

Teicoplanin のヒト糞便内細菌フローラに及ぼす影響

加藤 直樹・加藤 はる・田中 保知・田中香お里
渡辺 邦友・上野 一恵

岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設*

Glycopeptide 系新規抗菌薬 teicoplanin (TEIC) の7日間連続投与がヒト糞便内フローラに及ぼす影響を健康成人男性において検討した。TEIC は5名の被験者に1回4 mg/kg を1日1回点滴静注したが、1名は肝機能障害によりTEIC投与が6日目に中止となったため脱落例とした。TEICの投与が完了できた4名においては本抗菌薬投与前・中・後の菌群、属レベルでの糞便内フローラの変動はわずかで、大半は2 log もしくはそれ以下であった。*Bacteroides fragilis* group, *Enterobacteriaceae* および *Enterococcus* 属の菌種の変動はほとんど認められなかった。また、TEIC投与前・中・後に分離された菌種に対するTEICのMICを測定したところ、分離時期による感受性の差は認められなかった。以上、TEICはヒト糞便内フローラにほとんど影響を与えなかった。なお、糞便内の *Clostridium difficile* は脱落除外例の1例でTEIC投与中止1日後に3 log CFU/g と低菌数検出されたが、その他の4例では認められなかった。

Key words : Teicoplanin, 腸内フローラ, 嫌気性菌

Teicoplanin (TEIC) はマリオン・メレル・ダウ株式会社により *Actinoplanes teichomyceticus* の発酵抽出物から新たに発見された glycopeptide 系注射用抗菌薬で、グラム陽性菌に優れた抗菌力を有する¹⁾。また、血中半減期が長いのを特徴とする²⁾。

本研究においては、TEICの連続投与が、ヒト糞便内フローラにどのような影響を及ぼすか検討を行った。

1. 材料と方法

1. 抗菌薬投与

健康成人男性5名にTEICを空腹時に7日間点滴静注した。投与量は1回4 mg/kg とし、1日1回投与した。なお、本試験は3ヵ月以内に抗菌薬による治療を受けていない健康成人を対象とした。

なお、被験者には本試験に関して十分な説明を行い試験参加に関して自由意志に基づいて文書による同意を取得した。

2. 糞便の細菌学的検討

糞便内フローラの検索は抗菌薬投与10日前、投与開始7日目および投与終了28日後の計3回行った。方法は先に報告したごとく³⁾、糞便検体は採取後直ちに嫌気状態にて4°Cで保管・輸送し、その日のうちに定量培養に供した。すなわち、検体はまず嫌気性希釈液⁴⁾で10倍段階希釈した後、各種非選択培地および選

択培地 (Table 1) に塗抹し、嫌気的および好氣的に培養した。嫌気培養は嫌気チェンバー (Hirasawa) 内で、N₂ 82%、CO₂ 10%、H₂ 8%の条件下で行った。なお、*Clostridium difficile* の培養に関しては、培養操作をすべて嫌気チェンバー内で行った。

各菌群および属は各選択培地上でのコロニーの形態とグラム染色所見から決定した⁵⁾。また、菌種レベルの同定は、*Bacteroides fragilis* group ではRAP ID/ANA (アムコ) を、*Enterobacteriaceae* ではAPI 20E (アスカ純薬) もしくはVitek system GNIカード (アムコ) を、*Enterococcus* 属ではAPI ストレプト (アスカ純薬) もしくはVitek system GPIカード (アムコ) を用いて同定した。なお、菌数はすべて糞便の湿重量当りの colony forming unit (CFU) として求めた。

3. 分離菌株のTEICに対する感受性

TEICの投与前・中・後に糞便から分離された菌株の一部については、TEICに対する感受性を測定した。一部の菌種については同一検体から4~5株を採取し、感受性試験に供した。MICの測定は、嫌気性菌では変法GAM培地 (ニッスイ) を、好気性菌ではミューラー・ヒントン培地 II (BBL) を用いて行った。接種菌量は10⁶ CFU/ml とし、嫌気性菌では前述の嫌気

* 〒500 岐阜市司町40番地

Table 1. Media used for the stool culture

Culture for :	Medium	Incubation period (day)
Anaerobic bacteria		
All anaerobes	BL agar (Nissui ^a) supplemented with 5% horse blood : nonselective medium	3~6
<i>Bacteroides fragilis</i> group	BBE medium (Kyokuto ^b)	3
<i>Fusobacterium</i> spp.	Modified FM agar (Nissui)	3
<i>Bifidobacterium</i> spp.	BS agar (base : BL agar, Nissui)	3
Lecithinase-negative <i>Clostridium</i> spp. and <i>Eubacterium</i> spp.	Rifampicin-Brucella blood agar (base : Brucella agar, BBL ^c)	3
Lecithinase-positive <i>Clostridium</i> spp.	CW egg yolk agar (base : CW agar, Nissui)	2
<i>Clostridium difficile</i>	CCMA medium (Nissui)	2
Aerobic bacteria		
All aerobes	TSA blood agar (base : TSA, BBL): nonselective medium	3
<i>Enterobacteriaceae</i>	MacConkey agar (Nissui)	2
<i>Pseudomonas</i> spp.	NAC agar (Eiken ^d)	2
<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> No. 110 agar (Nissui)	3
<i>Enterococcus</i> spp.	EF agar (Nissui)	3
<i>Lactobacillus</i> spp.	Modified LBS agar (base : LBS agar, BBL)	3
Yeast		
<i>Candida</i> spp.	<i>Candida</i> GE agar (Nissui)	2

^aNissui Pharmaceutical Co.

^bKyokuto Pharmaceutical Co.

^cBecton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD., U.S.A.

^dEiken Chemical Co., LTD.

チェンバー内で、好気性菌では通常の孵卵機で37°Cにて培養した。MICの判定は嫌気性菌では48時間培養後に、好気性菌では24時間培養後に行った。

II. 結 果

TEIC連続7日間投与による菌群および属レベルでの糞便内フローラの変動は、被験者ごとにTable 2に示した。ただし、被験者5名のうち、1名(被験者E)はTEIC投与中に肝機能障害を示す臨床検査値異常が認められたため、投与は5日間で中止され、投薬中の糞便検査は投与開始6日目に行われた。このことから本研究ではこの被験者を脱落除外とし、結果のみを参考として示した。

被験者Aでは、TEIC投与前と比べ投与中に*Enterococcus*属が2 log上昇し、*Bacillus*属が投与中のみ検出された。投与後にはレシチナーゼ陰性の*Clostridium*属と*Eubacterium*属の菌群が投与前と比べ1 log以上低下した。

被験者Bでは、TEIC投与により、投与前4 logの菌数を示したレシチナーゼ陽性*Clostridium*属が消失し、*Enterococcus*属が約1 log上昇した。投与終了後にはレシチナーゼ陰性*Clostridium*属と*Eubacterium*

属の群および*Lactobacillus*属が投与前と比べ2 log減少した。

被験者Cでは、TEIC投与中に*Bacillus*属が出現し、*Enterococcus*属が1 logあまり減少した。投与終了後には*Bifidobacterium*属、*Fusobacterium*属、*Lactobacillus*属が1 log以上減少し、替って*Staphylococcus*属がごく少数出現した。

被験者Dでは、TEIC投与中に*Bifidobacterium*属が1 log減少し、*Fusobacterium*属も投与中から投与後にかけて約2 log減少した。また、好気性菌においては投与中に*Enterobacteriaceae*と*Lactobacillus*属の減少がみられた。替って、*Enterococcus*属が投与中約5 log、*Bacillus*属が約6 log検出された。投与後には*B. fragilis* groupとレシチナーゼ陰性*Clostridium*属と*Eubacterium*属の菌群がいずれも投与前と比べ1 log減少した。

*C. difficile*は4例ともいずれの検体からも検出されなかった。脱落例の1例で投与中止1日後に*C. difficile*が3 log CFU/gと、ごく少数検出されたが、糞便性状は正常で下痢症状は認められなかった。*Candida*属は2例で1回ずつ検出されたが、いずれも3 logの

Table 2. Effect of parenteral teicoplanin on human fecal flora

Organism	volunteer A			volunteer B		
	treatment			treatment		
	before	during	after	before	during	after
Total anaerobes	10.38*	9.60	10.00	10.85	10.64	10.26
<i>Bifidobacterium</i> spp.	9.34	9.34	9.51	10.15	9.78	9.48
<i>Bacteroides fragilis</i> group	9.90	10.26	9.80	10.00	10.00	10.08
<i>Fusobacterium</i> spp.	7.79	7.81	7.78	6.82	6.08	7.30
Lecithinase-negative						
<i>Clostridium</i> spp. and <i>Eubacterium</i> spp.	8.85	9.04	7.20	8.60	8.00	6.60
Lecithinase-positive						
<i>Clostridium</i> spp.	4.34	ND**	ND	4.08	ND	ND
<i>Clostridium difficile</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Total aerobes	9.30	9.43	8.78	9.78	9.23	8.00
<i>Enterobacteriaceae</i>	6.11	6.18	5.81	6.34	7.18	6.51
<i>Pseudomonas</i> spp.	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Staphylococcus</i> spp.	ND	ND	ND	ND	ND	3.60
<i>Enterococcus</i> spp.	4.38	6.83	4.20	4.60	5.78	4.70
<i>Bacillus</i> spp.	ND	7.45	ND	7.51	6.64	7.42
<i>Lactobacillus</i> spp.	9.30	9.43	8.78	9.78	9.23	8.00
<i>Candida</i> spp.	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Organism	volunteer C			volunteer D		
	treatment			treatment		
	before	during	after	before	during	after
Total anaerobes	10.85	10.38	10.08	11.32	10.42	10.00
<i>Bifidobacterium</i> spp.	10.26	10.08	8.60	10.56	9.51	9.60
<i>Bacteroides fragilis</i> group	9.38	9.38	9.60	10.91	9.95	9.34
<i>Fusobacterium</i> spp.	7.86	7.78	6.78	8.87	7.42	7.00
Lecithinase-negative						
<i>Clostridium</i> spp. and <i>Eubacterium</i> spp.	7.38	8.08	7.38	7.70	8.00	6.60
Lecithinase-positive						
<i>Clostridium</i> spp.	ND	ND	3.30	ND	ND	ND
<i>Clostridium difficile</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Total aerobes	9.60	9.15	8.48	10.30	8.93	7.60
<i>Enterobacteriaceae</i>	4.62	5.00	4.15	7.75	5.28	6.82
<i>Pseudomonas</i> spp.	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Staphylococcus</i> spp.	ND	ND	4.90	ND	ND	ND
<i>Enterococcus</i> spp.	6.53	4.93	5.60	ND	4.93	ND
<i>Bacillus</i> spp.	ND	7.38	ND	ND	6.15	ND
<i>Lactobacillus</i> spp.	9.60	9.15	8.48	10.30	8.93	7.60
<i>Candida</i> spp.	3.30	ND	ND	ND	ND	3.95

* log CFU/g feces.

** ND : Not detectable (<10³ CFU/g feces).

低菌数であった。また、*Pseudomonas* 属の出現はなかった。

菌種別変動のうち *B. fragilis* group に関しては Table 3 に示した。いずれの被験者においても常に検出されたのは *Bacteroides uniformis* で、投与終了後

に 1 例で 1 log の増加、1 例で 1 log の減少がみられた。投与前と比べ投与中に検出菌種の増加をみたのが 2 例、不変が 2 例で、投与終了後検出菌種の増加を認めた例が 3 例、減少したのが 1 例であった。

Enterobacteriaceae の菌種別検討では、いずれの症

Table 2. Continued

Organism	volunteer E***		
	treatment		
	before	during****	after
Total anaerobes	10.56	10.90	9.42
<i>Bifidobacterium</i> spp.	10.15	10.00	9.38
<i>Bacteroides fragilis</i> group	10.56	10.64	9.26
<i>Fusobacterium</i> spp.	5.08	7.78	6.08
Lecithinase-negative			
<i>Clostridium</i> spp. and <i>Eubacterium</i> spp.	7.68	8.82	6.78
Lecithinase-positive			
<i>Clostridium</i> spp.	ND	ND	ND
<i>Clostridium difficile</i>	ND	3.08	ND
Total aerobes	9.38	9.30	8.48
<i>Enterobacteriaceae</i>	4.20	8.00	7.48
<i>Pseudomonas</i> spp.	ND	ND	ND
<i>Staphylococcus</i> spp.	ND	ND	ND
<i>Enterococcus</i> spp.	5.04	5.11	4.00
<i>Bacillus</i> spp.	ND	4.66	ND
<i>Lactobacillus</i> spp.	9.38	9.30	8.48
<i>Candida</i> spp.	ND	ND	ND

* log CFU/g feces.

** ND: Not detectable (<10³ CFU/g feces).

*** A drop-out case; in this case, teicoplanin was given for only 5 days because abnormal laboratory findings for liver function were recorded on day 5 during treatment.

**** Stool culture was done on day 6 during treatment.

Table 3. Effect of parenteral teicoplanin on *Bacteroides fragilis* group organisms

Volunteer	Species	log CFU/g feces		
		treatment		
		before	during	after
A	<i>Bacteroides vulgatus</i>	8.60	8.56	
	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>		8.56	
	<i>Bacteroides uniformis</i>	8.60	9.04	9.80
B	<i>Bacteroides fragilis</i>			8.78
	<i>Bacteroides vulgatus</i>	8.39	8.52	
	<i>Bacteroides uniformis</i>	7.88	8.82	8.48
	<i>Bacteroides distasonis</i>			8.48
C	<i>Bacteroides fragilis</i>	8.20		
	<i>Bacteroides vulgatus</i>		8.00	8.11
	<i>Bacteroides distasonis</i>		7.70	8.11
	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>		7.70	
	<i>Bacteroides uniformis</i>	8.90	7.70	8.11
D	<i>Bacteroides distasonis</i>			8.04
	<i>Bacteroides uniformis</i>	9.91	8.95	8.04

例からも *Escherichia coli* が検出され、1例で投与中に1 logの増加、1例で2 logの減少がみられ、1例で不変であった (Table 4)。また、3例で投与終了後に

E. coli 以外の菌種が検出された。

Enterococcus 属では、いずれの被験者からも *Enterococcus faecium* が検出され、1例では *Enterococcus*

Table 4. Effect of parenteral teicoplanin on *Enterobacteriaceae*

Volunteer	Species	log CFU/g feces		
		treatment		
		before	during	after
A	<i>Escherichia coli</i>	6.11	6.18	5.48
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>			5.48
	<i>Enterobacter cloacae</i>			5.18
B	<i>Escherichia coli</i>	6.34	7.78	6.28
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		7.95	5.81
	<i>Kluyvera</i> spp.			5.81
C	<i>Escherichia coli</i>	4.62	5.00	4.04
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>			3.45
D	<i>Escherichia coli</i>	7.75	5.28	6.82

Table 5. Effect of parenteral teicoplanin on *Enterococcus* spp.

Volunteer	Species	log CFU/g feces		
		treatment		
		before	during	after
A	<i>Enterococcus faecium</i>	4.08	6.36	3.90
	<i>Enterococcus avium</i>	4.08	6.66	3.90
B	<i>Enterococcus faecium</i>	4.60	5.38	4.40
	<i>Enterococcus faecalis</i>		5.38	4.40
C	<i>Enterococcus faecium</i>	6.53	4.93	5.70
D	<i>Enterococcus faecium</i>	ND	4.93	ND

ND : Not detectable

avium も常に同時に検出された (Table 5)。また、1例では *Enterococcus faecalis* が投与中より出現した。

TEIC 投与前・中・後に分離された *B. fragilis* group の各菌種および *E. coli*, *E. faecium* について TEIC の MIC を測定したところ、いずれの菌種においても TEIC の投与前・中・後で MIC の違いは認められなかった (Table 6)。

III. 考 察

抗菌薬投与による糞便内フローラの変動には、使用した抗菌薬の抗菌スペクトラムと体内動態が大きな因子となること、 β -ラクタム系抗菌薬を使用した検討から明らかとなっており⁶⁾、同様の成績が我々の検討からも得られている³⁾。

Glycopeptide 系抗菌薬の TEIC は vancomycin と同様に好気性グラム陽性菌には強い抗菌力を有するが、好気性グラム陰性菌にはほとんど抗菌力が及ばない。同様のことが嫌気性菌にもあてはまる⁷⁾。TEIC の糞便中移行は明らかではないが、4 mg/kg、7 日間点滴静注したときの最終使用後 6 日目までの累積尿中

回収率は 62% と報告されている⁸⁾。

これらのことから、TEIC の投与はヒト糞便内フローラにあまり変動をきたさないことが予測されるが、今回の検討においては、やはり糞便内フローラの変動はわずかで、いずれもおおよそ 2 log 以内の菌数の変動にとどまった。また、これらの変動はおおむね抗菌力を反映したもので、嫌気性菌ではグラム陽性桿菌の *Eubacterium* 属や *Clostridium* 属に減少がみられ、*B. fragilis* group にはほとんど変動はなかった。また、グラム陽性桿菌ではあるが、*Bifidobacterium* 属には変動がなかった。好気性菌では、抗菌力の及ばない *Enterobacteriaceae* は不変であったが、1例で 2 log とわずかではあるが投与中に菌数の減少がみられた。この理由は明らかではない。逆に、抗菌力が及ぶ *Enterococcus* 属の菌数の増加や出現が 3 例で認められている。この属の一時的な菌数変動の理由は明らかではないが、*Enterococcus* 属に対する TEIC の MIC に比べ MBC は高値で⁹⁾、TEIC の本菌に対する殺菌的効果はあまり高くないことが関係しているかもしれない

Table 6. MICs of teicoplanin for bacterial strains isolated before, during and after treatment with parenteral teicoplanin

Organism	Treatment	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										
		0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	>200
<i>Bacteroides fragilis</i>	before								1			
	during											
	after							3				
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	before								1			
	during							1	1			
	after											
<i>Bacteroides vulgatus</i>	before					1					1	
	during							1	2			
	after								1			
<i>Bacteroides uniformis</i>	before				1			1	3	1		
	during					1		1	1			
	after											
<i>Escherichia coli</i>	before											22
	during											16
	after									1		16
<i>Enterococcus faecium</i>	before		5									
	during		3	2								
	after	2	1	3								

い。

以上、TEICの連続投与はヒト糞便内フローラにほとんど影響を及ぼさず、従って腸内フローラにもほとんど影響を及ぼしていないことが示唆された。また、TEICの7日間連続投与によりフローラが耐性を獲得することはないことが示唆された。TEIC投与により糞便内の*C. difficile*の出現は全くみられなかったか、もしくはごく少数検出されたのみであったことから、本抗菌薬投与による下痢発症は少ないものと思われた。

文 献

- 1) Neu H C, Labthavikul P: *In vitro* activity of teicoplanin compared with those of other antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 24: 425~428, 1983
- 2) Verbist L B, Tjandramaga B, Hendrickx B, Van Hecken A, Van Melle P, Verbesselt R, Verhaegen J, De Schepper P J: *In vitro* activity and human pharmacokinetics of teicoplanin. *Antimicrob Agents Chemother* 26: 881~886, 1984
- 3) Kato N, Bando K, Muto Y, Watanabe K, Ueno K: Effect of parenteral cefepime on human fecal flora. *Chemotherapy* 39 (S-2): 52~58, 1991
- 4) 日本細菌学会教育委員会編: 細菌学技術叢書。3. 嫌気性菌の分離と同定。菜根出版, 東京, 1982
- 5) 光岡知足: 腸内菌の世界。叢文社, 東京, 1980
- 6) Giuliano M, Barza M, Jacobus N V, Gorbach S L: Effect of broad-spectrum parenteral antibiotics on composition of intestinal microflora of humans. *Antimicrob Agents Chemother* 31: 202~206, 1987
- 7) 加藤直樹, 加藤はる, 田中保知, 田中香お里, 渡辺邦友, 上野一恵: 新 glycopeptide 系 抗菌薬 Teicoplanin の嫌気性菌に対する抗菌力。 *Chemotherapy* 41 (S-2): 56~61, 1993
- 8) 齋藤 篤, 松本文夫: 第 39 回日本化学療法学会東日本支部総会, 新薬シンポジウム。Teicoplanin, 東京, 1992

Effect of parenteral teicoplanin on human fecal flora

Naoki Kato, Haru Kato, Yasunori Tanaka,
Kaori Tanaka, Kunitomo Watanabe and Kazue Ueno
Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University School of Medicine
40 Tsukasa-machi, Gifu 500, Japan

The effect of 7-day administration of teicoplanin (TEIC), a novel glycopeptide, on human fecal flora was studied. Intravenous drip infusion at a dose of 4 mg/kg of TEIC was given once a day to 5 healthy adult males. One of the 5 cases was excluded from the evaluation because TEIC was given for only 5 days (abnormal laboratory findings for liver function were recorded on day 5). Little change in anaerobic and aerobic fecal flora were observed on the genus and group level; most changes in the bacterial number were 2 log or less. Species of the *Bacteroides fragilis* group, *Enterobacteriaceae* and *Enterococcus* spp. were changed little by the administration of TEIC. No differences in susceptibility to TEIC were noted in fecal strains isolated before, during, and after TEIC administration. These results suggest that TEIC had little effect on human intestinal flora.