

In vivo (産褥子宮)における抗菌薬の細菌再増殖抑制効果

—セフミノクス単独投与群, ジベカシン単独投与群, セフミノクス,
ジベカシン併用投与群の3群間の比較—

三嶋 廣繁・和泉 孝治・伊藤 邦彦・玉舎 輝彦

岐阜大学医学部産科婦人科学教室*

渡 辺 邦 友・上 野 一 忠

同 附属嫌気性菌実験施設

(平成3年9月20日受付・平成4年1月14日受理)

人体子宮内における抗菌薬の細菌再増殖抑制効果を知るため、 β -ラクタム剤にセフミノクス cefminox (CMNX), アミノ配糖体剤にジベカシン dibekacin (DKB) を選んで、CMNX 単独投与群, DKB 単独投与群, CMNX+DKB 併用投与群の3群を作成し、各群における細菌の Effective regrowth time (ERT) 値を測定した。グラム陽性球菌については、ブドウ球菌を除くと、CMNX, DKB による細菌再増殖抑制効果に著明な差異は認められなかった。グラム陰性桿菌については、DKB の細菌再増殖抑制効果は、CMNX の細菌再増殖抑制効果よりかなり強かった。嫌気性菌では、CMNX において、*Bacteroides* 属、*Prevotella* 属に対して、細菌再増殖抑制効果が認められた。また、CMNX, DKB 併用により、抗菌域の拡大は認められたが、細菌再増殖抑制効果には、影響を認めなかった。

Key words: 細菌再増殖抑制効果, セフミノクス cefminox (CMNX), ジベカシン dibekacin (DKB)

抗菌剤の細菌再増殖抑制効果は、*in vitro* では報告されてきたが、*in vivo* では、モデルの設定が困難なために、マウスの腹腔内感染モデルを用いて測定したもの以外には認められない。特に、人体をモデルとしたものは、モデルの設定が不可能であると考えられてきたためにその報告はない。しかし、我々は、産褥子宮をモデルとすれば、*in vivo* における細菌再増殖抑制効果を測定できると考えた¹⁻⁴⁾。

そこで、 β -ラクタム剤およびアミノ配糖体剤の人体内、特に子宮内における Effective regrowth time (ERT 値)、すなわち、抗菌剤投与前の生菌数に戻るために要する時間はいかなるものかを知るため、 β -ラクタム剤にセフミノクス cefminox (CMNX), アミノ配糖体剤にジベカシン dibekacin (DKB) を選んで、人体内における ERT 値および両者の併用における比較検討を行った。

I. 対 象

当科で1990年11月から1991年3月までの間に正常分娩を終えた、産褥3日目の感染徴候を認めない褥婦12名の子宮内から検出された細菌のうち、6回の

検体採取時に一貫して得られた細菌を対象とした。これらの褥婦の年齢は、26歳から32歳に分布していた。また、これらの褥婦は、いずれも基礎疾患を有しない健康な症例であった。

II. 実 験 方 法

1) 検体採取方法

膣内および子宮口を0.05%塩化ベンザルコニウム液で消毒し、10 ml デイスポーザブルマイクロ注射器にデイスポーザブルネラトンカテーテル (6 Fr) を付け、子宮内に挿入し、Fig. 1のように吸引により0.05 ml 子宮内容を採取した。

2) 薬剤投与方法

褥婦12名をセフミノクス1g 静注、セフミノクス1g 静注とジベカシン100 mg 筋注、ジベカシン100 mg 筋注の3群に分けて、以下の方法にしたがって、それぞれ検体を採取した。なお、これらの褥婦には、本薬剤投与前には、抗菌薬の投与はまったくなかった。

① セフミノクス1g 静注群

* 岐阜市司町40番地

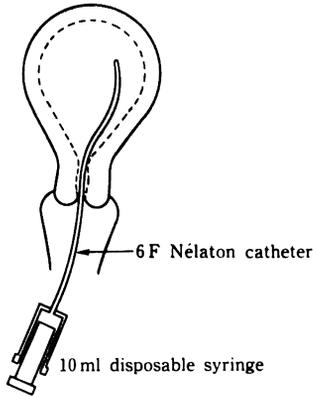


Fig. 1. Method of sampling.

検体採取後、セフミノクス 1 g を 20 ml 蒸留水に溶解し、3 分間かけてゆっくりと静注した。静注 3, 6, 9, 12, 24 時間後に同様の方法で検体を採取した。

② ジベカシン 100 mg 筋注群

検体採取後、ジベカシン 100 mg を筋注した。筋注 3, 6, 9, 12, 24 時間後に同様の方法で検体を採取した。

③ セフミノクス 1 g 静注とジベカシン 100 mg 筋注群

検体採取後、ジベカシン 100 mg を筋注した後、セフミノクス 1 g を 20 ml 蒸留水に溶解し、3 分間で静注した。静注 3, 6, 9, 12, 24 時間後に同様の方法で検

Table 1. Anaerobic diluent

Composition	
KH ₂ PO ₄	4.0 g
Na ₂ HPO ₄	6.0 g
L-cystein·HCl·H ₂ O	1.0 g
Tween 80	1.0 g
Agar	1.0 g
Distilled water	1,000 ml
pH 7.2	

All the above components were mixed and a solution was made by heating. Nine ml of resultant solution was placed into each test tube. Immediately after the air in the test tube was replaced with CO₂ gas by filling the gas not containing O₂ gas, a butyl rubber stopper was put. A weight was placed upon the stopper so that it might not be blown off, and the diluent was sterilized by autoclaving at 115°C for 20 minutes.

体を採取した。

3) 培養方法

採取した液 0.05 ml を Table 1 に示した組成の嫌気性希釈液中に注入し、総量を 5 ml として、10² 倍液を作成した。この 10² 倍液を、嫌気性希釈液で希釈して、10⁴ 倍液、10⁶ 倍液、10⁸ 倍液を作成して、検体採取後 1 時間以内に、定量培養を開始した。

a) 培地

Table 2 に示すように嫌気培養として *Brucella* HK

Table 2. Media used studies on bacterial flora

Media	Condition of incubation		
	Atmosphere	Period (days)	Purpose
<i>Brucella</i> HK agar	anaerobic	7	Total bacterial count <i>Mobiluncus</i>
PEA <i>Brucella</i> HK agar	anaerobic	7	<i>Peptostreptococcus</i>
PV <i>Brucella</i> HK agar	anaerobic	7	<i>Bacteroides</i> <i>Fusobacterium</i>
BBE agar	anaerobic	7	<i>B. fragilis</i> group
Chocolate agar	air+5.2%CO ₂	3	<i>G. vaginalis</i> <i>Haemophilus</i> <i>Neisseria</i>
Blood agar	air+5.2%CO ₂	3	Total bacterial count
<i>Staphylococcus</i> medium	air	2	<i>Staphylococcus</i>
Mac Conkey	air	2	<i>Pseudomonas</i> , Enterics

(Hemin, Vitamin K₁) (RS) (Rabbit, Sheep) 寒天 (極東), PV (Paromomycin, Vancomycin) 加 Brucella HK 寒天 (極東), PEA (β -phenylethylalcohol) 加 Brucella HK 寒天 (極東), BBE (Bacteroides bile esculin) 寒天 (極東) を用いた。また、炭酸ガス培養として、羊血液寒天培地 (日本ベクトン), チョコレート寒天培地 (日本ベクトン) を用いた。好気培養として, Mac Conkey 寒天 (日本ベクトン), ブドウ球菌培地 (川水) を用いた。

b) 培養期間

嫌気培養は, ガスバック・パウチを用いて7日間, 炭酸ガス培養は, 5.2%炭酸ガス下で3日間, 好気培養は2日間行った。

4) 同定方法

同定にいたる過程を Fig. 2 に示した。

同定には, グラム陽性球菌でカタラーゼ反応陽性の菌には, Api STAPH (アスカ純薬) を, グラム陽性球菌でカタラーゼ反応陰性の菌には, Api STREP (アスカ純薬) を用いた。グラム陰性桿菌の同定には, Enterotube II を用いた。嫌気性菌の同定には, Rap ID ANA System II を用いた。

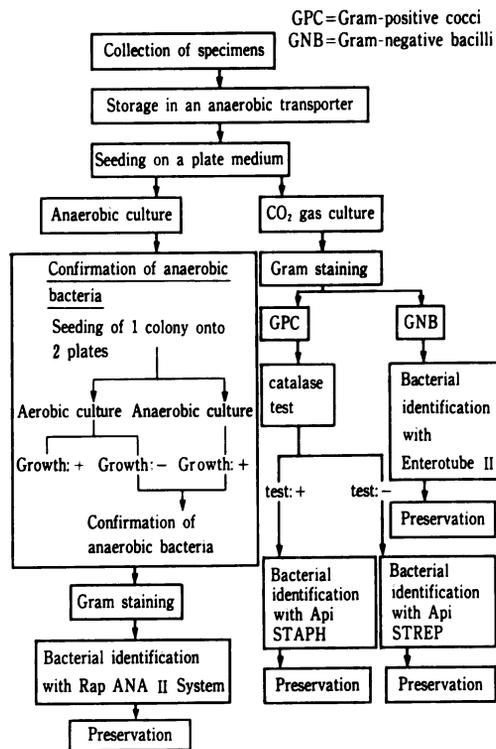


Fig. 2. Method of identification.

III. 結 果

各群の定量培養結果のうち, 6回の検体採取時すべてに一貫して検出された菌種を Figs. 3~5 に示した。また, それぞれのグラフから各群における各細菌の ERT 値を求め, グラフ中に示した。

CMNX 単独投与群においては, Fig. 3 に示したよ

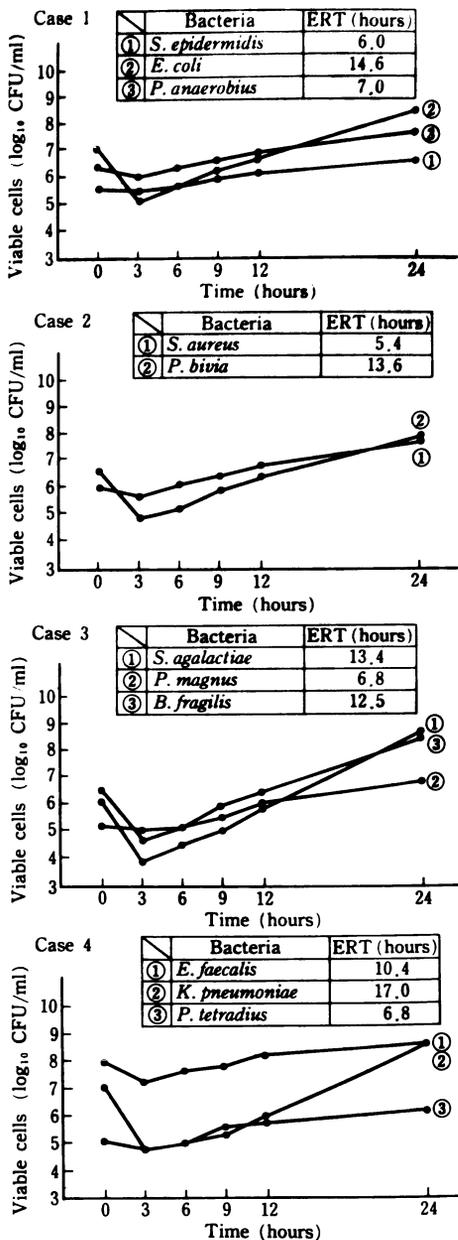


Fig. 3. Cefminox administration group.

うに、薬剤投与後3時間までは検出されたいずれの菌も菌数が減少し、以後ゆるやかに菌数は上昇していた。一方、ERT値は、グラム陽性球菌の *Staphylococcus epidermidis* では6.0時間、*Staphylococcus aureus* では5.4時間、*Streptococcus agalactiae* で

は13.4時間、*Enterococcus faecalis* では10.4時間、グラム陰性桿菌の *Escherichia coli* では14.6時間、*Klebsiella pneumoniae* では17.0時間、嫌気性菌の *Bacteroides fragilis* では12.5時間、*Prevotella bivia*

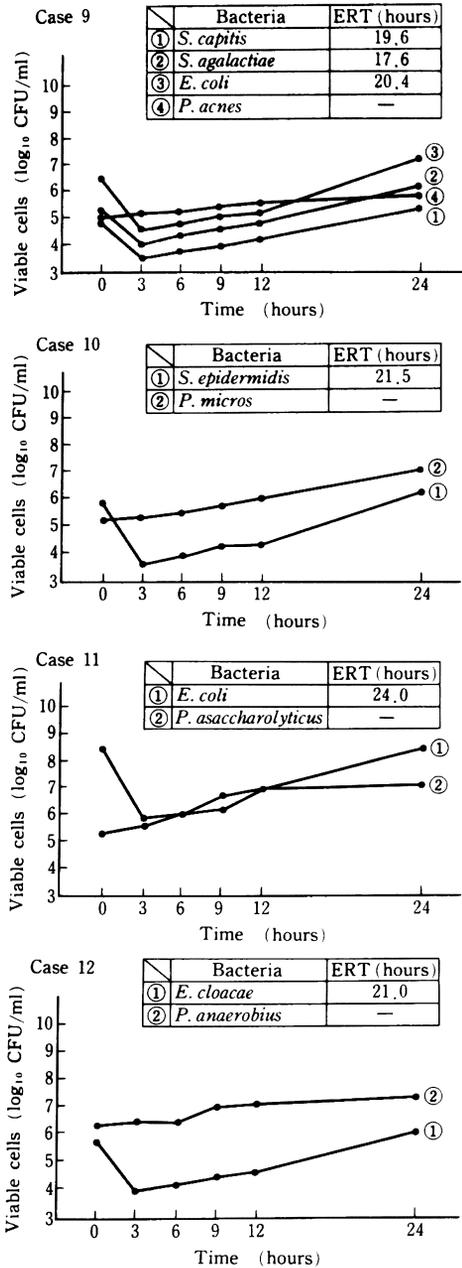


Fig. 4. Dibekacin administration group.

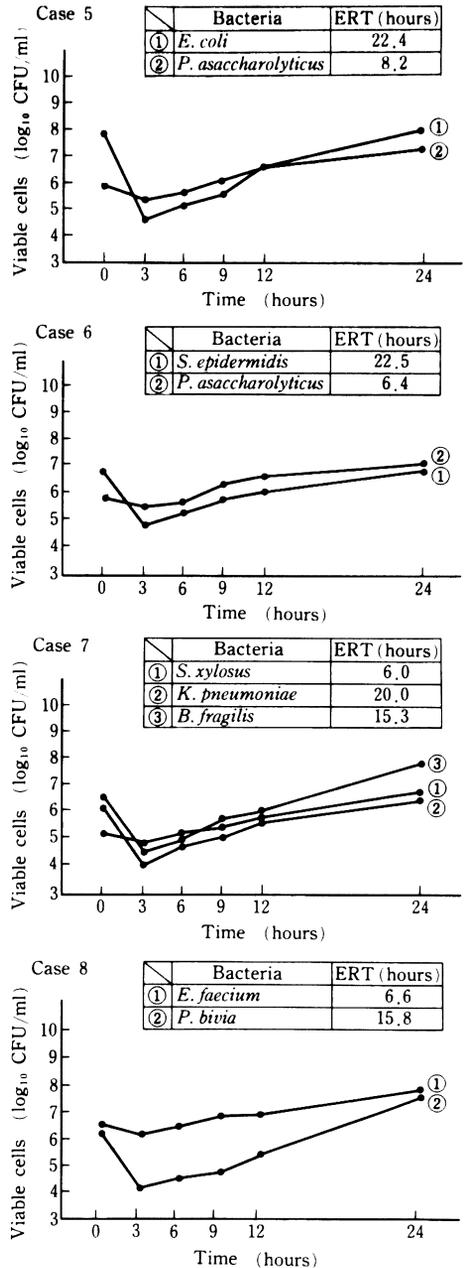


Fig. 5. Cefminox + dibekacin administration group.

では13.6時間、*Peptostreptococcus anaerobius*では7.0時間、*Peptostreptococcus magnus*では6.8時間、*Peptostreptococcus tetradius*では6.8時間を示した。

DKB投与群においても、Fig. 4に示したように、嫌気性菌を除いて薬剤投与後3時間まではゆるやかに菌数が減少し、薬剤投与3時間以降では以後ゆるやかに増加していたが、その菌数増加の割合は、CMNX投与群に比してゆるやかであった。一方、グラム陽性球菌の*S. epidermidis*では21.5時間、*Staphylococcus capitis*では19.6時間、*S. agalactiae*では17.6時間、グラム陰性桿菌の*E. coli*では20.4時間、24.0時間、*Enterobacter cloacae*では21.0時間、嫌気性菌の*Propionibacterium acnes*、*P. asaccharolyticus*、*P. anaerobius*、*Peptostreptococcus micros*では細菌再増殖抑制効果を示さなかった。

CMNX+DKB投与群においては、Fig. 5に示したように、薬剤投与後3時間までは菌数の減少を認めたが、以降ゆるやかに増加していた。一方、ERT値は、グラム陽性球菌の*S. epidermidis*では22.5時間、*Staphylococcus xylosum*では6.0時間、*Enterococcus faecium*では6.6時間、グラム陰性桿菌の*E. coli*では22.4時間、*K. pneumoniae*では20.0時間、嫌気性菌の*B. fragilis*では15.3時間、*P. bivia*では15.8時間、*Peptostreptococcus asaccharolyticus*では8.2時間、6.4時間を示した。

IV. 考 察

一般的に、Postantibiotic effect (PAE効果)は、アミノ配糖体剤、テトラサイクリン剤、キノロン剤等のタンパク質合成系、核酸合成系を阻害する薬剤に優れているといわれている⁹⁾。 β -ラクタム剤では、イミペネム・シラスタチン (IPM/CS)にPAEの報告はある⁹⁾が、 β -ラクタム剤のような細胞壁合成阻害を作用機序とする薬剤では、PAEは多くを期待できないものとされている⁷⁾。近年、抗菌薬のもつPAEの概念が浸透し、PAEは、細菌のEffective regrowth time値 (ERT値)を測定し、MIC以上のサンプル内濃度を示す時間を引き算することにより算出し、評価されるようになってきた。これにより、感染症の化学療法では、抗菌薬のERT値を考慮に入れた抗菌薬の選択、使用方法が必要であると考えられるようになってきた。しかし、*in vitro*における各薬剤のERT値についての報告はあるが*in vivo*、特に、人体内におけるERT値についての報告は、そのモデルの設定が困難であるためこれまでのところ認められなかった。

今回、抗菌剤の細菌再増殖抑制効果を、生体内有効

性評価の一環としてとらえ、人体の子宮内におけるERT値として検討したが、今回用いた産褥子宮というモデルについては、子宮内が産褥3日目にはほとんど閉鎖腔となりその細菌叢が膈などの外部から影響をうけにくい状態となること、産褥子宮内には悪露の貯留があり子宮内容の検体が採取しやすいこと、産褥子宮からは好気性菌、嫌気性菌が検出される頻度が比較的高い¹⁰⁾などのために、人体における細菌再増殖抑制効果を判定するには最適のものと考えられる。

グラム陽性球菌に関しては、*S. aureus*、*S. epidermidis*のブドウ球菌を除けば、CMNX投与群、DKB投与群のいずれにおいてもERT値に著しい差は認められなかった。ブドウ球菌に関しては、ブドウ球菌に対するCMNXの抗菌作用が弱いため、CMNX投与群では、細菌再増殖抑制効果が弱いものと考えられた。しかし、CMNX+DKB投与群では、併用という薬剤の量的な問題のためと考えられるが、CMNX単独投与群、DKB単独投与群より長いERT値を示した。以上のように、ブドウ球菌を除くグラム陽性球菌では、CMNX、DKBによる細菌再増殖抑制効果には著明な差異はないものと言することができる。

グラム陰性桿菌に関しては、DKB投与群、CMNX+DKB投与群では、CMNX投与群よりかなり長いERT値を示したが、このことは、DKBに細菌再増殖抑制効果が強いことを示している。ERT値を、細菌が抗菌薬によって受けた障害の回復に要する時間と考えれば、グラム陰性桿菌に対しては、アミノ配糖体剤の使用が非常に有効であると考えられる。

一般に、アミノ配糖体剤は、リボソームに非可逆的に結合し、タンパク質合成系を阻害することが知られている。一方、 β -ラクタム系薬剤は、細胞壁合成阻害に働くことが知られている。したがって、タンパク質合成系を阻害する薬剤は、細菌再増殖抑制効果が強いものと考えられる。

嫌気性菌に関しては、CMNX投与群、CMNX+DKB投与群において、*Bacteroides*属、*Prevotella*属に対して、細菌再増殖抑制効果が認められたが、DKB投与群では認められなかった。この事實は、CMNXは、嫌気性菌に対しても抗菌作用を示すが、DKBは、嫌気性菌には、ほとんど抗菌作用を示さないというCMNX、DKBの抗菌域を考えれば説明可能となる。

また、今回得られた人体子宮内におけるERT値は、産婦人科領域の感染症に対する抗菌化学療法、特に薬剤の投与間隔に対しての一つの指標にもなると考えられる。すなわち、 β -ラクタム系のCMNXは、*S.*

epidermidis に対する ERT 値が 6.0 時間, *S. aureus* に対する ERT 値が 5.4 時間, *E. coli* に対する ERT 値が 14.6 時間, *K. pneumoniae* に対する ERT 値が 17.0 時間, *B. fragilis* に対する ERT 値が, 12.5 時間, *P. bivia* に対する ERT 値が 13.6 時間であることを考えれば, CMNX の抗菌域中の細菌感染症には, 1 日 2 回投与 (Twice a day) が有効であると言える。一方, アミノ配糖体剤の DKB は, *S. capitis* に対する ERT 値が 19.6 時間, *S. epidermidis* に対する ERT 値が 21.5 時間, *S. agalactiae* に対する ERT 値が 17.6 時間, *E. cloacae* に対する ERT 値が 21.0 時間, *E. coli* に対する ERT 値が 20.0 時間~24.0 時間であることを考えれば, 1 日 1 回 (Once a day) 投与でも十分であるものと考えられた。しかも, アミノ配糖体剤の腎毒性, 耳毒性が投与回数に比例すると言われることを考えれば, アミノ配糖体剤の 1 日 1 回の投与は副作用軽減の意味からも意義深い薬剤投与方法と行うことができる。

さらに, たがいに抗菌域を補い合う組み合わせである β -ラクタム剤とアミノ配糖体剤の併用は, 組織内濃度や骨盤浸出液移行^{8,9)} ばかりではなく, 今回得られたような β -ラクタム剤およびアミノ配糖体剤の *in vivo* における ERT 値をも考慮すれば, 投与量, 投与方法を改善しようものと考えられる。

文 献

- 1) 伊藤邦彦, 中川美紀, 馬淵道夫, 広瀬玲子, 伊藤綾子, 玉舎輝彦, 澤 赫代: 正常褥婦の子宮内から検出される細菌 (第 1 報)—セフテラム・ピボキシル服用中の褥婦—。基礎と臨床 23: 3337~3341, 1989
- 2) 伊藤邦彦, 三鴨廣繁, 澤入美穂, 村瀬稔子, 玉舎輝彦, 五十川はるみ, 澤村治樹, 澤 赫代, 野間昭夫: 正常褥婦の子宮内から検出される細菌 (第 2 報)—セフィキシム服用中の褥婦—。基礎と臨床 24: 2911~2915, 1990
- 3) 伊藤邦彦, 三鴨廣繁, 玉舎輝彦, 五十川はるみ, 澤村治樹, 澤 赫代, 野間昭夫: 正常褥婦の子宮内から検出される細菌 (第 3 報)—セファクロル服用中の褥婦—。基礎と臨床 24: 4561~4565, 1990
- 4) 三鴨廣繁, 伊藤邦彦, 玉舎輝彦, 鈴木哲也, 澤村治樹, 澤 赫代, 野間昭夫: 正常褥婦の子宮内から検出される細菌 (第 4 報)—アモキシシリン内服中の褥婦—。基礎と臨床 25: 2587~2591, 1991
- 5) Bodey G P, Pan T: Effect of cephalothin on growth patterns of microorganisms. J. Antibiot. 29: 1092~1095, 1976
- 6) Runneberg J, Walder M: Postantibiotic Effects of Imipenem, Norfloxacin, and Amikacin *In Vitro* and *In Vivo*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 33: 1714~1720, 1989
- 7) William A Craig, Sigurdur Gudmundsson: The Postantibiotic Effect. Antibiotics in Laboratory Medicine: 515~536, 1986
- 8) 伊藤邦彦, 飯田晃司, 近藤英明, 野田克己, 早崎源基: Fosfomycin および Dibekacin の骨盤死腔浸出液移行に関する基礎的検討。診療と新薬・第 24 巻第 3 号, 611~617, 1987
- 9) 伊藤邦彦, 中川美紀, 馬淵道夫, 玉舎輝彦, 早崎源基, 山田新尚: セファロスポリン剤およびアミノグリコシド剤を点滴静注した時の基礎的検討 (第 11 報)—セフミノックスとジベカシン—。基礎と臨床 Vol. 22 No. 18, 6485~6492, 1988

- 1) 伊藤邦彦, 中川美紀, 馬淵道夫, 広瀬玲子, 伊藤綾子, 玉舎輝彦, 澤 赫代: 正常褥婦の子宮内から検出される細菌 (第 1 報)—セフテラム・ピボキシル服

IN VIVO BACTERIAL REGROWTH-INHIBITING ACTIVITY OF
ANTIBIOTICS IN PUERPERAL UTERI: COMPARISON OF
CEFMINOX SINGLE THERAPY, DIBEKACIN SINGLE
THERAPY AND CEFMINOX/DIBEKACIN
COMBINATION THERAPY

Hiroshige Mikamo, Koji Izumi, Kunihiko Ito
and Teruhiko Tamaya

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine,
Gifu University, Tsukasamachi-40 Gifu, Gifu 500, Japan

Kunitomo Watanabe and Kazue Ueno
Institute of Anaerobic Bacteriology, School of Medicine,
Gifu University

The bacterial regrowth-inhibiting activity of antibiotic agents in human uteri was examined by choosing cefminox (CMNX) and dibekacin (DKB) as representatives of β -lactams and aminoglycosides, administering CMNX, DKB or CMNX plus DKB to puerperae and determining the effective regrowth time (ERT, time required for the viable bacterial count to return to the preantibiotic treatment level) of bacteria in each group. Against Gram-positive cocci except *Staphylococcus* spp., the bacterial regrowth-inhibiting activity was not markedly different between CMNX and DKB. Against Gram-negative bacilli, the bacterial regrowth-inhibiting activity of DKB was considerably higher than that of CMNX. Against anaerobic bacteria, that bacterial regrowth-inhibiting activity of CMNX against *Bacteroides* spp. and *Prevotella* spp. was demonstrated. The combination of CMNX and DKB extended the antibacterial spectrum but did not affect the bacterial regrowth-inhibiting activity.