【原著・基礎】

Doripenem の抗緑膿菌活性

三和 秀明・木村 美司・地主 豊・藤村 享滋・西川 徹・宗景 正
黒田 直美・山野 佳則・辻 雅克・岡崎 健一・佐藤 剛章・松田 早人

塩野義製薬株式会社創薬研究所*

（平成 17 年 1 月 17 日受付・平成 17 年 3 月 29 日受理）

新規注射用カルバペネム系抗菌薬 doripenem（DRPM）の特徴である *Pseudomonas aeruginosa* に対する抗菌活性について，臨床分離株に対する感受性，外膜透過性の変化による耐性獲得，殺菌作用，post-antibiotic effect（PAE）ならびに各種のマウス感染モデルにおける治療効果を検討し，以下の成績を得た。

2002 年に臨床分離された *P. aeruginosa* 71 株に対して，DRPM は MIC_{90}：8 μg/mL を示し，meropenem（MEPM），imipenem（IPM）や biapenem より 2 倍，panipenem に比べて 4 倍強く，カルバペネム系抗菌薬の中で最も強い抗菌活性であった。また，抗緑膿菌薬である amikacin に比べて 2 倍，ceftazidime（CAZ）や sulbactam/cefoperazone より 8 倍強活性であった。さらに，CAZ 耐性株 15 株（MIC：≧16 μg/mL）および IPM 耐性株 27 株（MIC：≧8 μg/mL）の中で，DRPM が 4 μg/mL 以下の MIC を示す株数は，それぞれ 6 および 16 株と他のカルバペネム系抗菌薬や CAZ に比べて最も多く，DRPM はこれら耐性菌にも最も優れた抗菌活性を示した。

各種の *P. aeruginosa* 外膜透過性変異株に対する DRPM の MIC を測定した結果，IPM 透過孔形成蛋白 OprD の欠損や薬剤排出ポンプ MexAB-OprM の高産生による DRPM の抗菌活性の低下は 1/2 と，MEPM に比べて小さかった。

2002 年の臨床分離 *P. aeruginosa* 20 株に対する DRPM の平均 MBC は，0.84 μg/mL を示し，MEPM：1.37 μg/mL，IPM：2.30 μg/mL，CAZ：9.85 μg/mL に比べて優れていた。DRPM の MBC は，試験したすべての株において MIC の 2 倍以内であり，強い殺菌力を伴った抗菌活性を示した。短時間作用の time-kill 試験では，DRPM は時間依存的な殺菌作用を示し，その殺菌力は MEPM や IPM とほぼ同じであった。

CAZ 感性の *P. aeruginosa* に対する PAE について，*in vitro* ならびにマウス肺感染モデルで検討した。いずれの試験でも CAZ は PAE を示さなかったが，DRPM はそれぞれ 0.79，6.12 時間の PAE を示し，その効果は MEPM や IPM と同程度であった。

CAZ 耐性株を含む *P. aeruginosa* を感染菌に用いた健常ならびに好中球減少症マウス全身感染に対して，DRPM は 0.17～4.87 mg/kg（ED_{50}）と良好な治療効果を示した。DRPM の治療効果は，CAZ よりはるかに強く，IPM/cilastatin（CS）より強く，MEPM/CS と同程度であり，*in vitro* 抗菌活性をほぼ反映した結果であった。また，CAZ 耐性株を感染菌としたマウス肺感染および尿路感染に対しても，良好な治療効果を示し，その効果は，IPM/CS と同程度以上，MEPM/CS と同じであった。

以上の成績から，DRPM は，*P. aeruginosa* 感染症に対して優れた臨床有効性が期待できる注射用カルバペネム系抗菌薬と考えられた。

Key words: doripenem，*Pseudomonas aeruginosa*，antibacterial activity，efficacy

Doripenem（DRPM）は，塩野義製薬株式会社で創製された新規注射用カルバペネム系抗菌薬である。本薬は，好気性のグラム陽性菌から *Pseudomonas aeruginosa* を含む好気性のグラム陰性菌ならびに嫌気性菌にわたって幅広い抗菌スペクトルを有し，その抗菌活性は，好気性グラム陽性菌では meropenem（MEPM）より強く，好気性グラム陰性菌では imipenem（IPM）より強いこと[1]，また各種の実験的動物感染モデルにおいて，DRPM は *in vitro* 抗菌活性を反映した *in vivo* 抗菌活性を示すこと[2]が報告されている。本研究では，DRPM の大きな特徴である抗 *P. aeruginosa* 活性をさらに明確にする目的で，2002 年の臨床分離株に対する感受性，外膜透過性の変化による耐性獲得，殺菌作用，post-antibiotic effect（PAE）ならびに各種のマウス感染モデルにおける治療効果を検討したので，これらの成績を報告する。

*大阪府豊中市二葉町 3-1-1

I. 材料と方法

1. 使用菌株

日本の各医療施設より収集した 2002 年の臨床分離株 71 株ならびに当研究所保存の臨床分離株および標準株の *P. aeruginosa* を用いた。なお，ceftazidime（CAZ）耐性あるいは IPM 耐性は，National Committee for Clinical Laboratory Standards（NCCLS）の基準[3]に準じて分類し，intermediate resistance 以上を耐性とした。実験的マウス感染モデルに用いた菌株は，−80℃ に凍結保存した濃厚菌液を温浴中で速やかに融解し，それぞれの毒力に応じて heart infusion broth（HIB，栄研）で適宜希釈して実験に供した。

2. 使用薬剤

DRPM（塩野義製薬），MEPM（住友製薬），IPM（U.S. Pharmacopeia），cilastatin（CS，U.S. Pharmacopeia），IPM/CS（萬有製薬），biapenem（BIPM，ワイス），panipenem（PAPM，三共），CAZ（グラクソ・スミスクライン），sulbactam/cefoperazone（SBT/CPZ，U.S. Pharmacopeia）ならびに amikacin（AMK，U.S. Pharmacopeia）を力価濃度で使用した。*In vivo* 試験で用いた DRPM/CS および MEPM/CS は，DRPM あるいは MEPM と CS を 1：1 の併用比で混合し，投与用量は DRPM あるいは MEPM 濃度で表記した。

3. 使用動物

尿路感染モデルでは，ICR 系雌性マウス（日本クレア），それ以外の感染モデルでは，ICR 系雌性マウス（日本エスエルシー）のそれぞれ 5 週齢を用い，特に記載のない限り 1 群 7 匹のマウスを実験に供した。好中球減少症マウス（好中球数：＜100/mm^3）は，Craig らの方法[4]に従って菌接種 4 日および 1 日前に，cyclophosphamide（塩野義製薬）の 150 および 100 mg/kg をそれぞれ腹腔内投与して作製した。麻酔は，塩酸ケタミン（三共）と塩酸キシラジン（バイエル）の混合溶液を筋肉内注射して施した。

4. 抗菌活性測定

MIC の測定は，NCCLS で推奨されている方法[5]に準じた cation-adjusted Mueller Hinton broth（CAMHB，Difco）を用いた微量液体希釈法で行い，接種菌量は約 10^4 CFU/ウエルとした。

5. 外膜透過性の変化による耐性獲得試験

P. aeruginosa PAO1 株由来の IPM 透過孔形成蛋白 OprD 欠損株あるいは各種排出ポンプ高産生株に対する薬剤の MIC を測定した。PAO1 株（OprD と排出ポンプ MexAB-OprM 産生）由来の外膜透過性変異株の外膜透過性にかかわる性状変化は以下のとおりである。KG4001 株は，京都薬科大学微生物学教室の後藤教授より分与された株である。IPM46 株：透過孔形成蛋白 OprD 欠損株，SO20 株：排出ポンプ MexAB-OprM 高産生（*nalB* 変異）株，YY165 株：MexB 欠損株[6]，OFR504 株：MexB 欠損，排出ポンプ MexCD-OprJ 高産生（*nfxB* 変異）株，KG4001 株：排出ポンプ MexEF-OprN 高産生（*nfxC* 変異）株。

6. 殺菌作用

1） MBC 測定

2002 年臨床分離の *P. aeruginosa* 20 株に対する薬剤の MBC を NCCLS で推奨されている方法[7]に準拠した方法で測定した。MBC は，一夜培養後の生菌数を培養開始時の 1/10^3 以下に減少させるために必要な最小濃度とした。

2） Time-kill 試験

CAMHB 中で，対数増殖期にある約 1×10^6 CFU/mL の *P. aeruginosa* ATCC27853 株に，1/4〜8 MIC 濃度になるように薬剤を添加した。添加後 37℃ で振盪培養し，薬剤添加 1，2.5，4，6 時間後の生菌数を，0.2% 硝酸カリウム含 brain heart infusion agar（BECTON DICKINSON）を用いて測定した。

7. PAE 測定

CAZ 感性 *P. aeruginosa* E-2 株を，試験菌に用いた。

1） *In vitro* PAE

CAMHB 中に約 10^7 CFU/mL の濃度で懸濁した試験菌を 4 MIC 濃度の薬剤存在下で 2 時間振盪培養後，薬剤を含まない CAMHB で 1,000 倍希釈して振盪培養を行った。薬剤の作用を受けた試験菌の生菌数が，薬剤の消失後 10 倍に再増殖するのに要する時間から，同様の操作を加えた薬剤を作用させなかった試験菌の生菌数が 10 倍増加するのに要する時間を差し引いた時間を，PAE とした。

2） *In vivo* PAE

好中球減少症マウスを用い，麻酔を施したマウスに菌液 0.07 mL（感染菌数：$1.0\sim1.2\times10^7$ CFU/mouse）を経鼻接種して，肺感染を惹起した。

(1) 血漿中濃度測定

1 群 5 匹の感染マウスを用い，菌接種 2.5 時間後に，DRPM，MEPM/CS および IPM/CS のそれぞれ 3 mg/kg，CAZ の 10 mg/kg を皮下投与して，投与後 5，15，30，60，90 および 120 分後に血液を採取した。検定菌に *Escherichia coli* 7437 株を用いた band-culture 法[8]で血漿中濃度を測定し，薬動力学的パラメータは Winnonlin（Pharsight）プログラムの 1-compartment モデル式で求めた。また，同モデル式で薬剤の血漿中濃度が試験菌の MIC 以下の濃度になる時間（T_0）を求めた。

(2) *In vivo* PAE

菌接種 2.5 時間後に，DRPM，MEPM/CS および IPM/CS のそれぞれ 3 mg/kg，CAZ の 10 mg/kg を皮下投与して，経時的に肺を摘出した（1 群 5 匹）。HIB を加えてホモジナイズした後，0.2% 硝酸カリウム含 heart infusion agar（HIA，日水）を用いて，肺当たりの生菌数（Log CFU/lung）を求めた。薬剤投与後の肺内生菌数の消長より，T_0 時の肺内生菌数が 10 倍増殖するのに要する時間（Td）を求めた。薬剤非投与群（control 群）の肺内生菌

数が，それぞれの薬剤の T_0 から 10 倍に増殖する時間（Tc）を，control 群の肺内生菌数の消長より算出し，PAE＝Td－Tc の式から *in vivo* PAE を求めた。

8. 実験的マウス感染に対する治療試験

1） 全身感染モデル

CAZ 感性の *P. aeruginosa* SR10411 株および CAZ 耐性の SR4967 と SR10163 株を感染菌に用いた。5% ムチン（ICN Pharmaceutical Inc.）に懸濁した菌液 0.5 mL を腹腔内に接種して，全身感染を惹起した。治療は，菌接種 1 および 5 時間後の皮下投与で行った。好中球減少症マウス感染モデルでは，菌接種 1，4 および 7 時間後の皮下投与で，治療を行った。感染 7 日後の生存率から logit 法で 50% 有効量（ED_{50}）ならびに信頼区間（95%）を求め，1 回当たりの投与用量で表記した。

2） 肺感染モデル

感染菌に CAZ 耐性 *P. aeruginosa* SR4967 株を用いた。好中球減少症マウスを麻酔して，菌液 0.07 mL（感染菌数：2.2×10^5 CFU/mouse）を経鼻接種し，肺感染を惹起させた。治療は，菌接種 3，5 および 7 時間後ならびに翌日より朝夕 2 回を 2 日間継続した 7 回の皮下投与で行った。最終投薬の翌日，すなわち菌接種 3 日後に肺を摘出し，HIB を加えてホモジナイズした後，0.2% 硝酸カリウム含 HIA を用いて，肺当たりの生菌数を求め，治療効果の指標にした。

3） 尿路感染モデル

CAZ 耐性 *P. aeruginosa* SR10163 株を感染菌に用いた。感染前日より一夜給水を制限したマウスを麻酔させた後に，菌液 0.1 mL（感染菌数：3.3×10^5 CFU/mouse）を経尿道的に膀胱内へ接種し，その後 4 時間外尿道口を閉塞した。治療は，菌接種 6 および 10 時間後ならびに翌日より朝夕 2 回を 3 日間継続した 8 回の皮下投与で行った。最終投薬の翌日，すなわち菌接種 4 日後に両腎を摘出し，HIB を加えてホモジナイズした後，0.2% 硝酸カリウム含 HIA を用いて，腎当たりの生菌数を求め，治療効果の指標にした。

4） 統計解析

肺感染および尿路感染の治療試験について，感染部位の生菌数を指標にして control 群と薬剤投与群ならびに薬剤間の治療効果における有意性を，次の方法で評価した。Control 群と薬剤投与群との比較では，Dunnett の多重比較法を用いた。薬剤間の治療効果における有意性については，DRPM と CAZ との比較では Welch の *t* 検定で評価した。カルバペネム系抗菌薬間での比較では，薬剤効果，用量の効果，薬剤×用量の相互作用を変動因子とする二元配置分散分析で評価した。尿路感染モデルでは，薬剤効果に有意性がみられたが，薬剤×用量相互作用にも有意差がみられたので，sigmoid E_{max} model で薬剤間の有意性を検定した。検定はすべて両側検定とし，有意水準は 0.05 とした。

II. 結　　果

1. 臨床分離株に対する感受性

2002 年に臨床分離された *P. aeruginosa* 71 株を用いて，DRPM の MIC を測定した（Table 1）。DRPM は，MIC_{50}：0.5 μg/mL，MIC_{90}：8 μg/mL を示し，DRPM の抗 *P. aeruginosa* 活性は，MIC_{90} が 16 μg/mL を示した MEPM，IPM や BIPM より 2 倍，PAPM（MIC_{90}：32 μg/mL）に比べて 4 倍強く，カルバペネム系抗菌薬の中で最も強かった。さらに，抗緑膿菌薬である AMK に比べて 2 倍，CAZ や SBT/CPZ より 8 倍強く，試験した薬剤の中で最も強い抗菌活性を示した。NCCLS の感受性判定基準[3]に準じて分類した CAZ 感性 56 株（MIC：≦8 μg/mL）ならびに IPM 感性 44 株（MIC：≦4 μg/mL）に対する DRPM の MIC_{90} は，それぞれ 4 および 1 μg/mL を示し，前者の抗菌活性は試験した薬剤の中で最も強く，後者の活性は BIPM と同様に最も強活性であった。一方，CAZ 耐性 15 株（MIC：≧16 μg/mL）および IPM 耐性 27 株（MIC：≧8 μg/mL）に対する DRPM の抗菌活性は，他の薬剤と同様に感性株に比べて低下していた。しかし，CAZ 耐性株および IPM 耐性株の中で，DRPM に対する MIC が 4 μg/mL 以下を示す株数は，それぞれ 6 および 16 株と既存のカルバペネム系抗菌薬の中で最も多い株数を示した MEPM より多かった。DRPM はこれら耐性株にも最も優れた抗菌活性を有していた（Table 2）。

2. 外膜透過性

各種の *P. aeruginosa* 透過性変異株に対する DRPM の MIC を測定した（Table 3）。DRPM は，IPM 透過孔形成蛋白 OprD 欠損株である IPM46 株に対して 1 μg/mL の MIC を示し，親株の PAO1 株に比べて MIC は上昇していたが，わずかに 2 倍であった。OprD 欠損株でみられた MIC の上昇は，CAZ では観察されなかったが，試験した他のカルバペネム系抗菌薬では生じており，その程度は BIPM：16 倍，IPM：8 倍，MEPM：4 倍であり，DRPM の上昇の程度は最も小さかった。次に，*P. aeruginosa* の場合，野生株においても少量産生され，多くの抗菌薬の排出に関与している多剤排出ポンプ MexAB-OprM の影響について検討した。DRPM は，MexAB-OprM 高産生株である SO20 株に対して 1 μg/mL の MIC を示し，PAO1 株に比べて 2 倍の MIC 上昇を示した。MEPM の MIC も 4 倍上昇していたが，IPM と BIPM では MIC 間に差異は認められなかった。また，MexAB-OprM 非産生株の YY165 株に対する MIC は，PAO1 株に比べて DRPM で 1/2，MEPM で 1/4 の値を示したが，IPM と BIPM では MIC の変動はみられなかった。野生株では産生されないが，耐性株で高産生が観察されている排出ポンプの影響を調べた。YY165 株を親株とする MexCD-OprJ 高産生株の OFR504 株では，DRPM を含む試験したすべてのカルバペネム系抗菌薬に対し親株と同一の感受性を示した。MexEF-OprN 高産生株である KG4001 株は，親株であ

Table 1. *In vitro* antibacterial activity of doripenem and reference compounds against clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated in 2002

Organism (No. of strains)	Compound	MIC (μg/mL)		
		Range	MIC_{50}	MIC_{90}
P. aeruginosa (71)	doripenem	≦0.063-32	0.5	8
	meropenem	≦0.063-32	1	16
	imipenem	0.25-32	2	16
	panipenem	1-64	8	32
	biapenem	≦0.063-32	0.5	16
	ceftazidime	0.5->64	4	64
	amikacin	0.25->64	4	16
	sulbactam/cefoperazone	1->64	16	64
ceftazidime-susceptible *P. aeruginosa* (56) MIC of ceftazidime: ≦8 μg/mL	doripenem	≦0.063-8	0.5	4
	meropenem	≦0.063-16	0.5	8
	imipenem	0.25-32	1	16
	panipenem	1-32	8	32
	biapenem	≦0.063-16	0.5	8
	ceftazidime	0.5-8	2	8
	amikacin	0.25->64	4	8
	sulbactam/cefoperazone	1-64	8	32
ceftazidime-resistant *P. aeruginosa* (15) MIC of ceftazidime: ≧16 μg/mL	doripenem	0.5-32	8	32
	meropenem	0.5-32	8	32
	imipenem	1-32	16	32
	panipenem	8-64	32	64
	biapenem	0.5-32	16	32
	ceftazidime	16->64	64	>64
	amikacin	0.5->64	16	>64
	sulbactam/cefoperazone	8->64	64	>64
imipenem-susceptible *P. aeruginosa* (44) MIC of imipenem: ≦4 μg/mL	doripenem	≦0.063-4	0.25	1
	meropenem	≦0.063-8	0.5	2
	imipenem	0.25-2	1	2
	panipenem	1-16	8	16
	biapenem	≦0.063-2	0.5	1
	ceftazidime	0.5-64	2	8
	amikacin	0.25-32	4	8
	sulbactam/cefoperazone	1-64	8	32
imipenem-resistant *P. aeruginosa* (27) MIC of imipenem: ≧8 μg/mL	doripenem	0.5-32	4	32
	meropenem	0.5-32	8	32
	imipenem	8-32	16	32
	panipenem	8-64	32	64
	biapenem	2-32	8	32
	ceftazidime	2->64	16	>64
	amikacin	0.5->64	8	>64
	sulbactam/cefoperazone	4->64	32	>64

MIC: broth microdilution method

Table 2. Susceptibility of doripenem and reference compounds against ceftazidime or imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*

Resistant strains (No. of strains)	No. of susceptible strain (susceptible strains/total strains, %)					
	DRPM	MEPM	IPM	PAPM	BIPM	CAZ
CAZ-resistant strain (15) MIC of CAZ: ≧16 μg/mL	6 (40)	2 (13)	1 (7)	0 (0)	1 (7)	— —
IPM-resistant strain (27) MIC of IPM: ≧8 μg/mL	16 (59)	6 (22)	— —	0 (0)	3 (11)	13 (48)

MIC: broth microdilution method
Susceptible strain: MIC of DRPM, MEPM, IPM, PAPM, and BIPM; ≦4 μg/mL. MIC of CAZ; ≦8 μg/mL.
DRPM; doripenem, MEPM; meropenem, IPM; imipenem, PAPM; panipenem, BIPM; biapenem, CAZ; ceftazidime

Table 3. Susceptibility of doripenem and reference compounds against mutants of *Pseudomonas aeruginosa* causing altered production of porin and efflux pumps

Strains	(Genotype)	Phenotype	MIC (μg/mL)				
			doripenem	meropenem	imipenem	biapenem	ceftazidime
PAO1	(wild)	wild (production of OprD and MexAB-OprM)	0.5	0.5	1	0.25	1
IPM46	(Δ *oprD*)	deficiency of OprD	1	2	8	4	1
SO20	(*nalB*)	overproduction of MexAB-OprM	1	2	1	0.25	2
KG4001	(*nfxC*)	overproduction of MexEF-OprN	1	1	4	1	2
		decreased production of OprD					
YY165	(Δ *mexB*)	deficiency of MexAB-OprM	0.25	0.125	1	0.25	0.5
OFR504	(Δ *mexB*, *nfxB*)	deficiency of MexAB-OprM overproduction of MexCD-OprJ	0.25	0.125	1	0.25	1

MIC: broth microdilution method
Parent strain: IPM46, SO20, KG4001, and YY165 is PAO1. OFR504 is YY165.

る PAO1 株と比べて DRPM に対して 2 倍，対照薬のカルバペネム系抗菌薬に対して 2〜4 倍耐性となっていた。

3. 殺菌作用

1) MBC

2002 年の臨床分離 *P. aeruginosa* 20 株に対する MBC を測定した（Table 4）。20 株に対する平均 MBC は，DRPM では 0.84 μg/mL，MEPM では 1.37 μg/mL，IPM では 2.30 μg/mL，CAZ では 9.85 μg/mL であり，DRPM の平均 MBC は試験した薬剤の中で最も小さかった。また，DRPM は，試験したすべての株において MIC の 2 倍以内の MBC を示した。一方，MEPM も全株で MIC の 2 倍以下の MBC を示したが，IPM については MIC の 4 倍に相当する MBC を示す株が 1 株，CAZ では MIC の 4 あるいは 8 倍に相当する MBC を示す株が 7 株認められた。MBC/MIC 比の平均値で比較した場合，DRPM の平均値 1.50 は，CAZ の 2.45 より小さく，MEPM や IPM とほぼ同程度であった。

2) Time-kill

P. aeruginosa ATCC27853 株に対して，DRPM の一定濃度を短時間作用させた場合の殺菌作用を検討した（Fig. 1）。DRPM を MIC（0.25 μg/mL）以上の濃度で作用させた場合，時間依存的な殺菌作用が観察され，2 MIC である 0.5 μg/mL 以上の濃度で 4 時間作用させた時に 1/100 以下，6 時間作用では約 $1/10^3$ にまで生菌数は減少した。MEPM，IPM および CAZ も時間依存的な殺菌作用を示し，それぞれ 1 μg/mL（2 MIC），2 μg/mL（1 MIC）および 2 μg/mL（1 MIC）以上の濃度で，DRPM の 0.5 μg/mL（2 MIC）作用時と同程度の生菌数減少が観察された。2 MIC 以上の濃度における短時間殺菌作用は，DRPM，MEPM，IPM，CAZ 間で大きな差がなく，DRPM は MEPM や IPM と同様に強い殺菌力を示した。

4. PAE

CAZ 感性 *P. aeruginosa* E-2 株を試験菌に用いて，*in vitro* PAE ならびにマウス肺感染モデルで *in vivo* PAE を検討した。E-2 株に対する薬剤の MIC は，DRPM：1，MEPM：1，IPM：0.5，CAZ：4 μg/mL であった。

1) *In vitro* PAE

P. aeruginosa E-2 株に，4 MIC に相当する薬剤濃度を 2 時間作用させた場合の *in vitro* PAE について検討した。CAZ は−0.25 時間と PAE を示さなかったが，DRPM は 0.79 時間の PAE を示した。MEPM は 1.07 時間，IPM は 1.54 時間の PAE を示し，DRPM は MEPM や IPM と同様に *P. aeruginosa* に対して PAE を示した。

2) *In vivo* PAE

感染菌に *P. aeruginosa* E-2 株を用いた好中球減少症マウス肺感染モデルで，DRPM の *in vivo* PAE を検討した。

(1) マウス血漿中濃度推移

肺感染マウスに，DRPM，MEPM/CS および IPM/CS

Table 4. MBC of doripenem and reference compounds against clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated in 2002

Strain	doripenem			meropenem			imipenem			ceftazidime		
	MBC (μg/mL)	MIC (μg/mL)	MBC/MIC ratio	MBC (μg/mL)	MIC (μg/mL)	MBC/MIC ratio	MBC (μg/mL)	MIC (μg/mL)	MBC/MIC ratio	MBC (μg/mL)	MIC (μg/mL)	MBC/MIC ratio
SR24818	0.25	0.25	1	0.25	0.25	1	1	1	1	4	4	1
SR24822	2	1	2	4	4	1	4	2	2	16	16	1
SR24824	2	1	2	4	2	2	2	2	1	8	8	1
SR24825	0.5	0.5	1	1	1	1	0.5	0.5	1	16	4	4
SR24827	0.5	0.25	2	1	1	1	4	2	2	8	2	4
SR24828	2	1	2	4	2	2	4	2	2	4	4	1
SR24833	2	1	2	2	1	2	4	2	2	32	8	4
SR24842	1	1	1	2	2	1	2	2	1	32	8	4
SR24846	0.5	0.5	1	1	1	1	1	1	1	4	4	1
SR24847	0.5	0.5	1	1	1	1	4	2	2	8	8	1
SR24850	0.25	0.125	2	0.5	0.5	1	2	1	2	4	4	1
SR24854	1	1	1	4	2	2	2	2	1	16	8	2
SR24859	2	1	2	2	2	1	2	2	1	8	4	2
SR24862	1	1	1	2	2	1	4	2	2	2	2	1
SR24863	1	0.5	2	2	2	1	2	1	2	16	8	2
SR24864	1	0.5	2	1	0.5	2	2	2	1	16	4	4
SR24866	0.5	0.5	1	0.5	0.5	1	4	1	4	64	8	8
SR24868	2	1	2	0.5	0.5	1	4	2	2	32	8	4
SR24870	0.5	0.5	1	1	1	1	2	1	2	4	4	1
SR24871	0.5	0.5	1	2	2	1	2	1	2	4	2	2
Mean	0.84	0.60	1.50	1.37	1.15	1.25	2.30	1.46	1.70	9.85	5.10	2.45

MBC, MIC: broth macrodilution method

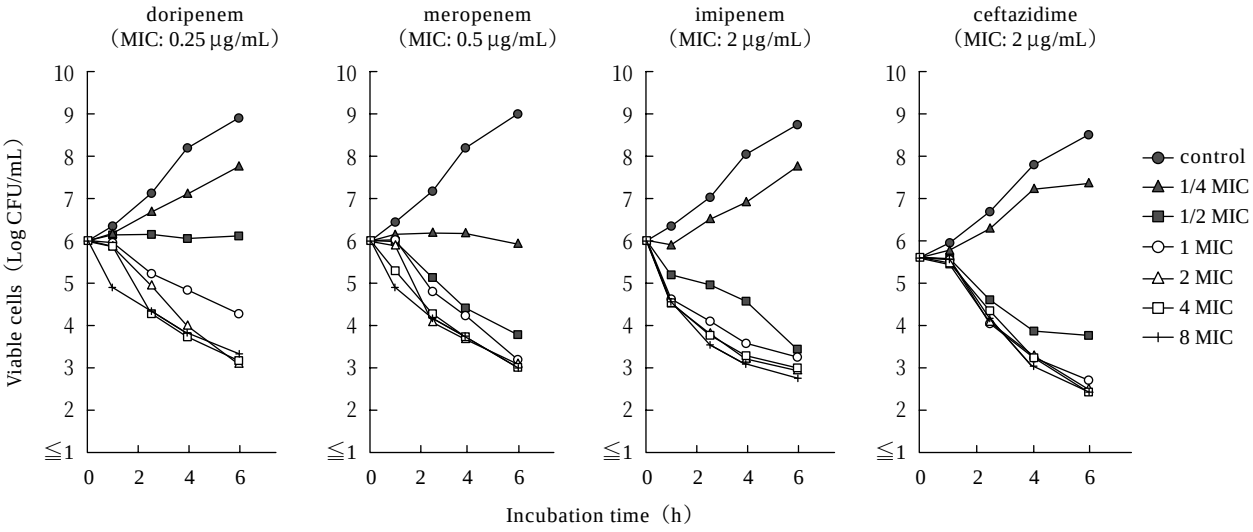

Fig. 1. Killing curve of doripenem and reference compounds against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853.

Table 5. Pharmacokinetic parameters of doripenem and reference compounds in plasma of neutropenic mice with *Pseudomonas aeruginosa* E-2 lung infection

Compound	Dose (mg/kg)	Cmax (μg/mL)	$t_{1/2}$ (h)	AUC (0-∞) (μg・h/mL)
doripenem	3	2.50	0.24	1.54
meropenem/cilastatin	3	3.41	0.29	2.25
imipenem/cilastatin	3	2.62	0.25	1.62
ceftazidime	10	11.1	0.33	8.45

Animal: ICR mouse, female, 5 weeks old, n = 5. Neutropenic mice were produced by intraperitoneal injection of cyclophosphamide at 4 (150 mg/kg) and 1 (100 mg/kg) days before infection.
Infection: intranasal injection, challenge dose; 1.0-1.2 × 10^7 CFU/mouse.
Admisistration: subcutaneous administration, 2.5 h after infection.

Table 6. Post-antibiotic effect of doripenem and reference compounds in neutropenic mouse lung infection model with *Pseudomonas aeruginosa* E-2

Compound	Dose (mg/kg)	T_0 (h)	Tc (h)	Td (h)	PAE (h)
doripenem	3	0.66	4.88	11.00	6.12
meropenem/cilastatin	3	0.82	4.92	10.82	5.90
imipenem/cilastatin	3	0.94	5.12	8.61	3.49
ceftazidime	10	0.85	4.98	5.33	0.35

Animal: ICR mouse, female, 5 weeks old, n = 5. Neutropenic mice were produced by intraperitoneal injection of cyclophosphamide at 4 (150 mg/kg) and 1 (100 mg/kg) days before infection.
Infection: intranasal injection, challenge dose; 1.1 × 10^7 CFU/mouse.
Treatment: subcutaneous administration, 2.5 h after infection.
MIC: broth microdilution method
doripenem; 1, meropenem; 1, imipenem; 0.5, ceftazidime; 4 μg/mL
T_0: time at plasma level less than MIC
Tc: time required for viable cell count in lung of control mouse to increase 10-fold from viable cell count at T_0
Td: time required for viable cell count in lung of treated mouse to increase 10-fold from viable cell count at T_0
PAE: post-antibiotic effect, PAE = Td − Tc

のそれぞれ 3 mg/kg ならびに CAZ 10 mg/kg を皮下投与後 2 時間まで経時的に血漿中濃度を測定し，薬動力学的パラメータを算出した(Table 5)。薬剤の血漿中濃度が，感染菌の MIC 以下になる薬剤投与後の時間 (T_0) を求めた結果，DRPM では 0.66 時間であった(Table 6)。一方，MEPM/CS では 0.82 時間，IPM/CS では 0.94 時間，CAZ では 0.85 時間を示し，感染菌がそれぞれの薬剤に対する MIC 以上の血漿中濃度に暴露されている時間は，ほぼ同じであった。

Table 7. Therapeutic efficacy of doripenem and reference compounds against systemic infection caused by *Psedomonas aeruginosa* in mice

Organism (Challenge dose, CFU/mouse)	Compound	MIC (μg/mL)	ED_{50} (mg/kg/dose)	95% confidence limits
P. aeruginosa SR10411 (1.1×10^4)	DRPM	0.25	0.17	0.13-0.24
	MEPM/CS	0.5	0.19	0.14-0.26
	IPM/CS	2	0.46	0.34-0.63
	CAZ	2	1.56	1.13-2.15
P. aeruginosa SR10163 (1.0×10^6) CAZ-resistant strain	DRPM	0.25	0.21	0.006-7.52
	MEPM/CS	0.5	0.20	0.07-0.63
	IPM/CS	1	0.40	0.13-1.25
	CAZ	32	＞128	N.C.

Animal: ICR mouse, female, 5 weeks old, n = 7.
Infection: intraperitoneal injection with bacterial suspension containing 5% mucin.
Treatment: subcutaneous administration. 1 and 5 h after infection.
ED_{50}: ED_{50} was calculated with logit method.
MIC: broth microdilution method.
N.C.: not calculated.
DRPM: doripenem, MEPM/CS: meropenem/cilastatin, IPM/CS: imipenem/CS, CAZ: ceftazidime.

Table 8. Therapeutic efficacy of doripenem and reference compounds against systemic infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* in neutropenic mice

Organism (Challenge dose, CFU/mouse)	Compound	MIC (μg/mL)	ED_{50} (mg/kg/dose)	95% confidence limits
P. aeruginosa SR10411 (3.2×10^4)	DRPM	0.25	0.61	0.31-1.23
	MEPM/CS	0.5	1.04	0.54-2.03
	IPM/CS	2	1.04	0.54-2.03
	CAZ	2	12.9	6.61-25.3
P. aeruginosa SR4967 (3.8×10^4) CAZ-resistant strain	DRPM	2	4.87	1.68-14.1
	MEPM/CS	2	6.10	2.01-18.5
	IPM/CS	1	6.10	2.01-18.5
	CAZ	32	＞128	N.C.

Animal: ICR mouse, female, 5 weeks old, n = 7. Neutropenic mice were produced by intraperitoneal injection of cyclophosphamide at 4（150 mg/kg）and 1（100 mg/kg）days before infection.
Infection: intraperitoneal injection with bacterial suspension containing 5% mucin.
Treatment: subcutaneous administration. 1, 4 and 7 h after infection.
ED_{50}: ED_{50} was calculated with logit method.
MIC: broth microdilution method.
N.C.: not calculated.
DRPM: doripenem, MEPM/CS: meropenem/cilastatin, IPM/CS: imipenem/CS, CAZ: ceftazidime.

(2) *In vivo* PAE

DRPM 3 mg/kg 投与群ならびに control 群の肺内生菌数の消長から求めた Td および Tc は，それぞれ 11.0, 4.88 時間であり，DRPM は 6.12 時間の PAE を示した（Table 6）。DRPM は MEPM/CS や IPM/CS と同程度の PAE を有していたが，CAZ は，0.35 時間とほとんど PAE を示さなかった。

5. 実験的感染モデルに対する治療効果

1) マウス全身感染モデル

P. aeruginosa による健常マウスおよび好中球減少症マウス全身感染に対する DRPM の治療効果を検討した。

(1) 健常マウス全身感染

感染菌として，CAZ 感性の *P. aeruginosa* SR10411 株および CAZ 耐性の *P. aeruginosa* SR10163 株を用い，DRPM の治療効果について検討した（Table 7）。CAZ 感性 SR10411 感染系に対し，DRPM は 0.17 mg/kg（ED_{50}）と良好な治療効果を示し，その効果は CAZ より 9 倍，IPM/CS より 3 倍強く，MEPM/CS と同程度であった。CAZ が 128 mg/kg 以上とほとんど *in vivo* 抗菌活性を示さなかった CAZ 耐性 SR10163 感染系に対しても，DRPM は 0.21 mg/kg と良好な *in vivo* 抗菌活性を示し，その活性は IPM/CS に比べて 2 倍強く，MEPM/CS と同じであった。

Table 9. Therapeutic efficacy of doripenem and reference compounds against lung infection caused by ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* SR4967 in neutropenic mice

Dose（mg/kg）	Viable cell count in the lung（Log CFU/g, Mean ± SD）			
	doripenem	meropenem/ cilastatin	imipenem/ cilastatin	ceftazidime
30				8.44 ± 0.57 ⁺
10	3.49 ± 2.52 ＊	2.78 ± 1.42 ＊	1.85 ± 0.22 ＊	
3	1.96 ± 0.41 ＊	2.42 ± 0.94 ＊	4.66 ± 2.93 ＊	
1	5.44 ± 1.54 ＊	4.13 ± 1.37 ＊	4.94 ± 3.50 ＊	
0.3	7.55 ± 1.92	7.43 ± 2.01	8.39 ± 0.49	
Control	8.56 ± 0.35			
MIC（μg/mL）	2	2	1	32

Animal: ICR mouse, female, 5 weeks old, n = 7. Neutropenic mice were produced by intraperitoneal injection of cyclophosphamide at 4（150 mg/kg）and 1（100 mg/kg）days before infection.
Infection: intranasal injection, challenge dose; 2.2×10^5 CFU/mouse.
Treatment: subcutaneous administration. 3, 5, and 7 h after infection, and then twice a day for 2 days.
Decision: The viable cell count in the lung was determined 3 days after infection.
MIC: broth microdilution method.
Statistical analysis: ＊; vs control（$p < 0.01$, Dunnett's multiple comparison test）
⁺; vs doripenem 10 mg/mg（$p < 0.01$, Welch's t test）

⑵ 好中球減少症マウス全身感染

好中球減少症マウスを用いたCAZ感性 *P. aeruginosa* SR10411およびCAZ耐性 *P. aeruginosa* SR4967感染系に対するDRPMの治療効果を検討した（Table 8）。好中球減少症マウスでのCAZ感性SR10411感染系に対する治療効果は，健常マウスを用いた同一株による感染に比べて試験したすべての薬剤においてやや低下していたが，DRPMは0.61 mg/kgと良好な *in vivo* 抗菌活性を示した。DRPMの治療効果は，CAZに比べて20倍とはるかに強く，MEPM/CSやIPM/CSより2倍強活性であった。一方，CAZが128 mg/kg以上とほとんど *in vivo* 抗菌活性を示さなかったCAZ耐性SR4967感染系に対しても，DRPMは4.87 mg/kgと優れた治療効果を示し，その効果はMEPM/CSやIPM/CSとほぼ同じであった。

2） マウス肺感染モデル

好中球減少症マウスを用いたCAZ耐性 *P. aeruginosa* SR4967肺感染におけるDRPMの治療効果を検討した（Table 9）。感染3日後のcontrol群の肺内生菌数（Log CFU/lung）が8.56まで増殖していたのに対し，CAZの30 mg/kg投与群では，8.44とcontrol群と同程度の肺内生菌数が残存し，control群に比べて有意な除菌効果を示さなかった。一方，DRPM投与群では，control群に比べて0.3 mg/kgで1/10，1 mg/kgで $1/10^3$，3および10 mg/kgでは $1/10^5$ 以下に肺内生菌数が減少し，control群と比較して1 mg/kg以上の投与で有意な除菌効果が観察され（$P<0.01$），CAZに比べて明らかに強い（$P<0.01$）良好な治療効果を示した。一方，MEPM/CSおよびIPM/CSは，DRPMと同様に1 mg/kg以上の投与で有意な除菌効果を示し（$P<0.01$），両薬剤の治療効果はDRPMと同程度であった。

3） マウス尿路感染モデル

CAZ耐性 *P. aeruginosa* SR10163株を感染菌に用いたマウス尿路感染に対するDRPMの治療効果を検討した（Table 10）。感染4日後のcontrol群の腎内生菌数（Log CFU/kidney）は7.94に増殖していたのに対し，CAZ 30 mg/kg投与群では6.39に減少していたが，control群に比較して有意な除菌効果でなかった。一方，DRPMは用量依存的な除菌効果を示し，3 mg/kg以上の投与でcontrol群に比べて $1/10^3$ 以上の生菌数減少が観察され，有意な除菌効果を示した（$P<0.01$）。MEPM/CSは，DRPMと同様に用量依存的な除菌効果を示し，試験したすべての投与用量において有意な除菌効果を示した（$P<0.05$）が，DRPMとの治療効果に有意差はなかった。一方，IPM/CSでは30 mg/kg投与群のみに有意な除菌効果が観察された（$P<0.05$）。本感染モデルにおけるDRPMの治療効果は，CAZ（$P<0.01$）やIPM/CS（$P<0.05$）より明らかに優れ，MEPM/CSと同程度であった。

III. 考 察

新規注射用カルバペネム系抗菌薬DRPMは，好気性のグラム陽性菌から *P. aeruginosa* を含む好気性のグラム陰性菌ならびに嫌気性菌にわたって幅広い抗菌スペクトルを有し，その抗菌活性は，好気性グラム陽性菌ではMEPMより強く，好気性グラム陰性菌ではIPMより強いことが報告されている[1]。また，各種の実験的動物感染モ

Table 10. Therapeutic efficacy of doripenem and reference compounds against urinary tract infection caused by ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* SR10163 in mice

Dose（mg/kg）	Viable cell count in the kidney（Log CFU/g, Mean ± SD）			
	doripenem	meropenem/ cilastatin	imipenem/ cilastatin #	ceftazidime
30	1.35 ± 0.05 **	1.86 ± 1.42 **	4.24 ± 2.45 *	6.39 ± 2.25 +
10	3.04 ± 1.87 **	1.95 ± 1.40 **	5.31 ± 2.00	
3	4.68 ± 2.55 **	4.60 ± 2.53 *	6.29 ± 2.23	
1	7.20 ± 0.23	3.74 ± 2.96 **	5.23 ± 2.76	
Control	7.94 ± 0.27			
MIC（μg/mL）	0.25	0.5	1	32

Animal: ICR mouse, female, 5 weeks old, n = 7.
Infection: transurethral injection, challenge dose; 3.3×10^5 CFU/mouse.
Treatment: subcutaneous administration. 6 and 10 h after infection, then twice a day for 3 days.
Decision: The viable cell count in the kidney was determined 4 days after infection.
MIC: broth microdilution method.
Statistical analysis: *, **; vs control（*; $p < 0.05$, **; $P < 0.01$, Dunnett's multiple comparison test）
#; vs doripenem（$p < 0.05$, sigmoid E_{max} model）
+; vs doripenem 30 mg/kg（$p < 0.01$, Welch's t test）

デルにおいて，DRPM は *in vitro* 抗菌活性を反映した良好な *in vivo* 抗菌活性を示すことも報告されている[2]。本研究では, DRPM の大きな特徴である抗 *P. aeruginosa* 活性をさらに明確にする目的で，臨床分離株に対する感受性, 外膜透過性の変化による耐性獲得, 殺菌作用, PAE ならびに各種のマウス感染モデルにおける治療効果を検討した。

β-ラクタム系抗菌薬に対して幅広い感受性分布を示す *P. aeruginosa* に対する抗菌活性について，2002 年度の臨床分離株を用いて検討した。DRPM は MIC_{50} で 0.5 μg/mL，MIC_{90} で 8 μg/mL と試験した薬剤の中で最も強い抗菌活性を示し，上市されているカルバペネム系抗菌薬の中で最も強い抗 *P. aeruginosa* 活性を有する MEPM や BIPM より 2 倍強活性であった。特に CAZ 感性株（MIC：≦8 μg/mL）に対して DRPM は 4 μg/mL の MIC_{90} を示し，MEPM などのカルバペネム系抗菌薬に比べて 2〜8 倍強い抗菌活性を有していた。さらに，CAZ 耐性菌 15 株（MIC：≧16 μg/mL）および IPM 耐性菌 27 株（MIC：≧8 μg/mL）の中で，NCCLS[3]の IPM や MEPM の感性基準である 4 μg/mL 以下の MIC を示す株数は，DRPM ではそれぞれ 6 および 16 株と最も多く，DRPM はこれら耐性株にも最も優れた抗菌活性を示した。DRPM をはじめとするカルバペネム系抗菌薬は，*P. aeruginosa* の外膜を透過してペリプラズム内に侵入後，薬剤排出ポンプによる菌体外への排出や β-ラクタマーゼによる不活化を受けるが，最終的に細胞壁合成酵素である PBP に結合して, 抗菌活性を発揮していると考えられている。外膜透過経路に関しては，IPM のようなカルバペネム系抗菌薬は，OprD の形成する孔を利用することによって外膜を効率よく透過して, *P. aeruginosa* に対して強い抗菌活性を示すことが知られている[9]。その一方で，OprD の欠損により IPM に対する耐性化が生じることも知られており，IPM 耐性を示す臨床分離株の多くで OprD 欠損が観察されている。また，薬剤排出ポンプ MexAB-OprM などの働きにより β-ラクタム系抗菌薬を含む各種抗菌薬は菌体外に排出されるために，本菌種は多くの抗菌薬に対する感受性が元来低い[9]。さらに，MexAB-OprM の産生量の増加やその他の排出ポンプ MexCD-OprJ や MexEF-OprN 等の産生により耐性化がさらに生じることが知られており，これら排出ポンプの高産生株は, 臨床でも散見されている[10]。そこで, 外膜透過性に変化を生じさせた *P. aeruginosa* 各種変異株に対する DRPM の抗菌活性を親株と比較して, 外膜透過性の変化により生じる抗菌活性の変動を評価した。外膜透過孔 OprD の欠損や排出ポンプ MexAB-OprM の高産生によって DRPM の抗菌活性が 1/2 に低下したことから，DRPM も OprD が形成する透過孔を介して外膜を透過し，MexAB-OprM 排出ポンプにより，菌体外へ排出されるものと考えられた。しかし, OprD 欠損による抗菌活性低下の程度が小さかったことから，別の透過経路の存在も示唆された。YY165 株を親株として分離された排出蛋白 MexCD-OprJ 高産生変異 OFR504 株に対しては，DRPM を含むいずれのカルバペネム系抗菌薬も MIC の変化が生じなかったので，これらカルバペネム系抗菌薬の菌体外排出に，MexCD-OprJ 排出ポンプは関与していないと考えられた。PAO1 株を親株として分離された排出蛋白 MexEF-OprN 高産生変異 KG4001 株に対する各種カルバペネム系抗菌薬の MIC 変化は，OprD が欠損している IPM46 株に比べて，変化の程度がやや小さいパターンを示した。KG4001 株においては，同時に OprD

産生量が著しく減少することが知られている[11]ことから，KG4001 株における感受性変化は OprD の産生量減少に依存していると推察され，MexEF-OprN 排出ポンプの高産生によるカルバペネム系抗菌薬の抗菌活性変化は生じていないと考えられた。これらの成績より，DRPM は MEPM，IPM，BIPM と同様に OprD の形成する孔を介して外膜を透過すること，MEPM と同様に MexAB-OprM 排出ポンプにより細胞外に排出されることが示唆された。しかし，OprD の欠損や MexAB-OprM の高産生による DRPM の抗菌活性低下が，IPM あるいは MEPM に比べて小さく，このことが，CAZ および IPM 耐性株に対して DRPM が強い抗菌活性を発揮する原因の一つと考えられた。

抗菌薬の治療効果は，殺菌作用の強さが大きく影響するといわれている。*P. aeruginosa* に対し，DRPM は IPM，MEPM や CAZ と同様に薬剤作用時間に依存した殺菌作用を示し，その殺菌力は強かった。また，MBC と MIC は近似した数値を示したことから，DRPM の抗菌作用は MEPM や IPM 同様に殺菌的であると考えられた。抗菌薬の用法を考えるうえで，PAE は重要な因子の一つである[12]。カルバペネム系抗菌薬は，他の β-ラクタム系薬とは異なり *P. aeruginosa* に対して PAE を有することが知られている[13]。DRPM の PAE について，*in vitro* 試験およびマウス肺感染モデルで検討した結果，いずれの試験においても DRPM は PAE を示し，その効果は MEPM や IPM と同程度であった。また，抗菌薬の投与間隔を決定するのに重要な因子である，PAE に抗菌活性の強弱を考慮した effective regrowth time[12]についても，DRPM は他のカルバペネム系抗菌薬と同程度であると報告されている[14]。ヒトでの体内動態は，MEPM や IPM/CS とほぼ同じである[15~17]ので，DRPM は他のカルバペネム系抗菌薬と同じ用法で臨床での有効性が期待できると考えられた。

P. aeruginosa を感染菌とした各種のマウス感染モデルで DRPM の治療効果を検討した。カルバペネム系抗菌薬の体内動態を左右する大きな因子の一つに，dehydropeptidase-I（DHP-I）に対する安定性が知られている。DRPM[18]や MEPM[19]はヒト腎 DHP-I に対して安定であるので，IPM と異なり臨床では単剤で使用されている。しかし，その安定性に種特異性がみられている[2,19]。佐藤ら[2]は，DRPM あるいは MEPM と CS との併用（1：1 の併用）投与時のマウス血漿中濃度推移を測定して，DRPM は CS 併用の影響をほとんど受けないこと，ならびに DRPM，MEPM/CS および IPM/CS の血漿中濃度推移はほぼ同じであることを報告している。ヒトでのこれらカルバペネム系抗菌薬 3 薬剤の血中濃度推移がほぼ同じである[15~17]ので，マウス感染モデルにおける治療効果の比較から DRPM の臨床有効性をより正確に推測する目的で，DRPM は単独投与で，MEPM は CS との併用投与で治療した。CAZ 耐性株を含む *P. aeruginosa* を感染菌としたマウス全身感染に対し，CAZ 耐性の有無にかかわらず DRPM は良好な治療効果を示した。より重症な感染症を想定した好中球減少症マウスを用いた全身感染モデルでも，良好な治療効果を示した。また，CAZ 耐性株を感染菌としたマウス尿路感染ならびに肺感染においても，CAZ の 30 mg/kg 投与でほとんど除菌効果が観察されなかったにもかかわらず，DRPM は 3 mg/kg 以下の投与用量で有意な除菌効果を示し，優れた治療効果を示した。マウス感染モデルにおける DRPM の治療効果は，CAZ に比べてはるかに強く，IPM/CS より強く，MEPM/CS と同じであり，*in vitro* 抗菌活性をほぼ反映した結果であった。これらの成績より，臨床においても CAZ 耐性菌を含む *P. aeruginosa* 感染症に対して，DRPM は *in vitro* 抗菌活性を反映した有効性を示すことが示唆された。

以上の成績から，DRPM は，*P. aeruginosa* 感染症においても，優れた臨床有効性が期待できる注射用カルバペネム系抗菌薬と考えられた。

文　献

1) 藤村享滋，木村美司，吉田　勇，他：Doripenem の *in vitro* 抗菌力。日化療会誌 53（Suppl 1）：57～70, 2005
2) 佐藤剛章，辻　雅克，岡崎健一，他：Doripenem の *in vivo* 抗菌力。日化療会誌 53（Suppl 1）：71～79, 2005
3) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; fourteenth informational supplement M 100-S 14. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa, 2004
4) Craig W A, Redington J, Ebert S C: Pharmacodynamics of amikacin *in vitro* and in mouse thigh and lung infections. J Antimicrob Chemother 27（Suppl C）: 29～40, 1991
5) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard-sixth edition, M7-A6. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa, 2003
6) Yamano Y, Nishikawa T, Komatsu Y, et al: Effect of alterations in porins and efflux pumps of *Pseudomonas aeruginosa* on the *in vitro* antipseudomonal activity of S-4661. 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy: Poster F-214, 1997
7) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents; approved guideline, M26-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa, 1999
8) 中野雅夫，木村靖夫，渡辺芳浩，他：新規エステル型経口セフェム剤，S-1108 の微生物学的定量法による体液内濃度測定法の検討。日化療会誌 41（Suppl 1）：144～153, 1993
9) Köhler T, Michea-Hamzehpour M, Epp S F, et al: Carbapenem activities against *Pseudomonas aeruginosa*: respective contributions of OprD and efflux sys-

tems. Antimicrob Agents Chemother 43: 424～427, 1999
10) Hyunjoo P, Jong-Won K, Jungmin K, et al: Carbapenem resistance mechanism in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. Antimicrob Agents Chemother 45: 480～484, 2001
11) Fukuda H, Hosaka M, Iyobe S, et al: nfxC-Type quinolone resistance in a clinical isolate of *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 39: 790～792, 1995
12) 戸塚恭一，清水喜八郎：抗菌薬の PAE。感染症 19: 283～288, 1989
13) 井上松久，野々山勝人，井田孝志，他：カルバペネム剤の細菌学的特徴。臨床と微生物 21: 391～397, 1994
14) Totsuka K, Shiseki M, Uchiyama T: *In vitro* postantibiotic effect and *in vivo* antimicrobial activity of novel carbapenem, S-4661. 36th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy: Abstract N0. 113, 1996
15) 中島光好, 尾熊隆嘉：Doripenem の健康成人における第 I 相臨床試験。日化療会誌 53 (Suppl 1): 104～123, 2005
16) 中島光好, 植松俊彦, 金丸光隆, 他：Meropenem の第 1 相試験。日化療会誌 40 (Suppl 1): 258～275, 1992
17) 中川圭一，小山 優，早瀬 清，他：Imipenem(MK-0787)，Cilastatin sodium (MK-0791)，MK-0787/MK-791 臨床第一相試験。日化療会誌 33 (Suppl 4): 357～378, 1985
18) 山野佳則，川井悠唯，湯通堂隆：Doripenem のヒト dehydropeptidase-I に対する安定性。日化療会誌 53 (Suppl 1): 92～95, 2005
19) 住田能弘, 納田浩司, 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

Antipseudomonal activity of doripenem, a novel parenteral carbapenem antibiotic

Hideaki Miwa, Yoshiji Kimura, Yutaka Jinushi, Takaji Fujimura,
Toru Nishikawa, Tadashi Munekage, Naomi Kuroda, Yoshinori Yamano,
Masakatsu Tsuji, Kenichi Okazaki, Takafumi Sato and Hayato Matsuda

Discovery Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd., 3-1-1 Futaba-cho, Toyonaka, Osaka, Japan

Doripenem (DRPM), a novel parenteral carbapenem antibiotic synthesized by Shionogi & Co., Ltd., has potent antibacterial activity and a well-balanced spectrum against aerobic Gram-positive and negative bacteria, and anaerobic bacteria. We evaluated its antipseudomonal activity.

DRPM exhibited potent activity with MIC_{90} of 8 μg/mL against clinical 71 strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated in 2002, 2-4 times more active than other carbapenems, meropenem (MEPM), imipenem (IPM), biapenem, and panipenem, and 2-8 times more potent than antipseudomonal antibiotics such as ceftazidime (CAZ), amikacin, and sulbactam/cefoperazone. DRPM was most active against CAZ-resistant and IPM-resistant *P. aeruginosa* compared to other carbapenems and CAZ.

DRPM as well as MEPM reduced antipseudomonal activity against mutant strains deficient in pore-forming protein OprD or overproduced efflux pump system, MexAB-OprM. Activity of DRPM against these strains was only 2-fold less active than their parent strains, whereas that of MEPM was 4-fold less active.

Against 20 clinical isolates of *P. aeruginosa*, the mean MBC of DRPM was 0.84 μg/mL, which was lower than that of MEPM, IPM, and CAZ. MBC of DRPM against each strain was equal to or only twice larger than its MIC as well as other carbapenems, suggesting DRPM has strong bactericidal activity. In a time-kill study, DRPM exhibited time-dependent bactericidal activity, almost equal to that of MEPM and IPM.

DRPM showed post-antibiotic effect (PAE) against CAZ-susceptible *P. aeruginosa* in both *in vitro* and mouse lung infection models, while CAZ had no PAE. PAE of DRPM was similar to that of MEPM and IPM.

DRPM showed excellent therapeutic efficacy with ED_{50} of 0.17-4.87 mg/kg against systemic infection in both immunocompetent and neutropenic mice infected with *P. aeruginosa* including CAZ-resistant strains. DRPM was much more active than CAZ, more active than IPM/cilastatin (CS), and similar to MEPM/CS. DRPM also exhibited excellent efficacy against both mouse lung and urinary tract infection due to CAZ-resistant *P. aeruginosa*, equal to or more potent than IPM/CS and similar to MEPM/CS.

These results suggest that DRPM is clinically effective against *P. aeruginosa* infection.