

【原著・基礎】

Tebipenem の嫌気性菌に対する *in vitro* 抗菌活性

田中 香お里・渡邊 邦友

岐阜大学生命科学総合研究支援センター嫌気性菌研究分野*

(平成20年10月7日受付・平成21年1月9日受理)

カルバペネム系経口抗菌薬 tebipenem pivoxil の活性体 tebipenem (TBPM) の嫌気性菌に対する *in vitro* 抗菌力を検討し, imipenem (IPM), cefditoren, clavulanate/amoxicillin および clindamycin の抗菌力と比較した。また, *Bacteroides fragilis* 由来の β -lactamase に対する TBPM の安定性についても検討した。

TBPM は, 嫌気性菌においてグラム陽性菌およびグラム陰性菌をとおして幅広い抗菌スペクトルを示した。全般に強い抗菌力を保持しており, 嫌気性のグラム陽性菌およびグラム陰性菌からなる 61 菌種 71 株の指標菌株のうち, *B. fragilis* の metallo- β -lactamase 産生株と *Clostridium difficile* 以外の菌種の発育を $\leq 0.03\sim 0.5 \mu\text{g/mL}$ で阻止した。547 株の臨床分離株に対しても, TBPM は IPM 耐性 *Bacteroides* を除くほとんどの菌群に優れた抗菌力を示し ($\text{MIC}_{90} \leq 0.03\sim 2 \mu\text{g/mL}$), *C. difficile*, *Propionibacterium acnes*, *Bacteroides uniformis*, *Prevotella bivia* 以外の菌群では被験薬中最も優れた抗菌力を示した。特に上気道感染症領域からよく分離される *Veillonella* spp., *Paroimonas micra*, *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp., *Fusobacterium nucleatum* には強い抗菌力を示した ($\text{MIC}_{90} \leq 0.03\sim 0.125 \mu\text{g/mL}$)。また, TBPM は IPM と同様に metallo- β -lactamase 以外の *B. fragilis* の β -lactamase に安定であった。

以上のことより, TBPM は, 嫌気性菌が関与する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: tebipenem, antimicrobial activity, anaerobe

Tebipenem pivoxil (TBPM-PI) は日本レダリー株式会社で合成され, 明治製菓が開発を引き継いだ世界初の経口カルバペネム系抗菌薬である。活性体である TBPM は, 好気性菌に関してはグラム陽性菌, グラム陰性菌をとおして幅広い抗菌活性を有し, 特にペニシリン耐性肺炎球菌を含む肺炎球菌に強力な抗菌力を示すほか β -lactamase 非産生アンピシリン耐性インフルエンザ菌にも強い抗菌力をもつことが示されており, 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¹⁻³⁾。しかし, 嫌気性菌に対する抗菌力についての検討は少ない。TBPM-PI は小児の上気道感染症領域において臨床開発が進められていることから, 口腔内に常在し上気道感染症領域から分離される嫌気性菌ならびに腸管内に存在する基質特異性の多様な β -lactamase 産生菌に対する TBPM の抗菌力についての知見は有用である。このような背景から今回, 教室保存の指標菌株を用いて, 嫌気性菌における TBPM の抗菌スペクトルおよび主要な嫌気性菌の臨床分離株に対する抗菌力を検討した。

I. 材料と方法

1. 被験菌株

当施設に保有の指標菌株 71 株と 1994 年~1997 年に

腹腔内感染症, 皮膚軟部組織感染症, 口腔外科感染症, 耳鼻科感染症, 肺胸膜感染症, 婦人科感染症, 骨髄炎, 菌血症, 下痢便から分離された *Bacteroides fragilis* group 229 株 (*B. fragilis* 100 株, *Bacteroides thetaiotaomicron* 50 株, *Bacteroides uniformis* 19 株, *Bacteroides* spp. 22 株, *Parabacteroides distasonis* 38 株), imipenem (IPM) 耐性 *B. fragilis* group 11 株 (*B. fragilis* 9 株, *B. thetaiotaomicron* 1 株, *P. distasonis* 1 株), *Fusobacterium nucleatum* 24 株, *Prevotella* spp. 58 株 (*Prevotella bivia* 20 株, *Prevotella intermedia* 20 株, *Prevotella* spp. 18 株), *Porphyromonas* spp. 12 株, 嫌気性球菌 130 株 (*Finegoldia magna* 36 株, *Paroimonas micra* (*Micromonas micros*) 29 株, *Peptoniphillus asaccharolyticus* 36 株, *Peptostreptococcus anaerobius* 19 株, *Veillonella* spp. 10 株), *Clostridium difficile* 25 株, *Clostridium perfringens* 22 株, および *Propionibacterium acnes* 36 株の合計 547 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 TBPM (日本レダリー), IPM (萬有製薬), cefditoren (CDTR: 明治製菓), clavulanate-amoxicillin (CVA/AMPC: スミスクライン

*岐阜県岐阜市柳戸 1-1

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

Organism	MIC ($\mu\text{g/mL}$)				
	Tebipenem	Imipenem	Cefditoren	Clavulanate/ amoxicillin	Clindamycin
<i>Anaerococcus prevotii</i> ATCC9321	0.125	0.125	1	0.06	0.125
<i>Finegoldia magna</i> ATCC29328	0.125	0.5	4	0.25	4
<i>Parvimonas micra</i> VPI5464-1	0.06	0.125	0.125	0.06	0.5
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i> WAL3218	≤ 0.03	0.25	0.125	0.125	> 256
<i>Peptoniphilus indolicus</i> GAI0915	≤ 0.03	0.25	≤ 0.03	≤ 0.03	128
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC27337	0.125	0.06	0.125	0.25	0.25
<i>Gemella morbillorum</i> ATCC27824	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03
<i>Staphylococcus saccharolyticus</i> ATCC14953	≤ 0.03	≤ 0.03	0.06	≤ 0.03	0.125
<i>Streptococcus constellatus</i> ATCC27823	≤ 0.03	0.06	0.25	0.5	0.25
<i>Streptococcus intermedius</i> ATCC27335	≤ 0.03	0.25	0.125	0.25	0.25
<i>Clostridium clostridioforme</i> NCTC11224	0.25	0.5	32	0.5	0.5
<i>Clostridium difficile</i> GAI10029	2	8	128	2	> 256
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC13124	0.06	0.06	8	0.25	0.06
<i>Clostridium septicum</i> ATCC12464	≤ 0.03	≤ 0.03	2	≤ 0.03	≤ 0.03
<i>Clostridium sordellii</i> ATCC9714	≤ 0.03	0.06	0.125	≤ 0.03	1
<i>Clostridium ramosum</i> ATCC25582	0.5	0.25	32	0.125	16
<i>Actinomyces odontolyticus</i> GAI91002	0.125	0.5	0.25	0.25	0.25
<i>Atopobium parvulum</i> VPI0546	0.25	0.25	0.25	0.5	2
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ATCC15703	0.06	0.25	0.125	0.25	≤ 0.03
<i>Bifidobacterium bifidum</i> JCM1255	0.06	0.125	0.125	0.125	≤ 0.03
<i>Bifidobacterium breve</i> ATCC15700	0.25	2	0.25	0.25	≤ 0.03
<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>longum</i> ATCC15707	0.25	2	0.5	0.5	≤ 0.03
<i>Bifidobacterium pseudolongum</i> ATCC25526	0.125	0.5	0.06	0.125	0.06
<i>Eggerthella lenta</i> ATCC25559	0.25	2	16	2	0.5
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC11828	0.5	0.125	0.5	0.5	0.125
<i>Propionibacterium granulosum</i> ATCC25564	0.25	0.06	0.06	0.06	≤ 0.03
<i>Lactobacillus acidophilus</i> JCM1132	0.06	0.06	0.125	0.25	8
<i>Lactobacillus brevis</i> subsp. <i>brevis</i> JCM1059	≤ 0.03	0.06	16	4	0.125
<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>casei</i> JCM1134	0.25	0.5	4	1	4
<i>Lactobacillus fermentum</i> JCM1173	≤ 0.03	≤ 0.03	256	0.25	≤ 0.03
<i>Lactobacillus plantarum</i> JCM1149	≤ 0.03	0.06	0.125	0.25	0.5
<i>Lactobacillus reuteri</i> JCM1112	≤ 0.03	≤ 0.03	64	1	≤ 0.03
<i>Lactobacillus salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i> JCM1231	0.125	0.125	1	1	0.125

ビーチャム), 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, CLSI の推奨する方法⁴⁾に準じた寒天平板希釈法で実施した。

感受性測定培地としては羊溶血血液を 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。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 10^5 CFU/spot ずつ接種した。菌を接種した平板は, 嫌気チャンバー内 (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. 抗菌力に対する接種菌量の影響

B. fragilis ATCC25285, GAI0558, GAI30019 の 3 株

について, 接種菌量を 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 CFU/spot に設定し, CLSI 法に準じた寒天平板希釈法を用いて被験薬の MIC 値の変動を測定した。

5. β -lactamase に対する安定性と阻害活性

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 GAI7955⁵⁾, ABPC 高度耐性株 GAI10150⁶⁾, metallo- β -lactamase 産生カルバペネム高度耐性株 GAI92082 から抽出した粗酵素を用いた。

β -lactamase に対する安定性試験については被験薬剤 (TBPM, IPM, CDTR, cefaclor) 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^{7,8)}により, 被験薬の加水分解に伴う紫外部の吸光度変化を測定した。測定はセル温度コントローラー (島津温度プログラマ KPC-5; 島津製作所) をつけた Shimadzu Double-Beam Spectrophotometer UV-150-02 (島津製作所) を使用し素酵素液を添加した反応液を 37°C に保ちながら行った。基質濃度は $100 \mu\text{M}$ とした。結果は各粗酵素によ

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

Organism	MIC ($\mu\text{g/mL}$)				
	Tebipenem	Imipenem	Cefditoren	Clavulanate/ amoxicillin	Clindamycin
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI5562	0.125	0.25	4	0.5	1
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC25285	0.125	0.125	2	0.5	1
<i>Bacteroides fragilis</i> NCTC10581	0.125	0.125	2	0.25	0.06
<i>Bacteroides vulgatus</i> ATCC8482	0.125	1	0.06	1	0.125
<i>Parabacteroides distasonis</i> ATCC8503	0.125	1	0.06	1	0.125
<i>Bacteroides ovatus</i> ATCC8483	0.5	0.5	32	1	1
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ATCC29741	0.5	0.5	32	1	8
<i>Bacteroides uniformis</i> ATCC8492	0.06	0.25	1	0.25	≤ 0.03
<i>Bacteroides eggerthii</i> ATCC27754	≤ 0.03	0.125	0.25	0.25	≤ 0.03
<i>Bacteroides ureolyticus</i> NCTC10941	≤ 0.03	0.25	≤ 0.03	0.25	0.125
<i>Campylobacter gracilis</i> JCM8538	≤ 0.03	0.5	2	≤ 0.03	0.5
<i>Sutterella wadsworthensis</i> ATCC51579	0.125	1	32	2	32
<i>Prevotella bivia</i> ATCC29303	0.25	0.06	32	1	≤ 0.03
<i>Prevotella buccae</i> ATCC33574	0.125	0.125	1	0.125	≤ 0.03
<i>Prevotella corporis</i> GAI91000	≤ 0.03	≤ 0.03	1	0.125	≤ 0.03
<i>Prevotella denticola</i> GAI5490	≤ 0.03	≤ 0.03	0.25	0.06	≤ 0.03
<i>Prevotella heparinolytica</i> ATCC35895	0.06	0.125	0.25	0.125	≤ 0.03
<i>Prevotella intermedia</i> ATCC25611	0.06	0.06	0.25	0.06	≤ 0.03
<i>Prevotella oralis</i> ATCC33269	0.06	≤ 0.03	1	0.06	≤ 0.03
<i>Prevotella oris</i> ATCC33573	0.06	0.06	0.5	0.06	≤ 0.03
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i> ATCC25260	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03
<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC33277	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03	0.06	≤ 0.03
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC25586	0.06	0.25	1	0.06	0.125
<i>Fusobacterium varium</i> ATCC8501	0.25	4	4	2	2
<i>Fusobacterium necrophorum</i> ATCC25286	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03	0.06	0.06
<i>Bilophila wadsworthia</i> WAL7959	≤ 0.03	0.25	32	2	0.5
<i>Desulfovibrio piger</i> DSM749	≤ 0.03	0.125	32	0.5	0.06
<i>Capnocytophaga ochracea</i> GAI5586	0.06	0.25	0.06	0.125	≤ 0.03
<i>Veillonella parvula</i> ATCC10790	≤ 0.03	0.125	0.25	0.06	0.06
<i>Veillonella dispar</i> ATCC17748	≤ 0.03	≤ 0.03	0.125	0.06	≤ 0.03

Table 3. Comparative *in vitro* activity of tebipenem and other agents against β -lactamase-high producing strains of anaerobic bacteria

Organism	Type of β -lactamase	MIC ($\mu\text{g/mL}$)				
		Tebipenem	Imipenem	Cefditoren	Clavulanate/ amoxicillin	Clindamycin
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI0558	2e	0.25	0.5	128	2	0.5
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI7955	2e	1	1	256	4	1
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI10150	2e	2	2	256	4	0.5
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI30079	3	> 256	256	> 256	64	> 256
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI30144	3	> 256	256	> 256	64	1
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI92082	3	> 256	> 256	> 256	128	2
<i>Prevotella bivia</i> GAI4100	2e	0.25	0.125	64	4	≤ 0.03
<i>Prevotella intermedia</i> GAI96507	2e	0.06	≤ 0.03	16	2	≤ 0.03

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。また, *B. fragilis* GAI0558, GAI7955, GAI10150 由来の酵素に対する TBPM, IPM の阻害活性についてはニトロセフィン (25~100 μM) を基質とし, 各阻害薬 (10 nM~800 μM) 共存下での, 各酵素の活性測定を行い, 各測定値の Lineweaver-Burk plots の二次プロット ([勾配] 対 [阻害剤濃度]) から阻害常数 (K_i) を求めた。

II. 結 果

1. 抗菌スペクトラムおよび β -lactamase 高度産生株に対する抗菌力

グラム陽性の指標菌株についての結果を Table 1 に, グラム陰性の指標菌株の結果を Table 2 に, 指標菌株の β -lactamase 高度産生株の結果を Table 3 に示した。TBPM は, *C. difficile* を含む試験したすべてのグラム陽性の指標菌株の発育を 2 $\mu\text{g/mL}$ 以下で阻止し, *C. diffi-*

Table 4. *In vitro* activity of tebipenem and other reference compounds against clinical isolates of Gram-positive anaerobic bacteria

Organism (No. of isolates)	Antimicrobial agent	MIC ($\mu\text{g/mL}$)		
		Range	MIC ₅₀ ^a	MIC ₉₀ ^b
<i>Finegoldia magna</i> (36)	Tebipenem	$\leq 0.03 - 0.125$	0.06	0.125
	Imipenem	$\leq 0.03 - 0.5$	0.125	0.5
	Cefditoren	$\leq 0.03 - 16$	4	8
	Clavulanate/amoxicillin	$\leq 0.03 - 0.5$	0.25	0.5
	Clindamycin	$\leq 0.03 - 256$	1	256
<i>Parvimonas micra</i> (29)	Tebipenem	$\leq 0.03 - 0.125$	0.06	0.125
	Imipenem	$\leq 0.03 - 0.5$	0.25	0.25
	Cefditoren	$\leq 0.03 - 0.5$	0.125	0.25
	Clavulanate/amoxicillin	$\leq 0.03 - 0.5$	0.06	0.25
	Clindamycin	0.125 - 2	0.25	0.5
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i> (36)	Tebipenem	$\leq 0.03 - 0.06$	≤ 0.03	≤ 0.03
	Imipenem	$\leq 0.03 - 0.125$	≤ 0.03	≤ 0.03
	Cefditoren	$\leq 0.03 - 4$	0.06	0.25
	Clavulanate/amoxicillin	$\leq 0.03 - 0.25$	≤ 0.03	≤ 0.03
	Clindamycin	$\leq 0.03 - > 256$	0.125	1
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> (19)	Tebipenem	0.06 - 1	0.125	1
	Imipenem	0.06 - 4	0.125	4
	Cefditoren	0.06 - 8	0.25	8
	Clavulanate/amoxicillin	0.06 - 32	0.25	32
	Clindamycin	$\leq 0.03 - 2$	0.25	1
<i>Propionibacterium acnes</i> (36)	Tebipenem	0.06 - 0.25	0.125	0.25
	Imipenem	$\leq 0.03 - 0.125$	0.06	0.125
	Cefditoren	$\leq 0.03 - 0.25$	0.125	0.25
	Clavulanate/amoxicillin	$\leq 0.03 - 0.5$	0.125	0.25
	Clindamycin	$\leq 0.03 - 1$	0.06	0.5
<i>Clostridium difficile</i> (25)	Tebipenem	1 - 2	2	2
	Imipenem	4 - 16	8	16
	Cefditoren	64 - > 256	> 256	> 256
	Clavulanate/amoxicillin	0.25 - 1	0.5	1
	Clindamycin	4 - > 256	4	> 256
<i>Clostridium perfringens</i> (22)	Tebipenem	$\leq 0.03 - 0.25$	0.06	0.125
	Imipenem	$\leq 0.03 - 0.25$	0.125	0.25
	Cefditoren	2 - 64	16	64
	Clavulanate/amoxicillin	$\leq 0.03 - 1$	0.125	0.5
	Clindamycin	$\leq 0.03 - > 256$	0.5	4

^aMIC₅₀, concentration at which 50% of organisms are susceptible.

^bMIC₉₀, concentration at which 90% of organisms are susceptible.

cile 以外の株の MIC 値は 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 以下であった。対照薬との比較においては、全般に、CDTR より優れ、IPM、CVA/AMPC と同等あるいは 1~3 管優れた抗菌力であった。また、球菌群については CLDM より優れた抗菌力を示し、グラム陽性の CLDM 耐性株に対しても強い抗菌力を示した (Table 1)。グラム陰性菌種に対しても TBPM は強い抗菌力を示し、これらの指標菌株の発育を $\leq 0.03 \sim 0.5 \mu\text{g/mL}$ で阻止した。これらのグラム陰性菌に対する TBPM の抗菌力は、CDTR より優れ、IPM、CVA/AMPC、CLDM と同等かやや優れていた (Table 2)。 β -lactamase 高度産生株については type 3 の酵素 (metallo- β -lactamase) を産生する *B. fragilis* には CLDM を除く他の被験薬と同じく抗菌力を示さなかったが、type 2e の酵素を産生する *B. fragilis*, *Prevotella* spp. に

対しては IPM と同等の抗菌力を示した (Table 3)。

2. 臨床分離株に対する抗菌力

1) グラム陽性菌 (Table 4)

嫌気性グラム陽性球菌である *F. magna*, *P. micra*, *P. asaccharolyticus* に対して、TBPM は MIC₉₀ が $\leq 0.03 \sim 0.125 \mu\text{g/mL}$ といずれも強力な抗菌力を示した。また、*P. anaerobius* に対しては、他の球菌群に対してよりは MIC₉₀ がやや高いもののすべての被験菌株の発育を 1 $\mu\text{g/mL}$ で抑え、被験薬中最も強い抗菌力を示した。*Clostridium* spp. については、*C. perfringens* に対する TBPM の MIC₉₀ は被験薬中最も低い 0.125 $\mu\text{g/mL}$ と強い抗菌力を示し、*C. difficile* についても、CVA/AMPC にやや劣るものの、すべての被験菌株の発育を 1~2 $\mu\text{g/mL}$ で阻止した。

Table 5. *In vitro* activity of tebipenem and other reference compounds against clinical isolates of anaerobic Gram-negative bacteria

Organism (No. of isolates)	Antimicrobial agent	MIC (μ g/mL)		
		Range	MIC ₅₀ ^a	MIC ₉₀ ^b
<i>Veillonella</i> spp. (10)	Tebipenem	≤ 0.03 - 0.125	0.06	0.06
	Imipenem	≤ 0.03 - 2	0.06	1
	Cefditoren	≤ 0.03 - 2	0.5	1
	Clavulanate/amoxicillin	≤ 0.03 - 0.5	0.06	0.5
	Clindamycin	≤ 0.03 - 0.125	0.06	0.125
<i>Bacteroides fragilis</i> (100)	Tebipenem	≤ 0.03 - 8	0.25	0.5
	Imipenem	0.06 - 2	0.25	1
	Cefditoren	1 - > 256	4	256
	Clavulanate/amoxicillin	0.25 - 16	0.5	4
	Clindamycin	≤ 0.03 - > 256	2	> 256
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> (50)	Tebipenem	0.25 - 16	0.5	1
	Imipenem	0.25 - 4	0.5	1
	Cefditoren	8 - > 256	16	> 256
	Clavulanate/amoxicillin	0.5 - 16	1	4
	Clindamycin	0.25 - > 256	8	> 256
<i>Bacteroides uniformis</i> (19)	Tebipenem	0.125 - 32	0.25	2
	Imipenem	0.25 - 4	0.5	1
	Cefditoren	4 - > 256	16	> 256
	Clavulanate/amoxicillin	0.5 - 32	2	16
	Clindamycin	0.25 - > 256	4	> 256
Other <i>B. fragilis</i> group (22)	Tebipenem	0.125 - 1	0.25	1
	Imipenem	0.125 - 1	0.25	1
	Cefditoren	2 - > 256	16	> 256
	Clavulanate/amoxicillin	0.25 - 4	1	4
	Clindamycin	≤ 0.03 - > 256	2	> 256
Imipenem-resistant <i>B. fragilis</i> group organisms ^c (11)	Tebipenem	2 - > 256	64	> 256
	Imipenem	8 - 256	32	256
	Cefditoren	64 - > 256	256	> 256
	Clavulanate/amoxicillin	8 - 64	16	64
	Clindamycin	1 - > 256	> 256	> 256
<i>Parabacteroides distasonis</i> (38)	Tebipenem	0.125 - 32	0.5	2
	Imipenem	0.5 - 16	1	4
	Cefditoren	0.5 - > 256	8	> 256
	Clavulanate/amoxicillin	1 - 64	4	16
	Clindamycin	≤ 0.03 - > 256	4	> 256
<i>Prevotella bivia</i> (20)	Tebipenem	0.06 - 0.25	0.125	0.25
	Imipenem	≤ 0.03 - 0.06	≤ 0.03	0.06
	Cefditoren	0.5 - 64	4	32
	Clavulanate/amoxicillin	0.06 - 4	0.25	4
	Clindamycin	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03
<i>Prevotella intermedia</i> (20)	Tebipenem	≤ 0.03 - 0.06	0.06	0.06
	Imipenem	≤ 0.03 - 0.06	≤ 0.03	0.06
	Cefditoren	≤ 0.03 - 16	0.25	16
	Clavulanate/amoxicillin	≤ 0.03 - 2	0.06	2
	Clindamycin	≤ 0.03 - > 256	≤ 0.03	≤ 0.03
Other <i>Prevotella</i> spp. (18)	Tebipenem	≤ 0.03 - 0.5	0.06	0.125
	Imipenem	≤ 0.03 - 0.5	0.06	0.125
	Cefditoren	0.125 - 64	1	64
	Clavulanate/amoxicillin	≤ 0.03 - 8	0.25	4
	Clindamycin	≤ 0.03 - > 256	≤ 0.03	> 256
<i>Porphyromonas</i> spp. (12)	Tebipenem	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03
	Imipenem	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03
	Cefditoren	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03
	Clavulanate/amoxicillin	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03
	Clindamycin	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03

Table 5. (Continued)

Organism (No. of isolates)	Antimicrobial agent	MIC ($\mu\text{g/mL}$)		
		Range	MIC ₅₀ ^a	MIC ₉₀ ^b
<i>Fusobacterium nucleatum</i> (24)	Tebipenem	≤ 0.03 – 0.06	≤ 0.03	0.06
	Imipenem	≤ 0.03 – 0.25	≤ 0.03	0.125
	Cefditoren	≤ 0.03 – 1	0.125	0.5
	Clavulanate/amoxicillin	≤ 0.03 – 0.25	≤ 0.03	0.06
	Clindamycin	≤ 0.03 – 0.125	0.06	0.125

^aMIC₅₀, concentration at which 50% of organisms are susceptible.

^bMIC₉₀, concentration at which 90% of organisms are susceptible.

^c*B. fragilis*, 9 strains, *B. thetaiotaomicron*, 1 strain, *P. distasonis*, 1 strain

Table 6. Effect of inoculum size on *in vitro* activity of tebipenem and other agents against *Bacteroides fragilis* strains

Organism	Inoculum size (CFU/spot)	MIC ($\mu\text{g/mL}$)					
		Tebipenem	Imipenem	Cefditoren	Clavulanate/amoxicillin	Clindamycin	
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC25285	10^7	0.125	1	8	1	0.5	
	β -lactamase-low producer	10^6	0.125	0.5	4	1	0.5
	10^5	0.125	0.125	2	1	0.5	
	10^4	0.125	0.06	2	1	0.25	
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI0558	10^7	0.5	2	> 256	0.5	4	
	β -lactamase-high producer (type 2e)	10^6	0.25	2	256	0.5	2
	10^5	0.25	0.5	64	0.5	2	
	10^4	0.25	0.5	64	0.5	2	
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI30079	10^7	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256	
	β -lactamase-high producer (type 3)	10^6	> 256	> 256	> 256	> 256	
	10^5	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256	
	10^4	> 256	> 256	> 256	> 256	256	

Table 7. Stability of tebipenem and other agents against β -lactamases produced by *Bacteroides fragilis* strains

Agent	Relative hydrolysis (%)			
	GAI0558 ^a	GAI7955 ^a	GAI10150 ^a	GAI92082 ^b
Tebipenem	ND	ND	ND	253.3
Imipenem	ND	ND	ND	71.3
Cefditoren	24.5	20.2	56.8	276.5
Cefaclor	65.4	21.8	72.2	448
Cephaloridin	100	100	100	100

^aType 2e β -lactamase producer

^bType 3 β -lactamase producer

2) グラム陰性菌に対する抗菌力 (Table 5)

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 MIC₉₀ が 0.06~1 $\mu\text{g/mL}$ と良好な抗菌力を示し、なかでも TBPM は最も強い抗菌力を示した。

IPM 耐性株を除く *B. fragilis* group についての TBPM は IPM と同等の抗菌力を示した。すなわち MIC₅₀ が 0.25~0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、MIC₉₀ が 0.5~2 $\mu\text{g/mL}$ と良好な抗菌力であった。

Prevotella spp. に対する TBPM の抗菌力は全般に優れており、*P. bivia* に対しては IPM には劣るものの MIC₉₀ が 0.25 $\mu\text{g/mL}$ と低い値を示した。*P. intermedia* とその他の *Prevotella* spp. に対しても IPM と同等、CDTR、

CVA/AMPC より優れた抗菌力を示し、MIC₉₀ は 0.125 $\mu\text{g/mL}$ 以下であった。*Porphyromonas* spp., *F. nucleatum* に対しては、いずれの被験薬も強い抗菌力を示し、TBPM の抗菌力は他の被験薬と同等あるいはより優れていた。

3. 抗菌力に対する接種菌量の影響

β -lactamase を微量に産生する *B. fragilis* ATCC25285 と type 2e の β -lactamase を多量に産生するセフェム高度耐性の GAI0558 および metallo- β -lactamase を産生するカルバペネム高度耐性の GAI30079 について接種菌量を 10^4 ~ 10^7 CFU/spot の間で接種して被験薬に対する感受性を測定した結果を Table 6 に示した。ATCC 25285 と GAI0558 に関して IPM、CDTR では接種菌量増加に伴う MIC 値の明らかな上昇傾向がみられたが、TBPM

Table 8. Inhibition constant (Ki) of tebipenem and imipenem against β -lactamases produced by *Bacteroides fragilis* strains

Agent	Ki (nM)		
	GAI0558	GAI7955	GAI10150
Tebipenem	6.6	23	7.6
Imipenem	0.9	33	4

では同様の傾向はみられなかった。

4. β -lactamase に対する安定性と阻害活性

TBPM 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 Table 7 に示した。TBPM 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 のいずれの β -lactamase にも安定であったが、metallo- β -lactamase である *B. fragilis* GAI92082 の酵素には IPM と同様に加水分解を受け、その相対加水分解速度は 253% であった。

また、TBPM の分解が認められなかった GAI0558, GAI7955, GAI10150 の β -lactamase 活性に対する TBPM, IPM の阻害作用をみたところ、TBPM は IPM と同レベルの低い Ki 値を示した (Table 8)。

III. 考 察

世界初の経口カルバペネム系抗菌薬である TBPM-PI の活性体である TBPM 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。TBPM は嫌気性菌においてもグラム陽性菌およびグラム陰性菌とともに幅広い抗菌スペクトルと IPM に匹敵する強い抗菌力を保持していた。特に嫌気性球菌の *P. micra* や *Veillonella* spp., 嫌気性グラム陰性桿菌の *F. nucleatum*, *P. intermedia*, *Porphyromonas* spp. といった上気道の感染症でよく分離される菌群⁹⁾に強力な抗菌力を示した。

β -lactamase 産生は β -lactam 系抗菌薬に対する主な耐性機構の一つであるが、嫌気性の特に *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp. といったグラム陰性桿菌においては、 β -lactamase の産生率が高く^{10,11)}、感染巣に存在する好気性菌も含めた共存菌に対する β -lactam 系抗菌薬の抗菌力にも影響しうる。このような背景から、*B. fragilis* の β -lactamase に対する TBPM の安定性についても検討を行った。type 3 (metallo- β -lactamase) と嫌気性グラム陰性桿菌でよくみられる type 2e の酵素について検討したところ、TBPM は IPM とおなじく、type 2e の酵素には安定であるほか、これらの酵素に IPM と同レベルの低い Ki 値を示し、強い酵素阻害活性を有することが示唆された。今回、*Prevotella* spp. の酵素については検討していないが、広域セフェムを分解する type 2e の酵素を産生する *P. biovia* ATCC29303, *P. intermedia* GAI96507 株に対して TBPM は強い抗菌力を示していた (Table 3) ことから、これらの酵素の影響を受ける可能性はきわめて低い

と考えられた。

TBPM-PI は小児の上気道感染症領域において臨床開発が進められており、臨床において高い血中濃度を反映した臨床効果が得られることが報告されている (戸塚恭一ほか, 日本化学療法学会雑誌特集号)。今回の検討から、TBPM は metallo- β -lactamase 産生菌には抗菌力を見込めないものの、嫌気性グラム陰性桿菌の酵素で主流の type 2e には安定であり、これらの産生菌には強い抗菌力を有することが示された。嫌気性菌では metallo- β -lactamase 産生菌は横隔膜より下部の感染症から分離される *B. fragilis* であり、産生株の分離頻度も少ない。一方、口腔内に常在し上気道感染症領域からも分離される *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp., *Fusobacterium* spp., *Veillonella* spp., *P. micra* に対して TBPM は強い抗菌活性を示すとともに、*Prevotella* spp. が産生する酵素にも影響を受けないと考えられることから、この領域において高い有効性が期待できる薬剤と考えられる。

文 献

- Hikida M, Itahashi K, Igarashi A, Shiba T, Kitamura M: In vitro antibacterial activity of LJC 11,036, an active metabolite of L-084, a new oral carbapenem antibiotic with potent antipneumococcal activity. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 2010-6
- Miyazaki S, Hosoyama T, Furuya N, Ishii Y, Matsu-moto T, Ohno A, et al: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of L-084, a novel oral carbapenem, against causative organisms of respiratory tract infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 203-7
- Kobayashi R, Konomi M, Hasegawa K, Morozumi M, Sunakawa K, Ubukata K: *In vitro* activity of tebipenem, a new oral carbapenem antibiotic, against penicillin-nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 889-94
- National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria, 3rd ed. Approved standard NCCLS document M11-A3. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA. 1993
- 武内美登利, 渡邊邦友, 日置由香里, 宮内正幸, 上野一恵: *Bacteroides fragilis* group の ceftioxin 耐性とその伝達について。岐大医紀 1987; 35: 414-25
- Yamaoka K, Watanabe K, Muto Y, Katoh N, Ueno K, Tally F P: R-plasmid mediated transfer of β -lactam resistance in *Bacteroides fragilis*. *J Antibiot* 1990; 43: 1302-6
- Neu H C: Antibiotic inactivating enzymes and bacterial resistance. *In* Lorian V (ed.), *Antibiotics in laboratory medicine*, 2nd ed. Williams & Wilkins Co. 1986; p. 757-89
- Bandoh K, Watanabe K, Muto Y, Tanaka Y, Kato N, Ueno K: Conjugal transfer of imipenem resistance in *Bacteroides fragilis*. *J Antibiot* 1992; 45: 542-7
- Finegold S M: Anaerobic infections in humans: an overview. *Anaerobe* 1995; 1: 3-9
- 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 1998; 9: 15-26
- 11) Tanaka K, Kawamura C, Fukui K, Kato H, Kato N,

Nakamura T, et al: Antimicrobial susceptibility and β -lactamase production of *Prevotella* spp. and *Porphyromonas* spp. *Anaerobe* 1999; 5: 461-3

In vitro tebipenem activity against anaerobic bacteria

Kaori Tanaka and Kunitomo Watanabe

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

We compared the *in vitro* activity of tebipenem(TBPM), an active metabolite of the new oral carbapenem tebipenem pivoxil to that of imipenem, ceftidoren, clavulanate-amoxicillin, and clindamycin against a variety of anaerobic bacteria and a small number of facultative anaerobic bacteria (61 reference species). TBPM had a broad spectrum of activity against Gram-positive and Gram-negative anaerobe reference strains, inhibiting most tested strains at 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ or less. TBPM also showed potent activity against 547 clinical isolates. Excluding *Peptostreptococcus anaerobius*, the TBPM MIC₉₀ for anaerobic Gram-positive cocci, *Clostridium perfringens*, *Veillonella* spp., *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp., and *Fusobacterium* spp. was 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ or less. For imipenem-susceptible strains in the *Bacteroides fragilis* group, TBPM showed good activity with a MIC₉₀ of 0.5 to 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Increasing the inoculum size had little effect on TBPM MIC against *B. fragilis* strains, although imipenem MIC against these strains increased 4- to 16-fold when the inoculum size was changed from 10⁴ to 10⁷ CFU/spot. TBPM was hydrolyzed by metallo- β -lactamase but was quite stable against type 2e β -lactamases extracted from *B. fragilis*. TBPM Ki against type 2e β -lactamases was as low as those of imipenem, indicating TBPM's potent antagonistic effect against enzyme activity.