

Cefozopran の腸内細菌叢におよぼす影響

岩 田 敏・川 原 和 彦¹⁾

国立霞ヶ浦病院小児科*

†現：都立清瀬小児病院

磯畑 栄一・金 慶 彰・横田 隆夫・楠本 裕

佐藤 吉壮・秋田 博伸・南里清一郎・老川 忠雄

慶應義塾大学医学部小児科学教室

砂 川 慶 介

国立東京第二病院小児科

(平成 6 年 2 月 8 日受付・平成 6 年 6 月 8 日受理)

新しく開発された注射用セファロスポリン系抗生物質 cefozopran (CZOP) について、小児臨床例の腸内細菌叢におよぼす影響を検討した。対象は感染症で入院した男児 6 例 (年齢 4 か月～3 歳 2 か月、体重 5.6～19.0 kg) で、CZOP を 1 回 19.8～52.6 mg/kg、1 日 3～4 回、5～11 日間静脈内投与し、投与前、中、後の糞便を採取して、糞便 1 g 中に含まれる各種細菌の同定及び菌数計算を行った。同時に糞便中の CZOP 濃度、 β -lactamase 活性及び *Clostridium difficile* D-1 抗原の測定も行った。一部の分離株については CZOP の最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。CZOP 投与中の糞便内細菌叢の変動は症例により若干のばらつきが認められたが、好気性菌のうち Enterobacteriaceae は 6 例中 5 例で投与中に減少する傾向が認められた。しかし *Enterococcus* については大きな変動が認められず、その結果好気性菌総数は各症例とも大きな変動は認められなかった。嫌気性菌でも優勢菌種である *Bifidobacterium* と *Bacteroides* に大きな変動は認められず、嫌気性菌総数はいずれの症例においても大きな変動は認められなかった。また、ブドウ糖非醸酵性グラム陰性桿菌や真菌が優勢菌種となる症例は認められず、*C. difficile* および *C. difficile* D-1 抗原はそれぞれ 2 例および 6 例で検出されたが、その消長と便性に関連性はなかった。糞便中の CZOP は 4 例で投与中および終了時の検体から検出され、その濃度は 1.4～29.6 μ g/g であった。糞便から分離した菌株の CZOP に対する薬剤感受性を投与前後で比較すると、投与中もしくは投与後に耐性化する傾向はほとんど認められなかった。以上の成績から、CZOP は新しい注射用セファロスポリン系抗生物質の中では小児の腸内細菌叢におよぼす影響がきわめて少ない薬剤であると考えられる。

Key words: cefozopran, セファロスポリン系抗生物質, 腸内細菌叢, 小児科領域

最近の抗生物質の開発には目覚ましいものがあり、感染症の治療に大きく貢献しているが、一方では、抗生物質が常在細菌叢にも影響をおよぼし、菌交代や副作用発現などの結果を引き起こすこともあって、問題となっている。我々はこうした点に注目して、腸内細菌叢に対する各種抗生物質の影響を検討してきたが^{1～10)}、今回新しく開発された注射用セファロスポリン系抗生物質 cefozopran (CZOP, SCE-2787) (Fig. 1) について、小児臨床例の腸内細菌叢におよぼす影響を検討したので報告する。

I. 対象および方法

1. 対象および投与方法

対象は 1991 年 5 月から 1991 年 9 月までの 5 か月間に国立霞ヶ浦病院小児科に感染症で入院した小児のうち、感染治療の目的で CZOP が適応と考えられた男児 6 例で、年齢は 4 か月～3 歳 2 か月、体重は 5.6～19.0 kg であった。疾患の内訳は化膿性髄膜炎 1 例、肺炎 3 例、尿路感染症 1 例、無菌性髄膜炎 1 例であった。いずれの症例においても抗菌薬の前投与は行われ

Table 1. Background of patients and method of cefozopran administration

Case no.	Sex	Age	Body weight (kg)	Diagnosis	Daily dose (mg/kg × times)	Duration (days)
1	♂	4 m	5.6	Pneumonia	21.4×3 (i. v)	8
2	♂	5 m	6.75	Urinary tract infection	22.2×4 (i. v)	11
3	♂	11 m	8.9	Pneumonia	20.2×3 (i. v)	5
4	♂	1 y 3 m	10.1	Pneumonia	19.8×3 (i. v)	7
5	♂	10 m	12.1	Purulent meningitis	49.6×4 (i. v)	7
6	♂	3 y 2 m	19.0	Aseptic meningitis	52.6×4 (d. i. v)	8

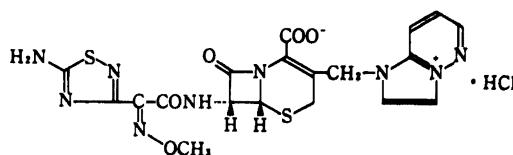


Fig. 1. Cefozopran (CZOP, SCE-2787).

ていなかった。投与方法はCZOP 1回 19.8~52.6 mg/kg を1日3~4回静脈内投与し、投与期間は5~11日間とした。各症例の性、年齢、体重、疾患名、1日投与量および投与期間をTable 1に示した。

なおCZOPの使用にあたっては、保護者に試験の内容を説明し同意を得るとともに、投与にさき立ちCZOP皮内反応試験を実施し、陰性であることを確認した。

2. 検体および検査方法

CZOP投与開始後、連日糞便の性状を観察し、投与前、中、後の糞便を採取して、糞便1g中に含まれる各種細菌の分離・同定および菌数計算を行った。同時にCZOPの糞便中濃度、糞便中 β -lactamase活性およびClostridium difficile D-1抗原の測定を行った。

糞便は排泄後ただちにケンキポーター(クリニカルサプライ社)に採集し、ラップで蓋をした後、嫌気ガスがケンキポーター内に入るよう空気孔を開け、バイオバッグ(Marion Scientific社)に封入して、嫌気状態4°Cで保存した。糞便中細菌の分離・同定および菌数計算は、検体採取後24時間以内に行った。また、薬剤濃度測定用の検体は、採取後-20°C以下で冷凍保存し測定に供した。

各検査法の詳細は下記のとおりである。

1) 糞便中細菌の分離・同定および菌数測定方法

採取した糞便を嫌気性培養装置(Anaerobic System Model 1024, Forma Scientific社)内で1g秤量し、Table 2に示した光岡の希釀液¹¹⁾9mlを加えて十分に混和した後、この液を用いて10倍希釀系列を作成

Table 2. Composition of T. Mitsuoka dilution

KH ₂ PO ₄	4.5 g
Na ₂ HPO ₄	6.0 g
L-Cysteine · HCl · H ₂ O	0.5 g
Tween 80	0.5 g
Agar	1.0 g
Distilled water	1.0 L

Table 3. Bacteriological medium

Aerobes

Trypticase soy agar (BBL)
CLED medium (OXOID)
Mannitol salt agar (Nissui)
EF agar (Nissui)
NAC agar (Eiken)
Candida agar (Nissui)

Anaerobes

BL agar (Nissui)
EG agar (Nissui)
BBE agar (Kyokuto)
FM modified agar (Nissui)
Kanamycin CW agar (Nissui)
Vancomycin Veillonella agar (Difco)
CCFA (OXOID)
LBS modified agar (BBL)

し検液とした。これを装置外へ取り出し、Table 3に示した各平板培地上に0.1mlずつ正確に滴下し、コンラージ棒で十分に塗抹した。Table 3の平板培地のうちTrypticase soy agar, BL agar, EG agarには5%馬織維血を、Kanamycin CW agarには10%Egg Yolkをそれぞれ添加して使用した。また嫌気性菌用の平板培地は作製後24~48時間嫌気的条件下に保存して還元処理した後に使用した。好気性菌は35°C, 24~48時間、嫌気性菌は嫌気性培養装置内で35°C, 48時間~1週間培養後、同定および菌数計算を

行った。細菌の同定は Manual of clinical microbiology 5th ed.¹²⁾ に従い、平板培地上の集落形態、グラム染色標本の鏡検、好気的条件下における発育試験および各種生化学的性状試験により行い、嫌気性菌については、必要に応じて細菌の產生する脂肪酸をガスクロマトグラフィーで分析し、同定の確認を行った。菌数計算は平板培地上の集落数をマニュアルコロニーカウンターMC-707（メディコ社）で測定し、糞便1g中の菌数として示した。

一部の分離株については、CZOP の最小発育阻止濃度（以下 MIC と略す）を日本化学療法学会標準法¹³⁾により測定し、CZOP 投与前、中、後の変化を検討した。

2) 糞便中薬剤濃度の測定

CZOP の濃度測定は、*Escherichia coli* NIHJ を試験菌、抗生素質用培地「ダイゴ」No. 4（日本製薬）または Antibiotic medium 4 (Difco) を試験用培地とする Agar well 法により測定した。前処理として糞便1gを秤量し、9倍量の0.1N 塩酸を加え混合・懸濁し、4°Cで30分間放置した後、15,000 r.p.m., 3分間遠心分離後、上清に等容量の0.2M リン酸一水素ナトリウム液を加えて中和し、検体とした。

3) 糞便中 β -lactamase 活性の測定

糞便1gを秤量し、9mlの0.05M リン酸緩衝液(pH 7.0)を加えてよく攪拌し、4°C, 10,000 r.p.m., 20分間遠心分離後、上清を0.45 μ mのMillexフィルター-HA（ミリポア）で濾過し、その濾液を検液として用いた。検液0.5mlとニトロセフィン溶液(500 μ g/ml) 0.1mlを反応させ、10分間で黄色から赤色に変化したものを陽性とした。

4) *C. difficile* D-1 抗原の検出

C. difficile D-1 抗原の検出は、糞便に等量の0.1M トリス塩酸緩衝液(pH 8.0)を加えてよく攪拌し、4°C, 10,000 r.p.m., 20分間遠心分離後、上清を0.45 μ mのMillexフィルター-HA（ミリポア）で濾過し、その濾液を検液として用いた。D-1 抗原の検出は、D-1 ラテックス試薬（ダイヤトロン社）を用いたラテックス凝集法により行った。判定は精製したEnterotoxin D-1; 0, 125, 250, 500, 1,000, 2,000 ng/mlをそれぞれ抗原として作製したコントロールと比較し、0 ng/ml および 125 ng/ml を(-), 250 ng/ml を(±), 500 ng/ml を(+), 1,000 ng/ml および 2,000 ng/ml を(++) として半定量した。

II. 成 績

1. 便性および消化器症状

CZOP を投与した6例中1例（症例2）に下痢（泥

状便）が認められたが、程度は軽く、投与中に止痢剤の投与により消失した。また、嘔吐、腹痛などの消化器症状は認められなかった。

2. 腸内細菌叢の変動

6例の糞便1g中の細菌の変動をTables 4~9およびFigs. 2~7に示した。症例により、菌種、菌数の変動には若干のばらつきがみられたが、各症例の好気性菌総数と嫌気性菌総数についてみると、症例1, 4で好気性菌総数の若干の減少が認められたものの、他の症例においては投与期間中ほとんど変動は認められなかった。

菌種別の変動をみると、好気性菌の主要菌種である *E. coli* をはじめとする Enterobacteriaceae は、症例6で著明な減少が、症例1, 3, 4, 5で中等度の減少がそれぞれ認められ、症例1ではCZOP投与終了後の latamoxef 投与により著明に減少した。 *Enterococcus* は、症例5で増加していた以外は、属全体としてはほとんど変動は認められなかったが、症例1, 2, 3, 5でCZOPの投与に伴い *Enterococcus faecium* の増加が認められた。少数菌である *Staphylococcus* は症例2, 4, 6で減少し、症例3で増加が認められた。ブドウ糖非醸酵性グラム陰性桿菌は症例3で *Xantomonas maltophilia* が本剤投与中にやや増加したが、優勢菌種とはならなかった。また真菌に関してもCZOPの投与に伴い明かな増加傾向を示す症例は認められなかった。

嫌気性菌では主要菌種のうち *Bacteroides* は症例1を除く5例で検出されたが、症例5で中等度の増加が認められた以外は、一部属内での菌種の変動はあったが全体として大きな変動は認められなかった。 *Bifidobacterium* は症例5を除く5例で検出されたが、CZOPの投与に伴う変動はほとんど認められなかった。 *Eubacterium* は症例4, 6で著明な減少が、症例1で一過性の増加がそれぞれ認められた。 *C. difficile* は症例1, 2で投与前および投与中に検出されたが、投与終了後は検出限界以下となった。 *C. difficile* D-1 抗原は全症例において投与前、中、後のいずれかの検体で陽性を呈した。 *C. difficile* や *C. difficile* D-1 抗原の消長と便性の間には一定の関係は認められなかった。

3. 糞便中 CZOP 濃度および β -lactamase 活性

CZOP投与前、中、後の糞便中 CZOP 濃度および β -lactamase 活性を Tables 4~9 および Figs. 2~7 に示した。

症例1, 2, 5, 6で投与中の糞便から CZOP が検出され、その濃度は 1.4~29.6 μ g/g であったが、症例

Table 4. Fecal microflora, concentration of drug and β -lactamase activity in the feces before, during and after administration of cefozopran

Count of organism*	Case 1				Count of organism*	Case 1			
	1	4	8	+3		1	4	8	+3
day of study									
Aerobes									
<i>S. aureus</i>	2.6×10^8	8.0×10^5	1.9×10^4	4.0×10^4	Anaerobes	1.4×10^8	8.8×10^4	1.1×10^6	2.1×10^6
<i>Enterococcus</i> sp.	2.1×10^8	4.1×10^8	5.9×10^7	8.8×10^8	<i>Bifidobacterium</i>	4.0×10^7	6.0×10^8	1.8×10^7	8.0×10^7
<i>E. faecalis</i>	2.8×10^7	6.0×10^6	8.0×10^5	2.4×10^8	<i>Bacteroides fragilis</i> group	6.0×10^8	1.8×10^7	8.0×10^7	3.2×10^8
<i>E. faecium</i>	6.0×10^8	5.6×10^7	1.4×10^8	3.6×10^6	<i>B. fragilis</i>				
<i>E. avium</i>	1.8×10^8	4.0×10^8	2.2×10^6	5.0×10^8	<i>B. distasonis</i>	4.0×10^7			
Enterobacteriaceae					<i>B. thetaiotaomicron</i>				
<i>E. coli</i>	2.6×10^8	4.6×10^8	8.0×10^5	1.6×10^8	Peptococcaceae				
<i>K. pneumoniae</i>	2.4×10^8	4.6×10^5		1.6×10^8	<i>Verrucomicrobium</i>				
<i>E. cloacae</i>	2.4×10^7			6.6×10^8	<i>Clostridium</i>				
<i>Enterobacter</i> sp.				2.0×10^7	Total count of anaerobes				
<i>X. maltophilia</i>					1.4×10^8	2.8×10^8	8.0×10^8	2.2×10^8	4.4×10^7
<i>C. albicans</i>					6.0×10^8	8.0×10^2	1.8×10^5	1.2×10^5	6.0×10^7
<i>Candida</i> sp.					3.6×10^8	1.4×10^8	1.5×10^8	1.1×10^8	4.0×10^8
Total count of aerobes	4.7×10^8	4.1×10^8	6.1×10^7	1.0×10^8	2.5×10^8				
CZOP concentration in feces ($\mu\text{g/g}$)									
β -Lactamase activity in feces	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>C. difficile</i> D-1 antigen	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
									500 $\mu\text{g/g}$

*Viable cell count per gram of feces

Lec (-): Lechthines-negative

CZOP: cefozopran

Table 5. Fecal microflora, concentration of drug and β -lactamase activity in the feces before, during and after administration of cefozopran

Count of organism*	Case 2					Case 2					
	day of study					day of study					
	1	4	9	11	+5		1	4	9	11	+5
Aerobes											
<i>S. aureus</i>	1.2×10 ³										
<i>S. epidermidis</i>	8.4×10 ³										
CNS	6.0×10 ⁴										
<i>Enterococcus</i> sp.	6.6×10 ⁷	3.6×10 ⁸	1.6×10 ⁹	4.9×10 ⁹	1.2×10 ¹⁰						
<i>E. faecalis</i>	4.1×10 ⁵	4.6×10 ⁵	1.6×10 ⁸	8.0×10 ⁷	4.1×10 ⁹						
<i>E. faecium</i>											
<i>E. avium</i>	6.6×10 ⁷	3.6×10 ⁸	4.6×10 ⁷	4.1×10 ⁸	1.2×10 ¹⁰						
<i>Bacillus</i> sp.	8.0×10 ²	8.0×10 ²	3.0×10 ⁷	7.0×10 ⁸	2.1×10 ⁹						
Enterobacteriaceae											
<i>E. coli</i>	1.1×10 ⁸	2.8×10 ⁷									
<i>C. diversus</i>											
<i>K. pneumoniae</i>											
<i>K. oxytoca</i>											
<i>P. vulgaris</i>	2.0×10 ⁸	1.6×10 ⁶	6.0×10 ⁸	6.0×10 ⁸	1.2×10 ⁷						
<i>E. cloacae</i>											
<i>C. albicans</i>											
Total count of aerobes	1.8×10 ⁸	3.9×10 ⁸	1.6×10 ⁹	5.0×10 ⁸	1.4×10 ⁹						
Anaerobes											
<i>Bifidobacterium</i>											
<i>Eubacterium</i>	3.2×10 ¹⁰	8.9×10 ⁹									
<i>Fusobacterium</i>	2.0×10 ⁹	4.0×10 ⁸									
<i>Bacteroides fragilis</i> group	4.0×10 ⁹	1.0×10 ⁹									
<i>B. fragilis</i>	6.0×10 ⁷	1.4×10 ¹⁰									
<i>B. distasonis</i>	2.0×10 ⁸	1.2×10 ¹⁰									
<i>B. ovatus</i>											
<i>B. vulgatus</i>	5.8×10 ⁷										
Peptococcaceae											
<i>Veililonella</i>	1.8×10 ⁵	1.1×10 ⁴									
<i>Lactobacillus</i>	1.6×10 ⁵	4.0×10 ⁴									
Lec (-) <i>Clostridium</i>	3.0×10 ⁷	2.0×10 ⁷									
Lec (+) <i>Clostridium</i>	3.0×10 ⁷	1.6×10 ⁸									
Total count of anaerobes	3.4×10 ¹⁰	2.3×10 ¹⁰									
CZOP concentration in feces (μg/g)		<0.6									
β -Lactamase activity in feces	(+)	1.4									
<i>C. difficile</i> D-1 antigen	(-)	(-)									
Total count of aerobes	1.8×10 ⁸	3.9×10 ⁸	1.6×10 ⁹	5.0×10 ⁸	1.4×10 ⁹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	500 mg/g

*Viable cell count per gram of feces, CNS: Coagulase negative staphylococci

Lec (-): Lechithinase-negative, Lec (+): Lechithinase-positive

CZOP: cefozopran

Table 6. Fecal microflora, concentration of drug and β -lactamase activity in the feces before, during and after administration of cefozopran

Count of organism*	Case 3 day of study			Count of organism*			Case 3 day of study		
	1	4	+2	1	4	+2	1	4	+2
Aerobes									
<i>S. epidermidis</i>									
CNS	1.2 $\times 10^8$			1.6 $\times 10^9$			Anaerobes		
α -haemolytic Streptococcus	4.0 $\times 10^6$			2.2 $\times 10^8$			<i>Bifidobacterium</i>	3.4 $\times 10^{10}$	2.5 $\times 10^9$
<i>Enterococcus</i> sp.	1.1 $\times 10^8$	3.6 $\times 10^7$		6.0 $\times 10^8$			<i>Eubacterium</i>	2.0 $\times 10^{10}$	1.2 $\times 10^9$
<i>E. faecalis</i>	1.1 $\times 10^8$	2.2 $\times 10^7$		3.8 $\times 10^7$			<i>Bacteroides fragilis</i> group	1.6 $\times 10^{10}$	1.9 $\times 10^{10}$
<i>E. faecium</i>				6.0 $\times 10^8$			<i>B. fragilis</i>	6.0 $\times 10^8$	6.0 $\times 10^8$
<i>E. avium</i>				1.6 $\times 10^8$			<i>B. distasonis</i>	4.6 $\times 10^8$	2.0 $\times 10^8$
<i>Bacillus</i> sp.				6.0 $\times 10^8$			<i>B. ovatus</i>	4.0 $\times 10^9$	
Enterobacteriaceae				4.0 $\times 10^8$			<i>B. thetaiaotaomicron</i>	6.0 $\times 10^8$	
<i>E. aerogenes</i>	5.5 $\times 10^8$	2.6 $\times 10^8$		2.0 $\times 10^8$			<i>B. vulgaris</i>	1.0 $\times 10^{10}$	1.6 $\times 10^9$
<i>E. coli</i>	6.0 $\times 10^7$						<i>Veillonella</i>	1.1 $\times 10^8$	3.2 $\times 10^8$
<i>C. freundii</i>	1.0 $\times 10^8$						<i>Lactobacillus</i>	1.2 $\times 10^8$	7.0 $\times 10^8$
<i>K. pneumoniae</i>	2.5 $\times 10^8$						<i>Lec</i> (-) <i>Clostridium</i>	1.2 $\times 10^8$	2.0 $\times 10^8$
<i>M. morganii</i>	1.4 $\times 10^8$	1.5 $\times 10^8$		6.0 $\times 10^8$			Total count of anaerobes	7.1 $\times 10^{10}$	5.6 $\times 10^{10}$
<i>C. albicans</i>				2.4 $\times 10^8$			CZOP concentration in feces (μ g/g)	<0.6	<0.6
<i>Candida</i> sp.				2.0 $\times 10^8$			β -Lactamase activity in feces	(+)	(+)
Total count of aerobes	6.6 $\times 10^8$	8.8 $\times 10^8$	3.6 $\times 10^7$	2.4 $\times 10^9$			<i>C. difficile</i> D-1 antigen	(-)	(+)
									500 ng/g 250 ng/g

*Viable cell count per gram of feces, CNS: Coagulase negative staphylococci

Lec (-): Lechithinase-negative

CZOP: cefozopran

Table 7. Fecal microflora, concentration of drug and β -lactamase activity in the feces before, during and after administration of cefozopran

Count of organism*	Case 4				Case 4			
	day of study				day of study			
	1	7	+3	+10	1	7	+3	+10
Aerobes								
<i>S. epidermidis</i>	3.6×10^4				2.8×10^3			
CNS	3.2×10^4				5.0×10^4			
<i>Enterococcus</i> sp.	4.0×10^3	9.6×10^8	9.6×10^8	3.4×10^8	1.6×10^8			
<i>E. faecalis</i>	4.0×10^8	1.8×10^9						
<i>E. faecium</i>	2.0×10^8	3.4×10^8	2.0×10^8	5.6×10^7	2.4×10^5			
<i>E. avium</i>	3.4×10^8	4.4×10^9	7.6×10^8	1.2×10^8	<i>Lactobacillus</i>	1.0×10^3	4.0×10^7	2.6×10^7
<i>Bacillus</i> sp.	8.2×10^7	1.0×10^9			Lec (-) <i>Clostridium</i>	8.8×10^8	1.6×10^7	5.2×10^9
Enterobacteriaceae	2.8×10^8	1.7×10^8	1.4×10^8	5.0×10^7	<i>C. difficile</i>	1.0×10^8	1.7×10^8	1.0×10^8
<i>C. freundii</i>	6.2×10^4	1.6×10^8	1.0×10^8	4.0×10^7	Total count of anaerobes	2.4×10^{10}	3.5×10^{11}	4.1×10^{10}
<i>K. oxytoca</i>	2.2×10^5	1.2×10^7	4.0×10^7	1.0×10^7	CZOP concentration in feces ($\mu\text{g/g}$)	ND	<0.6	<0.6
<i>A. hydrophila</i>					β -Lactamase activity in feces	(+)	(+)	(+)
Total count of aerobes	4.1×10^9	9.9×10^9	1.1×10^9	3.9×10^8	<i>C. difficile</i> D-1 antigen	(2+)	(2+)	(+)
						2,000 ng/g	2,000 ng/g	500 ng/g
								500 ng/g

*Viable cell count per gram of feces, CNS: Coagulase negative staphylococci

Lec (-): Lechithinase-negative

CZOP: cefozopran

Table 8. Fecal microflora, concentration of drug and β -lactamase activity in the feces before, during and after administration of cefozopran

Count of organism*	Case 5			Case 5				
	1	4	7	+4	1	4	7	+4
Aerobes								
CNS	8.0×10^3	3.1×10^8	3.4×10^8	3.6×10^8	1.0×10^{10}	2.2×10^9	2.2×10^9	
<i>Enterococcus</i> sp.	1.2×10^4	3.4×10^8	3.2×10^8	3.6×10^8	<i>Bifidobacterium</i>	4.0×10^9		
<i>E. faecium</i>	2.4×10^7	3.4×10^8	2.8×10^8	1.8×10^7	<i>Eubacterium</i>	6.0×10^7		
<i>E. avium</i>	9.2×10^7	6.0×10^8	6.0×10^8	1.2×10^8	Peptococcaceae			
<i>Bacillus</i> sp.	4.6×10^8	1.1×10^9	2.0×10^8	2.0×10^8	<i>Villonella</i>	1.4×10^7		
Enterobacteriaceae	2.0×10^{10}	8.0×10^8	4.0×10^8	1.6×10^8	Lec (-) <i>Clostridium</i>	1.6×10^8	6.7×10^9	4.0×10^9
<i>C. freundii</i>					<i>C. difficile</i>	4.0×10^6	1.1×10^9	4.0×10^9
<i>E. coli</i>	2.0×10^{10}	1.0×10^9	2.2×10^9	2.0×10^9	Total count of anaerobes	1.0×10^{10}	2.9×10^{10}	2.2×10^{10}
<i>X. malpighii</i>					CZOP concentration in feces ($\mu\text{g/g}$)	ND	<0.6	ND
					β -Lactamase activity in feces	(+)	(+)	(+)
<i>Candida</i> sp.		4.0×10^8	4.0×10^8	2.0×10^8	<i>C. difficile</i> D-1 antigen	(2+)	(2+)	(2+)
Total count of aerobes	2.0×10^{10}	3.2×10^8	3.4×10^8	3.6×10^8	2,000 ng/g	2,000 ng/g	2,000 ng/g	2,000 ng/g

*Viable cell count per gram of feces. CNS: Coagulase negative staphylococci

Lec (-): Lecithinase-negative

CZOP: cefozopran

Table 9. Fecal microflora, concentration of drug and β -lactamase activity in the feces before, during and after administration of cefozopran

Count of organism*	Case 6				Case 6				
	day of study				day of study				
	1	4	8	+4		1	4	8	+4
Aerobes					Anaerobes				
<i>S. aureus</i>					<i>Eubacterium</i>	2.8×10^9	2.0×10^9	1.3×10^7	1.0×10^9
Group D <i>Streptococcus</i>	3.0×10^6				<i>Fusobacterium</i>	8.6×10^6	1.6×10^6	4.0×10^4	5.8×10^6
<i>E. avium</i>	8.0×10^8	1.6×10^6	2.4×10^9	1.1×10^8	<i>Bacteroides fragilis</i> group	1.7×10^6	3.6×10^6	3.2×10^6	1.6×10^{10}
<i>Bacillus</i> sp.					<i>B. fragilis</i>				1.0×10^9
Enterobacteriaceae	8.7×10^6	4.5×10^7	1.2×10^3	2.0×10^5	<i>B. distasonis</i>				
<i>E. coli</i>	8.0×10^6	4.5×10^7	1.2×10^3	2.0×10^5	<i>B. ovatus</i>				
<i>C. freundii</i>	6.0×10^5				<i>B. thetaiotaomicron</i>	1.7×10^6	4.0×10^6	1.6×10^9	4.0×10^9
<i>K. pneumoniae</i>	6.0×10^4	2.0×10^5			<i>B. vulgaris</i>		2.4×10^6		1.0×10^6
<i>Corynebacterium</i> sp.					Peptococcaceae	7.8×10^6	2.0×10^6	4.0×10^7	2.1×10^9
<i>C. albicans</i>					<i>Villonella</i>	3.8×10^6	6.4×10^7	2.2×10^6	1.3×10^6
<i>Candida</i> sp.	9.0×10^6				<i>Lactobacillus</i>	8.0×10^6	8.0×10^6	8.0×10^6	8.0×10^6
Total count of aerobes	1.3×10^7	2.1×10^6	2.4×10^6	1.1×10^8	Lec (-) <i>Clostridium</i>	1.0×10^6	1.2×10^6	3.2×10^6	3.8×10^6
Total count of anaerobes						8.2×10^6	4.1×10^6	6.9×10^6	2.0×10^9
CZOP concentration in feces ($\mu\text{g/g}$)							<0.6	<0.6	<0.6
β -Lactamase activity in feces							(+)	(+)	(+)
<i>C. difficile</i> D-1 antigen							(-)	(2+)	(2+)
								1,000 $\mu\text{g/g}$	1,000 ng/g

*Viable cell count per gram of feces

Lec (-): Lecithinase-negative

CZOP: cefozopran

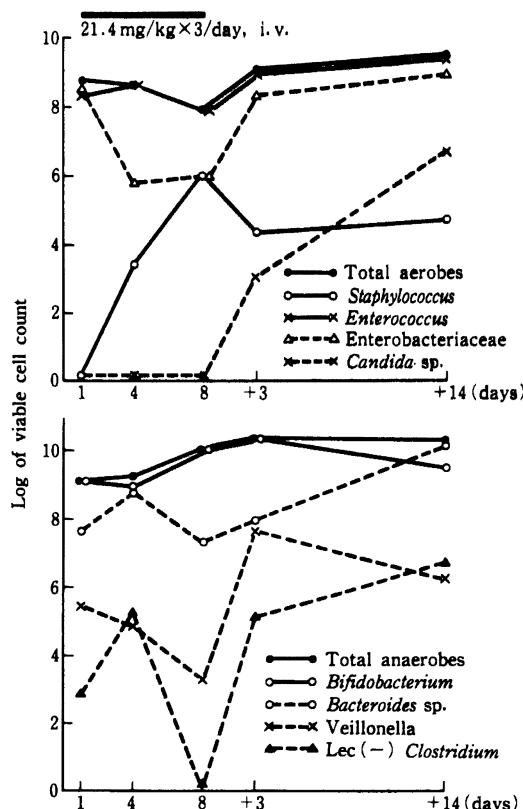


Fig. 2. Changes in viable cells in feces following administration of cefozopran (CZOP) (Case 1, 4 m, ♂).

5で29.6 $\mu\text{g}/\text{g}$ が検出された以外はいずれも低値であった。

糞便中の β -lactamase活性は、すべての症例で投与前、中、後を通じて陽性を示した。

4. 薬剤感受性

各症例の糞便中から分離された菌株のうち、腸内細菌叢を構成する主要菌群である Enterobacteriaceae, Enterococcus, Bacteroides について CZOP の MIC を測定した成績を Table 10 に示した。

CZOP の投与中に残存する菌株は、嫌気性菌に CZOP に対して耐性を示すものが多い傾向が認められたが、好気性菌では *E. coli* や *Klebsiella pneumoniae* など CZOP が低い MIC を示す菌株が残存する症例が多くみられた。CZOP 投与前後における MIC の変動については、症例 1 の *Enterococcus avium* で 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ から >400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と MIC の上昇が認められたが、それ以外の菌種には大きな変動を認めなかつた。

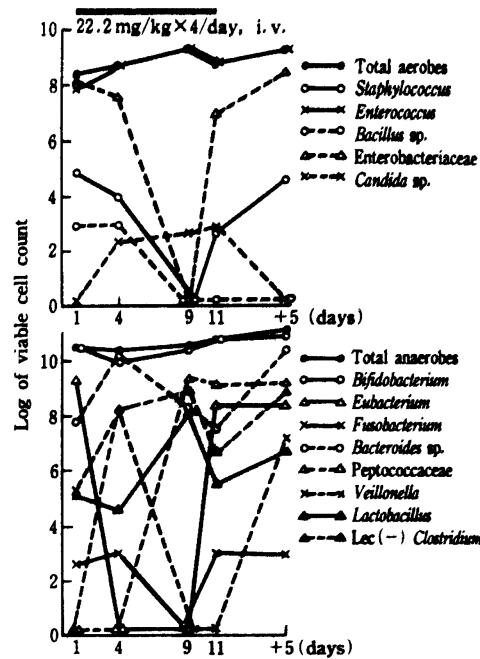


Fig. 3. Changes in viable cells in feces following administration of cefozopran (CZOP) (Case 2, 5 m, ♂).

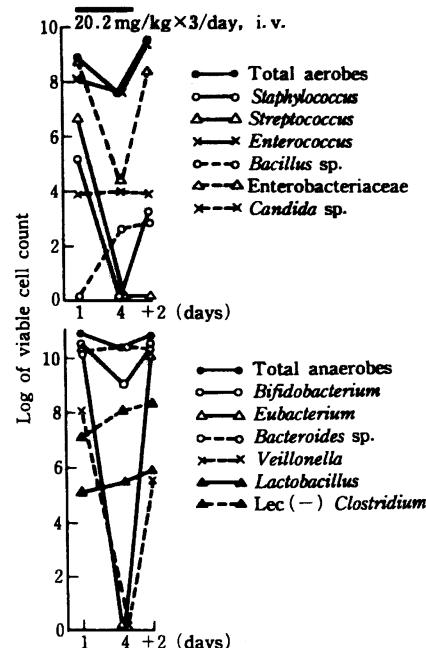


Fig. 4. Changes in viable cells in feces following administration of cefozopran (CZOP) (Case 3, 11 m, ♂).

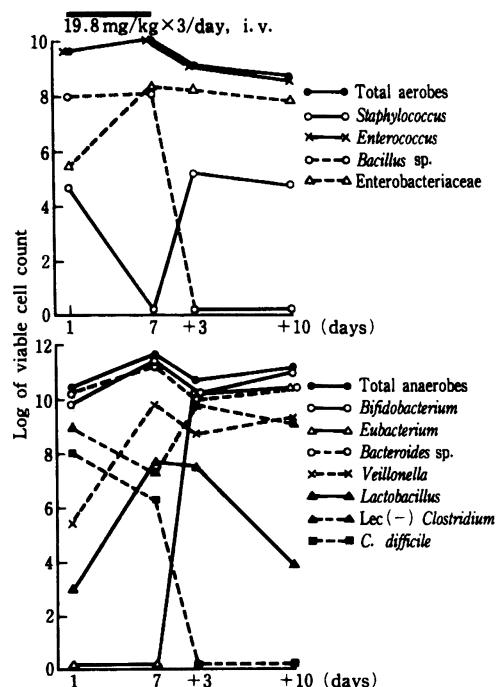


Fig. 5. Changes in viable cells in feces following administration of cefozopran (CZOP) (Case 4, 1 y 3 m, ♂).

III. 考 察

抗生素による腸内細菌叢の変動は抗生素投与中の下痢、菌交代、出血傾向の発現などと関連して大きな問題となっている^{2,4,14)}。抗生素の腸内細菌叢におよぼす影響に関する因子としては、各種臓器への親和性、代謝過程、排泄経路、抗菌力などを考慮する必要があるが、今回検討したCZOPは武田薬品工業株式会社で開発された新しいセファロスポリン系抗生素で、*Staphylococcus*を含むグラム陽性菌から*Pseudomonas aeruginosa*を含むグラム陰性菌に幅広い抗菌スペクトルを有し、各種細菌の産生するβ-lactamaseに安定で、体内では未変化体のまま主として腎臓から排泄されるという特徴を持っており¹⁵⁾、小児の腸内細菌叢にどの程度の影響をおよぼすのか興味の持たれるところである。

今回乳幼児6例にCZOPを投与して検討した結果、小児の腸内細菌叢を構成する主要菌種のうち、Enterobacteriaceaeが投与中に減少する症例が5例認められたが、他の優勢菌種であるEnterococcus、*Bifidobacterium*、*Bacteroides*などでは、*E. faecium*の

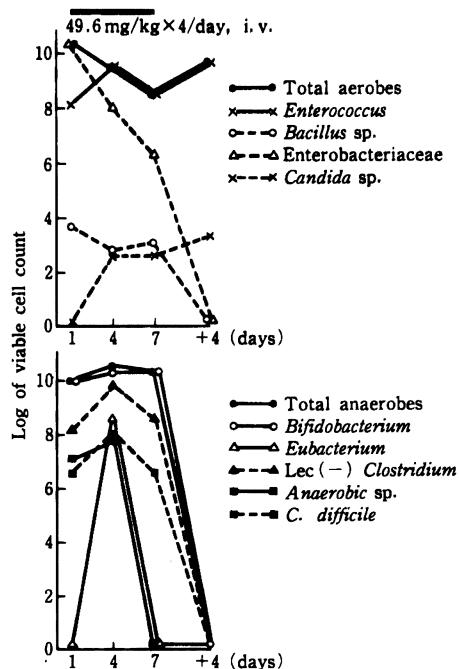


Fig. 6. Changes in viable cells in feces following administration of cefozopran (CZOP) (Case 5, 10 m, ♂).

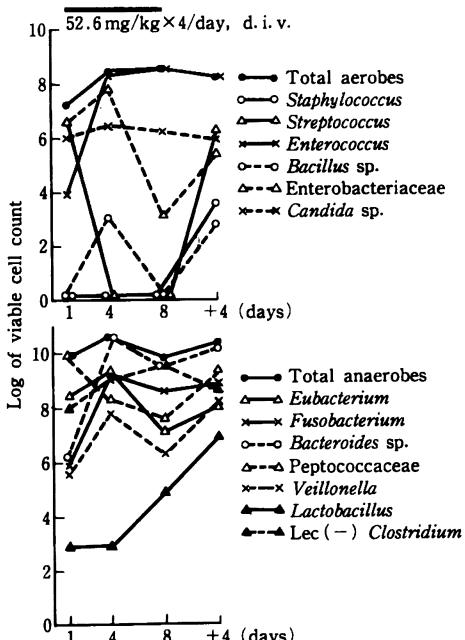


Fig. 7. Changes in viable cells in feces following administration of cefozopran (CZOP) (Case 6, 3 y 2 m, ♂).

Table 10-1. MIC of cefozopran against bacteria isolated in feces before, during and after administration of cefozopran

Case no.	Aerobes (β -Lactamase activity)	MIC of CZOP (μ g/ml) 10 ³ CFU/ml				Anaerobes (β -Lactamase activity)				MIC of CZOP (μ g/ml) 10 ³ CFU/ml			
		before		during		after		before		during		after	
		1	4	8	+3	+14		1	4	8	+3	+14	
1	<i>E. faecalis</i>	12.5	12.5	12.5	6.25	<i>B. distasonis</i>		400					
	<i>E. faecium</i>	100	>400	>400	50	<i>B. thetaiotaomicron</i>							200
	<i>E. avium</i>	>400	>400	>400	12.5	<i>B. fragilis</i>		>400	>400	400			>400
	<i>E. cloacae</i>	0.10		0.05									
	<i>E. coli</i>	0.10	0.10	0.10	0.10								
	<i>K. pneumoniae</i>				0.10								
		1	4	9	11	+5							
2	<i>E. faecalis</i>	12.5	12.5	50	50	<i>B. vulgaris</i>		100		100			100
	<i>E. faecium</i>	12.5	6.25	12.5	6.25	<i>B. distasonis</i>		100		100			100
	<i>E. avium</i>					<i>B. fragilis</i>							
	<i>C. diversus</i>					<i>B. ovatus</i>							
	<i>E. cloacae</i>				0.10								
	<i>E. coli</i>	0.05	0.05										
	<i>K. pneumoniae</i>				0.10								
3	<i>K. oxytoca</i>	0.20	0.20	0.20	0.20								
	<i>P. vulgaris</i>												
		1	4		+2								
	<i>E. faecalis</i>	25	12.5		12.5	<i>B. vulgaris</i>							+2
	<i>E. faecium</i>					<i>B. distasonis</i>							
	<i>E. avium</i>		25			<i>B. thetaiotaomicron</i>							
	<i>C. freundii</i>	0.10				<i>B. fragilis</i>							
	<i>E. aerogenes</i>	0.10				<i>B. ovatus</i>							
	<i>E. coli</i>	0.10											
	<i>K. pneumoniae</i>	0.10	0.10		0.10								
	<i>M. morganii</i>		0.20		0.20								

CZOP: cefozopran

Table 10-2. MIC of cefozopran against bacteria isolated in feces before, during and after administration of cefozopran

Case no.	Aerobes (β -Lactamase activity)	MIC of CZOP (μ g/ml) 10 ⁶ CFU/ml				Anaerobes (β -Lactamase activity)	MIC of CZOP (μ g/ml) 10 ⁶ CFU/ml					
		before		during			before		during			
4	<i>E. faecalis</i>	100	100	7	7	+3	+10			1		
	<i>E. faecium</i>	>400	>400				100			50	+10	
	<i>E. avium</i>	50	50				>400			>400		
	<i>C. freundii</i>	1.56	1.56				25			>400		
	<i>K. oxytoca</i>	0.10	0.10				1.56			>400		
5	<i>E. faecium</i>	1	1	4	4	+4				1	+4	
	<i>E. avium</i>	>400	>400				100			50		
	<i>C. freundii</i>	25	>400				>400			100		
	<i>E. coli</i>	0.05	0.10				0.10			100		
		1	1	4	4	+4				1		
6	<i>E. avium</i>	50	50	50	50		50			100		
	<i>C. freundii</i>	0.10	0.10				<i>B. vulgaris</i>			50		
	<i>E. coli</i>	0.10	0.10				<i>B. disasonis</i>			200		
	<i>K. pneumoniae</i>	0.10	0.10				<i>B. thetaiotaomicron</i>			>400		
		1	1	4	4	+4	<i>B. fragilis</i>			200		
							<i>B. ovatus</i>			400		

CZOP: cefozopran

増加など一部菌属内の変動は認められるものの全体としてはいずれの症例においても大きな変動は認められず、結果として好気性菌総数、嫌気性菌総数に変動の認められた症例はなかった。またブドウ糖非醸酵性グラム陰性桿菌や真菌が優勢菌種となる症例もなく、CZOP 投与中に減少した Enterobacteriaceae や増加した *E. faecium* も、一部の症例を除いて投与終了後には速やかに回復する傾向が認められた。また *C. difficile* は 2 例で、*C. difficile* D-1 抗原は全症例でそれぞれ検出されたが、*C. difficile* が優勢菌種となつた症例はなく、*C. difficile* や *C. difficile* D-1 抗原の消長と便性の間に一定の関係は認められなかつた。これらの成績は CZOP を健康成人に投与した場合¹⁵⁾とほぼ同様の成績であった。

腸内細菌叢の変動と密接な関係があると考えられる糞便中薬剤濃度に関しては、4 例で投与中の糞便から CZOP が検出されたが、1 例で 29.6 $\mu\text{g/g}$ 検出された以外は、1.4~8.8 $\mu\text{g/g}$ と低値であった。この点に関しては、CZOP が腎排泄型の抗生物質で、ヒトにおける 24 時間尿中回収率が約 80~90% と高値であるのに対し、胆汁中には 6 時間までに平均 0.07% が排泄されるのみ^{15,16)}と報告されているように、胆汁中への移行率が新しい注射用セファロスポリン系抗生物質としてはきわめて低く、こうした点が大きく関与しているものと思われる。

一般に新しい注射用セファロスポリン系抗生物質の腸内細菌叢におよぼす影響は大きく、*Enterococcus* を除く主要な好気性菌、嫌気性菌が投与中著明に減少する傾向が強い¹⁷⁾が、今回の成績を比較検討すると、CZOP は新しい注射用セファロスポリン系抗生物質の中では腸内細菌叢におよぼす影響がきわめて少ない薬剤と考えられる。

文 献

- 1) 南里清一郎: 抗生剤経口投与の腸内細菌叢に及ぼす影響。第一編 Germfree マウスを用いた実験的検討。感染症学雑誌 54: 766~779, 1980
- 2) 南里清一郎: 抗生剤経口投与の腸内細菌叢に及ぼす影響。第二編 腸内細菌叢の変動と尿路感染症。感染症学雑誌 54: 780~788, 1980
- 3) 秋田博伸: 各種抗生剤投与による腸内細菌叢の変動。無菌動物を用いた実験。感染症学雑誌 56: 1203~1215, 1982
- 4) 秋田博伸: 各種抗生剤投与による腸内細菌叢の変動。小児科領域にみられる影響について。感染症学雑誌 56: 1216~1224, 1982
- 5) 岩田 敏, 他: Cefixime (CFIX) の腸内細菌叢に及ぼす影響。感染症学雑誌 60: 549~573, 1986
- 6) 岩田 敏, 他: Cefroxadine dry syrup の腸内細菌叢に及ぼす影響。Jap. J. Antibiotics 39: 1967~1974, 1986
- 7) 岩田 敏, 他: Sultamicillin の腸内細菌叢に及ぼす影響。Jap. J. Antibiotics 41: 2012~2034, 1988
- 8) 佐藤吉壮, 石川和夫, 岩田 敏, 秋田博伸, 老川忠雄, 砂川慶介: 小児科領域における Sulbactam/Ampicillin の基礎的検討。Jap. J. Antibiotics 42: 579~597, 1989
- 9) 岩田 敏, 他: Cepipodoxime proxetil の腸内細菌叢に及ぼす影響。Jap. J. Antibiotics 42: 1667~1684, 1989
- 10) 岩田 敏, 他: Cefpirome の腸内細菌叢に及ぼす影響。Jap. J. Antibiotics 44: 62~83, 1991
- 11) 光岡知足: 腸内細菌叢の検索手技。感染症学雑誌 45: 406~419, 1971
- 12) Balows A, Hausler W J, Herrmann K L, Isenberg H D, Shadomy H J: Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D. C., 1991
- 13) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について (1968 年制定, 1974 年改訂)。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 14) 岩田 敏: 抗生剤投与中の腸内細菌叢及び血液凝固系の変動に関する検討。感染症学雑誌 58: 903~920, 1984
- 15) 新薬シンポジウム Cefozopran (CZOP, SCE-2787)。第 40 回日本化学療法学会西日本支部総会, December 4, 1992 (岡山)
- 16) 山本俊夫, 足立幸彦, 長峯保郎, 謙訪雅男, 南野達夫: Cefozopran の臨床第 I 相試験。診療と新薬 30: 281~304, 1993

Influence of cefozopran on intestinal bacterial flora

Satoshi Iwata and Kazuhiko Kawahara

Department of Pediatrics, Kasumigaura National Hospital, Ibaraki, Japan

Eiichi Isohata, Yoshiaki Kin, Takao Yokota

Yutaka Kusumoto, Yoshitake Sato, Hironobu Akita

Seiichiro Nanri and Tadao Oikawa

Department of Pediatrics, Keio University School of Medicine

Keisuke Sunakawa

Department of Pediatrics, The Second Tokyo National Hospital

Cefozopran (CZOP, SCE-2787), a new parenteral cephalosporin antibiotic, was studied for its effect on the intestinal bacterial flora of pediatric patients. The subjects were children admitted for infections (6 males, 4 months to 3 years 2 months old, weight 5.6 to 19.0 kg). CZOP was intravenously administered at a dose from 19.8 to 52.6 mg/kg, 3 to 4 times daily. The feces from these children were collected before, during and after administration, and bacteria were identified and counted. The CZOP concentration, β -lactamase activity and *Clostridium difficile* D-1 antigen were also assayed, and the MICs of various isolated bacteria were measured. Changes of bacterial flora in feces during CZOP administration showed some variation. Among aerobic bacteria, 5 of the 6 cases showed a decrease in Enterobacteriaceae, but no significant change was observed in *Enterococcus*, and as a result, the total count of aerobic bacteria did not show a large change. Regarding anaerobic bacteria, no significant change was observed in *Bifidobacterium* or *Bacteroides*, and the total count of anaerobic bacteria did not show a large change. In no case, were glucose non-fermentative Gram-negative bacilli or fungi dominant. Although *C. difficile* and *C. difficile* D-1 antigen were detected in 2 and all cases, respectively, there was no clear relationship between the number of *C. difficile* and the characteristics of the feces. CZOP was detected in fecal samples from 4 cases during and after administration at concentrations ranging from 1.4 to 29.6 μ g/g. Drug sensitivities of the bacteria isolated from feces did not change before, during and after the administration of CZOP. The above results suggest that CZOP is a drug with an extremely small influence on the intestinal bacterial flora of children among the new parenteral cephalosporin antibiotics.