

新カルバペネム系抗菌薬 biapenem の嫌気性菌に対する抗菌力およびマウス盲腸内細菌叢への影響

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*

新カルバペネム系抗菌薬 biapenem(BIPM)の嫌気性菌に対する *in vitro* 抗菌力を他のカルバペネム系およびセフェム系抗菌薬と比較検討した。BIPM は参考菌株を用いた検討において幅広い抗菌スペクトラムを示し、多くの菌種に対して 0.78 $\mu\text{g/ml}$ 以下の MIC であった。この BIPM の成績は meropenem(MEPM) や imipenem(IPM) にはやや劣るものの、latamoxef(LMOX) や ceftazidime(CAZ) よりは勝っていた。また、インドール陽性の *Bacteroides fragilis* group に対しては BIPM は IPM より優れた抗菌力を示した。新鮮臨床分離株を用いた検討においては、90% の *B. fragilis* に対する BIPM の MIC(MIC₉₀) は 1.56 $\mu\text{g/ml}$ で、MEPM には劣るものの IPM とは同等であった。*Bacteroides thetaiotaomicron* に対する BIPM の MIC₉₀ は 0.78 $\mu\text{g/ml}$ で、使用抗菌薬中最も強い抗菌力を示した。また、BIPM は *Peptostreptococcus* 属に対しては IPM や MEPM には劣る成績であったが、*Mobiluncus* 属や *Clostridium perfringens* に対しては最も優れた抗菌力を有していた。*B. fragilis* の産生する β -ラクタマーゼの内、oxyminocephalosporinase(CXase) I 型に対しては BIPM は酵素学的に安定で、本酵素を産生する菌株に対する MIC は低かった。CXase II 型には他のカルバペネム薬よりは安定であったものの、この酵素を産生する菌株に対する MIC は 200 $\mu\text{g/ml}$ で抗菌力はほとんど認められなかった。本薬剤連続投与によるマウス盲腸内での *Clostridium difficile* の異常増殖の実験では、IPM とほぼ同様に投与終了 1 日目に *C. difficile* の高菌数が認められたが、7 日目には検出菌数は減少した。BIPM は嫌気性菌全体に幅広く、非常に強い *in vitro* 抗菌力を有することから、臨床的にも嫌気性菌感染症に極めて有効であることが示唆された。

Key words: カルバペネム, 嫌気性菌, 抗菌力, *Bacteroides fragilis*, *Clostridium difficile*

Biapenem(BIPM)は日本レダリー株式会社で新たに創製された注射用カルバペネム系抗菌薬である。本薬は 4 β -メチルカルバペネム化合物で、化学名は (-)-6-[[4R,5S, 6S]-2-carboxy-6-[(R)-1-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-1-azabicyclo [3.2.0]hept-2-ene-3-yl]thio-6, 7-dihydro-5H-pyrazolo [1, 2-a] [1, 2, 4]triazol-4-ium hydroxide inner salt である。分子量は 350.40 である。

BIPMはカルバペネム系ではあるが、imipenem(IPM)とは異なり腎デヒドロペプチダーゼ-Iに極めて安定で¹⁾、各種好気性菌に強い抗菌力を有することが報告されている²⁻⁴⁾。しかし、嫌気性菌に対する本薬の抗菌力はほとんど調べられてないことから、著者らは BIPM の嫌気性菌に対する *in vitro* 抗菌力を検討すると同時に、*Bacteroides fragilis* の産生する各種 β -ラクタマーゼに対

する安定性と本薬連続投与によるマウス盲腸内での *Clostridium difficile* の異常増殖の有無を検討した。

I. 材料と方法

1. 使用薬剤

In vitro 実験用の抗菌薬はすべて力価の明らかなものを用いた。抗菌力の検討には BIPM の他に、対照薬として meropenem(MEPM, 住友製薬), imipenem(IPM, 萬有製薬), latamoxef(LMOX, 塩野義製薬), ceftazidime(CAZ, 日本グラクソ)の4薬剤を用いた。 β -ラクタマーゼに対する安定性試験に際しては cephaloridine(CER, 塩野義製薬)も用いた。

2. 使用菌株

参考菌株としては当教室保有の嫌気性菌 12 属, 38 菌株, 46 株および fastidious aerobe の *Gardnerella vaginalis* の 2 株, 新鮮臨床分離株としては 1987 年から 1991 年に分

Table 1. Comparative *in vitro* activity of biapenem and four other agents against reference strains of anaerobic bacteria and *Gardnerella vaginalis*

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	Biapenem	Meropenem	Imipenem	Latamoxef	Ceftazidime
Bacteroides					
<i>B. fragilis</i> GAI 5562	0.39	0.10	0.20	0.78	6.25
<i>B. fragilis</i> ATCC 25285	0.20	0.10	0.05	0.39	12.5
<i>B. fragilis</i> NCTC 10581	0.39	0.20	0.20	0.78	12.5
<i>B. vulgatus</i> ATCC 8482	0.78	0.39	0.39	0.78	12.5
<i>B. distasonis</i> ATCC 8503	0.39	0.20	0.78	1.56	3.13
<i>B. ovatus</i> ATCC 8483	0.78	0.39	0.78	25	100
<i>B. thetaiotaomicron</i> ATCC 29741	0.78	0.39	1.56	12.5	100
<i>B. uniformis</i> GAI 5466	0.39	0.10	0.78	0.39	12.5
<i>B. eggerthii</i> ATCC 27754	0.39	0.10	0.39	0.20	6.25
Prevotalla					
<i>P. oris</i> ATCC 33573	0.10	0.05	≤ 0.025	1.56	1.56
<i>P. bivia</i> ATCC 29303	0.39	0.20	0.10	25	50
<i>P. intermedia</i> ATCC 25611	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	0.10
Fusobacterium					
<i>F. vanium</i> ATCC 8501	0.78	0.20	3.13	6.25	12.5
Veillonella					
<i>V. parvula</i> ATCC 10790	0.20	≤ 0.025	0.39	3.13	6.25
Peptostreptococcus					
<i>P. anaerobius</i> ATCC 27337	0.39	0.20	≤ 0.025	3.13	0.78
<i>P. asaccharolyticus</i> WAL 3218	0.10	≤ 0.025	0.10	0.39	0.78
<i>P. indolicus</i> GAI 0915	≤ 0.025	≤ 0.025	0.10	0.05	0.10
<i>P. magnus</i> ATCC 29328	0.20	0.10	0.10	3.13	6.25
Streptococcus					
<i>S. intermedius</i> ATCC 27735	0.10	0.20	0.10	12.5	3.13
<i>S. parvulus</i> VPI 0546	0.78	0.10	0.10	3.13	12.5
Propionibacterium					
<i>P. acnes</i> ATCC 11828	0.39	0.39	0.05	3.13	6.25
<i>P. granulosum</i> ATCC 25564	0.39	0.20	0.05	3.13	0.78
Eubacterium					
<i>E. lentum</i> ATCC 25559	0.78	0.78	1.56	100	100 <
Mobiluncus					
<i>M. mulieris</i> ATCC 35240	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	0.39	1.56
<i>M. mulieris</i> ATCC 35243	≤ 0.025	≤ 0.025	0.10	0.39	1.56
<i>M. curtisii</i> subsp. <i>curtisii</i> ATCC 35241	0.05	0.10	0.20	1.56	3.13
<i>M. curtisii</i> subsp. <i>holmesii</i> ATCC 35242	≤ 0.025	0.10	0.20	1.56	12.5
Bifidobacterium					
<i>B. bifidum</i> JCM 1255	0.20	0.05	0.05	0.39	0.78
<i>B. breve</i> JCM 1192	3.13	0.78	0.75	6.25	3.13
<i>B. pseudolongum</i> JCM 1205	0.39	0.10	0.78	3.13	0.78
Lactobacillus					
<i>L. acidophilus</i> JCM 1132	0.10	0.20	0.10	25	3.13
<i>L. brevis</i> subsp. <i>brevis</i> JCM 1059	0.20	0.39	0.05	100 <	25
<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i> JCM 1134	0.78	1.56	0.39	100 <	12.5
<i>L. fermentum</i> JCM 1173	0.20	0.20	≤ 0.025	100	100
<i>L. plantarum</i> JCM 1149	0.39	0.10	0.05	100	1.56
<i>L. reuteri</i> JCM 1112	0.39	0.39	0.05	100	25
<i>L. salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i> JCM 1231	0.39	0.78	0.10	50	12.5
Clostridium					
<i>C. clostridiiforme</i> NCTC 11224	0.20	0.10	0.39	1.56	3.13
<i>C. difficile</i> GAI 10029	6.25	3.13	3.13	50	50
<i>C. perfringens</i> ATCC 13124	≤ 0.025	≤ 0.025	0.05	0.05	≤ 0.025
<i>C. ramosum</i> ATCC 25582	0.78	0.78	0.10	3.13	3.13
<i>C. septicum</i> ATCC 12464	0.05	≤ 0.025	0.05	0.78	100
<i>C. sordellii</i> ATCC 9714	0.05	≤ 0.025	0.05	0.78	0.39
Gardnerella *					
<i>G. vaginalis</i> NCTC 10915	0.39	≤ 0.025	0.39	0.78	1.56
<i>G. vaginalis</i> NCTC 10287	0.39	≤ 0.025	0.39	0.76	1.56

* Fastidious facultative anaerobe.

離された嫌気性菌 334 菌株と *G. vaginalis* 21 株を使用した。

3. 最少発育阻止濃度 (MIC) の測定方法

MIC の測定は原則として日本化学療法学会の推奨する方法⁴⁾ に準じて行った。ただし、菌株の前培養は Brucella HK RS 血液寒天培地 (極東製薬) を用いて行い、接種菌液は Anaerobe broth MIC (Difco) を使用して調整した。MIC の測定用培地は *G. vaginalis* では 5% ヒツジ血液 (日本材料センター) および 1% proteose peptone No. 3 (Difco) 添加 Columbia agar (Oxoid)、その他の菌種では 5% ヒツジ溶血血液加 Brucella HK 寒天培地 (極東製薬) を用いたが、*Clostridium* 属ではコロニーの遊走を阻止するために寒天濃度を 3% にして使用した。

接種菌量は 10^6 CFU/ml とした。ただし、参考菌株では 10^8 CFU/ml 接種でも MIC を測定した。

培養は嫌気チェンバー (ヒラサワ) 内で N_2 82%, CO_2 10%, H_2 8% の環境下で 48 時間行った。ただし、*Porphyromonas gingivalis* と *Mobiluncus* 属では 3 日間培養を行った。

4. *B. fragilis* の増殖曲線に及ぼす影響

菌株は *B. fragilis* ATCC 25285 を用いた。抗菌薬は BIPM の他に、対照薬として IPM を用いた。菌株は変法 GAM 寒天培地 (ニッスイ) で 24 時間培養し、Anaerobe broth MIC で一定の濁度の菌液を作成した後、1/4MIC、1MIC、4MIC の濃度に抗菌薬を含む Anaerobe broth MIC と抗菌薬を含まない Anaerobe broth MIC に 10^5 CFU/ml の菌数になるように菌液を接種し、嫌気培養した。その後、2、4、6、8、24 時間後に平板塗布法により生菌数の増減を測定した。

5. *B. fragilis* の産生する β -ラクタマーゼに対する安定性菌株は oxyiminocephalosporinase (CXase) I 型産生菌として GAI 0558、GAI 7955 (cefoxitin 高度耐性株; MIC, 100 μ g/ml)、GAI 10150 (ampicillin 高度耐性株; MIC, 1,600 μ g/ml)、CXase II 型産生菌として GAI 30144 (imipenem 高度耐性株, MIC, 100 μ g/ml) の合計 4 株を用いた。被験菌株は GAM broth (ニッスイ) で 37°C、6 時間嫌気培養後、4°C で冷却遠心 (7,000 rpm, 15 分) し、集菌した。ついで、超音波にて細胞を破砕後、4°C で 10,000 rpm, 10 分遠心し、その上清を粗酵素液として用いた。 β -ラクタマーゼによる薬剤の加水分解速度は基質量を 100 μ M として分光光度法により測定し、cephaloridine (CER) の加水分解率を 100 とした各薬剤の相対加水分解率を求めた。

6. 抗菌薬連続投与によるマウス盲腸内での *C. difficile* の異常増殖

マウスは ddY 系、雄、4 週齢、体重約 20g を各薬剤につき 10 匹ずつ使用した。薬剤投与量は 20mg/kg、1 日 2 回とし、5 日間連続経口投与した。マウス盲腸内容物中の *C. difficile* の菌数測定は投薬終了後、1 日目と 7 日目に *C. difficile* の選択培地である Cycloserine-cefoxitin mannitol agar (CCMA) 培地を用いて行なった。なお、この定量培養の操作はすべて嫌気チェンバー内で行なった。

II. 結 果

1. 抗菌スペクトラム

参考菌株に対する BIPM の抗菌スペクトラムはグラム陰性桿菌、グラム陰性球菌、グラム陽性球菌、グラム陽性無芽胞桿菌および *Clostridium* 属まで幅広く、*Bifidobacterium breve* と *C. difficile* を除く菌種に対し 0.78 μ g/ml 以

Table 2. Antimicrobial activity of biapenem and other agents against β -lactam-resistant *B. fragilis*.

Organism	MIC (μ g/ml)				
	Biapenem	Meropenem	Imipenem	Latamoxef	Ceftazidime
<i>B. fragilis</i> GAI 0558 ^a	0.78	0.39	0.78	6.25	>100
<i>B. fragilis</i> GAI 7955 ^b	1.56	3.13	3.13	>200	>200
<i>B. fragilis</i> GAI 10150 ^c	1.56	3.13	1.56	>200	200
<i>B. fragilis</i> GAI 30144 ^d	200	>200	>200	100	>200

^aMIC of ceftazidime, >200 μ g/ml (oxyiminocephalosporinase type I - producer, Classification of Mituhashi and Inoue).

^bMIC of cefoxitin, 100 μ g/ml.

^cMIC of ampicillin, 1600 μ g/ml (oxyiminocephalosporinase type I - producer).

^dMIC of imipenem, 100 μ g/ml (oxyiminocephalosporinase type II - producer).

下の MIC を示した (Table 1)。

他薬剤との比較では、BIPMは LMOXと CAZより強い抗菌力を有していたが、ほとんどの菌種で MEPMより弱い抗菌力を示した。また、多くの菌種で BIPMは IPMより弱い抗菌力であったが、インドール陽性の *B. fragilis* groupと *Mobiluncus*属の菌種に対しては BIPMは IPMを上回る抗菌力を示した。

β -ラクタマーゼを産生することにより各種の β -lactam系抗菌薬に高度耐性を示す *B. fragilis* 4株に対する抗菌力を検討したところ、CXase II型産生菌である *B. fragilis* GAI 30144 に対しては他の抗菌薬と同様に抗菌力はほとんど認められなかったが、他の3株に対しては 1.56 μ g/ml 以下の MIC を示した (Table 2)。

2. 接種菌量による MIC の変動

Table 3. Comparative *in vitro* activity of biapenem and four other agents against reference strains of anaerobic bacteria with an inoculum size increased to 10^8 CFU per ml

Organism	MIC (μ g/ml)				
	Biapenem	Meropenem	Imipenem	Latamoxef	Ceftazidime
<i>Bacteroides</i>					
<i>B. fragilis</i> GAI 5562	0.78	0.20	0.78	1.56	12.5
<i>B. fragilis</i> GAI 0558	1.56	0.78	6.25	12.5	100 <
<i>B. fragilis</i> NCTC 10581	0.78	0.20	0.78	1.56	12.5
<i>B. vulgatus</i> ATCC 8482	1.56	0.39	1.56	3.13	25
<i>B. distasonis</i> ATCC 8503	1.56	0.20	1.56	3.13	6.25
<i>B. ovatus</i> ATCC 8483	1.56	0.39	1.56	100	100 <
<i>B. thetaiotaomicron</i> ATCC 29741	1.56	0.78	3.13	100	100 <
<i>B. uniformis</i> GAI 5466	0.78	0.20	1.56	0.78	25
<i>B. eggerthii</i> ATCC 27754	0.78	0.20	0.78	1.56	25
<i>Prevotella</i>					
<i>P. oris</i> ATCC 33573	0.20	0.10	0.20	1.56	1.56
<i>P. bivia</i> ATCC 29303	0.78	0.39	0.78	50	50
<i>P. intermedia</i> ATCC 25611	0.20	0.05	0.10	0.39	0.39
<i>Fusobacterium</i>					
<i>F. varium</i> ATCC 8501	1.56	0.20	6.25	6.25	25
<i>Veillonella</i>					
<i>V. parvulus</i> ATCC 10790	0.39	0.20	0.78	6.25	6.25
<i>Peptostreptococcus</i>					
<i>P. anaerobius</i> ATCC 27337	0.39	0.39	0.10	6.25	0.78
<i>P. asaccharolyticus</i> WAL 3218	0.20	≤ 0.025	0.39	0.78	0.78
<i>P. indolicus</i> GAI 0915	0.05	≤ 0.025	0.20	0.10	0.20
<i>P. magnus</i> ATCC 29328	0.78	0.20	0.78	3.13	6.25
<i>Streptococcus</i>					
<i>S. intermedius</i> ATCC 27735	0.39	0.20	0.39	25	3.13
<i>S. parvulus</i> VPI 0546	1.56	0.39	0.39	6.25	25
<i>Propionibacterium</i>					
<i>P. acnes</i> ATCC 11828	1.56	1.56	0.20	6.25	12.5
<i>P. granulosum</i> ATCC 25564	0.78	0.39	0.10	6.25	6.25
<i>Eubacterium</i>					
<i>E. lentum</i> ATCC 25559	1.56	0.78	3.13	100	100 <
<i>Bifidobacterium</i>					
<i>B. bifidum</i> JCM 1255	0.78	0.10	0.20	0.78	3.13
<i>B. breve</i> JCM 1192	12.5	3.13	3.13	25	50
<i>B. pseudolongum</i> JCM 1205	0.78	0.20	1.56	6.25	3.13
<i>Lactobacillus</i>					
<i>L. acidophilus</i> JCM 1132	0.78	0.78	0.39	50	6.25
<i>L. brevis</i> subsp. <i>brevis</i> JCM 1059	0.20	0.78	0.10	100 <	50
<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i> JCM 1134	1.56	3.13	0.78	100 <	25
<i>L. fermentum</i> JCM 1173	0.39	0.39	0.05	100	100 <
<i>L. plantarum</i> JCM 1149	0.78	0.39	0.10	100 <	100
<i>L. reuteri</i> JCM 1112	0.78	0.39	0.39	100	25
<i>L. salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i> JCM 1231	1.56	1.56	0.39	50	25
<i>Clostridium</i>					
<i>C. difficile</i> GAI 10029	25	6.25	25	50	50
<i>C. sordellii</i> ATCC 9714	0.10	0.10	0.10	1.56	0.78

Table 4. Comparative *in vitro* activity of biapenem and four other agents against clinical isolates of anaerobic bacteria and *Gardnerella vaginalis*

Organism (No tested)	Antibiotic	MIC($\mu\text{g/ml}$) ^a		
		Range	50%	90%
<i>Bacteroides fragilis</i> (66)	Biapenem	0.20~100 <	0.39	1.56
	Meropenem	0.10~100 <	0.20	0.78
	Imipenem	0.05~100 <	0.10	1.56
	Latamoxef	0.20~100 <	0.78	25
	Ceftazidime	3.13~100 <	25	100 <
<i>Bacteroides ovatus</i> (8)	Biapenem	0.20~0.78	0.20	0.78
	Meropenem	0.10~0.78	0.10	0.78
	Imipenem	0.20~0.39	0.20	0.39
	Latamoxef	6.25~100 <	12.5	100 <
	Ceftazidime	100 \leftarrow 100 <	100 <	100 <
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> (45)	Biapenem	0.20~1.56	0.20	0.78
	Meropenem	0.20~3.13	0.39	1.56
	Imipenem	0.10~25	0.39	1.56
	Latamoxef	0.78~100 <	6.25	100 <
	Ceftazidime	6.25~100 <	100 <	100 <
<i>Bacteroides distasonis</i> (4)	Biapenem	0.20~1.56	0.20	1.56
	Meropenem	0.10~0.78	0.10	0.78
	Imipenem	0.10~6.25	0.20	6.25
	Latamoxef	12.5~50	25	50
	Ceftazidime	25~100 <	25	100 <
<i>Prevotella intermedia</i> (23)	Biapenem	0.05~0.20	0.10	0.10
	Meropenem	∇ 0.025~0.10	0.05	0.05
	Imipenem	∇ 0.025	∇ 0.025	∇ 0.025
	Latamoxef	0.10~6.25	0.20	3.13
	Ceftazidime	0.10~12.5	0.20	3.13
<i>Prevotella bivia</i> (25)	Biapenem	0.10~0.39	0.20	0.20
	Meropenem	0.05~0.39	0.10	0.20
	Imipenem	∇ 0.025~0.05	∇ 0.025	0.05
	Latamoxef	0.39~25	12.5	25
	Ceftazidime	1.56~100 <	12.5	100
<i>Porphyromonas gingivalis</i> (20)	Biapenem	∇ 0.025~0.10	∇ 0.025	0.05
	Meropenem	∇ 0.025	∇ 0.025	∇ 0.025
	Imipenem	∇ 0.025	∇ 0.025	∇ 0.025
	Latamoxef	∇ 0.025~0.39	0.20	0.39
	Ceftazidime	∇ 0.025~0.39	0.20	0.39
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> (20)	Biapenem	0.10~3.13	0.20	0.20
	Meropenem	∇ 0.025~3.13	0.10	0.10
	Imipenem	∇ 0.025~1.56	∇ 0.025	∇ 0.025
	Latamoxef	1.56~100	3.13	3.13
	Ceftazidime	0.20~12.5	0.39	0.39
<i>Peptostreptococcus magnus</i> (38)	Biapenem	∇ 0.025~0.20	0.10	0.10
	Meropenem	∇ 0.025~0.05	∇ 0.025	∇ 0.025
	Imipenem	∇ 0.025~0.05	∇ 0.025	0.05
	Latamoxef	0.39~1.56	0.78	1.56
	Ceftazidime	0.78~6.25	3.13	6.25
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> (27)	Biapenem	∇ 0.025~0.10	∇ 0.025	0.05
	Meropenem	∇ 0.025	∇ 0.025	∇ 0.025
	Imipenem	∇ 0.025~0.05	∇ 0.025	∇ 0.025
	Latamoxef	∇ 0.025~0.78	0.05	0.78
	Ceftazidime	∇ 0.025~12.5	0.10	6.25
<i>Mobiluncus</i> spp. (18)	Biapenem	∇ 0.025~0.10	0.05	0.10
	Meropenem	∇ 0.025~0.20	0.10	0.20
	Imipenem	∇ 0.025~0.39	0.20	0.39
	Latamoxef	0.20~6.25	1.56	3.13
	Ceftazidime	0.20~50	6.25	50
<i>Clostridium difficile</i> (26)	Biapenem	3.13~12.5	6.25	12.5
	Meropenem	0.78~1.56	0.78	1.56
	Imipenem	1.56~6.25	3.13	6.25
	Latamoxef	12~100 <	100	100 <
	Ceftazidime	12.5~100 <	50	100 <
<i>Clostridium perfringens</i> (14)	Biapenem	∇ 0.025~0.05	∇ 0.025	∇ 0.025
	Meropenem	∇ 0.025	∇ 0.025	∇ 0.025
	Imipenem	∇ 0.025~0.05	0.05	0.05
	Latamoxef	∇ 0.025~0.10	0.05	0.10
	Ceftazidime	∇ 0.025~0.05	∇ 0.025	0.05
<i>Gardnerella vaginalis</i> (21)	Biapenem	0.10~1.56	0.39	0.78
	Meropenem	∇ 0.025~0.78	0.10	0.20
	Imipenem	0.20~0.78	0.39	0.39
	Latamoxef	0.20~12.5	0.78	1.56
	Ceftazidime	1.56~50	3.13	3.13

^a 50% and 90% MICs for 50 and 90% isolates, respectively.^b Fastidious facultative anaerobe.

接種菌量を 10^8 CFU/ml に増やした際、BIPM の MIC が 8 倍以上増加した菌株は使用した 35 株中 *Prevotella intermedia* の 1 株だけであった (Table 3)。同様に 8 倍以上の MIC 値上昇が見られた菌株は MEPM で 1 株、IPM で 6 株、LMOX で 3 株、CAZ で 3 株であった。

3. 臨床分離株に対する抗菌力

新鮮臨床分離株に対する BIPM と比較薬剤の MIC の分布、50% (MIC₅₀) と 90% (MIC₉₀) の菌株に対する MIC 値は Table 4 に示した。

B. fragilis に対しては、BIPM の MIC₉₀ は $1.56 \mu\text{g/ml}$ で、IPM と同等で、MEPM よりは 2 倍弱い抗菌力であった。IPM や MEPM と同様に $>100 \mu\text{g/ml}$ の高い MIC 値を示す

株が 1 株認められた。同じ *B. fragilis* group に属する *B. thetaiotaomicron* に対しては BIPM の MIC₉₀ は $0.78 \mu\text{g/ml}$ で、検討薬剤中最も強い抗菌力を有していた。*Prevotella intermedia* に対しては、IPM と MEPM よりは弱い抗菌力であったが、*Prevotella bivia* に対しては、IPM よりは弱いものの、MEPM とは同等であった。*P. gingivalis* に対しては BIPM の MIC₉₀ は $0.05 \mu\text{g/ml}$ と極めて低い値であったが、IPM と MEPM には劣る成績であった。

グラム陽性菌のうち、グラム陽性球菌である *Peptostreptococcus* 属に対しては、BIPM は IPM と MEPM には劣る成績であったが LMOX と CAZ よりは優れた成績であった。グラム陽性無芽胞桿菌である *Mobiluncus* 属に対し

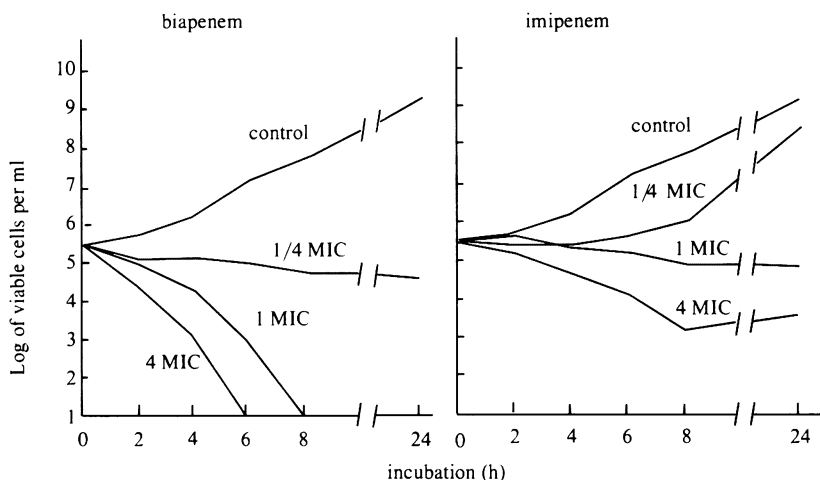


Fig. 1 Killing curves of biapenem and imipenem against *B. fragilis* ATCC 25285. The MICs of biapenem and imipenem against the organism were 0.39 and $0.05 \mu\text{g/ml}$, respectively, by a broth dilution method.

Table 5. Relative resistance of biapenem and other agents to hydrolysis by β -lactamases derived from *B. fragilis*.

Source of β -lactamase	Type ^a	Relative hydrolysis rate ^b					
		Biapenem	Meropenem	Imipenem	Latamoxef	Ceftazidime	Cephaloridine
<i>B. fragilis</i> GAI 0558	CXase ^c type I	0.00	0.00	0.00	0.00	5.08	100.00
<i>B. fragilis</i> GAI 7955	CXase type I	0.00	0.00	0.00	0.00	4.36	100.00
<i>B. fragilis</i> GAI 10150	CXase type I	0.00	0.00	0.00	0.00	1.03	100.00
<i>B. fragilis</i> GAI 30144	CXase type II	27.35	102.41	60.32	43.43	3.89	100.00

^aClassification of Mitsuhashi and Inoue. ^bCephaloridine = 100. ^cOxyminocephalosporinase.

ては BIPM の MIC₉₀ は 0.10 µg/ml で、検討抗菌薬中最も強い抗菌力であった。Clostridium 属の内、Clostridium perfringens に対する BIPM の MIC₉₀ は ≤ 0.025 µg/ml で、MEPM とともに使用薬剤中最も優れた抗菌力を有していた。BIPM の C. difficile に対する MIC₉₀ は 12.5 µg/ml で、IPM と MEPM には劣る成績であった。

グラム陽性通性嫌気性桿菌である G. vaginalis に対しては、BIPM は LMOX と CAZ には勝るものの IPM と MEPM よりは劣っていた。

4. B. fragilis の増殖曲線に及ぼす影響

BIPM は 1/4MIC の薬剤濃度においては静菌的であったが、1 MIC と 4 MIC の薬剤濃度においては殺菌的で、24 時間目においても再増殖は見られなかった (Fig. 1)。一方、IPM においては 4 MIC の濃度で殺菌の効果が認められたが、24 時間目には再増殖が見られた。

5. B. fragilis の産生する β-ラクタマーゼに対する安定性

B. fragilis の産生する CXase I 型に対しては BIPM は MEPM, IPM, LMOX と同様に安定で、今回用いた方法においてはまったく加水分解を受けなかった (Table 5)。一方、GAI 30144 株の産生する CXase II 型の β-ラクタマーゼにより BIPM は加水分解を受けたが、他のカルバペネム系抗菌薬と LMOX よりは安定であった。

6. 抗菌薬連続投与によるマウス盲腸内での C. difficile の異常増殖

BIPM の 5 日間連続投与により、薬剤投与終了 1 日目には盲腸内容物中の C. difficile は 10⁶ CFU/g 以上検出されたが、7 日目には 5 匹中 4 匹は 10³ CFU/g 以下に減少した。これらの成績は IPM とほぼ同様であった。

III. 考 察

嫌気性菌全般に有効な抗菌薬としては従来から clindamycin (CLDM) や metronidazole (MTN) が知られており、欧米ではこれらの薬剤の使用が推奨されている。しかし、我が国においては臨床材料から最も検出頻度の高い B. fragilis group では CLDM 耐性株が約 30% に認められている⁵⁾。したがって、分離菌株の薬剤感受性を調べずに行う empirical therapy に CLDM は使用しにくいのが現状である。また、MTN は欧米とは異なり、我が国においては嫌気性菌の治療薬として認可されていない。

IPM にはじまるカルバペネム系抗菌薬はグラム陽性、グラム陰性、好気性、嫌気性を問わず、幅広い細菌に極めて強い抗菌力を有することを特徴とする⁶⁻¹⁰⁾。このことは、嫌気性菌のみならず、嫌気性菌感染症で多く見られる嫌気性菌と好気性菌の混合感染に対し、カルバペネム系抗菌薬は CLDM や MTN とは異なり単独で empirical therapy に使用することが可能であることを示唆するものである。

新しく創製されたカルバペネム系抗菌薬 BIPM は、今回の成績でも示されているように、IPM に匹敵する抗菌力を有していた。ことに、従来から β-ラクタム薬には感受性の低いインドール陽性の B. thetaiotaomicron と B. ovatus に対しては IPM に勝る抗菌力を持つことは BIPM の一つの特徴と言えよう。また、B. fragilis における殺菌曲線の検討では、BIPM は IPM とは異なり 1MIC 以上の濃度において菌の再増殖が 24 時間目でも見られず、本抗菌薬の強い殺菌効果が証明された。

カルバペネム系抗菌薬耐性機構の一つとしてメタロβ-ラクタマーゼの産生が重要であると考えられている

Table 6. Emergence of Clostridium difficile in mouse caecum contents after the 5 days dosing of biapenem, imipenem, and clindamycin

Antimicrobial ^a	Route	Days after completing administration	No. of C. difficile (colony forming units/g of caecum content)						
			< 10 ²	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷
Biapenem	s.c. ^b	1-day					4	1	
		7-day		1	3		1		
Imipenem	s.c.	1-day	1	1				2	1
		7-day		3	2				
Clindamycin	s.c.	1-day	5						
		7-day					2	3	
Control (no drug)	s.c.	1-day	5						
		7-day	5						

^a Five mice (ddy strain) received each antimicrobial at a dose of 20 mg/kg twice a day for 5 days.

^b Subcutaneously.

が¹¹⁾、BIPMは他のカルバペネム系抗菌薬と同様に本酵素には不安定で、この酵素を産生する *B. fragilis*には抗菌力は及ばなかった。しかし、カルバペネム系抗菌薬耐性 *B. fragilis* groupの出現は国内外において報告されてはいるが、我が国における耐性菌の出現率は4%以下で¹²⁾、現在のところ、カルバペネム系抗菌薬を使用する上で耐性菌は大きな問題とはなっていないと思われる。

本薬剤連続投与による腸内フローラの乱れから生じると考えられる *C. difficile*の異常増殖をマウスをモデルとして検討したが、今回の成績は既存のカルバペネム系抗菌薬である IPM とほぼ同様の成績であった。このことは少なくともマウスを用いた系の実験からは、BIPMはIPMと同程度に腸内フローラの変動に起因すると考えられる *C. difficile*の異常増殖に注意を払う必要があることが示唆された。

以上、新カルバペネム系抗菌薬である BIPMは嫌気性菌に対し、幅広く極めて強い抗菌力を有していることから、各種嫌気性菌感染症に有効性を発揮する可能性が強く示唆された。

文 献

- Hikida M, Kasashima K, Nishiki K, Furukawa Y, Nishizawa K, Saito I and Kuwao S: Renal dehydropeptidase - I stability of LJC 10,627, a new carbapenem antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* 36: 481~483, 1992
- Ubukata K, Hikida M, Yoshida M, Nishiki K, Furukawa Y, Tashiro K, Konno M and Mitsuhashi S: *In vitro* activity of LJC 10,627, a new carbapenem antibiotic with high stability to dehydropeptidase - I. *Antimicrob. Agents Chemother.* 34: 994~1000, 1990
- Petersen P J, Jacobus N V, Weiss W J and Testa R T: *In vitro* and *in vivo* activities of LJC 10,627, a new carbapenem with stability to dehydropeptidase - I. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35: 203~207, 1991
- 嫌気性菌 MIC 測定検討委員会 (委員長小酒井望): 嫌気性菌の最少発育阻止濃度 (MIC)測定法. *Chemotherapy* 23(3): 559~560, 1979
- 宮内正幸, 石戸利貞, 加藤直樹, 渡辺邦友, 上野一恵: 嫌気性無芽胞グラム陰性菌の薬剤感受性分布およびその年次変遷. *Chemotherapy* 37: 1229~1244, 1989
- 朝日良成, 渡辺邦友, 今朝洞忠孝, 上野一恵: Imipenem/cilastatin sodium(MK-0787/MK0791)の嫌気性菌に対する抗菌力. *Chemotherapy* 33(S-4): 54~73, 1985
- 井上邦雄, 浜名洋子, 三橋進: Panipenemの細菌学的評価. *Chemotherapy* 39(S-3): 1~13, 1991
- 渡辺邦友, 武藤吉徳, 加藤直樹, 坂東香お里, 田中保知, 上野一恵: 新カルバペネム系抗生物質 panipenemの嫌気性菌に対する抗菌作用. *Chemotherapy* 39(S-3): 46~54, 1991
- 五島瑳智子, 宮崎修一, 金子康子: 新カルバペネム系薬剤 meropenemの細菌学的評価. *Chemotherapy* 40(S-1): 16~29, 1992
- 加藤直樹, 田中保知, 坂東香お里, 武藤吉徳, 渡辺邦友, 上野一恵: 新カルバペネム系抗生物質 meropenemの嫌気性菌に対する抗菌力. *Chemotherapy* 40(S-1): 41~49, 1992
- Livermore DM: Carbapenemases: The next generation of β - lactamases? *ASM news* 59(3): 129~1135, 1993
- Watanabe K, Ueno K, Kato N, Muto Y, Bandoh K, Tanaka Y, Jotwani R, Goto M, Shimada K, Shimizu K, Goto S and Hara K: *In vitro* susceptibility of clinical isolates of *Bacteroides fragilis* and *Bacteroides thetaiotaomicron* in Japan. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 11: 1069~1073, 1992

The *in vitro* activity of biapenem, a new carbapenem, against anaerobic bacteria

Naoki Katoh, Haru Katoh, Yasunori Tanaka, Kaori Tanaka - Bandoh,
Kunitomo Watanabe, and Kazue Ueno

Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University School of Medicine,
40 Tukasa - machi, Gifu 500, Japan

The *in vitro* activity of biapenem (BIPM), a new carbapenem, was studied against anaerobic bacteria in comparison with other carbapenems and cepheems. BIPM had broad spectrum against reference strains of anaerobes, inhibiting many anaerobic bacterial strains at 0.78 $\mu\text{g/ml}$ or less. This activity of BIPM was less than those of meropenem and imipenem but more than those of latamoxef and ceftazidime. BIPM was more active than imipenem against indole - positive *Bacteroides fragilis* group organisms. In the study using recent clinical isolates, the MIC of BIPM for 90% of *B. fragilis* (MIC₉₀) was 1.56 $\mu\text{g/ml}$; the activity of BIPM was comparable to that of imipenem but less than that of meropenem. BIPM was the most active against *Bacteroides thetaiotaomicron*, with an MIC₉₀ of 0.78 $\mu\text{g/ml}$. BIPM was less active than imipenem and meropenem against *Peptostreptococcus* spp. but the most active against *Mobiluncus* spp. and *Clostridium perfringens*. BIPM was stable against hydrolysis of oxyimino - cephalosporinase type I derived from *B. fragilis* and was active against oxyiminocephalosporinase type I - producing strains. Although BIPM was more stable than any other carbapenems tested against hydrolysis of oxyiminocephalosporinase type II, BIPM had little activity against oxyiminocephalosporinase type II - producing strains. These strong *in vitro* activity of BIPM against a variety of anaerobic bacteria suggests that BIPM would be a potent antimicrobial agent for the treatment of anaerobic bacterial infections.