

## 【原著・基礎】

嫌気性菌に対する doripenem の *in vitro* 抗菌力

田中 香お里・渡邊 邦友

岐阜大学生命科学総合実験センター嫌気性菌実験分野\*

(平成 17 年 1 月 24 日受付・平成 17 年 3 月 1 日受理)

カルバペネム系抗菌薬 doripenem (DRPM) の嫌気性菌に対する *in vitro* 抗菌力を検討し, imipenem (IPM), meropenem (MEPM), biapenem (BIPM) および clindamycin (CLDM) の抗菌力と比較した。また, *Bacteroides fragilis*, *Prevotella bivia* 由来の  $\beta$ -lactamase に対する DRPM の安定性についても検討した。

DRPM は, 他のカルバペネム系抗菌薬と同様, 嫌気性菌においてもグラム陽性菌およびグラム陰性菌を通じて幅広い抗菌スペクトルを示し, ほとんどの被験菌株の発育を  $0.025 \sim 0.78 \mu\text{g}/\text{mL}$  で阻止し, 全般に強い抗菌力を保持していた。カルバペネム系薬の抗菌力は数管の幅で近接していたが, 全般に DRPM は IPM, MEPM より 1~2 管高く, BIPM と同じか 1 管低い MIC 値を示す傾向にあった。また, DRPM は, 他のカルバペネム系薬と同様に metallo- $\beta$ -lactamase 以外の *B. fragilis* と *P. bivia* の  $\beta$ -lactamase に安定であった。臨床分離株を用いた検討でも, DRPM の抗菌力は他のカルバペネム系薬と近接しており, *B. fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron* に対する MIC<sub>90</sub> が  $0.78 \mu\text{g}/\text{mL}$ , 黒色色素産生, および非産生の *Prevotella* spp., *Fusobacterium* spp. や *Peptostreptococcus anaerobius* 以外の主要な嫌気性球菌, および *Clostridium perfringens* に対する MIC<sub>90</sub> が  $0.39 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下と良好な抗菌力を示した。

以上のことより, DRPM は, 嫌気性菌感染症においても効果が期待できる有用な抗菌薬であることが示唆された。

**Key words:** doripenem, carbapenem, antibacterial activity, anaerobe

Doripenem (DRPM) は塩野義製薬株式会社で合成された注射用の  $1\beta$  メチルカルバペネム<sup>1,2)</sup>, グラム陽性菌, グラム陰性菌を通じて幅広い抗菌活性を有する<sup>3-7)</sup>。また, 腎デヒドロペプチダーゼ I にも安定で<sup>8)</sup>, シラスタチンなどの阻害薬を併用する必要がなく, 動物感染モデルを用いた検討で *in vivo* においても治療効果が示されている<sup>3,4)</sup>。

嫌気性グラム陰性桿菌, 特に基質特異性が多彩な  $\beta$ -lactamase を産生し,  $\beta$  ラクタム系薬に多様な耐性を示す *Bacteroides fragilis* group においては, カルバペネム系抗菌薬は確実な抗菌力が期待できる限られた薬剤である。また, 嫌気性菌感染症では, 好気性菌との複数菌感染が多く, 重症感染症においては幅広い抗菌スペクトルを有する薬剤としてカルバペネム系薬は重要な位置を占めている。しかしながら, 嫌気性菌に対する DRPM の抗菌力については, 詳細な報告は少ない。今回, 教室保存の参考菌株を用いて, 嫌気性菌における DRPM の抗菌スペクトルを調べるとともに, 主要な嫌気性菌の臨床分離株に対する抗菌力を調べた。

## I. 材料と方法

## 1. 被験菌株

当施設に保有の参考菌株 68 株と 1991~1994 年に分離

された *Bacteroides fragilis* group (*Bacteroides distasonis* 19 株, *Bacteroides fragilis* 78 株, *Bacteroides thetaiotaomicron* 34 株, *Bacteroides* spp. 20 株) 151 株, *Fusobacterium* spp. 24 株, *Prevotella* spp. (*Prevotella bivia* 41 株, non-pigmented *Prevotella* spp. 11 株, pigmented *Prevotella* spp. 17 株) 69 株, 嫌気性球菌 (*Fingoldia magna* 38 株, *Micromonas micros* 18 株, *Peptoniphilus asaccharolyticus* 37 株, *Peptostreptococcus anaerobius* 26 株, *Veillonella* spp. 20 株) 139 株, *Clostridium difficile* 23 株, *Clostridium perfringens* 25 株, および *Propionibacterium acnes* 46 株の合計 477 株を対象とした。

## 2. 被験薬剤

いずれも力価が明らかな標品である DRPM (塩野義製薬), imipenem (IPM: 萬有製薬), meropenem (MEPM: 住友製薬), biapenem (BIPM: 日本レダリー), clindamycin (CLDM: 日本アップジョン) を用いた。

## 3. 感受性測定

感受性測定は, 日本化学療法学会の推奨する方法<sup>9)</sup>に準じた寒天平板希釈法で実施した。

ただし前培養および感受性測定培地としては羊溶血血

\*岐阜県岐阜市柳戸 1 1

Table 1. Antimicrobial activity of doripenem and other reference compounds against Gram-positive anaerobic bacteria and facultative anaerobic bacteria

Organism	MIC ( µg/mL )				
	Doripenem	Biapenem	Meropenem	Imipenem	Clindamycin
<i>Anaerococcus prevotii</i> ATCC9321	0.2	0.39	0.2	0.2	0.1
<i>Atopobium parvulum</i> VPI0546	0.78	1.56	0.39	0.1	0.39
<i>Finegoldia magna</i> ATCC29328	0.2	0.39	0.1	0.2	0.78
<i>Micromonas micros</i> VPI5464-1	0.2	0.78	0.2	0.39	0.1
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i> WAL3218	0.05	0.2	0.025	0.1	100
<i>Peptoniphilus indolicus</i> GAI0915	0.025	0.05	0.025	0.2	0.2
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC27337	0.39	0.39	0.39	0.1	0.1
<i>Gemella morbillorum</i> ATCC27824	0.05	0.05	0.025	0.025	0.025
<i>Staphylococcus saccharolyticus</i> ATCC14953	0.1	0.1	0.1	0.025	0.05
<i>Streptococcus constellatus</i> ATCC27923	0.2	0.78	0.39	0.2	0.1
<i>Streptococcus intermedius</i> ATCC27335	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2
<i>Clostridium clostridioforme</i> NCTC11224	0.2	0.39	0.2	0.39	0.1
<i>Clostridium difficile</i> GAI10029	3.13	6.25	3.13	6.25	> 200
<i>Clostridium histolyticum</i> ATCC19401	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC13124	0.05	0.1	0.025	0.025	0.05
<i>Clostridium septicum</i> ATCC12464	0.05	0.05	0.025	0.025	0.025
<i>Clostridium sordellii</i> ATCC9714	0.025	0.05	0.025	0.025	0.39
<i>Clostridium ramosum</i> ATCC25582	0.78	1.56	1.56	0.2	1.56
<i>Actinomyces odontolyticus</i> GAI91002	0.2	0.39	0.2	0.1	0.025
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ATCC15703	0.2	0.1	0.1	0.2	0.025
<i>Bifidobacterium bifidum</i> JCM1255	0.39	0.78	0.1	0.2	0.025
<i>Bifidobacterium breve</i> ATCC15700	1.56	1.56	0.78	1.56	0.025
<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>longum</i> ATCC15707	1.56	1.56	0.39	0.39	0.025
<i>Bifidobacterium pseudolongum</i> ATCC25526	0.2	0.39	0.1	0.39	0.025
<i>Eggerthella lenta</i> ATCC25559	0.2	0.78	0.78	3.13	0.1
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC11828	0.78	1.56	0.39	0.05	0.05
<i>Propionibacterium granulosum</i> ATCC25564	0.39	0.78	0.39	0.05	0.025
<i>Lactobacillus acidophilus</i> JCM1132	0.39	0.78	0.39	0.2	0.78
<i>Lactobacillus brevis</i> subsp. <i>brevis</i> JCM1059	0.1	0.2	0.39	0.05	0.025
<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>casei</i> JCM1134	0.78	1.56	1.56	0.39	1.56
<i>Lactobacillus fermentum</i> JCM1173	0.05	0.1	0.2	0.025	0.025
<i>Lactobacillus plantarum</i> JCM1149	0.2	0.39	0.2	0.05	0.025
<i>Lactobacillus reuteri</i> JCM1112	0.1	0.2	0.39	0.05	0.025
<i>Lactobacillus salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i> JCM1231	0.39	0.78	0.78	0.39	0.025

液を 5% になるよう添加したブルセラ HK 寒天培地 ( 極東製薬工業 ) を用いた。また、菌接種については、被験菌株を 5% 羊溶血血液加ブルセラ HK 寒天培地に前培養した後、予備還元済みの Anaerobe broth MIC ( Difco ) に懸濁し、段階希釈した被験薬を含む感受性測定培地に  $10^6$  CFU/mL ずつ接種した。菌を接種した平板は、嫌気チャンパー内 ( 窒素約 82% , 水素約 8% , 炭酸ガス約 10% ) で 37 °C、原則 48 時間 ( *Clostridium* spp. は 18 時間 ) 培養し、判定に供した。

また、毎回の感受性測定は、精度管理菌株として *B. fragilis* ATCC25285 と GAI5562 を加えて行った。

#### 4. β-lactamase に対する安定性

β-lactamase は、*B. fragilis* のセフェム・ペニシリン耐性株 GAI0558、セファマイシン高度耐性株 GAI7955<sup>(10)</sup>、ABPC 高度耐性株 GAI10150<sup>(11)</sup>、metallo-β-lactamase 産

生カルバペネム高度耐性株 GAI92082 および広域セフェム分解性 β-lactamase を産生する *P. bivia* ATCC 29303、GAI4100<sup>(12)</sup> から抽出した粗酵素を用いた。

被験薬剤 ( DRPM、IPM、MEPM、BIPM ) を各菌株由来の粗酵素とともに 37 °C でインキュベートし、分光光度法<sup>(13,14)</sup>により、被験薬の加水分解を測定した。結果は各粗酵素による cephaloridine ( CER ) の加水分解速度を 100% とした相対加水分解速度で表した。

## II. 結 果

### 1. 抗菌スペクトラム

グラム陽性の参考菌株についての結果を Table 1 に、グラム陰性の参考菌株についての結果を Table 2 に示した。DRPM は、*C. difficile* を含む試験したすべてのグラム陽性参考菌株の発育を 3.13 µg/mL 以下で阻止し、*Bifidobacterium* spp. の一部と *C. difficile* 以外の株の

Table 2. Antimicrobial activity of doripenem and other reference compounds against Gram-negative anaerobic bacteria and facultative anaerobic bacteria

Organism	MIC ( µg/mL )				
	Doripenem	Biapenem	Meropenem	Imipenem	Clindamycin
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI5562	0.39	0.39	0.1	0.1	0.2
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC25285	0.39	0.39	0.2	0.1	0.39
<i>Bacteroides fragilis</i> NCTC10581	0.39	0.39	0.1	0.1	0.025
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI0558	0.39	0.78	0.39	0.39	0.2
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI7955	1.56	1.56	1.56	1.56	0.39
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI10150	1.56	1.56	1.56	1.56	0.05
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI30079	> 200	200	> 200	100	> 200
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI30144	> 200	200	> 200	200	0.39
<i>Bacteroides vulgatus</i> ATCC8482	0.39	0.78	0.2	0.78	0.025
<i>Bacteroides distasonis</i> ATCC8503	0.39	0.78	0.2	0.78	0.025
<i>Bacteroides ovatus</i> ATCC8483	0.39	0.39	0.2	0.39	0.2
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ATCC29741	0.39	0.39	0.2	0.39	3.13
<i>Bacteroides uniformis</i> ATCC8492	0.2	0.39	0.1	0.2	0.025
<i>Bacteroides eggerthii</i> ATCC27754	0.2	0.39	0.1	0.1	0.025
<i>Bacteroides ureolyticus</i> NCTC10941	0.05	0.05	0.025	0.1	0.1
<i>Campylobacter gracilis</i> JCM8538	0.2	0.39	0.05	0.39	12.5
<i>Prevotella bivia</i> ATCC29303	0.39	0.2	0.2	0.05	0.025
<i>Prevotella buccae</i> ATCC33574	0.2	0.2	0.1	0.1	0.025
<i>Prevotella corporis</i> GAI91000	0.1	0.1	0.025	0.025	0.025
<i>Prevotella heparinolytica</i> ATCC35895	0.05	0.05	0.025	0.05	0.025
<i>Prevotella intermedia</i> ATCC25611	0.05	0.05	0.025	0.025	0.025
<i>Prevotella melaninogenica</i> GAI5490	0.05	0.05	0.025	0.025	0.025
<i>Prevotella oralis</i> ATCC33269	0.05	0.05	0.025	0.025	0.025
<i>Prevotella oris</i> ATCC33573	0.05	0.05	0.025	0.025	0.025
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i> ATCC25260	0.05	0.05	0.025	0.025	0.025
<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC33277	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC25586	1.56	0.2	0.1	0.39	0.05
<i>Fusobacterium varium</i> ATCC8501	0.39	0.78	0.1	1.56	3.13
<i>Fusobacterium necrophorum</i> ATCC25286	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
<i>Bilophilla wadsworthia</i> WAL7959	0.1	0.1	0.025	0.1	0.1
<i>Desulfomonas pigra</i> DSM749	0.1	0.1	0.025	0.05	0.025
<i>Capnocytophaga ochracea</i> GAI5586	0.2	0.39	0.025	0.39	0.025
<i>Veillonella parvula</i> ATCC10790	0.05	0.1	0.025	0.1	0.05
<i>Veillonella dispar</i> ATCC17748	0.1	0.2	0.025	0.05	0.025

MIC は 0.78 µg/mL 以下であった。対照薬との比較においては、全般に、IPM、CLDM には 1~4 管程度劣るものの、MEPM とほぼ同等で BIPM より 1~2 管優れた抗菌力であった。グラム陰性菌については、metallo-β-lactamase を産生する *B. fragilis* 以外の参考菌株の発育を 0.025~1.56 µg/mL で阻止した。これらのグラム陰性菌に対する DRPM の抗菌力は、BIPM と同等かおおむね 1 管優れ、MEPM、IPM より 1~2 管、CLDM よりおおむね 1~4 管劣る傾向にあった。

## 2. 臨床分離株に対する抗菌力 (Table 3)

### 1) *B. fragilis* group

*B. fragilis* group については、DRPM を含むカルバペネム系薬は、0.1~12.5 µg/mL の間で各薬剤同様の MIC 分布を示した。DRPM は MIC<sub>50</sub> が 0.39~0.78 µg/mL、MIC<sub>90</sub> が 0.78~3.13 µg/mL と IPM、MEPM に次ぐ良好

な抗菌力であった。CLDM との比較では、*B. fragilis*、*B. distasonis* については、約半数の株に対する抗菌力は CLDM が 1~8 管優れていたが、これら 2 菌種の約半数と、*B. thetaiotaomicron* とその他の *Bacteroides* spp. 株の全般に対しては、DRPM の抗菌力が 1~10 管優っていた。

### 2) *Prevotella* spp. に対する抗菌力

*Prevotella* spp. については、*P. bivia* に対しても、その他の non-pigmented *Prevotella* および pigmented *Prevotella* に対しても、CLDM が 0.025 µg/mL の MIC<sub>50</sub> を示し、比較薬剤中最も優れた抗菌力であった。カルバペネム系抗菌薬の MIC<sub>50</sub> は 0.1~0.39 µg/mL で、CLDM ほどではないが、いずれの薬剤もこれらの菌群に優れた抗菌力を示した。DRPM の抗菌力は、*P. bivia* とその他の non-pigmented *Prevotella* においては、IPM、MEPM に次

Table 3. *In vitro* activity of doripenem and other reference compounds against clinical isolates of anaerobic bacteria and facultative anaerobic bacteria

Organism ( No. of isolates )	Antimicrobial agent	MIC ( $\mu$ g/mL )		
		Range	MIC <sub>50</sub> <sup>a</sup>	MIC <sub>90</sub> <sup>b</sup>
<i>Bacteroides distasonis</i> ( 19 )	Doripenem	0.39-6.25	0.78	3.13
	Biapenem	0.78-6.25	0.78	3.13
	Meropenem	0.2-3.13	0.39	3.13
	Imipenem	0.2-3.13	0.78	3.13
	Clindamycin	0.025- > 200	0.78	> 200
<i>Bacteroides fragilis</i> ( 78 )	Doripenem	0.2-6.25	0.39	0.78
	Biapenem	0.2-3.13	0.39	0.78
	Meropenem	0.1-3.13	0.2	0.39
	Imipenem	0.05-3.13	0.1	0.39
	Clindamycin	0.025- > 200	0.39	> 200
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ( 34 )	Doripenem	0.39-12.5	0.39	0.78
	Biapenem	0.39-6.25	0.39	0.78
	Meropenem	0.2-12.5	0.39	0.78
	Imipenem	0.2-3.13	0.39	0.39
	Clindamycin	0.1- > 200	3.13	> 200
<i>Bacteroides</i> spp. ( 20 ) <sup>†</sup>	Doripenem	0.2-12.5	0.39	0.78
	Biapenem	0.2-3.13	0.39	1.56
	Meropenem	0.1-12.5	0.2	0.78
	Imipenem	0.1-0.78	0.2	0.78
	Clindamycin	0.1- > 200	3.13	> 200
<i>Prevotella bivia</i> ( 41 )	Doripenem	0.1-0.2	0.1	0.2
	Biapenem	0.1-0.2	0.2	0.2
	Meropenem	0.05-0.2	0.1	0.2
	Imipenem	0.025-0.1	0.05	0.1
	Clindamycin	0.025-200	0.025	0.025
Non-pigmented <i>Prevotella</i> spp. ( 11 ) <sup>‡</sup>	Doripenem	0.025-0.39	0.2	0.39
	Biapenem	0.025-0.39	0.2	0.39
	Meropenem	0.025-0.39	0.1	0.39
	Imipenem	0.025-0.2	0.05	0.2
	Clindamycin	0.025- > 200	0.025	0.025
Pigmented <i>Prevotella</i> spp. ( 17 ) <sup>‡</sup>	Doripenem	0.05-0.2	0.1	0.1
	Biapenem	0.1-0.2	0.1	0.2
	Meropenem	0.025-0.1	0.1	0.1
	Imipenem	0.025-0.1	0.05	0.1
	Clindamycin	0.025	0.025	0.025
<i>Fusobacterium</i> spp. ( 24 ) <sup>‡</sup>	Doripenem	0.025-0.78	0.05	0.39
	Biapenem	0.025-3.13	0.1	1.56
	Meropenem	0.025-0.2	0.025	0.1
	Imipenem	0.025-1.56	0.05	0.78
	Clindamycin	0.025-12.5	0.05	3.13
<i>Fingoldia magna</i> ( 38 )	Doripenem	0.05-0.2	0.2	0.2
	Biapenem	0.2-0.78	0.2	0.39
	Meropenem	0.05-0.2	0.1	0.2
	Imipenem	0.05-0.2	0.1	0.2
	Clindamycin	0.025- > 200	0.78	3.13
<i>Micromonas micros</i> ( 18 )	Doripenem	0.05-0.78	0.1	0.39
	Biapenem	0.1-1.56	0.2	0.78
	Meropenem	0.025-0.39	0.05	0.39
	Imipenem	0.05-0.2	0.1	0.2
	Clindamycin	0.1-0.39	0.2	0.39

( Continue )

Organism ( No. of isolates )	Antimicrobial agent	MIC ( $\mu$ g/mL )		
		Range	MIC <sub>50</sub> <sup>a</sup>	MIC <sub>90</sub> <sup>b</sup>
<i>Peptoniphillus asaccharolyticus</i> ( 37 )	Doripenem	0.025-0.1	0.025	0.025
	Biapenem	0.025-0.2	0.025	0.1
	Meropenem	0.025-0.05	0.025	0.025
	Imipenem	0.025-0.1	0.025	0.025
	Clindamycin	0.025-200	0.1	0.39
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ( 26 )	Doripenem	0.2-12.5	0.39	6.25
	Biapenem	0.2-12.5	0.39	6.25
	Meropenem	0.2-6.25	0.39	6.25
	Imipenem	0.05-3.13	0.1	3.13
	Clindamycin	0.025-1.56	0.2	0.39
<i>Veillonella</i> spp. ( 20 )	Doripenem	0.025-0.78	0.2	0.39
	Biapenem	0.025-1.56	0.39	0.78
	Meropenem	0.025-0.39	0.025	0.1
	Imipenem	0.025-0.78	0.2	0.78
	Clindamycin	0.025-50	0.1	0.2
<i>Propionibacterium acnes</i> ( 46 )	Doripenem	0.025-0.39	0.1	0.2
	Biapenem	0.025-0.39	0.2	0.39
	Meropenem	0.025-0.39	0.1	0.2
	Imipenem	0.025-0.05	0.025	0.025
	Clindamycin	0.025-0.2	0.025	0.2
<i>Clostridium difficile</i> ( 23 )	Doripenem	1.56-12.5	3.13	6.25
	Biapenem	6.25-50	25	50
	Meropenem	0.78-12.5	3.13	3.13
	Imipenem	3.13-25	12.5	25
	Clindamycin	0.78-200	3.13	200
<i>Clostridium perfringens</i> ( 25 )	Doripenem	0.025-0.1	0.025	0.025
	Biapenem	0.025-0.1	0.05	0.1
	Meropenem	0.025	0.025	0.025
	Imipenem	0.025-0.2	0.025	0.1
	Clindamycin	0.05-1.56	0.78	0.78

<sup>a</sup>MIC<sub>50</sub>: Concentration at which 50% of organisms are susceptible.

<sup>b</sup>MIC<sub>90</sub>: Concentration at which 90% of organisms are susceptible.

<sup>c</sup>*B.caccae*, 11 strains ; *B.uniformis*, 9 strains.

<sup>d</sup>*P.buccae / oris*, 7 strains ; *P.oralis* group, 2 strains ; *P.disiens*, 2 strains.

<sup>e</sup>*P.intermedia / corporis*, 12 strains ; *P.melaninogenica* group, 5 strains.

<sup>f</sup>*F.nucleatum*, 14 strains ; *F.necrophorum*, 4 strains ; *F.varium*, 3 strains ; *Fusobacterium* spp., 3 strains.

いで BIPM とほぼ同等 ,pigmented *Prevotella* においては IPM に次いで MEPM と同等であった。

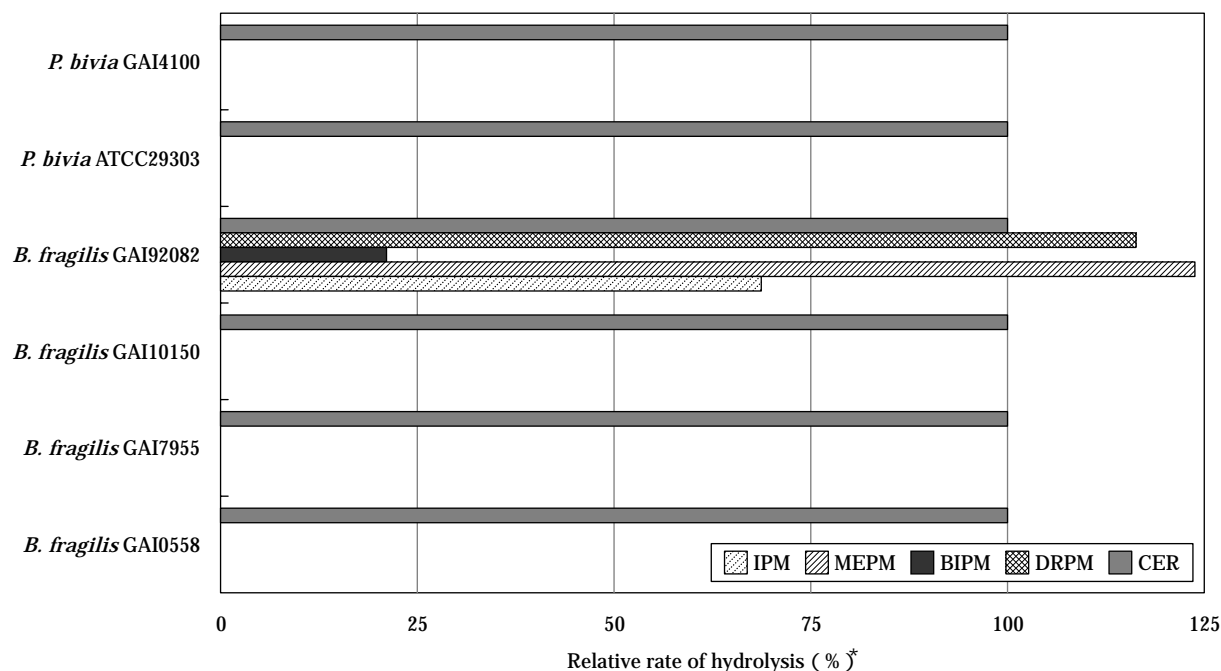
### 3) *Fusobacterium* に対する抗菌力

*Fusobacterium* spp. についてもカルバペネム系抗菌薬の MIC<sub>90</sub> は 0.1 ~ 1.56  $\mu$ g/mL と良好な抗菌力を示した。同系統で最も優れた抗菌力を示したのは MEPM で MIC<sub>90</sub> が 0.1  $\mu$ g/mL であった。DRPM は、これに次ぐ優れた抗菌力を示し、検討したすべての株の発育を 0.78  $\mu$ g/mL 以下で阻止し、IPM とほぼ同等であった。CLDM は 90% 弱の株には DRPM, IPM と同等の抗菌力を示したが、一部に MIC が 3.13 ~ 12.5  $\mu$ g/mL の感受性が低下した株がみられた。

### 4) 嫌気性球菌に対する抗菌力

嫌気性グラム陽性球菌である *F. magna*, *M. micros*, *P. asaccharolyticus* に対して、カルバペネム系薬は

MIC<sub>90</sub> が 0.025 ~ 0.78  $\mu$ g/mL といずれも優れた抗菌力を示し、特に *P. asaccharolyticus* に対しては、DRPM, MEPM, IPM の MIC<sub>90</sub> が 0.025  $\mu$ g/mL, BIPM の MIC<sub>90</sub> が 0.1  $\mu$ g/mL と強い抗菌力を示した。これらは、*F. magna*, *P. asaccharolyticus* においては、CLDM よりも優れた値であった。カルバペネム系薬内での比較では、DRPM の *F. magna*, *M. micros*, *P. asaccharolyticus* に対する抗菌力は、IPM, MEPM とほぼ同等で BIPM より優れていた。一方 *P. anaerobius* に対しては、被験菌株全般に対して CLDM が強い抗菌力を示した (MIC<sub>90</sub> 0.39  $\mu$ g/mL) のに対し、カルバペネム系薬では、いずれの薬剤についても CLDM よりも感受性が劣る株が 40% 強存在し、MIC<sub>90</sub> が IPM で 3.13  $\mu$ g/mL, DRPM, BIPM, MEPM で 6.25  $\mu$ g/mL と前出の 3 菌群より高い値となった。



\*Relative hydrolysis was expressed relative to that for CER, considered 100%.

Fig. 1. Stability of doripenem with beta-lactamase produced by *B. fragilis* and *P. bivia*.

嫌気性グラム陰性球菌である *Veillonella* spp. については、いずれの薬剤も MIC<sub>90</sub> が 0.1 ~ 0.78 μg/mL と良好な抗菌力を示した。DRPM のこの菌群に対する抗菌力は、MEPM、CLDM に次いで IPM と同等、BIPM より優っていた。

#### 5) グラム陽性桿菌に対する抗菌力

*P. acnes* については、いずれの薬剤も MIC<sub>90</sub> が 0.025 ~ 0.39 μg/mL と強い抗菌力を示し、DRPM についても MIC<sub>90</sub> が 0.2 μg/mL と、MEPM と同等、IPM、CLDM に次ぐ抗菌力であった。*Clostridium* spp. では、*C. perfringens* については、どのカルバペネム系薬も MIC<sub>90</sub> が 0.1 μg/mL 以下と強い抗菌力を示したが、*C. difficile* については、MIC<sub>90</sub> が 3.13 μg/mL 以上と不良であった。DRPM の抗菌力は、これら *Clostridium* の 2 菌群において、MIC<sub>90</sub> が 0.025 μg/mL (*C. perfringens*) および 6.25 μg/mL (*C. difficile*) と IPM より良好で、これらの菌群に最も強い抗菌力を示した MEPM に次ぐものであった。

#### 3. β-lactamase に対する安定性

DEPM および対照薬の β-lactamase に対する安定性を各酵素における CER の加水分解速度を 100% とした相対加水分解速度で Fig. 1 に示した。DRPM は、ペニシリン系、セフェム系に広範な基質特異性を示す *B. fragilis* GAI0558, GAI7955, GAI10150, *P. bivia* ATCC29303, GAI4100 のいずれの β-lactamase にも安定であったが、他のカルバペネム系薬と同様、metallo-β-lactamase である *B. fragilis* GAI92082 の酵素には加水分解を受け、その相対加水分解速度は 116% であった。

### III. 考 察

カルバペネム系抗菌薬である DRPM について嫌気性菌の抗菌スペクトルおよび臨床分離株に対する抗菌力を調べた。DRPM は、他のカルバペネム系抗菌薬と同様、嫌気性菌においてもグラム陽性菌およびグラム陰性菌を通じて幅広い抗菌スペクトルと全般に強い抗菌力を保持していた。カルバペネム系薬の抗菌力は数管の幅で近接していたが、全般に DRPM は IPM、MEPM より 1~2 管高く、BIPM と同等あるいは 1 管低い MIC 値を示す傾向にあった。

嫌気性の特に *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp. としたグラム陰性桿菌においては、β-lactamase の産生率が高く、しかも同一菌種においても基質特異性が多様で、これらの菌群における β-ラクタム系薬の抗菌薬に大きな影響を与えている。このような背景から、*B. fragilis* および *P. bivia* の β-lactamase に対する DRPM の安定性についても検討を行った。*B. fragilis* GAI 0558 は広域セフェムとペニシリンに耐性を示す株、GAI10150 はセフェム耐性に加えてペニシリン系にきわめて高い耐性を示す株、GAI7955 はセファマイシン遅分解性の酵素をもつセファマイシン高度耐性株、GAI92082 は metallo-β-lactamase 産生カルバペネム高度耐性株である。また、*P. bivia* ATCC29303, GAI4100 も広域セフェムを分解する β-lactamase を多量に産生する株である。DRPM は対照の他のカルバペネム系薬と同様、GAI92082 以外の β-lactamase には安定であった。*B. fragilis* GAI0558, GAI7955, GAI10150 および *P. bivia* ATCC29303 に対する

DRPMのMICはそれぞれ、0.39, 1.56, 1.56, 0.39  $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり、また、GAI92082と同じく metallo- $\beta$ -lactamaseを産生する高度カルバペネム耐性 *B. fragilis* GAI30079, GAI30144 に対するMICは  $> 200 \mu\text{g}/\text{mL}$ であった (Table 2)。この参考菌株に対するDRPMの抗菌力は、これらの株が産生する  $\beta$ -lactamase に対する安定・不安定性をよく反映していた。Mushtaqらは、腸内細菌科の菌種について産生する  $\beta$ -lactamase を明確にした分離株等を用いてDRPMの抗菌力を検討し、carbapenemase 以外の  $\beta$ -lactamase 産生菌に対しては、安定した抗菌力を示すと報告している<sup>15)</sup>。 $\beta$ -lactamase の産生が問題となる嫌気性菌の菌種でも、今回の検討から同様に carbapenemase 以外の  $\beta$ -lactamase については安定であることが示された。好気性菌では、carbapenemase 産生菌の拡大が問題になっているが、嫌気性菌の carbapenemase 産生株は近年国内では報告がなく、嫌気性菌においては現時点では、この種の酵素に起因するDRPM高度耐性株については、危惧する状況にはないと考えられる。

臨床材料からよく分離される主要な菌群についての臨床分離株を用いた検討では、DRPMは *B. fragilis* group, *P. anaerobius*, *C. difficile* 以外の菌群に対しては、検討したすべての菌群の発育を 0.78  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以下で阻止し、MIC<sub>90</sub> が 0.39  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以下と優れた抗菌力を示した。これらの菌群には、呼吸器感染症や頭頸部感染症に關与する黒色素産生、および非産生の *Prevotella* spp., *Fusobacterium* spp. や婦人科領域感染症の主要な原因菌である *F. magna*, *P. bivia*, また、ガス壊疽菌群の代表的な菌種である *C. perfringens* が含まれており、DRPMはこれらの疾患に対して有用な薬剤であることが示唆された。

*B. fragilis* group においては、*P. anaerobius* や *C. difficile* よりもカルバペネム系薬が主要な選択薬の一つとなる。今回、最も分離頻度の高い *B. fragilis* と *B. thetaiotaomicron* に対するMIC<sub>90</sub> は、DRPM, BIPMでは 0.78  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , MEPM, IPMでは 0.39~0.78  $\mu\text{g}/\text{mL}$  と良好な抗菌力を示した。また、*B. distasonis* に対してはカルバペネム系の4薬剤ともに *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron* よりも2~3管感受性が悪く、MIC<sub>90</sub> はいずれも 3.13  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であった。3.13  $\mu\text{g}/\text{mL}$  は他の嫌気性グラム陰性桿菌よりは高い値であるが感受性の領域であり、これらの菌種が關与する感染症領域におけるDRPMの組織移行も他のカルバペネムと遜色ないとされることから<sup>16-18)</sup>、PK/PDに基づく適切な投与が行われれば、十分な抗菌力を示すと推測される。ところで今回、DRPM, BIPM, MEPMでは、*B. fragilis* group において 6.25~12.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  を示す株も存在した。*B. fragilis* group における、このようなブレイクポイント付近の耐性を示す株は、metallo- $\beta$ -lactamase は産生しないが、一般に各種抗菌薬に対する感受性も低く<sup>19)</sup>注意を要する存在ではあ

る。しかしながら、*B. fragilis* group 中最も分離頻度の高い、*B. fragilis* にはこの種の株は少なく、*B. fragilis* group 全体からみれば分離頻度は高くはない。

今回の検討から、DRPMは *C. difficile* 以外の主要な嫌気性菌に対しては優れた抗菌力を保持していることが明らかになり、好気性菌においても幅広い抗菌力を保持していることから、嫌気性菌のみによる感染症だけでなく混合感染が多い内因性の嫌気性菌感染症にも高い有効性が期待できる薬剤と考えられる。

#### 文 献

- 1) Iso Y, Irie T, Nishino Y, et al: A novel 1 $\beta$ -methylcarbapenem antibiotic, S-4661 synthesis and structure-activity relationships of 2-(5-substituted pyrrolidin-3-ylthio)-1 $\beta$ -methylcarbapenems. *J Antibiot* 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 Antibiot* 49: 478~484, 1996
- 3) Tsuji M, Ishii Y, Ohno A, et al: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of S-4661, a new carbapenem. *Antimicrob Agents Chemother* 42: 94~99, 1998
- 4) Mikamo H, Izumi K, Hua Y-X, et al: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of a new injectable carbapenem, S-4661, against gynecological pathogens. *J Antimicrob Chemother* 46: 471~474, 2000
- 5) Watanabe A, Takahashi H, Kikuchi T, et al: Comparative *in vitro* Activity of S-4661, a new parenteral carbapenem, and other antimicrobial agents against respiratory pathogens. *Chemother* 46: 184~187, 2000
- 6) 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
- 7) Ge Y, Wikler M A, Sahm D F, et al: *In vitro* antimicrobial activity of doripenem, a new carbapenem. *Antimicrob Agents Chemother* 48: 1384~1396, 2004
- 8) Mori M, Hikida M, Nishihara T, et al: Comparative stability of carbapenem and penem antibiotics to human recombinant dehydropeptidase-I. *J Antimicrob Chemother* 37: 1034~1036, 1996
- 9) 嫌気性菌 MIC 測定検討委員会 (委員長 小坂井望): 嫌気性菌の最少発育阻止濃度 (MIC) 測定法。 *Chemotherapy* 23: 559~560, 1979
- 10) 武内美登里: *Bacteroides fragilis* group の cefoxitin 耐性とその伝達について。 *岐阜大医紀* 35: 414~425, 1987
- 11) Yamaoka K: R-plasmid mediated transfer of  $\beta$ -lactam resistance in *Bacteroides fragilis*. *J Antibiot* 43: 1302~1306, 1990
- 12) Tajima M, Sawa K, Watanabe K, et al: The  $\beta$ -lactamases of genus *Bacteroides*. *J Antibiot* 36: 423~428, 1983
- 13) Neu H C: Antibiotic inactivating enzymes and bacterial resistance. *In* *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 2<sup>nd</sup> ed (Lorian V ed) p. 757~789, Williams & Wilkins, Baltimore, 1986
- 14) Bandoh K, Watanabe K, Muto Y, et al: Conjugal trans-

- fer of imipenem resistance in *Bacteroides fragilis*. J Antibiot 45: 542 ~ 547, 1992
- 15) Mushtaq S, Ge Y, Livermore DM: Comparative activities of doripenem versus isolates, mutants, and transconjugants of *Enterobacteriaceae* and *Acinetobacter* spp. with characterized  $\beta$ -lactamases. Antimicrob Agents Chemother 48: 1313 ~ 1319, 2004
- 16) 谷村 弘, 相川直樹, 炭山嘉伸, 他: 外科感染症における doripenem の体内動態と臨床効果。日化療会誌 53 : ( Suppl 1 ), 260 ~ 272, 2005
- 17) 岡田弘二, 保田仁介, 平林光司, 他: 産婦人科領域における doripenem の基礎的および臨床的検討。日化療会誌 53 : ( Suppl 1 ), 273 ~ 285, 2005
- 18) 三鴨廣繁, 玉舎輝彦: 産婦人科領域からの分離菌に対する doripenem の抗菌力と体内動態。日化療会誌 53 : ( Suppl 1 ), 286 ~ 292, 2005
- 19) 田中香お里, 渡邊邦友: *Bacteroides fragilis* group の薬剤感受性。臨床微生物迅速診断研究会誌 9: 15 ~ 26, 1998

## *In vitro* activity of doripenem, a 1 $\beta$ -methylcarbapenem, against anaerobic bacteria

Kaori Tanaka and Kunitomo Watanabe

Division of Anaerobe Research, Gifu University Life Science Research Center,  
1-1 Yanagido, Gifu, Japan

*In vitro* activity of doripenem ( DRPM ), a 1 $\beta$ -methylcarbapenem, was compared to that of imipenem ( IPM ), meropenem ( MEPM ), biapenem ( BIPM ), and clindamycin ( CLDM ) against a variety of anaerobic bacteria and a small number of facultative anaerobic bacteria ( 68 reference strains and 477 clinical isolates )

DRPM had a broad spectrum against gram-positive and gram-negative reference strains of anaerobes, inhibiting many anaerobic bacterial strains at 0.78  $\mu$ g/mL or less. The MIC of DRPM for most reference strains was distributed one- or two- fold higher than that of IPM and MEPM, and one- fold lower than BIPM. For clinical strains, DRPM also showed potent activity. The MIC<sub>90</sub> of DRPM for pigmented and non-pigmented *Prevotella*, *Fusobacterium* spp., anaerobic gram-positive cocci except for *Peptostreptococcus anaerobius*, and *Clostridium perfringens* was 0.39  $\mu$ g/mL or less. For *Bacteroides fragilis* and *Bacteroides thetaiotaomicron*, DRPM showed good activity with a MIC<sub>90</sub> of 0.78  $\mu$ g/mL. Stability of DRPM to 6  $\beta$ -lactamases with distinct substrate specificity extracted from 4 strains of *B. fragilis* and 2 strains of *P. bivia* was examined.

DRPM was hydrolyzed with metallo- $\beta$ -lactamase but quite stable with other  $\beta$ -lactamases.