

【原著・基礎】

Doripenem の *in vitro* postantibiotic effect と *in vivo* 抗菌作用

戸塚 恭一・菊池 賢

東京女子医科大学感染対策部感染症科*

(平成17年3月2日受付・平成17年3月9日受理)

新規カルバペネム系薬 doripenem (DRPM) について, *Staphylococcus aureus* Smith 株, *Klebsiella pneumoniae* BK 株, *Escherichia coli* ATCC25922 株, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 株に対する *in vitro* postantibiotic effect (PAE) と *in vivo* 抗菌作用について検討した。PAE の検討は 4 MIC 濃度で DRPM, imipenem (IPM), panipenem (PAPM) および ceftazidime (CAZ) を 2 時間接触させ評価した。*In vivo* 抗菌作用の検討は好中球減少マウス大腿感染モデルを使用し, *in vivo* における抗菌作用を投与後の菌数が抗菌薬投与時の生菌数まで回復する時間を effective regrowth time (ERT) として評価した。

DRPM, IPM, PAPM, CAZ の *in vitro* PAE は, *S. aureus* に対しては 1.9 時間, 1.6 時間, 1.8 時間, 1.8 時間, *K. pneumoniae* に対しては 0.3 時間, 0.5 時間, 0.4 時間, 0.1 時間, *E. coli* に対しては 0.5 時間, 0.6 時間, 0.6 時間, 0.4 時間, *P. aeruginosa* に対しては 1.8 時間, 1.0 時間, 1.0 時間, - 0.3 時間を示した。

In vivo 抗菌作用の検討では, *S. aureus* 感染モデルにおいて, DRPM, IPM/cilastatin (CS), PAPM/betamipron (BP) を 50 mg/kg 投与した場合の ERT は, 7.8 時間, 12.3 時間, 10.8 時間であった。*K. pneumoniae* 感染モデルにおいて, DRPM, IPM/CS, PAPM/BP, meropenem (MEPM), CAZ を 50 mg/kg 投与した場合の ERT は, 5.0 時間, 5.5 時間, 4.3 時間, 5.0 時間, 6.0 時間であった。*P. aeruginosa* 感染モデルにおいて DRPM, IPM/CS, PAPM/BP, MEPM, CAZ を 100 mg/kg 投与した場合の ERT は, 8.0 時間, 9.8 時間, 8.3 時間, 5.3 時間, 2.7 時間であった。

DRPM の *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli* に対する PAE は他のカルバペネム系薬と同程度であり, *P. aeruginosa* に対する PAE は最も長かった。また, DRPM の *in vivo* 抗菌作用は, *K. pneumoniae* 感染モデル, *P. aeruginosa* 感染モデルにおいては他のカルバペネム系薬と同程度であったが, *S. aureus* 感染モデルに対しては, IPM/CS, PAPM/BP よりも弱いものであった。

Key words: doripenem, postantibiotic effect, effective regrowth time

Doripenem (DRPM) は 4 位にメチル基を有する新規のカルバペネム系薬であり, 3 位はスルファモイルアミノメチル置換ピロリジニルチオ基で修飾されている。緑膿菌をはじめとしたグラム陰性菌からグラム陽性菌に対して広範に抗菌力を示し, imipenem (IPM), ceftazidime (CAZ) および ciprofloxacin に耐性の緑膿菌にも高い抗菌力を示す¹⁾。本薬は腎由来の dihydropeptidase-I (DHP-I) に対する安定性が高く, 腎毒性も少ないので単剤での投与が可能である²⁾。また中枢神経作用が少ないことも特徴である。

カルバペネム系薬は β ラクタム系薬の中では, 強い殺菌作用とグラム陰性菌の緑膿菌に postantibiotic effect (PAE) を示すことなどが知られているので, DRPM の *in vitro* における PAE と好中球減少マウス大腿感染モデルを使用した *in vivo* における抗菌作用について検討した。

I. 材料と方法

1. *In vitro* PAE

対照薬を IPM, panipenem (PAPM), CAZ として DRPM の *in vitro* における PAE を測定した。MIC の測定は日本化学療法学会による微量液体希釈法³⁾にて測定した。*Staphylococcus aureus* Smith 株, *Klebsiella pneumoniae* BK 株, *Escherichia coli* ATCC25922 株, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 株に対して, 4 MIC 濃度に調整したそれぞれの抗菌薬を 2 時間接触させた後, メンブラン・フィルター (0.23 μ m) にて 3 回洗浄し, ミューラーヒントン液体培地中でのその後の菌の増殖を経時的に測定した。PAE は洗浄後菌数が 1 log 上昇するまでの時間からコントロールが 1 log 上昇するまでの時間を差し引いた時間として示した。

*東京都新宿区河田町 8 1

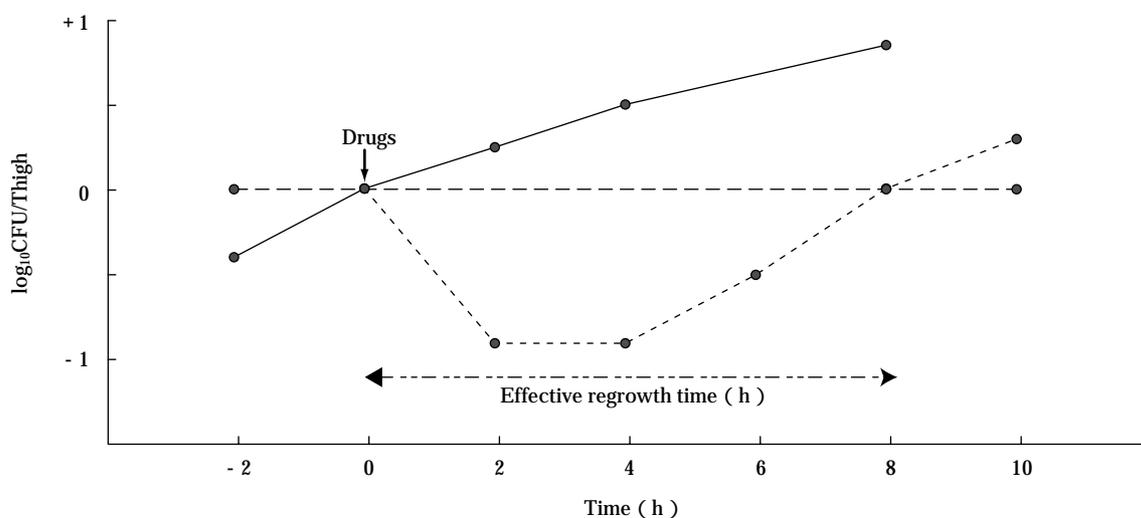


Fig. 1. Measurement of *in vivo* ERT and suppression site.

Table 1. MIC of DRPM, IPM, PAMP, and CAZ against *S. aureus* Smith, *K. pneumoniae* BK, *E. coli* ATCC25922, and *P. aeruginosa* ATCC27853

	<i>S. aureus</i> Smith	<i>K. pneumoniae</i> BK	<i>E. coli</i> ATCC25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853
DRPM	0.06	0.125	0.06	0.5
IPM	0.016	0.25	0.125	1.0
PAMP	0.06	0.125	0.125	8.0
CAZ	8.0	0.25	0.125	0.5

($\mu\text{g/mL}$)

2. *In vivo* 抗菌作用の検討

DRPM, IPM/cilastatin (CS), PAMP/betamipron (BP), meropenem (MEPM), CAZ について検討した。雌 ICR マウス (24~27 g) を使用した好中球減少マウス大腿感染モデルを用いた。好中球減少は感染の 4 日前, 1 日前に cyclophosphamide をそれぞれ 150 mg/kg, 100 mg/kg 腹腔内に投与して誘導した。ミュラーヒントン液体培地中で培養した対数増殖期の細菌約 10^6 CFU を両大腿に接種し, 2 時間後に各抗菌薬 50 mg/kg, または 100 mg/kg を背部皮下に投与した。細菌接種時, 抗菌薬投与直前, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12 時間に, 1 群, 2 匹の両大腿を除去し, ホモジェネートを作製して, 10 倍希釈系列を作成し, 一部をミュラーヒントン寒天培地に塗布して 1 昼夜培養後にコロニー数を測定した。*In vivo* における抗菌作用を投与後の菌数が抗菌薬投与時の生菌数まで回復する時間を effective regrowth time (ERT) として示した (Fig. 1)。

II. 結 果

1. MIC の測定

S. aureus Smith に対する DRPM, IPM, PAMP, CAZ の MIC は, それぞれ 0.06 $\mu\text{g/mL}$, 0.016 $\mu\text{g/mL}$, 0.06 $\mu\text{g/mL}$, 8.0 $\mu\text{g/mL}$ であった (Table 1)。*K. pneumoniae* BK に対する MIC はそれぞれ 0.125 $\mu\text{g/mL}$, 0.25 $\mu\text{g/mL}$, 0.125 $\mu\text{g/mL}$, 0.25 $\mu\text{g/mL}$ であった。*E. coli* ATCC

25922 に対する MIC はそれぞれ 0.06 $\mu\text{g/mL}$, 0.125 $\mu\text{g/mL}$, 0.125 $\mu\text{g/mL}$, 0.125 $\mu\text{g/mL}$ であった。また, *P. aeruginosa* ATCC27853 に対する MIC は 0.5 $\mu\text{g/mL}$, 1.0 $\mu\text{g/mL}$, 8.0 $\mu\text{g/mL}$, 0.5 $\mu\text{g/mL}$ であり, DRPM はいずれの菌種に対しても優れた MIC を示した。

2. *In vitro* PAE

S. aureus Smith に対する DRPM, IPM, PAMP, CAZ の PAE は, それぞれ 1.9 時間, 1.6 時間, 1.8 時間, 1.8 時間であった (Table 2)。*K. pneumoniae* BK に対する PAE はそれぞれ 0.3 時間, 0.5 時間, 0.4 時間, 0.1 時間で, いずれも 1 時間以内の PAE であった。*E. coli* ATCC 25922 に対する PAE もそれぞれ 0.5 時間, 0.6 時間, 0.6 時間, 0.4 時間と短い PAE であった。また, *P. aeruginosa* ATCC27853 に対する PAE は 1.8 時間, 1.0 時間, 1.0 時間, -0.3 時間であり, セフェム系薬の CAZ では認められない PAE がカルバペネム系薬では認められ, DRPM が最も長い PAE を示した。DRPM は他のカルバペネムと同様に黄色ブドウ球菌に対して PAE を認めたが, グラム陰性菌の大腸菌, 肺炎桿菌には短い PAE であった。緑膿菌には他のカルバペネム系薬より長い PAE を示した。

3. *In vivo* 抗菌作用の検討

S. aureus Smith に対する DRPM, IPM/CS, PAMP/BP の 50 mg/kg 投与時の最大菌数減少量 (maximal killing: log₁₀CFU/thigh) はそれぞれ 1.23, 1.23, 1.5 であった

Table 2. *In vitro* PAE of DRPM, IPM, PAM, and CAZ against *S. aureus* Smith, *K. pneumoniae* BK, *E. coli* ATCC25922, and *P. aeruginosa* ATCC27853 (exposure: 4 MIC, 2 h)

	<i>S. aureus</i> Smith	<i>K. pneumoniae</i> BK	<i>E. coli</i> ATCC25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853
DRPM	1.9	0.3	0.5	1.8
IPM	1.6	0.5	0.6	1.0
PAM	1.8	0.4	0.6	1.0
CAZ	1.8	0.1	0.4	- 0.3

(h)

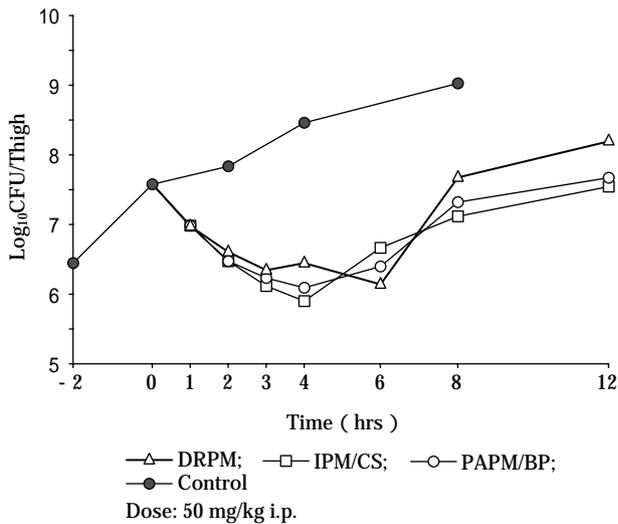


Fig. 2. *In vivo* antimicrobial activity of DRPM, IPM/CS, and PAM/BP against *S. aureus* Smith in neutropenic mice.

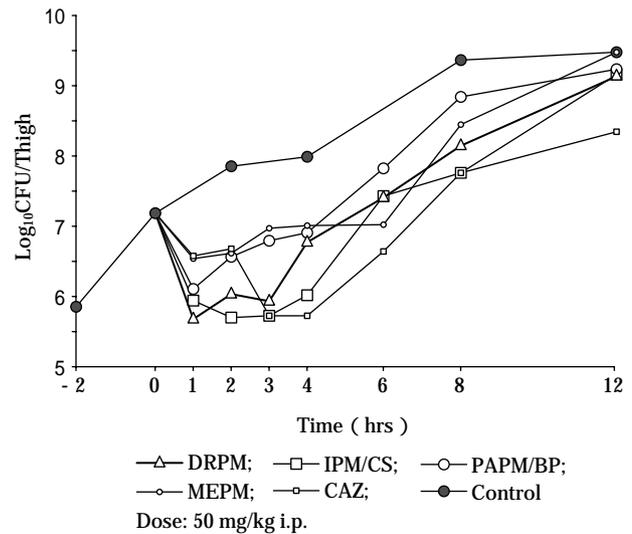


Fig. 3. *In vivo* antimicrobial activity of DRPM, IPM/CS, PAM/BP, MEPM, and CAZ against *K. pneumoniae* BK in neutropenic mice.

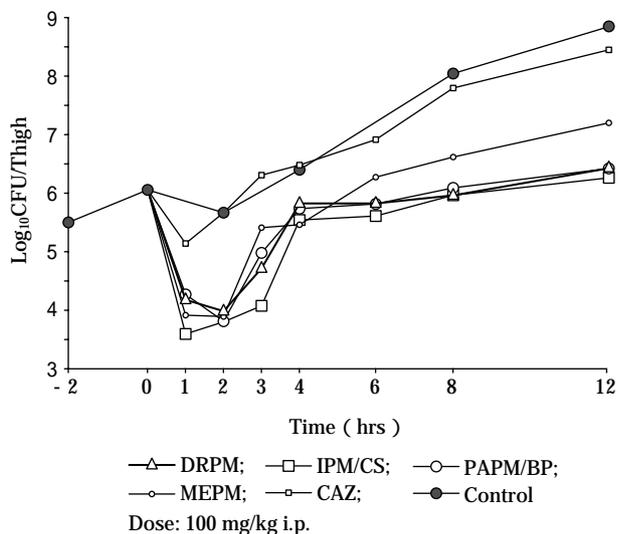


Fig. 4. *In vivo* antimicrobial activity of DRPM, IPM/CS, PAM/BP, MEPM, and CAZ against *P. aeruginosa* ATCC27853 in neutropenic mice.

(Fig. 2) *K. pneumoniae* BK に対する DRPM, IPM/CS, PAM/BP, MEPM, CAZ の 50 mg/kg 投与時の maximal killing (\log_{10} CFU/thigh) は 1.5, 1.49, 1.09, 0.67, 0.62 であった (Fig. 3) *P. aeruginosa* ATCC27853 に対する DRPM, IPM/CS, PAM/BP, MEPM, CAZ の 100 mg/kg 投与時の maximal killing (\log_{10} CFU/thigh) は 2.07, 2.45, 2.27, 2.23, 0.62 であった (Fig. 4)

S. aureus Smith に対する 50 mg/kg 投与時の DRPM, IPM/CS, PAM/BP の ERT は, それぞれ 7.8 時間, 12.3 時間, 10.8 時間であった (Table 3) *K. pneumoniae* BK に対する 50 mg/kg 投与時の DRPM, IPM/CS, PAM/BP, MEPM, CAZ の *in vivo* ERT は 5.0 時間, 5.5 時間, 4.3 時間, 5.0 時間, 6.0 時間であった。 *P. aeruginosa* ATCC27853 に対する DRPM, IPM/CS, PAM/BP, MEPM, CAZ の 100 mg/kg 投与時の ERT は 8.0 時間, 9.8 時間, 8.3 時間, 5.3 時間, 2.7 時間であった。

III. 考 察

一般に β ラクタム系薬はグラム陽性菌に対しては PAE を示し, グラム陰性菌に対しては PAE を示さないが, カルバペネム系薬はグラム陰性菌のうち緑膿菌に対

Table 3. *In vivo* ERT of DRPM, IPM/CS, PAPM/BP, MEPM, and CAZ against *S. aureus* Smith, *K. pneumoniae* BK, and *P. aeruginosa* ATCC27853 in a neutropenic mouse thigh infection model

Infection (Dose)	<i>S. aureus</i> Smith (50 mg/kg)	<i>K. pneumoniae</i> BK (50 mg/kg)	<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853 (100 mg/kg)
DRPM	7.8	5.0	8.0
IPM/CS	12.3	5.5	9.8
PAPM/BP	10.8	4.3	8.3
MEPM	nd ^{a)}	5.0	5.3
CAZ	nd	6.0	2.7

^{a)}nd: not done

(h)

して PAE を示すことが報告されている。今回の検討では DRPM をはじめとしたカルバペネム系薬はグラム陽性菌である *S. aureus* Smith に対して 1.6 時間から 1.9 時間の *in vitro* PAE を示したが、グラム陰性菌の *K. pneumoniae* BK, *E. coli* ATCC25922 に対しては 0.6 時間以内といずれも短い PAE であった。*S. aureus* Smith に対しては DRPM は最も長い PAE を示した。また、*P. aeruginosa* ATCC27853 に対してセフェム系薬である CAZ は負の PAE 値であったが、カルバペネム系薬は 1.0 時間から 1.8 時間の *in vitro* PAE を示し、DRPM は最も長い PAE を示した。

In vivo の抗菌作用では、DRPM を含むカルバペネムは、*K. pneumoniae* BK, *P. aeruginosa* ATCC27853 に対して CAZ と比較して強い殺菌作用を示し、*S. aureus* Smith には最大菌数減少は $1.0 \log_{10}$ CFU/thigh 以上、*K. pneumoniae* BK には $1.0 \log_{10}$ CFU/thigh (MEPM は $0.67 \log_{10}$ CFU/thigh) 以上、*P. aeruginosa* ATCC27853 には $2.0 \log_{10}$ CFU/thigh 以上といずれも短時間に強い殺菌作用を示した。

In vivo ERT の結果では、カルバペネム系薬は長い ERT を示す傾向にあり、*S. aureus* Smith, *P. aeruginosa*

ATCC27853, *K. pneumoniae* BK の順に ERT を示し、*in vitro* PAE との関連が示唆された。DRPM は *K. pneumoniae* BK, *P. aeruginosa* ATCC27853 に対しては他のカルバペネムとほぼ同等の ERT であったが、*S. aureus* Smith に対しては最も短い ERT であり、カルバペネム系薬間での *in vitro* PAE と ERT の関連は明らかではなかった。*In vivo* ERT の結果には抗菌薬の PAE 以外にも薬物動態や MIC の値が微妙に影響することなどによると考えられる。

文 献

- 1) Tsuji M, Ishii Y, Ohno A, et al: *In vitro* and *in vivo* antimicrobial activities of S-4661, a new carbapenem. *Antimicrob Agents Chemother* 41: 94 ~ 99, 1998
- 2) 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
- 3) 日本化学療法学会：微量液体希釈法による MIC 測定。 *Chemotherapy* 38: 102 ~ 105, 1990
- 4) 戸塚恭一, 菊池 賢, 柴田雄介, 他：カルバペネム系薬 panipenem/betamipron の postantibiotic effect (PAE) についての検討。 *Chemotherapy* 39: 78 ~ 82, 1991

In vitro postantibiotic effect and *in vivo* antimicrobial activity of doripenem, a new carbapenem

Kyoichi Totsuka and Ken Kikuchi

Department of Infectious Diseases, Tokyo Women's Medical University,
8-1 Kawada-cho, Shinjuku-ku, Tokyo, Japan

We evaluated the *in vitro* postantibiotic effect and *in vivo* antimicrobial activity of doripenem (DRPM), a new carbapenem, against *Staphylococcus aureus* Smith, *Klebsiella pneumoniae* BK, *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853. PAE was determined by exposing the organism for 2 hours to DRPM, imipenem (IPM), panipenem (PAPM), and ceftazidime (CAZ) at concentrations of 4 times the MIC. For *in vivo* study, a neutropenic mouse-thigh infection model was used. Neutropenia was induced by injection with 150 mg/kg of cyclophosphamide ip 4 days and 100 mg/kg 1 day, before infection. The time when viable cell number return to the level at drug administration was defined as the effective regrowth time (ERT).

In vitro PAE of DRPM against *S. aureus* Smith, was 1.9 h, IPM 1.6 h, PAPM 1.8 h, and CAZ 1.8 h. Those against *K. pneumoniae* BK were 0.3 h, 0.5 h, 0.4 h, and 0.1 h. Those against *E. coli* ATCC25922 were 0.5 h, 0.6 h, 0.6 h and 0.4 h. Those against *P. aeruginosa* ATCC27853 were 1.8 h, 1.0 h, 1.0 h, and - 0.3 h.

In vivo ERT of DRPM with dose of 50 mg/kg against *S. aureus* Smith was 7.8 h, IPM/cilastatin (CS) 12.3 h, and PAPM/betamipron (BP) 10.8 h. Those of S-4661, IPM/CS, PAPM/BP, meropenem (MEPM) and CAZ against *K. pneumoniae* BK with dose of 50 mg/kg were 5.0 h, 5.5 h, 4.3 h, 5.0 h, and 6.0 h. Those against *P. aeruginosa* ATCC27853 with dose of 100 mg/kg were 8.0 h, 9.8 h, 8.3 h, 5.3 h and 2.7 h.

In vitro PAEs of DRPM against *S. aureus* Smith, *K. pneumoniae* BK, and *E. coli* ATCC25922 were almost the same as other carbapenems and the longest of all against *P. aeruginosa* was ATCC27853. *In vivo* activity DRPM against *K. pneumoniae* BK and *P. aeruginosa* ATCC27853 was almost the same as other carbapenems, but less potent against *S. aureus* Smith than IPM/CS and PAPM/BP.