

## 新セファロスポリン系抗菌剤Cefpirome 投与による健康成人腸内菌叢の変動

稲垣好雄・千田俊雄<sup>#</sup>・中谷林太郎<sup>##</sup>

東京医科歯科大学医学部微生物学教室\*

(<sup>#</sup>現 東京医科歯科大学医学部保健衛生学科)

(<sup>##</sup>現 日本女子大学家政学部食物学科)

新セファロスポリン系抗菌剤cefpirome(CPR)を健康成人男子6名に1回1g, 1日2回, 5日間連続点滴静注し, 各被験者の腸内菌叢の変動と, その糞便中薬剤濃度との関係について検討した。

さらに糞便中の*Clostridium difficile*の存在とその毒素の有無, 下痢等の副作用などについてもあわせて検討した。

1. 総菌数にはほとんど変動がなかった。これは最優勢菌である*Bacteroidaceae*の菌数に変化がなかったことによる。
2. 投与期間中, Eubacteriaはほとんどの被験者で消失し, *Bifidobacteria*, *Enterobacteriaceae*, *Veillonella*は激減した。
3. *Clostridia*(-)は, 被験者により増加したのも認められたが, *C. difficile*はすべての被験者において検出されなかった。
4. 試験期間中, 糞便内にCPRは検出されなかった。
5. 試験期間中, 下痢等の副作用は認められなかった。

**Key words** : Cefpirome, Human, Intestinal microflora

Cefpirome(CPR)はHoechst AGとRoussel Uclafが共同で開発したセファロスポリン系の静注用半合成抗菌剤である。その化学名は(-)-1-[[[6R, 7R]-7-[(Z)-2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetamido]-2-carboxy-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4. 2. 0]oct-2-en-3-yl)methyl]-6, 7-dihydro-5H-1-pyridinium hydroxide inner salt sulfateである。本剤は*in vitro*の抗菌力試験の結果, グラム陽性および陰性の好気性菌に対して, 幅広い抗菌スペクトルと強い殺菌力を有し, さらにグラム陽性嫌気性球菌に対しても優れた抗菌力を示しβ-lactamaseにも同系の薬剤とくらべ安定性が高いこと, また吸収・排泄試験の結果では, 本剤はすみやかに組織中に移行すること, 生体内でほとんど代謝されず24時間以内に尿中に80~90%が未変化体のまま排泄され, 連続投与でも蓄積のないことなどが報告されている<sup>1)</sup>。

本剤のように広い抗菌力を有する抗菌剤をヒトに連続投与した場合, その正常腸内菌叢がどのような影響を受けるかを調べることは, ヒト腸内における各種腸内菌に対する本剤の抗菌力を知る上で有益であるばかりでなく, 菌交代現象による下痢あるいは薬剤関与腸炎等の副作用を検討する上でも意義あるものと思われる。

今回, 我々は健康成人男子6名の被験者を対象として

CPRを点滴注入した際, その腸内菌叢の量的・質的变化, 投与終了後の腸内菌叢構成菌群の回復経過とその時期, 本剤に対する非感受性菌ないし耐性菌の動態を調べた。特に偽膜性大腸炎の起因菌である*Clostridium difficile*については, 菌の検索および糞便中の毒素の検出, 下痢等の副作用の有無の調査を行った。さらに糞便中活性薬剤濃度を測定し, 腸内菌叢の変動との相関関係等について検討したので報告する。

### I. 材料と方法

#### 1. 被験者

年齢26~35歳, 体重52.5~70.7kgの健康成人男性6名の志願者(No.1~6)を被験者とした。

#### 2. 使用薬剤と投与方法

CPR(Hoechst, Roussel)を毎日, 午前7時と午後7時に1時間, 1回1g, 1日2回(合計2g), 5日間連続して静脈内に点滴注入した。

#### 3. 腸内菌叢検査法

腸内菌叢の検査日程をFig. 1に示す。検査は投薬開始前, 投薬開始2日目, 4日目, 投薬終了後1日目, 7日目, 14日目, 21日目の合計7回行った。

1) 採便と輸送: 検査当日の早朝排便便, 約1gを還元処置した輸送用培地<sup>2)</sup>9mlの入った採便管の中に入れ,

\* 〒113 文京区湯島1-5-45

氷冷して輸送した。検体は採便後10時間以内に培養検査を完了した。

2) 培地および培養方法: 培地および培養は光岡の方法<sup>2)</sup>に従って実施した。培地はMedium 10を除く3種類の非選択培地 [Trypticase soy blood agar (TS, BBL), EG寒天培地(EG, 栄研化学)およびBL寒天培地(BL, 栄研化学)] と, 10種類の選択培地 [DHL寒天培地(DHL, 栄研化学), PEES寒天培地(PEES), TATAC寒天培地(TATAC), Potato dextrose agar (P, Difco), BS寒天培地(BS), ES寒天培地(ES), 変法LBS寒天培地(LBS, BBL), NBGT寒天培地(NBGT), Neomycin Nagler(NN)および変法VS寒天培地(VS)] を用いた。以上の培地のうち, 好気性菌群の検査には主に5種類の培地(TS, DHL, PEES, TATACおよびP)を用い, 糞便検体100倍階段希釈系列( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$ )のそれぞれ0.05mlを4分画した平板に塗布し, 37°C, 24時間(ただし, TATAC, PEESおよびPは48~72時間)好気培養した。また嫌気性菌群の検査には8種類の培地(EG, BL, BS, ES, LBS, NBGT, NNおよびVS)を用い, このうちBS, ES, LBS, NBGT, NNおよびVSには上記同様に塗布し, さらにEG, BLには糞便検体希釈系列 $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ のそれぞれ0.05mlを3分画した平板培地に塗布し, これら8種類の平板をN<sub>2</sub> 80% -CO<sub>2</sub> 10% -H<sub>2</sub> 10%の環境下の嫌気グローブボックス (Anaerobic System Model 1024, Forma Scientific社)内で37°C, 48~72時間嫌気培養した。

3) 同定および菌数ならびに検出率算定: 各種平板培地上の集落形態, グラム染色標本の鏡検および好気発育試験によって菌群の同定を行った。また, 菌数算定は平板上の類似集落を数え, 糞便1g中の菌数を求めた。菌数(N)はすべて対数(log<sub>10</sub>N)で示した。検出限界菌数(対数)は1gあたり2.3である。

検出率は, 各菌群について, 全被験者数に対する検出された被験者数を百分率で示した。

#### 4. 耐性菌数測定

糞便中のEnterobacteriaceaeおよびBacteroidaceaeについ

て, CPR耐性菌の菌数を測定するために, CPR試験用原末をEnterobacteriaceaeについては6.25 μg/mlの割合を含むDHL寒天培地に, また, Bacteroidaceaeには100 μg/mlの割合に加えたNBGT寒天培地を用い, 前記の腸内菌叢検査法と同様に菌数を算定した。

#### 5. C. difficileの検索と糞便中毒素検出

1) C. difficileの検索: 選択培地としてタウロコロール酸ナトリウムを0.1%含んだCCFA培地<sup>3)</sup>(cycloserine 500 μg/ml, cefoxitin 16 μg/ml)を用いた。平板はあらかじめ嫌気グローブボックス内で1日から2日静置し, pre-reduce処理した後使用した。菌種の同定は, CCFA培地上に発育した果糖陽性の集落に対し, 光岡の方法<sup>2)</sup>およびVPI<sup>4)</sup>の分類基準に従って行った。

2) 糞便中毒素の検出: 糞便10倍希釈サンプルに対し, C. D. CHECK-D-1(塩野義製薬)を用い, C. difficileより産出されるエンテロトキシンD-1を検出した。希釈前の糞便中毒素検出濃度限界値は約5 μg/mlであり, これ以上を陽性とした。

#### 6. 糞便中薬剤濃度測定法

腸内フローラ検索用と同時に採取した糞便(Fig. 1)について, 薬剤濃度をpaper disc法により定量した。糞便試料の前処理として, 糞便1に対し5倍量の60%エタノール緩衝液(エタノール:0.1Mリン酸緩衝液 pH6.0-3:2)を加え, 4°Cで十分混和後, 12,000r.p.m. 10分間冷却遠心し, その上清を被検液とした。

薬剤濃度測定は, 検定菌のBacillus subtilis ATCC 6633市販胞子混濁液(北里研究所)を, 菌量約2×10<sup>8</sup>CFU/mlになるようにクエン酸ナトリウム寒天培地 [クエン酸三ナトリウム(関東化学)10g/l, ポリペプトン(和光純薬)5g/l, Beef extract (Difco) 3g/l, Agar(ニッスイ)10g/l] に混ぜ, その6mlを直径90mmの滅菌シャーレ(ニプロ)に分注凝固させた。この平板に上記の被検液をしませた濾紙(直径8mm, 薄手, 東洋製作所)を置き, 37°Cで18時間培養した。1種の検液につき同一条件下で3個のシャーレを用い, 得られた阻止円の平均値

Cefpirome administration and fecal collection	Day of study													
	0	1	2	3	4	5	6	...	12	...	19	...	26	
Drip infusion 1.0 g × 2/day		↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑								
Collection of feces For microflora	○		○		○		○		○		○		○	
For drug concentration	●		●		●		●		●		●		●	

Fig. 1. Time sequence of cefpirome (CPR) administration and fecal collection.

から標準曲線により濃度を算出した。標準曲線作製にはCPR標準品1mg力価/mlリン酸緩衝液(0.1M)を用い50%エタノール緩衝液(エタノール:0.1Mリン酸緩衝液pH6.0=1:1)で希釈して行った。測定値( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )に希釈倍率( $\times 6$ )を乗じて糞便中濃度( $\mu\text{g}/\text{g}$ )とした。

## II. 結 果

### 1. 腸内菌叢の総菌数および各菌数の変動

被験者6名の糞便1g当りの総菌数と各菌群数の経日変動を、被験者ごとにFig. 2~7に示す。また、6例の平均総菌数および平均各菌群数の経日変動をそれぞれTable 1およびFig. 8に示す。さらに、6例の各菌群検出率をTable 2に示す。

1) 総菌数: 各被験者の総菌数(偏性嫌気性菌群と好気性菌群の総計)についてみると、被験者No.1, 5および6では試験期間中ほとんど変化は認められずそれぞれ約10.5, 10.2および10.5/gで推移した(Fig. 2, 6および7)。

被験者No. 2は、投薬期間中に10.5/gから9.6/gへと約10分の1に減少したがその後は除々にもとの菌数レベルまで増加していった(Fig. 3)。

被験者No. 3は、投薬期間中はほぼ一定して推移したが、投薬終了後7日目には一時減少が認められた(Fig. 4)。

被験者No. 4は、No. 2と同様に投薬初期に一時10.8/gから10.1/gへと約10分の1に減少したが、投薬期間中後期にはすだにもとの菌数にまで増加し、その後はその状態を維持した(Fig. 5)。

総菌数の変動を6例の平均値でみてみると、多少の変動が認められたもののほとんど一定していた(Fig. 8)。

2) 偏性嫌気性菌群: ヒトの腸内菌の大部分を占めるBacteroidaceaeは、ほぼ総菌数と同様な変化を示し、被験者No. 2(Fig. 3)では投薬終了後に一時減少が認められたが、その他の被験者では著しい減少や増加は認められなかった。

他の嫌気性菌群についてみると、被験者No. 1(Fig. 2)では、Eubacteriaは投薬開始により一時8.8/gから6.9/gと約100分の1まで減少したが投薬期間中であっても増加しもとの菌数にまで回復した。その後も投薬終了後7日目には増加を、14日目には減少が認められ不安定な動向を示した。Eubacteriaの増加が認められた投薬終了後7日目には、投薬期間中に変動が認められなかったBifidobacteriaの増加が同時に認められ、その後もこの菌数レベルを維持した。レンチナーゼ陰性のClostridia [Clostridia(-)]は投薬開始後漸増し、投薬終了後1日目には投薬前の6.9/gから8.8/gまでに増加した。投薬終了後7日目より減少傾向が認められたが、投薬終了後21日目には再び増加を示した。Peptostreptococciも増加の

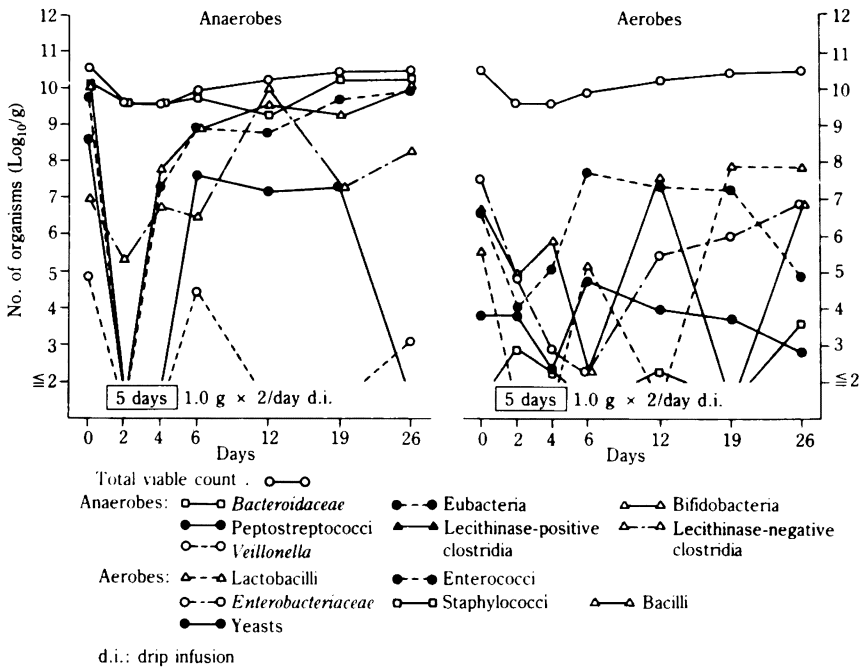
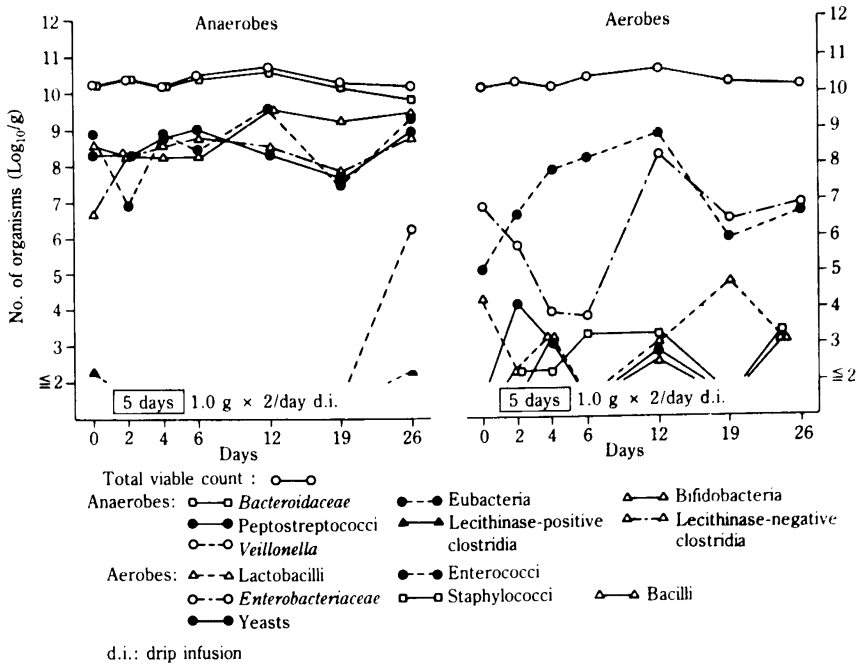
程度は低いClostridia(-)と同様な変化が認められた。

被験者No. 2(Fig. 3)では、投薬開始1日後にすべての菌群が減少し、Eubacteria, Bifidobacteria, Peptostreptococci, Veillonellaは消失した。しかし、EubacteriaとBifidobacteriaは投薬期間中であってもすみやかに増加した。また、Peptostreptococci, Veillonellaも投薬終了1日後には検出されるようになったが、Peptostreptococciが投薬終了後21日目、Veillonellaについては投薬終了後1日目と14日目に再び消失した。Clostridia(-)は投薬期間中であるにもかかわらず増加を示し、投薬終了後7日目にピークに達したが、その1週間後にはもとの菌数レベルにまで減少した。

被験者No. 3(Fig. 4)では、Eubacteriaは投薬期間中初期に激減し、消失した。しかしただちに増加し投薬期間中であっても投薬3日目にはもとの菌数以上に増加を認めた。Clostridia(-)も同様に投薬初期に若干の減少を認めたがEubacteria同様、投薬期間中であってもただちに増加した。Veillonellaは投薬により投薬期間中消失した。逆にPeptostreptococciは投薬期間中に増加傾向を示した。薬剤による影響をうけやすいといわれているBifidobacteriaは、試験期間中ほぼ一定のレベルで推移したが、投薬終了後7日目には、Veillonellaを除く他の全ての菌群とともに減少を認めた。

被験者No. 4(Fig. 5)では、BifidobacteriaとVeillonellaが投薬期間中著しく減少し、消失に至った。しかし投薬終了後1日目には検出され、もとの菌数近くまで回復した。Eubacteriaは投薬により減少傾向を示し、投薬開始4日目には消失に至った。Peptostreptococciは投薬期間中に約10分の1程度(7.5/gから6.6/g)の若干の減少傾向を示したが、投薬終了後には逆にもとの菌数の100倍(9.7/g)にまで増加した。しかし、その1週間後には減少し投薬期間中とはほぼ同数となった。そして投薬終了後21日目には再び増加した。Clostridia(-)は投薬期間中後期より増加傾向を示し、投薬終了後1日目には投薬前に8.6/gであったのが10.3/gと約100倍に一時増加を示した。レンチナーゼ陽性のClostridia [Clostridia(+)]は、投薬前には検出されなかったが、投薬開始1日後に一時検出された。その後検出されなかったが、投薬終了後21日目より再び検出され増加を認めた。

被験者No. 5(Fig. 6)では、ほとんどの菌群が投薬により減少しBifidobacteria, Veillonellaは投薬開始1日後、Eubacteria, Clostridia(+)は投薬開始3日後に消失に至った。ただし、Veillonellaは投薬開始3日後には少数検出された。Clostridia(-)は、投薬初期に投薬前の5.9/gから7.1/gと増加傾向を示したが、投薬開始3日後には逆にもとの10分の1(4.8/g)に減少した。減少を示したこれ



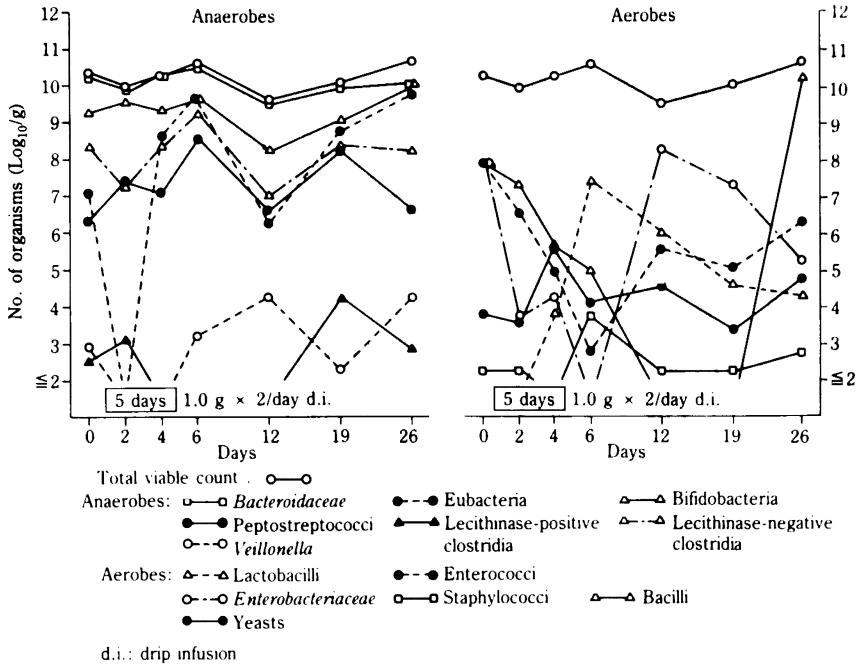


Fig. 4. Effects of cefpirome on fecal microflora of volunteer No. 3.

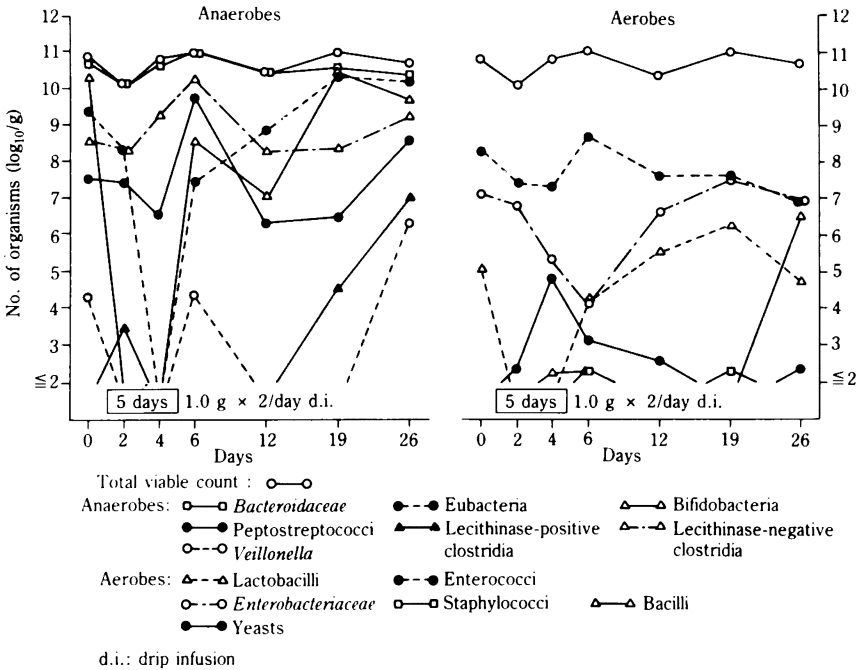


Fig. 5. Effects of cefpirome on fecal microflora of volunteer No. 4.

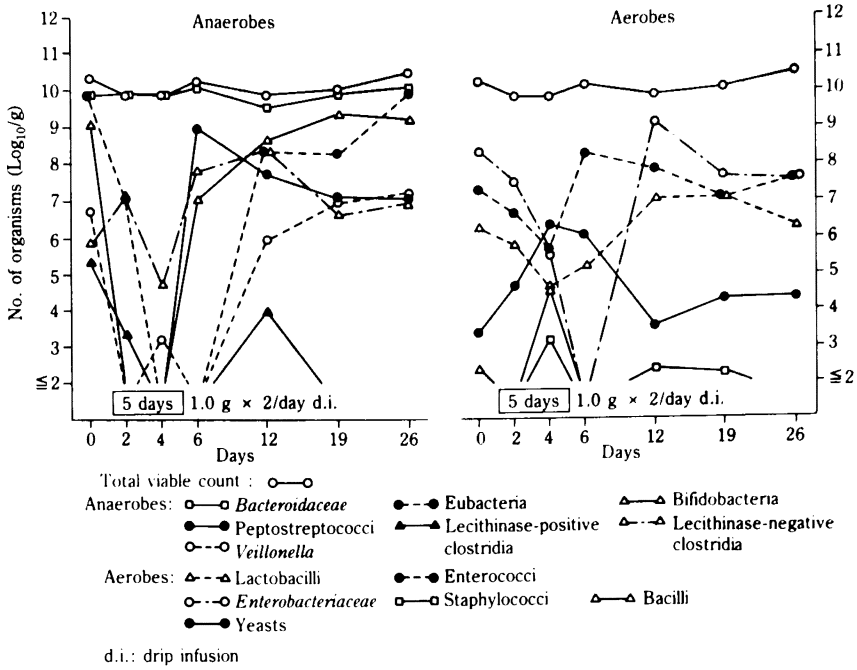


Fig. 6. Effects of cefpirome on fecal microflora of volunteer No. 5.

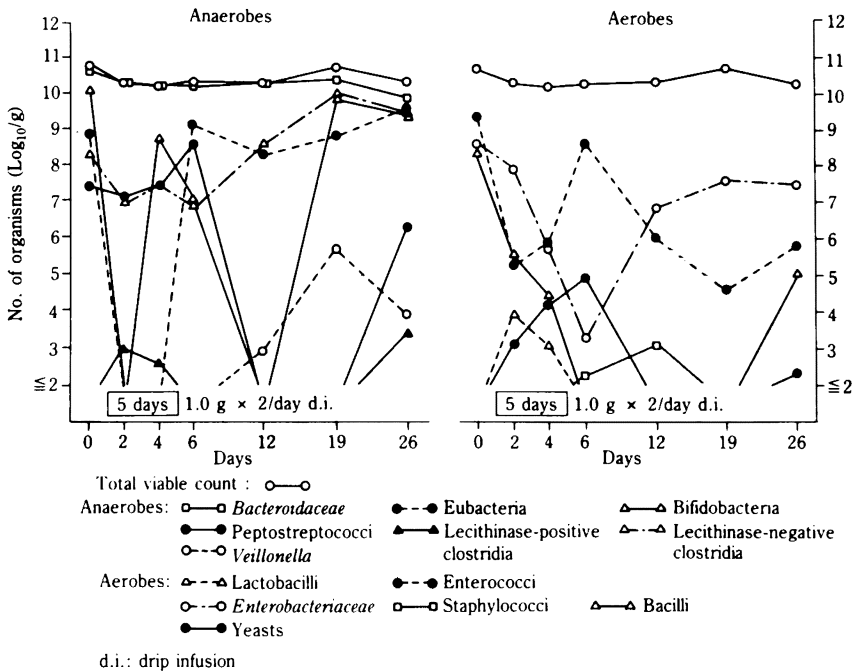


Fig. 7. Effects of cefpirome on fecal microflora of volunteer No. 6.

Table 1. Intestinal microflora in six volunteers administered cefpirome by drip infusion

Organism	Mean [Log (viable counts/g of feces)] ±SD on day*1							
	0	2	4	6	12	19	26	
Total	10.5±0.2	10.1±0.3	10.2±0.4	10.4±0.4	10.2±0.4	10.4±0.4	10.5±0.2	
<i>Bacteroidaceae</i>	10.3±0.3	10.0±0.3	10.2±0.4	10.3±0.4	10.0±0.5	10.2±0.2	10.1±0.2	
Eubacteria	8.9±1.1	4.7±3.0	5.1±3.5	7.6±2.8	8.4±1.1	8.9±1.0	9.8±0.3	
Bifidobacteria	9.6±0.7	4.3±3.6	6.4±3.4	8.3±1.0	7.6±2.9	9.6±0.5	9.7±0.3	
Peptostreptococci	6.7±2.4	5.7±2.9	5.7±2.9	8.7±0.7	6.4±2.3	6.5±2.3	6.6±2.5	
Lactobacilli	4.2±1.9	3.0±1.6	3.2±1.1	4.4±2.1	4.3±2.2	5.5±2.1	4.8±2.1	
Enterococci	7.4±1.5	6.1±1.2	6.2±1.2	7.4±2.3	7.2±1.2	6.3±1.2	6.4±0.9	
<i>Enterobacteriaceae</i>	7.7±0.7	6.1±1.6	4.6±1.1	2.9±0.9	7.5±1.4	7.1±0.7	6.9±0.8	
Clostridia (Lec+)	2.7±1.3	2.8±0.7	2.1±0.2	≤2	2.3±0.8	2.8±1.3	3.3±1.9	
Clostridia (others)	7.5±1.1	7.3±1.1	7.6±1.6	8.3±1.5	8.5±0.9	8.1±1.1	8.6±0.9	
<i>Veillonella</i>	3.8±1.8	≤2	2.2±0.5	3.0±1.2	3.2±1.6	3.5±2.2	5.2±1.6	
Staphylococci	2.1±0.2	2.3±0.4	2.3±0.5	2.6±0.8	2.6±0.5	2.2±0.2	2.6±0.7	
Bacilli	4.9±3.1	4.0±2.3	4.4±1.4	2.6±1.2	3.0±2.3	≤2	5.7±3.0	
Yeasts	2.9±0.9	3.6±0.8	4.4±1.5	4.2±1.5	3.3±1.0	2.9±1.1	3.1±1.2	

\* Day of study: see time sequence  
 Lec+ : lecithinase-positive

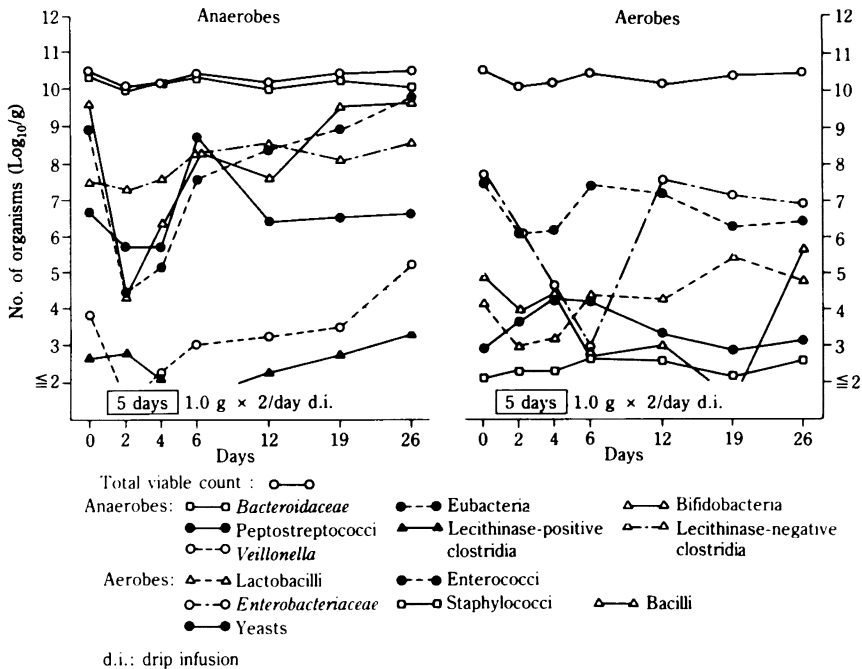


Fig. 8. Effects of cefpirome on fecal microflora.

らの菌群は、投薬終了後増加しBifidobacteriaは投薬終了後1日目に検出され、Eubacteria、*Veillonella*も含め投薬終了後7日目にはもとの菌数レベルに達した。Clostridia(+)は投薬終了後7日目に検出されたがその後試験期間中検出限界を下回った。Clostridia(-)は投薬終了後増加に転じ、もとの約100倍(7.9/g)になり投薬終了後7日目もほぼ同数を維持したが、14日目にはもとの菌数にまで減少した。Peptostreptococciは、投薬前には検出されなかったが、投薬終了後1日目に大きく増加した。その後は漸減する傾向を認めた。

被験者No. 6(Fig. 7)は投薬期間中、Eubacteria、Bifidobacteriaが著減し投薬初期に消失に至った。しかし、Bifidobacteriaは投薬期間中であっても後期には著しい増加を認めた。Clostridia(-)は投薬によりもとの8.3/gから約10分の1の7.0/gに減少しその後その菌数を維持した。逆にClostridia(+)は投薬前には検出されなかったが、投薬期間中に少数ながら検出されるようになった。投薬終了後にはEubacteriaが投薬終了後1日目にほぼもとの菌数にまで達し、その後その値で推移した。その他の菌群は変動が大きく、Bifidobacteria、Peptostreptococciは減少傾向を示し消失にまで至った。Clostridia(-)は投薬終了後7日目より増加傾向を示しもとの菌数レベル以上の値で推移した。*Veillonella*は投薬前、期間中に検出されなかったが、投薬終了後7日目より検出されるようになった。

6例の平均値(Fig. 8)をみると、投薬によりEubacteria、Bifidobacteriaおよび*Veillonella*の著しい減少が認められるが、これらは投薬初期のみで投薬期間中であっても増

加に転じた。Peptostreptococciは投薬期間中に若干の減少を認めたが投薬終了とともに増加しその後減少してもとの菌数レベルで推移した。Clostridia(+)は投薬により若干の減少傾向を認めた。これらとは逆にClostridia(-)は試験期間中7.5/gから8.6/gと増加傾向を示したが、その程度は10倍にもみたくはば一定していた。

3) 好気性菌群：好気性菌群(ここでは通性嫌気性菌群と好気性菌群を含めて呼ぶ)の変動についてみると、どの被験者においてもEnterobacteriaceaeが激減し、被験者No. 3および5(Fig. 4および6)では投薬終了後1日目に消失に至った。Enterococciは被験者No. 1(Fig. 2)で増加傾向が認められた以外はすべて減少を示した。同様にLactobacilliも2つのパターンに分かれ、被験者No. 3および6(Fig. 4および7)では増加を、その他の被験者では減少傾向を示した。糞便内菌叢のうち少数菌であるStaphylococciについてははっきりとはいえないが、被験者No. 3(Fig. 4)に減少傾向が認められたものその他の被験者では増加傾向が認められた。Bacilliについては投薬開始前に多数検出された被験者No. 3および6(Fig. 4および7)では投薬により漸減傾向を示し、それぞれ投薬終了後7日目および1日目には消失に至った。その後は投薬終了後21日目に再び多数検出されるようになった。

4) Yeast：被験者No. 2を除く5名(Fig. 2, 4, 5, 6および7)において投薬期間中に増加傾向を示し、特に被験者No. 5(Fig. 6)では、投薬3日目に好気性菌群中最優勢を示した。

5) 各菌群の検出率：試験期間中、6名の被験者における各菌群の検出率をみると、投薬期間中にEubacteria、

Table 2. Detection frequencies of intestinal microflora in six volunteers administered cefpirome by drip infusion

Organism	Percentage of positive case on day*						
	0	2	4	6	12	19	26
<i>Bacteroidaceae</i>	100	100	100	100	100	100	100
Eubacteria	100	50	50	83.3	100	100	100
Bifidobacteria	100	33.3	66.7	100	83.3	100	100
Peptostreptococci	83.3	66.7	66.7	100	83.3	83.3	83.3
Lactobacilli	66.7	50	66.7	66.7	66.7	83.3	83.3
Enterococci	100	100	100	100	100	100	100
Enterobacteriaceae	100	100	100	66.7	100	100	100
Clostridia (Lec+)	50	66.7	16.7	0	16.7	33.3	66.7
Clostridia (others)	100	100	100	100	100	100	100
<i>Veillonella</i>	66.7	0	16.7	50	50	50	100
Staphylococci	33.3	50	66.7	66.7	83.3	50	50
Bacilli	66.7	50	100	50	33.3	0	83.3
Yeasts	50	100	100	83.3	83.3	50	83.3

\* Day of study: see time sequence

Lec+: lecithinase-positive



Bifidobacteria, Peptostreptococciは低下し、逆にStaphylococci, Yeastは上昇した。これは各被験者の菌数の増減と一致していた。また、Clostridia(+), Veillonellaも低下した。さらに、Enterobacteriaceaeについてみると、菌数が激減したにもかかわらず、検出率の低下は投薬終了後に若干みられたにすぎなかった。すなわち消失に至る被験者がほとんどいないことが示された。

6) 薬剤の影響からの回復：総菌数および各菌群の薬剤投与終了後の回復を見ると、総菌数は全例とも投薬終了後21日目にほぼ回復していた。糞便内菌叢構成菌群についてみてみると、投薬終了後3週目で半数の被験者がほぼもとの状態の菌叢にまで回復した。しかし被験者No. 2, 4および5(Fig. 3, 5および6)ではさらに1~2週間が必要であると思われた。

2. 各対象例のEnterobacteriaceaeおよびBacteroidaceaeのCPR耐性菌比率

CPRのMICが6.25 µg/mlより大きいEnterobacteriaceaeと100 µg/mlより大きいBacteroidaceaeの菌数を測定した。Enterobacteriaceaeは、6例全て検出限界以下であった。Bacteroidaceaeの場合をみてみると、試験期間中に全例に検出された(Table 3)。投薬開始前の被験者No. 1~5および6におけるBacteroidaceae全菌数中に占める本剤耐性菌の割合は、それぞれ59.3%, 2.1%, 5.4%, 2.3%, 7.9%および1.6%であった。これらの耐性Bacteroidaceaeは薬剤投与によりその比率は被験者No. 2および6で投薬終了後1日目にそれぞれもとの約20倍(2.1%から41.2%)および約10倍(1.6%から21.0%)に増加したが、その他の被験者では著しい増加は認められなかった。この増加は投薬終了後7日には減少傾向をしめし、その翌週にはほぼもとの割合にもどった。

3. *C. difficile*の検索と糞便内毒素検出

*C. difficile*は、被験者6名すべてから検出されなかった。*C. difficile* D-1毒素についても同様に全例とも検出されなかった。

4. 糞便中薬剤濃度

試験期間中、6名の被験者より採取したいずれの糞便検体からも薬剤は検出されなかった。

5. 下痢等の副作用

試験期間中、下痢等の副作用は、対象6名とも認められなかった。

### Ⅲ. 考 察

今回我々は、健康成人男子6例を対象として、新セフアロsporin系注射用抗菌剤CPRを5日間連続投与し、腸内菌叢および糞便中薬剤濃度を経目的に測定し、正常腸内菌叢構成菌群の量的・質的変化、投薬終了後の腸内菌叢の回復経過、腸内菌叢の変動と糞便中薬剤濃度との相関性について検討した。また、本剤耐性菌および非感受性菌の出現と動態、偽膜性大腸炎の起因菌である*C. difficile*の検索とその糞便内毒素検出、さらに下痢等の副作用の有無についても検討した。

対象6例の腸内菌叢の変動と糞便中薬剤濃度をみると、総菌数は若干の変動を認めたにすぎずほぼ一定を示し、平均10.2/g前後で推移した。これは腸内菌叢構成菌群で最優勢をしめるBacteroidaceaeが一定の菌数を維持したことによる。

各構成菌群をみてみると、糞便中に薬剤が検出されなかったにもかかわらず、Bacteroidaceae以外の構成菌群の菌数変動が認められた。すなわち、薬剤が腸内菌に対して何らかの作用を及ぼしたと考えられる。たとえば嫌気性菌では、Eubacteria, Bifidobacteria, Peptostreptococci, Veillonellaが投薬により減少傾向が認められ、被験者によっては消失を認めた例があったが、投薬期間中であっても投薬第3日目には増加傾向に転じる場合が多く認められた(Fig. 8)。このことはCPR耐性菌種の増加が示唆され、同時に菌種レベルでの菌交代現象が推察される。これに対し、Bacteroidaceaeが一定の菌数を維持した理由として、この菌群のCPR耐性菌が投薬以前より存在していたことが示された。しかし、投薬期間中であっても耐性菌比率の増加が顕著ではなく、1例で7.9%から29.3%と4倍弱の増加を示したのみであった。さらに投

Table 3. Proportion of cepirome-resistant *Bacteroidaceae* in fecal flora of healthy adult volunteers

Volunteer	Day of study						
	0	2	4	6	12	19	26
No. 1	59.3*	100.0	35.8	81.8	35.9	50.0	57.1
No. 2	2.1	5.1	3.3	41.2	30.0	1.5	2.6
No. 3	5.4	0.5	3.5	1.8	15.5	5.7	4.0
No. 4	2.3	4.4	5.8	5.6	19.8	1.4	6.2
No. 5	7.9	4.2	29.3	4.5	32.8	18.8	18.2
No. 6	1.6	7.6	2.1	21.0	8.3	8.9	5.6

\* Percent of cepirome-resistant *Bacteroidaceae* in total *Bacteroidaceae*

薬終了後1日目においても2例で増加が認められるのみであり、ほとんどの場合耐性菌比率の増加は著明ではなかった(Table 3)。すなわち、投薬期間中であってもCPR 100 µg/mlで抑制される菌が多く検出されていたことから、本剤は*Bacteroidaceae*に対しては、あまり効果が期待できないのではないかと考えられる。

*Clostridia*(-)は投薬により増加傾向を示した被験者が多く認められたが、偽膜性大腸炎として近年問題視されている*C. difficile*は全例とも検出されず、また糞便内に毒素も検出されなかった。好気性菌群では、*Enterobacteriaceae*が投薬により糞便中に薬剤が検出されなかったにもかかわらず激減した。しかし、消失にいたったものは2名のみであり、それも投薬終了1日後で、我々の教室でも報告しているキノロン剤<sup>5,6)</sup>と比べ遅延していた。さらにEnterococci, LactobacilliおよびBacilliにも減少した例が認められた。逆にYeastはほぼ全例に増加傾向を示したことが認められた。

これら腸内菌叢の変動と、糞便中薬剤濃度との関係は、我々が以前に報告したcefoperazone<sup>7)</sup>, cefotetan<sup>8)</sup>とは異なる変動を示した。すなわち同じ静注用のセフェム剤にもかかわらず、腸内菌叢の変動はそれほどいちじるしくはなかった。これは、本剤が糞便中に検出されなかったことによると思われる。本剤による菌叢の変化を被験者ごとにみてみると各構成菌群の変動は異なりほとんど変動のない例や、*Bacteroidaceae*を除く多くの菌群で大きな変動を示したものもあり、セフェム系薬剤によくみられる個体差により傾向が異なることも認められた。Yeastの増加が認められることもセフェム系抗菌剤の特徴と思われる。これは被験者No. 5(Fig. 6)に見られたように、糞便内菌叢構成菌群の変動が大きいほど著明に現れることが示されている。薬剤の影響からの回復をみると被験者によって異なるが、大きく腸内菌叢を乱した例でもすみやかに回復に向かい投薬終了後14日目において回復傾向が認められた。そして、投薬終了後21日目にはほぼ投薬前の状態に回復したとみられる。

本剤は、*in vitro*の抗菌力試験の結果では、グラム陽性菌および陰性の好気性菌のみならずグラム陽性の嫌気性菌群に対しても優れた抗菌力をもつことが知られているが、本剤をヒトに連続点滴注入した際の腸内菌叢の変動には個体差が認められ、糞便内に活性薬剤が検出されなかったにもかかわらず投薬により構成菌群の菌数が大きく変動するもの、ほとんど変動を示さないものが存在した。また、投薬期間中であってもその後期には菌数の増

加が認められ、菌種レベルでの菌交代現象を示唆する結果がえられた。しかしCPRの投与は既存のセフェム系薬剤<sup>7,8)</sup>と比べると菌数変動の幅が比較的小さいといえよう。また、*in vitro*ですぐれた抗菌活性を示したStaphylococciに検出率の増加を認めたことは注目される問題であろう。さらに、糞便内に薬剤が検出されないこと、*Enterobacteriaceae*が消失した被験者があまり認められず、消失にいたった被験者でもその時期が遅いことから、腸内細菌科の病原細菌による腸管感染症に対しては、あまり効果は期待できないように思われる。また副作用として、便性状の異常および下痢等は認められなかったが、Yeastの増加および、耐性および非感受性菌の増加など投薬に際して十分な観察が必要と思われる。

## 文 献

- 1) 松本慶蔵, 小林宏行: 第38回日本化学療法学会総会, 新薬シンポジウムII. HR-810, 長崎, 1990
- 2) 光岡知足: 腸内菌の世界, 農業社, 1984
- 3) WILSON K H, KENNEDY M J and FEKETY F R: Use of sodium taurocholate to enhance spore recovery on a medium selective for *Clostridium difficile*. J Clin Microbiol 15: 443-446, 1982
- 4) HOLDMAN L V, CATO E P and MOORE W E C (ed) Anaerobe laboratory manual, 4th ed. Virginia Polytechnic Insititute and State University, Blacksburg, 1977
- 5) 千田俊雄, 柴岡はるみ, 石塚 巖, 中谷林太郎: 新ペリドンカルボン酸系抗菌剤DL-8280のヒト腸内菌叢におよぼす影響. Chemotherapy 32 (S-1): 109-117, 1984
- 6) 稲垣好雄, チャルアイ エカタクシン, 千田俊雄, 中谷林太郎, 高橋 悟, 長山義明, 辻野大二郎, 染谷一彦: 新キノロン系経口抗菌剤NY-198剤投与による健康成人腸内菌叢の変動. Chemotherapy 36 (S-2): 120-131, 1988
- 7) 千田俊雄, 柴岡はるみ, 相楽裕子, 中谷林太郎, 中川圭一: 新セファロスポリン系抗生物質Cefoperazoneのヒト腸内菌叢に及ぼす影響. Chemotherapy 31: 920-926, 1983
- 8) 中谷林太郎, 千田俊雄, 柴岡はるみ, 相楽裕子: 新セファマイシン系抗生物質Cefotetanのヒト腸内菌叢に及ぼす影響. Jpn J Antibiotics 35: 856-863, 1982

## EFFECT OF CEFPIROME, A NEW CEPHALOSPORIN DERIVATIVE, ON HUMAN INTESTINAL MICROFLORA

YOSHIO INAGAKI, TOSHIO CHIDA\* and RINTARO NAKAYA\*\*

Department of Microbiology, School of Medicine, Tokyo Medical and Dental University

1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

\* Present Address, School of Allied Health Sciences, Tokyo Medical and Dental University

\*\* Present Address, Department of Food and Nutrition, School of Home Economics, Japan Women's University

A new cephalosporin derivative antibacterial agent, cefpirome (CPR), was administered parenterally by drip infusion to six healthy adult male volunteers for five days, and changes in fecal microflora and their correlation to fecal drug concentration were investigated.

1. The total viable count remained constant. This was due to the fact that there were no changes in the total *Bacteroidaceae*, which are the dominant organism in human fecal flora.
2. Eubacteria were eliminated and bifidobacteria, *Enterobacteriaceae*, and *Veillonella* were decreased drastically in almost all the volunteers.
3. Lecithinase-negative clostridia increased in some volunteers. Neither *Clostridium difficile* nor its toxin D-1 was detected in the fecal specimens of any of the volunteers.
4. No CPR was detected in the feces.
5. No diarrhoea or other side-effects were recognized in any of the volunteers.