompromised penicillin-resistant pneumococcal pneumonia CBA/J mouse model and comparative efficacies of antibiotics in this model. Antimicrob Agents Chemother 40: 1520 ~ 1525, 1996
- 8) Miyazaki S, Nunoya T, Matsumoto T, et al: New murine model of bronchopneumonia due to cell-bound *Haemophilus influenzae*. J Infect Dis 175: 205 ~ 209, 1997
- 9) 木村靖雄, 中野雅夫, 吉田 正: 微生物学的定量法に

- よる Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) の体内濃度測定法に関する検討。日化療会誌 35 (Suppl 1) 129 ~ 136, 1987
- 10) 大屋 哲, 福岡 隆, 増田修久, 他: Panipenem/betamipron に関する細菌学的検討(第5報), 低アミノ酸培地中における panipenem の抗緑膿菌活性の増強について。日化療会誌 39 (Suppl 3) 132 ~ 139, 1991
 - 11) Arakawa S, Kamidono S, Inamatsu T, et al: Clinical studies of S-4661, new parenteral carbapenem, in complicated urinary tract infections. *In* Program and abstracts of the 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, p. 183, American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1997
 - 12) Jones R N, Huynh H K, Biedenbach D J, et al: Doripenem (S-4661) a novel carbapenem: comparative activity against contemporary pathogens including bactericidal action and preliminary in vitro methods evaluations. *J Antimicrob Chemother* 54: 144 ~ 154, 2004
 - 13) Fung-Tomc J C, Huczko E, Banville J, et al: Structure-activity relationships of carbapenems that determine their dependence on porin protein D2 for activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 39: 394 ~ 399, 1995
 - 14) Masuda N, Sakagawa E, Ohya S, et al: Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY-OprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 44: 3322 ~ 3327, 2000
 - 15) Nikaido H: Multidrug efflux pumps of gram-negative bacteria. *J Bacteriol* 178: 5853 ~ 5859, 1996
 - 16) Stover C K, Pham X Q, Erwin A L, et al: Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PA01, an opportunistic pathogen. *Nature* 31: 406: 959 ~ 964, 2000
 - 17) Mouton J W, Touzw D J, Horrevorts A M, et al: Comparative pharmacokinetics of the carbapenems: clinical implications. *Clin Pharmacokinet* 39: 185 ~ 201, 2000
 - 18) Miyazaki S, Okazaki K, Tsuji M, et al: Pharmacodynamics of S-3578, a novel cephem, in murine lung and systemic infection models. *Antimicrob Agents Chemother* 48: 378 ~ 383, 2004
 - 19) Fukuoka T, Ohya S, Narita T, et al: Activity of the carbapenem panipenem and role of the OprD (D2) protein in its diffusion through the *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane. *Antimicrob Agents Chemother* 37: 322 ~ 327, 1993

In vitro and *in vivo* antibacterial activity of DRPM, a new carbapenem

Masakatsu Tsuji, Nobuhiko Furuya, Tetsuya Matsumoto, Yoshikazu Ishii,
Akira Ohno, Kazuhiro Tateda, Shuichi Miyazaki and Keizo Yamaguchi

Department of Microbiology, Toho University School of Medicine,
5-12-16 Omori-nishi, Ota-ku, Tokyo, Japan

We compared the *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of DRPM (formerly S-4661), a new 1 β -methylcarbapenem, with that of imipenem, panipenem, meropenem, biapenem, cefpirome, ceftazidime, and cefotaxime. DRPM was highly active against methicillin-susceptible staphylococci, penicillin-resistant *S. pneumoniae* and members of the family *Enterobacteriaceae* such as *Escherichia coli* and *Enterobacter cloacae*, with a MIC at which 90% of tested strains were inhibited (MIC₉₀) to 1 μ g/mL or less. Against imipenem-, ceftazidime-, ciprofloxacin-, and gentamicin-resistant *P. aeruginosa*, DRPM was the most active among tested agents. The *in vivo* efficacy of DRPM against experimentally induced infection in mice caused by gram-positive and gram-negative bacteria, including penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* and β -lactamase producing *H. influenzae* was similar to that of imipenem-cilastatin and meropenem-cilastatin. We conclude that DRPM is a promising new carbapenem for treating infections caused by gram-positive and negative bacteria, including penicillin-resistant *S. pneumoniae* and drug-resistant *P. aeruginosa*.