

固相に付着した細菌に対する biapenem の *in vitro* 抗菌力

三宅洋一郎・杉中秀壽
広島大学歯学部口腔細菌学講座*

藤原政治・碓井 亞
広島大学医学部泌尿器科学講座

バイオフィルムを形成した細菌が抗菌薬に対し著しく抵抗性であることはよく知られている。また、バイオフィルムを形成する以前の単に固相に付着した細菌も抗菌薬の殺菌作用に抵抗性を示す。従って、抗菌薬の評価を行う場合付着した細菌に対する抗菌力をも測定する必要がある。そこで、新しく開発されたカルバペネム系抗生物質 biapenem(BIPM)の固相に付着した細菌に対する抗菌力の測定を imipenem(IPM), panipenem(PAPM) および meropenem(MEPM) を対照に用いて行った。

BIPMは *Staphylococcus aureus* に対する MIC^{AD} (付着した状態での MIC) はやや高いものの、MBC^{AD} (付着した状態での MBC) は IPM と同等の値であった。 *Staphylococcus epidermidis* に対しては IPM に次ぐ、 *Streptococcus pneumoniae* に対しては PAPM に次ぐ低い MBC^{AD} を示した。

Pseudomonas aeruginosa に対し BIPM は 4 剤のカルバペネム中最も低い MBC^{AD} を示した。 *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens* および *Escherichia coli* に対しては MEPM よりやや高いものの、IPM および PAPM より明らかに低い MBC^{AD} を示した。

以上の結果は BIPM が付着した細菌にも有効なカルバペネムであることを強く示唆している。

Key words: カルバペネム, 抗菌力

バイオフィルムを形成した細菌は浮遊細菌に比べ抗菌薬に対する感受性が著しく低下することはよく知られているが、その機構は未だ解明されるにはいたっていない¹⁾。我々は固相に単に付着することによっても抗菌薬に対する、特にその殺菌力に対する感受性が低下することを報告した²⁾。この事実は抗菌薬は付着した細菌に対しても十分な抗菌力を有している必要があることを示している。したがって、付着した細菌に対する抗菌力の測定は、従来行われている浮遊細菌に対する抗菌力の測定に加え、抗菌薬の評価に必要と思われる。

Biapenem(BIPM)は日本レダリー株式会社で開発された新しいカルバペネム剤である³⁾。そこでこの薬剤の付着した細菌に対する抗菌力の測定を行った。

I. 材料と方法

1. 使用抗菌薬

BIPM のほか対照として imipenem(IPM, 萬有製薬), panipenem(PAPM, 三共), meropenem(MEPM, 住友製薬)

を使用した。抗菌薬はすべて純品を使用した。

2. 使用菌株

使用した菌株はすべて臨床分離株で、 *Staphylococcus aureus* 20 株 (MRSA 8 株を含む), *Staphylococcus epidermidis* 19 株 (MRCNS 10 株を含む), *Streptococcus pneumoniae* 16 株, *Enterobacter cloacae* 20 株, *Serratia marcescens* 16 株は日本歯科大学より分与されたもの、 *Pseudomonas aeruginosa* 18 株, *Escherichia coli* 18 株は広島大学医学部附属病院泌尿器科での分離株を使用した。

3. 抗菌力の測定

96 ウェルマルチウェル・プレートに付着した菌に対する抗菌力の測定を行った²⁾。

Trypticase soy broth (*S. pneumoniae* のみ Brain heart infusion broth) にて前培養した菌を 2×10^6 /ml になるようリン酸緩衝生理食塩水 (PBS, pH7.4) に懸濁し、その 50μ l (10^5 /well) を 96 穴組織培養用平底プレート (#3072, Falcon) に分注した。これを $400 \times g$ で 10 分間遠心、 $37^\circ C$ で 1 時

* 〒734 広島市南区霞一丁目二番三号

であり、この比より高い値を示す株は BIPM で 6 株、IPM で 8 株、PAPM で 8 株、MEPM で 6 株であった。

S. pneumoniae に対しては PAPM が最も優れた値を示し、IPM がそれに続いていた (Fig. 3)。BIPM は MEPM とほぼ同等の抗菌力であった。*S. pneumoniae* に対する BIPM の MBC/MIC₅₀ 比は 1(0.016/0.016) であり、この比より高い

値を示す株は BIPM で 9 株、IPM で 8 株、PAPM で 9 株、MEPM で 13 株であった。

E. cloacae に対し BIPM は IPM、PAPM に比べ MBC^{AD}、MIC^{AD} いずれにおいても優れた値を示した (Fig. 4)。しかし、MEPM に比べるとやや劣る値であった。*E. cloacae* に対する BIPM の MBC/MIC₅₀ 比は 32(8/0.25) であり、こ

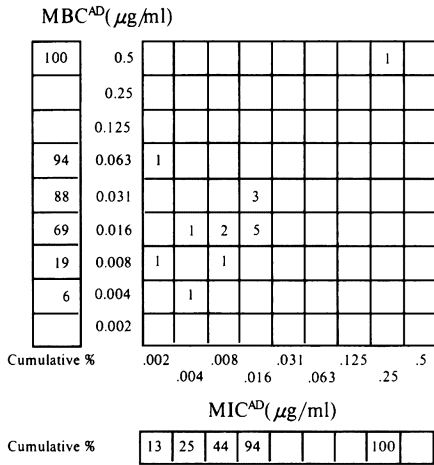


Fig. 3-a MIC^{AD} and MBC^{AD} of biapenem for *S. pneumoniae*

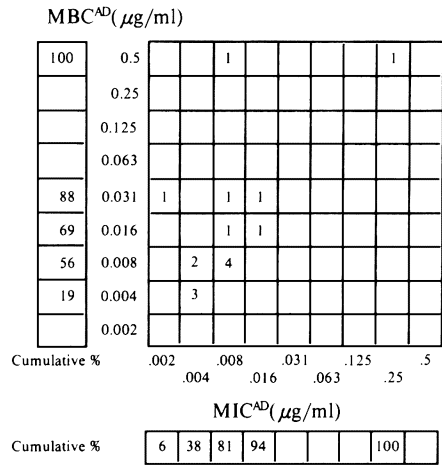


Fig. 3-b MIC^{AD} and MBC^{AD} of imipenem for *S. pneumoniae*

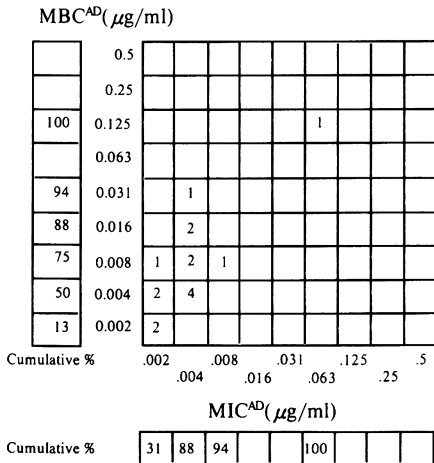


Fig. 3-c MIC^{AD} and MBC^{AD} of panipenem for *S. pneumoniae*

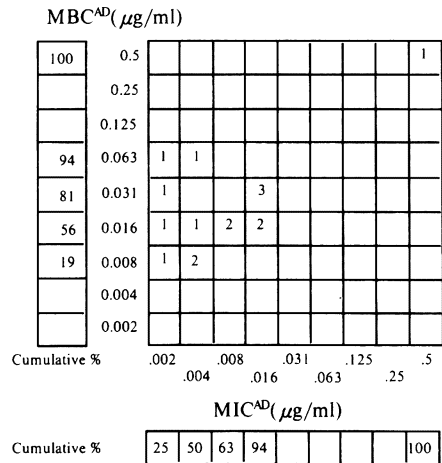


Fig. 3-d MIC^{AD} and MBC^{AD} of meropenem for *S. pneumoniae*

の比より高い値を示す株は BIPM で 9 株, IPM で 9 株, PAPM で 11 株, MEPM で 13 株であった。

S. marcescens に対しては MEPM が最も優れた値を示した。BIPM は IPM, PAPM と比較するとはるかに低い MBC^{AD} , MIC^{AD} を示した。*S. marcescens* に対する BIPM の MBC/MIC_{50} 比は 64(16/0.25) であり, この比より高い

値を示す株は BIPM で 6 株, IPM で 12 株, PAPM で 14 株, MEPM で 14 株であった。

Fig. 6 に *P. aeruginosa* の結果を示す。BIPM は IPM, PAPM と比較し低い MBC^{AD} , MIC^{AD} を示した。また, MEPM とほぼ同等の値であったが, MBC^{AD} が 1024 $\mu\text{g/ml}$ を越える株は BIPM では 1 株であったが, MEPM では 3

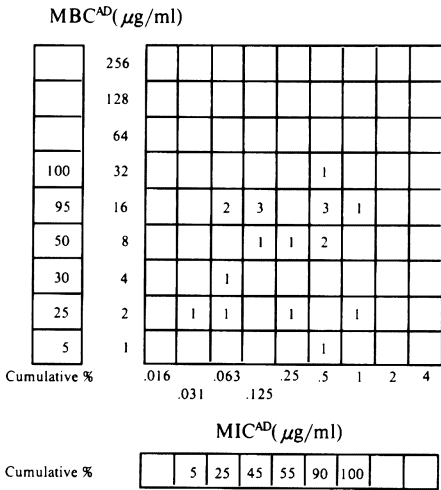


Fig. 4-a MIC^{AD} and MBC^{AD} of biapenem for *E. cloacae*

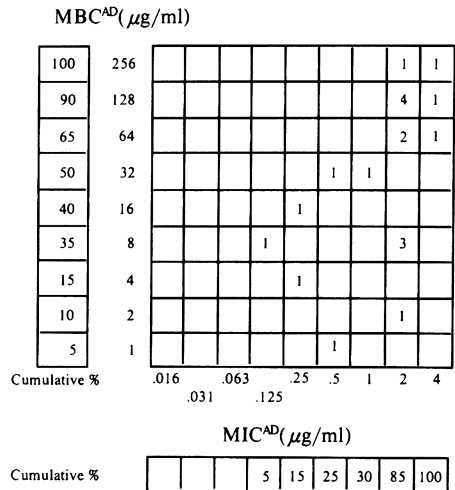


Fig. 4-b MIC^{AD} and MBC^{AD} of imipenem for *E. cloacae*

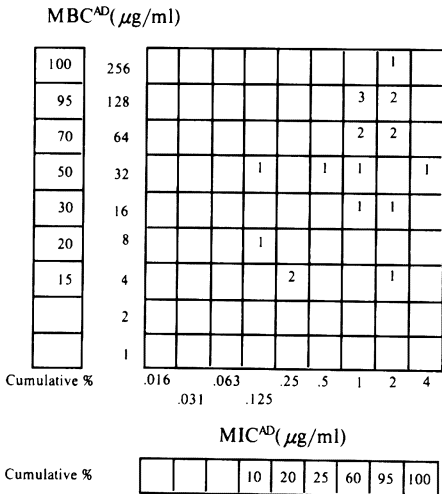


Fig. 4-c MIC^{AD} and MBC^{AD} of panipenem for *E. cloacae*

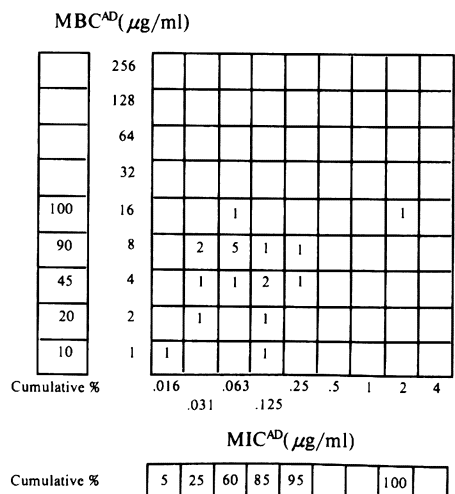


Fig. 4-d MIC^{AD} and MBC^{AD} of meropenem for *E. cloacae*

株であった。*P. aeruginosa*に対する BIPMの MBC/MIC₅₀比は 64(64/1)であり、この比より高い値を示す株は BIPMで7株、IPMで11株、PAPMで11株、MEPMで5株であった。

*E. coli*に対してはMEPMがMBC^{AD}、MIC^{AD}共に最も優れた値を示した。BIPMはIPM、PAPMと比較すると

はるかに低いMBC^{AD}、MIC^{AD}を示した。*E. coli*に対する BIPMの MBC/MIC₅₀比は 128(8/0.063)であり、この比より高い値を示す株は BIPMで6株、IPMで10株、PAPMで11株、MEPMで8株であった。

III. 考 察

浮遊菌を用いて測定した通常の MIC でみると BIPMは

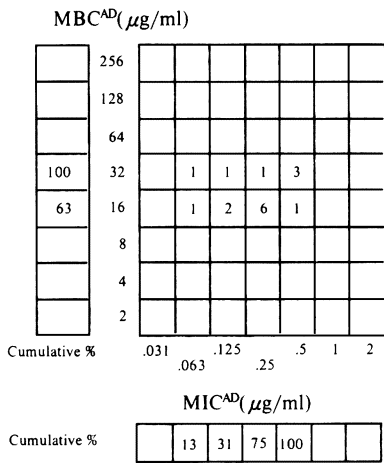


Fig. 5-a MIC^{AD} and MBC^{AD} of biapenem for *S. marcescens*

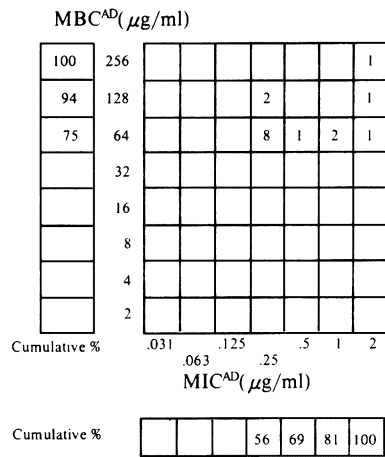


Fig. 5-b MIC^{AD} and MBC^{AD} of imipenem for *S. marcescens*

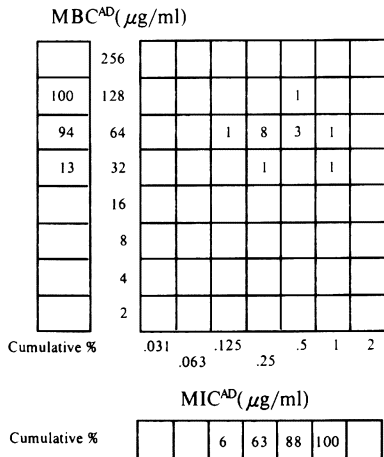


Fig. 5-c MIC^{AD} and MBC^{AD} of panipenem for *S. marcescens*

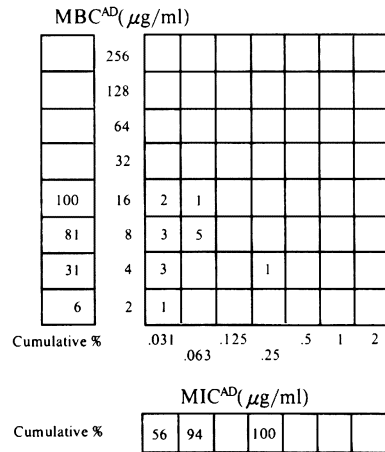


Fig. 5-d MIC^{AD} and MBC^{AD} of meropenem for *S. marcescens*

*S. aureus*に対しIPMよりやや劣る抗菌力と報告されている³⁾。付着した状態で測定したMIC^{AD}においても他の3剤にやや劣る結果であったが、MBC^{AD}ではPAPMにつきIPMとほぼ同等の殺菌力を示した。*S. epidermidis*に対しては4剤ほぼ同程度の殺菌力であり、その中ではIPMがやや低いMBC^{AD}を示した。*S. pneumoniae*に対しては

PAPMがやや低いMBC^{AD}を示し、他の3剤はほぼ同程度であった。MBC^{AD}/MIC^{AD}の比においてBIPMは*S. aureus*, *S. epidermidis*に対してはMEPMと並び最も低く、*S. pneumoniae*に対してはIPMにつきPAPMと同等であった。BIPMはブドウ球菌属に対しては、グラム陰性菌に対してと同様に優れた殺菌力を有していると思わ

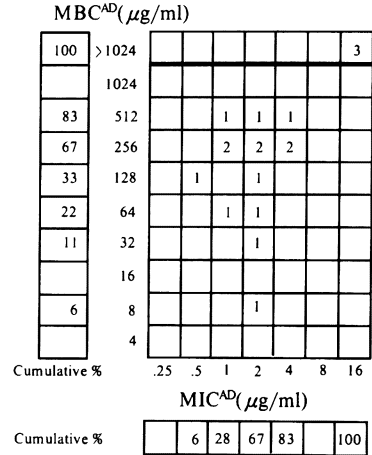
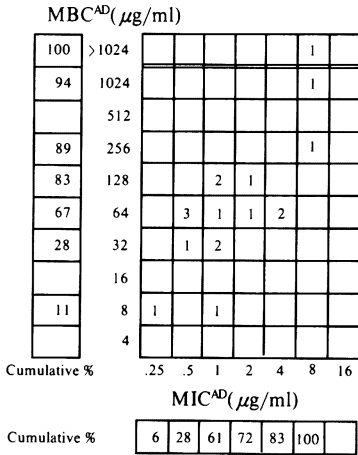


Fig. 6-a MIC^{AD} and MBC^{AD} of biapenem for *P. aeruginosa*

Fig. 6-b MIC^{AD} and MBC^{AD} of imipenem for *P. aeruginosa*

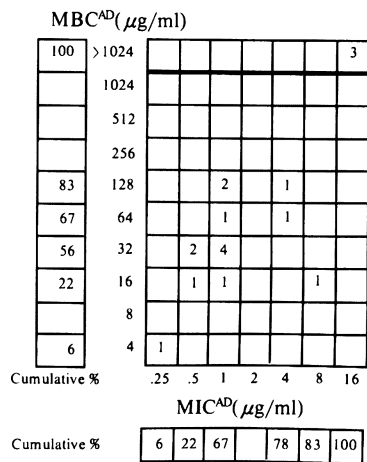
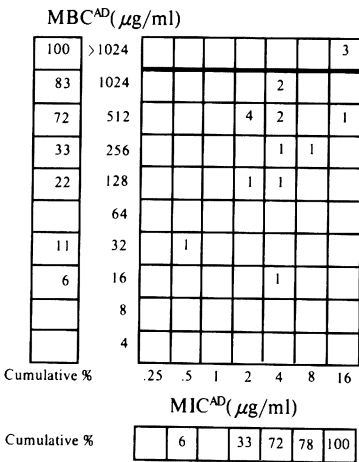


Fig. 6-c MIC^{AD} and MBC^{AD} of panipenem for *P. aeruginosa*

Fig. 6-d MIC^{AD} and MBC^{AD} of meropenem for *P. aeruginosa*

BIPMはIPMより低く、MEPMよりやや高い90% MBC^{AD} であり、通常のMICでの評価より *in vivo*での効果を期待させる結果となった。

MBC^{AD}/MIC^{AD} の比で見た場合BIPMは *E. cloacae*, *S. marcescens*, *E. coli*に対し4剤中最も低い値を、*P. aeruginosa*に対してはMEPMにつぐ低い値を示した。基準値としてBIPMの MBC/MIC_{50} 比という便宜上の値を用いたとはいえ、この結果はBIPMが付着した細菌に優れた殺菌力を有することを示唆している。

以上、BIPMの付着した細菌に対する優れた効果が証明されたものであり、BIPMが臨床においても優れた抗菌剤になり得ることを示唆している。

文 献

- 1) Costerton J W, Cheng K - J, Geesey G G, Ladd T I, Nichel J C, Dasgupta M and Marrie T J: Bacterial biofilm in nature and disease. *Annu Rev Microbiol* 41: 435~464, 1987
- 2) Miyake Y, Fujiwara S, Usui T and Suginata H: Simple method for measuring the antibiotic concentration required to kill adherent bacteria. *J Antimicrob Chemother. (Basel)* 38: 286~290, 1992
- 3) Catchpole C R, Wise R, Thornber D and Andress J M: *In vitro* activity of L - 627, a new carbapenem. *Antimicrob Agents Chemother* 36: 1928~1934, 1992

In vitro antibacterial activity of biapenem against adherent bacteria

Yoichiro Miyake, Seiji Fujiwara, Tsuguru Usui and Hidekazu Suginata

Department of Microbiology, Hiroshima University School of Dentistry

and Department of Urology, Hiroshima University School of Medicine

1 - 2 - 3 Kasumi, Minami - ku, Hiroshima 734, Japan

Biofilm bacteria are highly resistant to antibiotics. Moreover, bacteria simply adhered to a solid surface, before forming a biofilm, are also resistant to a killing effect of antibiotics. It is, hence, of importance to know antibacterial activity against adherent bacteria when evaluate antibiotics *in vitro*. We studied antibacterial activity of biapenem(BIPM), a newly developed carbapenem, to bacteria adherent to a solid surface.

BIPM demonstrated the same MBC^{AD} (MBC for adherent bacteria) as IPM for *Staphylococcus aureus*, though the MIC^{AD} (MIC for adherent bacteria) was higher than that of IPM. BIPM showed excellent but slightly higher MBC^{AD} than IPM for *Staphylococcus epidermidis*, and slightly higher MBC^{AD} than PAMP for *Streptococcus pneumoniae*. For *Pseudomonas aeruginosa*, BIPM demonstrated the lowest MBC^{AD} among four carbapenems. For *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens* and *Escherichia coli*, BIPM showed MBC^{AD} slightly higher than MEPM but far lower than IPM and PAMP.

Results obtained in this study suggest that BIPM is a potent carbapenem even against adherent bacteria.