

Panipenem/betamipronの *in vitro* および *in vivo* 抗菌力について

西野武志・福岡 隆・本村琢哉・西口由美子・大槻雅子  
京都薬科大学微生物学教室\*

新しいカルバペネム系抗生物質panipenem (PAPM) とその腎毒性軽減剤betamipron (BP) の合剤であるpanipenem/betamipron (PAPM/BP) の細菌学的評価をimipenem (IPM), ceftazidime (CAZ), flomoxef (FMOX), cefuzonam (CZON), cefotiam (CTM), gentamicin (GM) およびpiperacillin (PIPC) を比較薬として検討した。

PAPMはグラム陽性菌, 陰性菌および嫌気性菌に対して幅広い抗菌スペクトラムを示した。各種臨床分離株に対する抗菌力はIPMとほぼ同等で, メチシリン感受性*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae*, *Acinetobacter calcoaceticus* および*Branhamella catarrhalis* に対するMIC<sub>90</sub>は1.56μg/ml以下であった。メチシリン耐性*S. aureus*に対するMIC<sub>50</sub>は1.56μg/mlで比較薬中最も優れていた。*Pseudomonas aeruginosa*に対するMIC<sub>50</sub>およびMIC<sub>90</sub>はそれぞれ6.25および12.5μg/mlでIPMに比べて約4倍劣っていた。

PAPMの抗菌力は培地 pH, 接種菌量, 血清またはBPの添加の影響をほとんど受けなかった。

増殖曲線に及ぼす影響ではIPMとほぼ同様の薬剤濃度に応じた強い殺菌効果を示し, 定常期初期の菌に対しても殺菌的に作用した。*E. coli*のpenicillin-binding proteins (PBPs) に対してPAPMは, 2, 1A, 1Bs, の順に強い親和性を示した。薬剤作用時の菌の形態変化を微分干渉顕微鏡で観察したところ菌の膨化や球形化が見られ, 2~4 MIC以上で溶菌像も多く認められた。

マウス腹腔内感染症に対して, PAPM/BPはグラム陽性菌感染で使用薬剤中最も優れた治療効果を示し, *P. aeruginosa*を含むグラム陰性菌に対してもimipenem/cilastatin (IPM/CS) と同等の優れた治療効果を示した。

**Key words** : Panipenem/betamipron, Panipenem, MIC, 殺菌作用, 感染治療効果

Panipenem/betamipron (PAPM/BP) は三共株式会社で開発されたカルバペネム系抗生物質panipenem (PAPM) とその腎毒性軽減剤betamipron (BP) を重量比1 : 1に配合した注射用抗生物質である。PAPMは化学名を(+)-(5R, 6S)-3-[(S)-1-(acetimidoylpyrrolidin-3-yl) thio]-6-[(R)-1-hydroxyethyl]-7-oxo-1-azabicyclo[3,2,0]hept-2-ene-2-carboxylic acidといい, 分子式C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S, 分子量339.42で水に溶解性の白色ないし微黄褐色の粉末である。BPは化学名を3-benzoylaminopropionic acidといい, 分子式C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>, 分子量193.20で水に難溶性の

白色の結晶性粉末である。PAPMの安全性を高めるため, 腎毒性軽減剤として配合される<sup>1)</sup>。

今回, 我々はPAPMおよびPAPM/BPの*in vitro* および*in vivo* 抗菌力について, imipenem (IPM), ceftazidime (CAZ), flomoxef (FMOX), cefuzonam (CZON), cefotiam (CTM), gentamicin (GM) およびpiperacillin (PIPC) を比較薬として検討したので報告する。

## I. 実験材料および実験方法

### 1. 使用菌株

教室保存の標準菌株であるグラム陽性菌18株, グラ

ム陰性菌33株, 嫌気性菌11株および臨床由来のメチシリン (DMPPC) 感受性 *Staphylococcus aureus* 73株, DMPPC耐性 *S. aureus* (DMPPCに対するMICが12.5  $\mu\text{g/ml}$ 以上の株) 35株, *Staphylococcus epidermidis* 27株, *Streptococcus pyogenes* 34株, *Streptococcus pneumoniae* 20株, *Enterococcus faecalis* 29株, *Enterococcus avium* 14株, *Enterococcus faecium* 30株, *Escherichia coli* 52株, *Citrobacter freundii* 32株, *Klebsiella pneumoniae* 51株, *Enterobacter cloacae* 22株, *Enterobacter aerogenes* 24株, *Serratia marcescens* 53株, *Proteus vulgaris* 27株, *Proteus mirabilis* 27株, *Morganella morganii* 26株, *Providencia rettgerii* 16株, *Pseudomonas aeruginosa* 54株, *Haemophilus influenzae* 23株, *Acinetobacter calcoaceticus* 27株および *Branhamella catarrhalis* 10株を使用した。

## 2. 使用薬剤

PAPM (三共), PAPMとBP (三共) の1:1の割合であるPAPM/BP, IPM (萬有製薬), cilastatin sodium (CS, 萬有製薬), CAZ (日本グラクソ), FMOX (塩野義製薬), CZON (武田薬品), CTM (武田薬品), PIPC (富山化学) およびGM (エッセクス日本) のいずれも力価の明らかなものを使用した。

## 3. 感受性試験測定方法

前培養にトリプトソイブイオン (TSB, ニッスイ), 測定用にハートインフュージョン寒天培地 (HIA, ニッスイ) を用い, 日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法<sup>2)</sup>に基づき行った。ただし, *Streptococcus* 属および *Corynebacterium diphtheriae* には10%ウマ脱繊維血液加HIA培地を, *B. catarrhalis* には10%ウマ脱繊維血液加ハートインフュージョン・チョコレート寒天培地を感受性測定に用い, *H. influenzae* には3% Fildes enrichment (Difco) 加TSBおよびHIAを前培養および測定に用いた。また, *Neisseria* 属は前培養および測定に10%ウマ脱繊維血液加ハートインフュージョン・チョコレート寒天培地を用い37°C, 48時間ローソク培養した。嫌気性菌の感受性測定は日本化学療法学会嫌気性菌MIC測定法<sup>3)</sup>に従い, 前培養にGAMブイオン (ニッスイ), 感受性測定にGAM寒天培地 (ニッスイ) を用いてanaerobic system (N<sub>2</sub>:80%, CO<sub>2</sub>:10%, H<sub>2</sub>:10%) で培養し行った。

## 4. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす培地 pH, ウマ血清添加および接種菌量の影響について, 教室保存の標準株であるグラム陽性菌3株, グラム陰性菌12株を被検菌として調べた。培地 pHはpH 5.5, 7.0および8.5のHIAを用い, また血清添加による影響はウマ血清をHIAに10, 25および50

%添加してMICを測定した。接種菌量の影響については, 約10<sup>6</sup>, 10<sup>6</sup>, 10<sup>7</sup>および10<sup>8</sup>cells/mlの菌を接種した時のMICを測定した。

## 5. 増殖曲線に及ぼす影響

TSBで37°C, 18時間前培養した *S. aureus* 209-P JC, *E. coli* K-12, *K. pneumoniae* KC-1, *S. marcescens* T-55, *P. aeruginosa* E-2, *A. calcoaceticus* AC54および *B. catarrhalis* NNBR5の各菌液をHeart infusion broth (HIB, ニッスイ) で10<sup>-3</sup>~10<sup>-4</sup>倍に希釈し, 振盪培養を行った。約2~5時間後の対数増殖期中期の菌液を同培地で希釈し約10<sup>6</sup>cells/mlに調整後, 薬剤を作用させ1, 2, 4時間後の生菌数の測定を行った。なお, *B. catarrhalis* NNBR5の培養はHIBに10%の割合でウマ血清を加えて行った。

薬剤作用時の菌の増殖速度の影響を調べるため *S. aureus* 209-P JCおよび *P. aeruginosa* E2について上記と同様にして振盪培養した菌液において, 対数増殖期から定常期にかけての菌数が異なる時点で4MIC相当量の薬剤を作用させ, それぞれについて薬剤作用1, 2, 4時間後の生菌数の測定を行った。

## 6. 微分干渉顕微鏡による菌の形態変化の観察

*E. coli* K-12, *K. pneumoniae* KC-1, *S. marcescens* T-55, *A. calcoaceticus* AC54および *P. aeruginosa* E-2をHIBにて対数増殖期中期に達するまで振盪培養し, その菌液を1白金耳カバーグラスに塗抹して, これをスライドグラス上のPAPMを含ませたフィルム状のHIAにかぶせ, 周囲をパラフィンで封入した。この標本を37°Cで培養し, 1, 2, 3および4時間後に微分干渉顕微鏡 (OPTIPHOTO XF-NT, Nikon) で菌の形態を観察した。

## 7. Penicillin-binding proteins (PBPs) に対する親和性の検討

Sprattの方法<sup>4)</sup>に準じて, *E. coli* K-12の膜画分を調整し, [<sup>14</sup>C] benzylpenicillin ([<sup>14</sup>C] PCG) との競合試験により親和性を検討した。X線フィルム上の [<sup>14</sup>C] PCGの感光度はDualwavelength TLC scanner 90 (Shimazu Co.) で測定し, この値から50%阻害濃度を求めた。

## 8. マウス実験的腹腔内感染症に対する治療効果

Nutrient broth (NB, ニッスイ) で37°C, 18時間培養した *S. aureus* Smith, *E. coli* KC-14, *K. pneumoniae* KC-1, *S. marcescens* T-55, *P. aeruginosa* E-2, *P. aeruginosa* KA-5および *A. calcoaceticus* AC54を15mlのNBに1白金耳接種し, さらに37°C, 14時間振盪培養した後, 同培地で希釈し6% gastric mucinと等量混合したものを接種菌液とした。 *S. pyogenes* C-203および *S. pneumoniae* type IIIは10%ウマ血清添加

HIBで37℃, 18時間静置培養した菌液を8mlの同培地に1白金耳接種し, さらに37℃, 14時間静置培養した後にHIBで希釈したものを接種菌液とした。このように調整した菌液をそれぞれ1群10匹のddY系雄性マウス(体重18±1g)の腹腔内に0.5ml接種し, 感染を惹起した。治療には感染2時間後に1回, 薬剤0.2mlを皮下投与した。その後7日間生死の観察を行い, Probit法<sup>5)</sup>によりED<sub>50</sub>値を算出した。

## II. 実験結果

### 1. 抗菌スペクトラム

教室保存のグラム陽性菌, グラム陰性菌および嫌気性菌に対する感受性について検討した結果をTable 1~3に示した。

グラム陽性菌群に対してはTable 1に示したように, PAPMの抗菌力(MIC)は $\leq 0.006 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$ を示し, CAZ, FMOX, CZONおよびCTMよりも優れており, IPMとほぼ同等であった。PAPM/BPはPAPMと同等の抗菌力を有し, BP配合の影響を全く受けなかった。

グラム陰性菌群に対してはTable 2に示したようにMICは $\leq 0.006 \sim 12.5 \mu\text{g/ml}$ でグラム陽性菌群の場合と同様にIPMと同様の幅広い抗菌力を示した。しかし, *P. aeruginosa* に対してはIPMよりも若干抗菌力が劣っていた。他の抗菌剤と比較して, 特に*C. freundii*, *Enterobacter*属および*Hafnia alvei*に対する抗菌力が優れていた。また, PAPM/BPはPAPMと同等の抗菌力を示した。

嫌気性菌群に対してはTable 3に示したようにMICは0.012~6.25 $\mu\text{g/ml}$ でIPMとほぼ同等の抗菌力を示し, 比較薬に比べて優れていた。また, BPの配合により抗

菌力は影響を受けなかった。

### 2. 臨床分離株に対する感受性分布

臨床由来の19菌種に対する累積分布および感受性分布をTable 4に示した。

#### 1) DMPPC感受性*S. aureus*の場合

PAPMのMIC<sub>50</sub>は0.05 $\mu\text{g/ml}$ , MIC<sub>90</sub>は0.10 $\mu\text{g/ml}$ で, その抗菌力はIPMよりも約2倍劣っていたが他の比較薬より優れていた。

#### 2) DMPPC耐性*S. aureus* (MRSA) の場合

PAPMは0.10~50 $\mu\text{g/ml}$ と幅広い感受性分布を示したが, MIC<sub>50</sub>は1.56 $\mu\text{g/ml}$ で, 使用薬剤中最も優れた抗菌力を示した。

#### 3) *S. epidermidis*の場合

PAPMは $\leq 0.006 \sim 25 \mu\text{g/ml}$ と幅広い感受性分布を示したが, MIC<sub>50</sub>は0.025 $\mu\text{g/ml}$ で, その抗菌力はIPMと同等で他の比較薬より優れていた。

#### 4) *S. pyogenes*の場合

PAPMのMIC<sub>90</sub>は $\leq 0.006 \mu\text{g/ml}$ で, その抗菌力はIPMと同等で他の比較薬より優れていた。

#### 5) *S. pneumoniae*の場合

PAPMのMIC<sub>90</sub>は $\leq 0.006 \mu\text{g/ml}$ で, 使用薬剤中最も優れた抗菌力を示した。

#### 6) *E. faecalis*の場合

PAPMは0.39~3.13 $\mu\text{g/ml}$ と幅の狭い感受性分布を示し, MIC<sub>50</sub>は0.78 $\mu\text{g/ml}$ で, その抗菌力はIPMと同等で他の比較薬よりはるかに優れていた。

#### 7) *E. avium*の場合

PAPMは0.78~50 $\mu\text{g/ml}$ と幅広い分布を示したものの, その抗菌力はIPMと同等で他の比較薬よりはるか

Table 1. Antibacterial spectrum of gram-positive bacteria(10<sup>6</sup> cells/ml)

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )						
	panipenem	panipenem/ betamipron	imipenem	ceftazidime	flomoxef	cefuzonam	cefotiam
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	$\leq 0.006$	0.012	$\leq 0.006$	6.25	0.2	0.39	0.2
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	0.012	0.012	0.012	6.25	0.39	0.39	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	0.012	0.025	0.025	12.5	0.39	0.78	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> Neumann	0.012	0.025	0.012	12.5	0.39	0.78	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	0.012	0.012	0.012	6.25	0.2	0.39	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 80	0.012	0.012	0.012	6.25	0.2	0.39	0.39
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.025	0.025	0.025	12.5	0.78	3.13	1.56
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	0.012	0.39	0.2	0.012	0.05
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	$\leq 0.006$	0.012	0.012	0.39	0.39	0.025	0.1
<i>Enterococcus faecalis</i>	6.25	6.25	3.13	>100	25	>100	>100
Viridans group <i>Streptococcus</i>	6.25	6.25	3.13	>100	25	>100	>100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type I	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	0.012	0.39	0.2	0.012	0.2
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type II	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	0.012	0.78	0.2	0.025	0.2
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type III	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	0.025	0.39	0.2	0.025	0.2
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	0.025	0.05	0.025	50	0.39	1.56	1.56
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC9341	$\leq 0.006$	0.012	0.012	0.39	0.05	0.012	0.2
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	0.012	3.13	0.2	0.2	0.2
<i>Bacillus anthracis</i>	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	0.012	100	0.39	12.5	3.13

Table 2. Antibacterial spectrum of gram-negative bacteria( $10^6$  cells/ml)

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )						
	panipenem	panipenem/ betamipron	imipenem	ceftazidime	flomoxef	cefuzonam	cefotiam
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	0.012	$\leq 0.006$	0.05	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$
<i>Neisseria meningitidis</i>	0.012	$\leq 0.006$	0.025	$\leq 0.006$	0.025	$\leq 0.006$	0.012
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	0.05	0.05	0.05	0.2	0.05	0.1	0.1
<i>Escherichia coli</i> NIH	0.1	0.1	0.2	0.1	0.05	0.012	0.05
<i>Escherichia coli</i> K-12	0.1	0.1	0.2	0.05	0.025	0.012	0.05
<i>Escherichia coli</i> KC-14	0.1	0.1	0.1	0.1	0.05	0.1	0.1
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	0.2	0.2	0.2	0.39	0.78	0.05	0.78
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.025	0.05	0.05	0.05	0.012	0.012	0.025
<i>Salmonella typhi</i> O-901	0.05	0.05	0.1	0.05	0.025	0.012	0.05
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.1	0.1	0.2	0.05	0.025	0.025	0.05
<i>Salmonella paratyphi</i> B	0.1	0.1	0.1	0.05	0.025	0.025	0.05
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.2	0.1	0.78	0.1	0.05	0.05	0.05
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.025	0.025	0.05	0.2	0.05	0.1	0.1
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.05	0.05	0.05	0.1	0.05	0.05	0.05
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.05	0.05	0.05	0.1	0.025	0.05	0.05
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.05	0.1	0.1	0.05	0.025	0.05	0.05
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	0.1	0.1	0.2	0.05	0.05	0.05	0.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	0.78	0.78	0.39	0.05	0.05	0.05	0.1
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	0.2	0.2	0.39	3.13	100	0.78	25
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	0.2	0.2	0.2	3.13	100	0.78	12.5
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	0.2	0.2	0.39	3.13	0.39	0.78	25
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	0.2	0.2	0.2	0.1	0.39	0.39	25
<i>Serratia marcescens</i> T-55	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	1.56
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	0.78	0.39	0.78	0.025	0.39	$\leq 0.006$	6.25
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	1.56	0.78	1.56	0.025	0.2	$\leq 0.006$	0.1
<i>Morganella morganii</i> Kono	0.78	0.78	1.56	1.56	6.25	0.39	6.25
<i>Providencia rettgeri</i> NIH 96	0.2	0.2	0.39	$\leq 0.006$	0.025	>100	$\leq 0.006$
<i>Proteus inconstans</i> NIH 118	0.78	0.39	0.78	6.25	0.1	0.39	3.13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC 10490	0.78	0.78	0.39	0.2	>100	0.39	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IAM 1095	0.78	0.78	0.39	0.39	>100	0.39	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	1.56	1.56	0.78	1.56	>100	100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NC-5	12.5	12.5	12.5	0.39	>100	1.56	>100
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211	0.2	0.2	1.56	0.05	0.2	$\leq 0.006$	0.39

Table 3. Antibacterial spectrum of anaerobic bacteria( $10^6$  cells/ml)

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )						
	panipenem	panipenem/ betamipron	imipenem	ceftazidime	flomoxef	cefuzonam	cefotiam
<i>Clostridium tetani</i>	0.025	0.05	0.1	6.25	0.05	0.39	0.2
<i>Clostridium perfringens</i>	0.05	0.1	0.1	3.13	0.78	1.56	6.25
<i>Clostridium sporogenes</i>	0.1	0.1	0.2	50	0.39	1.56	0.78
<i>Bacteroides fragilis</i> GM 7000	0.39	0.39	0.78	12.5	3.13	25	100
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25282	0.39	0.39	0.39	12.5	3.13	12.5	>100
<i>Peptostreptococcus magnus</i> ATCC 14952	0.025	0.025	0.025	0.39	0.1	0.1	0.78
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> ATCC 14953	0.012	0.012	0.012	1.56	0.1	0.2	0.1
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> 5600	0.78	0.78	0.78	>100	100	>100	>100
<i>Bacteroides distasonis</i> Clin-99-3	6.25	6.25	3.13	100	25	25	>100
<i>Bacteroides vulgatus</i> ES-14	0.78	0.78	0.78	100	1.56	100	100
<i>Bacteroides ovatus</i> JU-6-1	0.39	0.39	0.39	100	50	50	>100

に優れていた。

#### 8) *E. faecium*の場合

PAPMは0.20~>100 $\mu\text{g/ml}$ と幅広い感受性分布を示したが、その抗菌力はIPMと同等で他の比較薬より優れていた。

#### 9) *E. coli*の場合

PAPMは0.05~0.39 $\mu\text{g/ml}$ と幅の狭い感受性分布を示し、MIC<sub>90</sub>は0.10 $\mu\text{g/ml}$ 、MIC<sub>90</sub>は0.20 $\mu\text{g/ml}$ で、IPMよりも約2倍優れ他の比較薬とほぼ同等であった。

#### 10) *C. freundii*の場合

Table 4. Comparative activities of panipenem and other antibiotics tested against clinical isolates

Organism	Drug	Range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
methicillin-sensitive <i>Staphylococcus aureus</i> (73)	panipenem	≦ 0.006 ~ 12.5	0.05	0.10
	imipenem	≦ 0.006 ~ 12.5	0.025	0.05
	ceftazidime	1.56 ~ >100	6.25	25
	flomoxef	0.10 ~ 50	0.39	1.56
	cefuzonam	0.10 ~ 25	0.39	1.56
	cefotiam	0.10 ~ 100	0.78	1.56
	methicillin	0.78 ~ 6.25	1.56	3.13
methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (35)	panipenem	0.10 ~ 50	1.56	50
	imipenem	0.05 ~ 100	3.13	50
	ceftazidime	25 ~ >100	100	>100
	flomoxef	0.78 ~ 100	6.25	50
	cefuzonam	0.39 ~ >100	50	>100
	cefotiam	1.56 ~ >100	50	>100
	methicillin	12.5 ~ >100	100	>100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (27)	panipenem	≦ 0.006 ~ 25	0.025	25
	imipenem	≦ 0.006 ~ 25	0.012	25
	ceftazidime	3.13 ~ 100	12.5	50
	flomoxef	0.39 ~ 50	0.78	25
	cefuzonam	0.10 ~ 50	0.78	12.5
	cefotiam	0.20 ~ 3.13	0.39	1.56
<i>Streptococcus pyogenes</i> (34)	panipenem	≦ 0.006 ~ 0.012	≦ 0.006	≦ 0.006
	imipenem	≦ 0.006 ~ 0.012	≦ 0.006	≦ 0.006
	ceftazidime	0.05 ~ 0.20	0.10	0.20
	flomoxef	0.20 ~ 0.78	0.20	0.20
	cefuzonam	≦ 0.006 ~ 0.012	≦ 0.006	0.012
	cefotiam	0.025 ~ 0.10	0.05	0.05
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (20)	panipenem	≦ 0.006 ~ 0.012	≦ 0.006	≦ 0.006
	imipenem	≦ 0.006 ~ 0.025	≦ 0.006	0.012
	ceftazidime	0.012 ~ 1.56	0.20	1.56
	flomoxef	≦ 0.006 ~ 0.20	0.10	0.20
	cefzonam	≦ 0.006 ~ 0.10	≦ 0.006	0.05
	cefotiam	≦ 0.006 ~ 0.39	0.10	0.10
<i>Enterococcus faecalis</i> (29)	panipenem	0.39 ~ 3.13	0.78	1.56
	imipenem	0.39 ~ 1.56	0.78	1.56
	ceftazidime	100 ~ >100	>100	>100
	flomoxef	6.25 ~ >100	100	>100
	cefuzonam	6.25 ~ >100	50	>100
	cefotiam	25 ~ >100	100	>100
<i>Enterococcus avium</i> (14)	panipenem	0.78 ~ 50	0.78	25
	imipenem	0.78 ~ 50	0.78	12.5
	ceftazidime	>100 ~ >100	>100	>100
	flomoxef	100 ~ 100	100	100
	cefuzonam	>100 ~ >100	>100	>100
	cefotiam	50 ~ >100	50	>100
<i>Enterococcus faecium</i> (30)	panipenem	0.20 ~ >100	3.13	12.5
	imipenem	0.20 ~ >100	3.13	12.5
	ceftazidime	>100 ~ >100	>100	>100
	flomoxef	12.5 ~ >100	50	100
	cefuzonam	12.5 ~ >100	>100	>100
	cefotiam	25 ~ >100	>100	>100

Table 4. continued-1

Organism	Drug	Range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>Escherichia coli</i> (52)	panipenem	0.05 ~ 0.39	0.10	0.20
	imipenem	0.05 ~ 0.78	0.20	0.39
	ceftazidime	0.05 ~ 0.39	0.10	0.20
	flomoxef	0.05 ~ 0.39	0.05	0.10
	cefuzonam	≤0.006 ~ 0.39	0.05	0.20
	cefotiam	0.025 ~ 0.39	0.05	0.20
<i>Citrobacter freundii</i> (32)	panipenem	0.10 ~ 0.39	0.20	0.20
	imipenem	0.20 ~ 0.78	0.39	0.39
	ceftazidime	0.10 ~ >100	0.39	>100
	flomoxef	0.10 ~ >100	6.25	>100
	cefuzonam	0.10 ~ 50	0.20	50
	cefotiam	0.20 ~ >100	3.13	>100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (51)	panipenem	0.10 ~ 0.78	0.20	0.39
	imipenem	0.20 ~ 1.56	0.39	0.78
	ceftazidime	0.05 ~ 1.56	0.10	0.39
	flomoxef	0.05 ~ 0.20	0.10	0.10
	cefuzonam	0.025 ~ 100	0.10	0.20
	cefotiam	0.05 ~ 3.13	0.20	0.39
<i>Enterobacter cloacae</i> (22)	panipenem	0.10 ~ 1.56	0.20	0.39
	imipenem	0.10 ~ 0.78	0.20	0.39
	ceftazidime	0.10 ~ 3.13	0.20	0.78
	flomoxef	0.20 ~ >100	12.5	100
	cefuzonam	0.05 ~ 3.13	0.39	1.56
	cefotiam	0.20 ~ >100	3.13	50
<i>Enterobacter aerogenes</i> (24)	panipenem	0.10 ~ 1.56	0.20	0.78
	imipenem	0.20 ~ 0.78	0.39	0.78
	ceftazidime	0.05 ~ 100	0.20	25
	flomoxef	0.39 ~ >100	25	100
	cefuzonam	0.10 ~ 100	0.39	12.5
	cefotiam	0.20 ~ >100	6.25	>100
<i>Serratia marcescens</i> (53)	panipenem	0.10 ~ 1.56	0.20	0.78
	imipenem	0.10 ~ 1.56	0.20	0.78
	ceftazidime	0.10 ~ 12.5	0.39	1.56
	flomoxef	0.20 ~ >100	0.78	25
	cefuzonam	0.20 ~ 50	0.78	3.13
	cefotiam	1.56 ~ >100	25	>100
<i>Proteus vulgaris</i> (27)	panipenem	0.10 ~ 1.56	0.78	1.56
	imipenem	0.10 ~ 3.13	1.56	3.13
	ceftazidime	0.05 ~ 0.78	0.10	0.20
	flomoxef	0.10 ~ 0.78	0.20	0.39
	cefuzonam	≤0.006 ~ 100	0.10	0.78
	cefotiam	0.10 ~ >100	0.39	>100
<i>Proteus mirabilis</i> (27)	panipenem	0.20 ~ 3.13	1.56	3.13
	imipenem	0.78 ~ 6.25	3.13	3.13
	ceftazidime	0.05 ~ 0.20	0.10	0.10
	flomoxef	0.10 ~ 0.20	0.20	0.20
	cefuzonam	≤0.006 ~ 0.39	0.10	0.39
	cefotiam	0.10 ~ 0.78	0.39	0.78

Table 4. continued-2

Organism	Drug	Range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>Morganella morganii</i> (26)	panipenem	0.39 ~ 1.56	0.78	1.56
	imipenem	0.39 ~ 3.13	1.56	3.13
	ceftazidime	0.05 ~ 25	0.10	3.13
	flomoxef	0.20 ~ >100	0.78	12.5
	cefuzonam	0.025 ~ 6.25	0.10	6.25
	cefotiam	0.20 ~ >100	0.78	100
<i>Providencia rettgeri</i> (16)	panipenem	0.10 ~ 0.78	0.39	0.78
	imipenem	0.10 ~ 1.56	0.39	0.78
	ceftazidime	≤ 0.006 ~ 1.56	0.39	1.56
	flomoxef	0.025 ~ 0.78	0.10	0.78
	cefuzonam	≤ 0.006 ~ 3.13	0.20	3.13
	cefotiam	0.012 ~ 50	1.56	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (54)	panipenem	1.56 ~ 25	6.25	12.5
	imipenem	0.39 ~ 3.13	1.56	3.13
	ceftazidime	0.78 ~ 12.5	3.13	6.25
	flomoxef	>100 ~ >100	>100	>100
	cefuzonam	12.5 ~ >100	50	50
	cefotiam	>100 ~ >100	>100	>100
<i>Haemophilus influenzae</i> (23)	panipenem	≤ 0.006 ~ 3.13	0.78	1.56
	imipenem	≤ 0.006 ~ 6.25	1.56	3.13
	ceftazidime	0.05 ~ 12.5	0.10	1.56
	flomoxef	0.10 ~ 0.78	0.78	0.78
	cefuzonam	≤ 0.006 ~ 1.56	≤ 0.006	0.20
	cefotiam	0.025 ~ 12.5	0.78	1.56
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (27)	panipenem	0.025 ~ 3.13	0.10	0.39
	imipenem	0.05 ~ 1.56	0.10	0.20
	ceftazidime	1.56 ~ >100	12.5	100
	flomoxef	12.5 ~ >100	100	>100
	cefuzonam	0.78 ~ >100	50	>100
	cefotiam	12.5 ~ >100	100	>100
<i>Branhamella catarrhalis</i> (10)	panipenem	≤ 0.006 ~ 0.025	0.012	0.012
	imipenem	0.012 ~ 0.05	0.05	0.05
	ceftazidime	0.025 ~ 0.20	0.05	0.10
	flomoxef	0.012 ~ 0.20	0.10	0.20
	cefuzonam	0.10 ~ 1.56	0.78	1.56
	cefotiam	0.39 ~ 1.56	0.78	1.56

Inoculum : 10<sup>6</sup> cells/ml

PAPMは0.10~0.39 $\mu$ g/mlと幅の狭い感受性分布を示し、MIC<sub>90</sub>は0.20 $\mu$ g/mlでIPMより約2倍優れ、他の比較薬よりもはるかに優れた抗菌力を示した。

11) *K. pneumoniae*の場合

PAPMは0.10~0.78 $\mu$ g/mlと幅の狭い感受性分布を示し、MIC<sub>90</sub>は0.39 $\mu$ g/mlで、その抗菌力はFMOX、CZONおよびCAZより若干劣るが、CTMと同等でIPMより約2倍優れていた。

12) *E. cloacae*の場合

PAPMのMIC<sub>50</sub>は0.20 $\mu$ g/ml、MIC<sub>90</sub>は0.39 $\mu$ g/mlで、その抗菌力はIPMおよびCAZと同等で、CZONより若

干優れ、CTMおよびFMOXより優れていた。

13) *E. aerogenes*の場合

IPMを除く既存の注射剤が幅広い分布を示したが、PAPMは0.10~1.56 $\mu$ g/mlと比較的幅の狭い分布を示し、IPMと同等の優れた抗菌力を示した。

14) *S. marcescens*の場合

PAPMのMIC<sub>50</sub>は0.20 $\mu$ g/mlで、その抗菌力はIPMより若干劣るが他の比較薬より優れていた。

15) *P. vulgaris*の場合

PAPMは0.10~1.56 $\mu$ g/mlですべての株の発育を抑制し、その抗菌力はCAZ、CZONおよびFMOXより劣つ

たが、IPMより若干優れていた。

#### 16) *P. mirabilis*の場合

PAPMのMIC<sub>50</sub>は1.56μg/mlで、その抗菌力はIPMより若干優れていたが、他の比較薬より劣っていた。

#### 17) *M. morganii*の場合

PAPMは0.39~1.56μg/mlと比較薬より幅の狭い感受性分布を示し、MIC<sub>90</sub>は1.56μg/mlで、他の比較薬より優れていた。

#### 18) *P. rettgeri*の場合

PAPMは0.10~0.78μg/mlと比較薬より幅の狭い感受性分布を示し、MIC<sub>50</sub>およびMIC<sub>90</sub>はそれぞれ0.39および0.78μg/mlで、IPMと同等でFMOXより劣っていたが、他の比較薬より優れていた。

#### 19) *P. aeruginosa*の場合

PAPMは1.56~25μg/mlですべての株を発育抑制し、その抗菌力はIPMより約4倍、CAZより約2倍劣るが、その他の比較薬より優れていた。

#### 20) *H. influenzae*の場合

PAPMのMIC<sub>90</sub>は1.56μg/mlで、その抗菌力はCZONおよびCAZに劣るが、FMOXおよびCTMと同等で、IPMより約2倍優れていた。

#### 21) *A. calcoaceticus*の場合

PAPMのMIC<sub>50</sub>は0.10μg/ml、MIC<sub>90</sub>は0.39μg/mlで、IPMと同等で、他の比較薬よりはるかに優れていた。

#### 22) *B. catarrhalis*の場合

PAPMのMIC<sub>90</sub>は0.012μg/mlで、IPMより約4倍優れ、他の薬剤と比較しても最も優れた抗菌力を示した。

### 3. 諸因子の影響

PAPMの抗菌力に及ぼす培地 pH、ウマ血清添加、接種菌量の影響について検討した結果をTable 5~7に示した。

#### 1) 培地pHの影響

Table 5に示したように、PAPMのMICの変動幅はほとんどの株で4倍以内で、抗菌力は培地 pHにより大きな影響は受けなかった。PAPM/BPはPAPMと同等の抗菌力を示し、BP配合の影響を全く受けなかった。

#### 2) ウマ血清添加の影響

Table 6に示したように、PAPMのMICの変動幅はほとんどの株で4倍以内で、ウマ血清添加により大きな影響は受けなかった。PAPM/BPはPAPMと同等の抗菌力を示し、BPは抗菌力に影響を与えなかった。

#### 3) 接種菌量の影響

Table 7に示したように、PAPMのMICの変動幅は *K. pneumoniae* KC-1、*Enterobacter*、*S. marcescens* T-55、*Proteus*および *M. morganii* Konoなどの一部の菌種を除き4倍以内で接種菌量の影響をあまり受けな

かった。またBP配合の影響は認められなかった。

#### 4. 増殖曲線に及ぼす影響

PAPMの増殖曲線に及ぼす影響について検討した結果をFig. 1~7に示した。

##### 1) 対数増殖期中期の菌に薬剤を作用させた場合

PAPMの対数増殖期中期の菌に対する殺菌効果について調べるため、7菌種についてIPMと比較検討した。

*S. aureus* 209-P JCに薬剤を作用させた結果をFig. 1に示した。PAPMはIPMと同様に1 MIC (0.012μg/ml) 以上で作用濃度に対応した殺菌力を示した。

*E. coli* K-12に薬剤を作用させた結果をFig. 2に示した。PAPMはIPMと同様に1/4MIC (0.2μg/ml) 以上の濃度で作用濃度に対応した殺菌作用を示した。

*K. pneumoniae* KC-1に薬剤を作用させた結果をFig. 3に示した。PAPMはIPMとほぼ同様の殺菌作用のパターンを示し、1 MIC (0.2μg/ml) 以上で作用濃度に対応した殺菌作用がみられた。

*S. marcescens* T-55に薬剤を作用させた場合をFig. 4に示した。PAPMはIPMとほぼ同様の殺菌作用のパターンを示し、1/4MIC (0.39μg/ml) 以上の濃度で殺菌的に作用した。

*P. aeruginosa* E-2に薬剤を作用させた結果をFig. 5に示した。PAPMは1/2MIC (6.25μg/ml) 以上の濃度で殺菌的に作用した。

*A. calcoaceticus* AC54に薬剤を作用させた結果をFig. 6に示した。PAPMはIPMとほぼ同様の殺菌作用パターンを示し、1/2MIC (0.1μg/ml) 以上の濃度でIPMと同様に殺菌的に作用した。

*B. catarrhalis* NNBR5に薬剤を作用させた結果をFig. 7に示した。PAPMはIPMと同様に1 MIC (0.006μg/ml) 以上の濃度で殺菌的に作用した。

##### 2) 殺菌力に対する菌の増殖 phaseの影響について

PAPMの殺菌力に対する薬剤作用時の菌の増殖 phaseの影響について調べるため、対数期から定常期初期にかけての菌に4MICの薬剤を作用させ、CAZおよびPIPCと比較検討した。

*S. aureus* 209-P JCに薬剤を作用させた結果をFig. 8に示した。PAPMはCAZおよびPIPCに比べて、薬剤作用時における菌の増殖 phaseの影響をあまり受けず、強い殺菌効果を示した。

*P. aeruginosa* E-2に薬剤を作用させた結果をFig. 9に示した。PAPMは比較薬に比べて、薬剤作用時における菌の増殖 phaseの影響をほとんど受けず、定常期初期の菌に対しても対数増殖期中期の菌に対するのと同様の強い殺菌力を示した。



Table 5. Influence of pH on the antibacterial activity

Organism	pH	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )						
		panipenem	panipenem/ betamipron	imipenem	ceftazidime	flomoxef	cefuzonam	cefotiam
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	5.5	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	3.13	0.1	0.05	0.1
	7.0	0.012	0.012	0.012	6.25	0.2	0.39	0.39
	8.5	0.025	0.025	0.025	6.25	0.39	0.39	0.39
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5.5	0.025	0.025	0.025	6.25	0.39	0.39	0.39
	7.0	0.025	0.025	0.025	12.5	0.78	3.13	1.56
	8.5	0.1	0.1	0.1	25	0.78	3.13	3.13
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	5.5	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	0.012	1.56	0.2	0.1	0.39
	7.0	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	3.13	0.39	0.2	0.2
	8.5	0.012	$\leq 0.006$	0.025	3.13	0.2	0.1	0.1
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	5.5	0.1	0.1	0.2	0.78	0.1	0.2	0.78
	7.0	0.05	0.05	0.1	0.2	0.05	0.1	0.1
	8.5	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2
<i>Escherichia coli</i> K-12	5.5	0.2	0.2	0.39	0.1	0.05	0.012	0.78
	7.0	0.1	0.1	0.2	0.1	0.05	$\leq 0.006$	0.05
	8.5	0.39	0.39	0.39	0.1	0.1	0.012	0.05
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	5.5	0.1	0.1	0.2	0.78	1.56	0.1	12.5
	7.0	0.2	0.2	0.39	0.39	0.39	0.025	0.2
	8.5	0.39	0.39	0.39	0.39	0.78	0.05	0.39
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	5.5	0.1	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2	0.78
	7.0	0.1	0.1	0.2	0.025	0.05	0.05	0.1
	8.5	0.39	0.39	0.39	0.05	0.1	0.012	0.1
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	5.5	0.39	0.39	0.78	1.56	12.5	0.78	50
	7.0	0.1	0.1	0.2	0.39	50	0.39	1.56
	8.5	0.39	0.39	0.39	0.39	12.5	0.2	1.56
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	5.5	0.39	0.39	0.78	1.56	12.5	0.78	25
	7.0	0.1	0.1	0.2	0.39	50	0.39	1.56
	8.5	0.39	0.39	0.39	0.39	12.5	0.2	1.56
<i>Serratia marcescens</i> T-55	5.5	0.39	0.39	0.78	0.39	0.39	0.39	3.13
	7.0	0.2	0.2	0.39	0.1	0.2	0.2	0.78
	8.5	0.78	0.78	1.56	0.1	0.39	0.1	3.13
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	5.5	0.39	0.39	0.78	0.1	0.39	$\leq 0.006$	6.25
	7.0	0.1	0.2	0.2	0.025	0.39	0.012	0.39
	8.5	0.78	0.78	1.56	0.05	0.78	$\leq 0.006$	0.2
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	5.5	0.39	0.39	1.56	0.1	0.2	0.025	1.56
	7.0	0.39	0.39	0.78	0.025	0.2	0.012	0.1
	8.5	1.56	1.56	1.56	0.05	0.39	$\leq 0.006$	0.1
<i>Morganella morganii</i> Kono	5.5	1.56	1.56	3.13	0.39	0.78	0.1	6.25
	7.0	0.78	0.78	1.56	0.1	0.78	0.05	0.39
	8.5	0.78	0.78	1.56	0.1	0.78	0.025	0.2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	5.5	6.25	6.25	6.25	3.13	>100	50	>100
	7.0	3.13	1.56	1.56	1.56	>100	25	>100
	8.5	3.13	3.13	3.13	1.56	>100	12.5	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-12	5.5	12.5	12.5	6.25	6.25	>100	50	>100
	7.0	6.25	6.25	1.56	3.13	>100	50	>100
	8.5	12.5	12.5	3.13	3.13	>100	25	>100

Table 6. Influence of horse serum on the antibacterial activity

Organism	Serum conc'n (%)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )						
		panipenem	panipenem/ betamipron	imipenem	ceftazidime	floximef	cefuzonam	cefotiam
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0	0.012	0.012	0.012	6.25	0.2	0.39	0.2
	10	0.012	0.012	0.025	6.25	0.2	0.39	0.39
	25	0.025	0.012	0.025	3.13	0.2	0.2	0.2
	50	0.025	0.025	0.025	3.13	0.2	0.39	0.39
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	0.05	0.05	0.05	12.5	0.2	3.13	1.56
	10	0.025	0.05	0.05	12.5	0.2	3.13	1.56
	25	0.1	0.05	0.1	12.5	0.78	3.13	3.13
	50	0.1	0.1	0.1	12.5	0.78	6.25	3.13
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0	0.012	0.012	0.012	1.56	0.2	0.2	0.2
	10	0.012	0.012	0.025	6.25	0.2	1.56	0.2
	25	0.025	0.025	0.025	25	0.2	0.78	0.2
	50	0.025	0.025	0.05	25	0.2	3.13	0.2
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	0	0.05	0.05	0.1	0.2	0.05	0.1	0.1
	10	0.05	0.1	0.1	0.2	0.05	0.1	0.1
	25	0.2	0.1	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1
	50	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2
<i>Escherichia coli</i> K-12	0	0.2	0.1	0.2	0.1	0.025	0.012	0.05
	10	0.1	0.2	0.39	0.05	0.05	$\leq 0.006$	0.025
	25	0.39	0.39	0.39	0.05	0.05	0.012	0.025
	50	0.39	0.39	0.78	0.1	0.1	0.012	0.05
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	0	0.2	0.1	0.39	0.39	0.2	0.05	0.39
	10	0.1	0.2	0.39	0.39	0.2	0.05	0.2
	25	0.39	0.39	0.39	0.39	0.78	0.05	0.39
	50	0.39	0.39	0.78	0.39	0.2	0.05	0.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	0	0.1	0.1	0.1	0.025	0.025	0.025	0.05
	10	0.1	0.1	0.2	0.025	0.05	0.012	0.05
	25	0.2	0.2	0.39	0.025	0.05	$\leq 0.006$	0.05
	50	0.39	0.39	0.39	0.05	0.1	0.012	0.1
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	0	0.1	0.1	0.2	3.13	50	0.78	25
	10	0.1	0.2	0.39	0.39	25	0.39	1.56
	25	0.2	0.2	0.39	0.39	25	0.78	6.25
	50	0.39	0.39	0.39	0.2	6.25	0.2	3.13
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	0	0.1	0.1	0.2	3.13	50	0.78	12.5
	10	0.1	0.2	0.39	0.39	25	0.39	1.56
	25	0.2	0.2	0.39	0.39	25	0.78	6.25
	50	0.39	0.2	0.39	0.2	6.25	0.2	3.13
<i>Serratia marcescens</i> T-55	0	0.2	0.2	0.39	0.1	0.2	0.2	0.78
	10	0.2	0.2	0.39	0.1	0.2	0.1	0.78
	25	0.39	0.39	0.39	0.1	0.2	0.1	1.56
	50	0.78	0.39	0.78	0.1	0.2	0.1	1.56
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	0	0.2	0.1	0.2	0.025	0.2	$\leq 0.006$	0.39
	10	0.1	0.1	0.2	0.025	0.2	$\leq 0.006$	1.56
	25	0.2	0.2	0.39	0.025	0.2	$\leq 0.006$	0.39
	50	0.78	0.39	0.78	0.05	0.2	$\leq 0.006$	0.2

Table 6. continued

Organism	Serum conc'n (%)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )						
		panipenem	panipenem/ betamipron	imipenem	ceftazidime	flomoxef	cefuzonam	cefotiam
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0	0.39	0.2	0.39	0.025	0.2	$\leq 0.006$	0.1
	10	0.2	0.39	0.78	0.025	0.1	$\leq 0.006$	0.1
	25	0.39	0.39	0.78	0.025	0.2	$\leq 0.006$	0.1
	50	0.78	0.78	1.56	0.025	0.2	$\leq 0.006$	0.1
<i>Morganella morganii</i> Kono	0	0.78	0.78	1.56	0.1	0.2	0.05	0.39
	10	0.39	0.78	1.56	0.1	0.78	0.05	0.2
	25	0.78	0.78	1.56	0.1	0.78	0.05	0.78
	50	0.78	0.78	1.56	0.1	0.39	0.025	0.2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	0	3.13	3.13	1.56	1.56	>100	25	>100
	10	1.56	3.13	1.56	1.56	>100	25	>100
	25	3.13	3.13	1.56	1.56	>100	25	>100
	50	3.13	3.13	3.13	1.56	>100	25	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-12	0	12.5	6.25	1.56	3.13	>100	50	>100
	10	6.25	12.5	1.56	3.13	>100	50	>100
	25	12.5	12.5	1.56	3.13	>100	50	>100
	50	12.5	12.5	1.56	3.13	>100	50	>100

## 5. 微分干渉顕微鏡による形態変化の観察

PAPMを対数増殖期の菌に作用させた場合の3または4時間後の菌の微分干渉顕微鏡像およびその結果をまとめたものをFig. 10, 11および12に示した。

1) *E. coli* K-12の場合

菌はPAPMの濃度が高くなるにつれて膨化かつ球形化した。0.05 $\mu\text{g/ml}$  (1/2MIC) でその傾向は著明になり、0.1 $\mu\text{g/ml}$  (1 MIC) で不定形の菌が認められるようになり、0.39 $\mu\text{g/ml}$  (4MIC) で多くの溶菌像が観察されるようになった。

2) *K. pneumoniae* KC-1の場合

0.025 $\mu\text{g/ml}$  (1/4MIC) で球形化した菌が多く認められるようになり、0.1 $\mu\text{g/ml}$  (1 MIC) ではほとんどの菌が球形化し、0.39 $\mu\text{g/ml}$  (4MIC) では大きな球形および不定形の菌とともに溶菌像もみられるようになった。

3) *S. marcescens* T-55の場合

菌はPAPMの濃度が高くなるにつれて膨化かつ球形化し、0.39 $\mu\text{g/ml}$  (2MIC) ではbulge状の細胞や不定形の細胞も認められるようになり、1.56 $\mu\text{g/ml}$  (8MIC) からは多くの溶菌像が観察されるようになった。

4) *A. calcoaceticus* AC54の場合

0.05 $\mu\text{g/ml}$  (1/2MIC) ではほとんどの菌は膨化かつ球形化し、0.2 $\mu\text{g/ml}$  (2MIC) から多くの溶菌像も認められるようになった。

5) *P. aeruginosa* E-2の場合

3.13 $\mu\text{g/ml}$  (1/4MIC) ではほとんどの菌が球形化およ

び不定形化し、6.25 $\mu\text{g/ml}$  (1/2MIC) から溶菌像も認められるようになった。

6. PBP<sub>s</sub>に対する親和性

*E. coli* K-12のPBP<sub>s</sub>に対する親和性をTable 8に示した。PAPMはPBP<sub>s</sub>の2, 1A, 1B<sub>s</sub>の順に良好な親和性を示し、その50%阻害濃度はそれぞれ0.061, 0.063, 0.27 $\mu\text{g/ml}$ であり、微分干渉顕微鏡による形態変化の結果とよく一致していた。

## 7. マウス実験的腹腔内感染症に対する治療効果

マウス実験的腹腔内感染症に対するPAPM/BP, IPM/CS (IPMとCSの1:1の合剤), CAZ, FMOXおよびGMの治療効果の結果をTable 9に示した。

1) *S. aureus* Smithの場合

PAPM/BPのED<sub>50</sub>は0.00034mg/mouseで、IPM/CSの0.00039mg/mouseと同等で、CAZの0.062mg/mouse, FMOXの0.0051mg/mouseと比較しても最も優れた治療効果を示した。

2) *S. pyogenes* C-203の場合

PAPM/BPのED<sub>50</sub>は0.0011mg/mouseで最も優れた治療効果を示した。

3) *S. pneumoniae* type IIIの場合

PAPM/BPのED<sub>50</sub>は0.00093mg/mouseで最も優れた治療効果を示した。

4) *E. coli* KC-14の場合

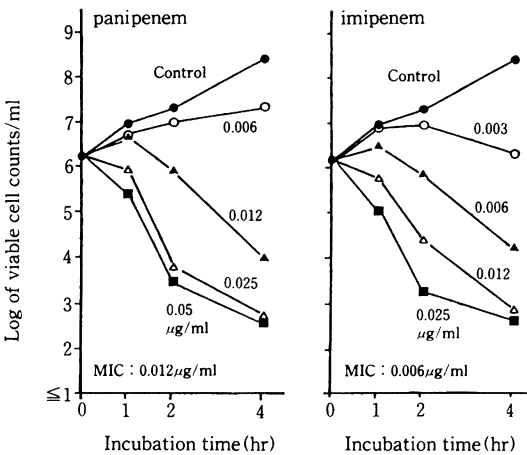
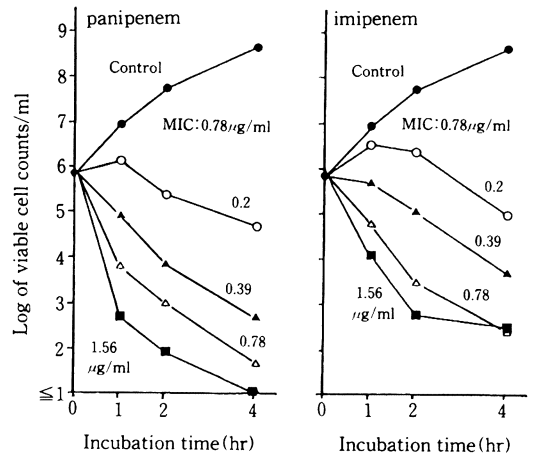
PAPM/BPのED<sub>50</sub>は0.048mg/mouseで、IPM/CSの0.044mg/mouseと同等で、CAZおよびFMOXの0.015mg/mouseよりやや劣っていた。

Table 7. Influence of inoculum size on the antibacterial activity

Organism	Inoculum size	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )						
		panipenem	panipenem/ betamipron	imipenem	ceftazidime	flomoxef	cefuzonam	cefotiam
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	$4.3 \times 10^8$	0.012	0.025	0.025	6.25	0.2	0.39	0.39
	$4.3 \times 10^7$	0.012	0.025	0.025	6.25	0.2	0.39	0.2
	$4.3 \times 10^6$	0.012	0.025	0.012	6.25	0.2	0.39	0.2
	$4.3 \times 10^5$	0.012	0.025	0.012	6.25	0.2	0.2	0.2
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	$6.5 \times 10^8$	0.05	0.05	0.1	25	0.78	3.13	1.56
	$6.5 \times 10^7$	0.05	0.05	0.1	25	0.78	3.13	1.56
	$6.5 \times 10^6$	0.05	0.05	0.05	12.5	0.78	3.13	1.56
	$6.5 \times 10^5$	0.025	0.05	0.05	12.5	0.78	3.13	1.56
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	$1.4 \times 10^8$	0.012	0.025	0.025	3.13	0.39	0.2	0.2
	$1.4 \times 10^7$	0.012	0.025	0.025	6.25	0.39	0.39	0.2
	$1.4 \times 10^6$	0.012	0.025	0.025	3.13	0.39	0.2	0.2
	$1.4 \times 10^5$	0.012	0.012	0.025	3.13	0.2	0.2	0.2
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	$5.5 \times 10^8$	0.2	0.2	0.78	0.2	0.1	0.1	0.2
	$5.5 \times 10^7$	0.1	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1
	$5.5 \times 10^6$	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1
	$5.5 \times 10^5$	0.1	0.1	0.1	0.39	0.05	0.1	0.1
<i>Escherichia coli</i> K-12	$5.5 \times 10^8$	0.39	0.39	0.78	0.1	0.1	0.012	0.1
	$5.5 \times 10^7$	0.2	0.2	0.39	0.1	0.1	0.012	0.05
	$5.5 \times 10^6$	0.2	0.2	0.39	0.1	0.05	$\leq$ 0.006	0.05
	$5.5 \times 10^5$	0.2	0.2	0.39	0.1	0.05	$\leq$ 0.006	0.05
<i>Nitrobacter freundii</i> NIH 10018-68	$3.3 \times 10^8$	0.78	0.78	1.56	25	50	12.5	50
	$3.3 \times 10^7$	0.78	0.78	1.56	3.13	12.5	0.78	12.5
	$3.3 \times 10^6$	0.39	0.39	0.78	0.78	1.56	0.1	3.13
	$3.3 \times 10^5$	0.2	0.2	0.39	0.39	0.78	0.05	0.39
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	$2.1 \times 10^8$	0.78	0.78	0.78	0.1	0.05	0.05	0.1
	$2.1 \times 10^7$	0.78	0.78	0.39	0.1	0.05	0.05	0.1
	$2.1 \times 10^6$	0.2	0.2	0.2	0.05	0.05	0.05	0.05
	$2.1 \times 10^5$	0.1	0.2	0.2	0.05	0.05	0.025	0.05
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	$1.0 \times 10^8$	3.13	3.13	6.25	1.56	>100	1.56	>100
	$1.0 \times 10^7$	0.78	0.78	1.56	1.56	100	1.56	50
	$1.0 \times 10^6$	0.2	0.2	0.2	1.56	50	1.56	12.5
	$1.0 \times 10^5$	0.1	0.1	0.2	0.78	50	0.78	3.13
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	$1.0 \times 10^8$	3.13	3.13	6.25	0.78	>100	0.39	100
	$1.0 \times 10^7$	0.78	0.78	1.56	0.39	100	0.39	12.5
	$1.0 \times 10^6$	0.1	0.2	0.2	0.39	50	0.39	1.56
	$1.0 \times 10^5$	0.1	0.1	0.2	0.39	25	0.39	1.56
<i>Serratia marcescens</i> T-55	$7.5 \times 10^8$	1.56	1.56	3.13	0.39	3.13	6.25	>100
	$7.5 \times 10^7$	0.78	0.78	0.78	0.1	0.39	0.2	12.5
	$7.5 \times 10^6$	0.2	0.39	0.39	0.1	0.2	0.1	1.56
	$7.5 \times 10^5$	0.2	0.2	0.39	0.1	0.2	0.2	0.78
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	$2.6 \times 10^8$	3.13	3.13	6.25	0.05	0.78	$\leq$ 0.006	>100
	$2.6 \times 10^7$	1.56	1.56	3.13	0.025	0.39	$\leq$ 0.006	25
	$2.6 \times 10^6$	0.39	0.78	0.78	0.025	0.39	$\leq$ 0.006	6.25
	$2.6 \times 10^5$	0.2	0.2	0.2	0.025	0.39	$\leq$ 0.006	0.39

Table 7. continued

Organism	Inoculum size	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )						
		panipenem	panipenem/ betamipron	imipenem	ceftazidime	floximef	cefuzonam	cefotiam
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	$1.3 \times 10^8$	3.13	6.25	3.13	0.025	0.2	$\leq 0.006$	0.2
	$1.3 \times 10^7$	1.56	1.56	1.56	0.025	0.2	$\leq 0.006$	0.1
	$1.3 \times 10^6$	0.78	0.78	0.39	0.025	0.2	$\leq 0.006$	0.1
	$1.3 \times 10^5$	0.2	0.39	0.39	0.025	0.1	$\leq 0.006$	0.1
<i>Morganella morgani</i> Kono	$1.3 \times 10^8$	3.13	3.13	6.25	12.5	6.25	3.13	25
	$1.3 \times 10^7$	1.56	1.56	3.13	12.5	3.13	0.2	3.13
	$1.3 \times 10^6$	0.78	0.78	1.56	0.1	0.78	0.05	0.2
	$1.3 \times 10^5$	0.39	0.78	1.56	0.1	0.78	0.05	0.2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	$2.1 \times 10^8$	6.25	6.25	3.13	1.56	>100	25	>100
	$2.1 \times 10^7$	3.13	6.25	1.56	1.56	>100	25	>100
	$2.1 \times 10^6$	3.13	3.13	1.56	1.56	>100	25	>100
	$2.1 \times 10^5$	3.13	3.13	1.56	1.56	>100	25	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-12	$3.1 \times 10^8$	12.5	12.5	3.13	3.13	>100	50	>100
	$3.1 \times 10^7$	12.5	12.5	1.56	3.13	>100	50	>100
	$3.1 \times 10^6$	12.5	12.5	1.56	3.13	>100	50	>100
	$3.1 \times 10^5$	12.5	12.5	1.56	3.13	>100	50	>100

Fig. 1. Effect of panipenem and imipenem on the viability of *Staphylococcus aureus* 209-P JCFig. 2. Effect of panipenem and imipenem on the viability of *Escherichia coli* K-125) *K. pneumoniae* KC-1の場合

PAPM/BPの $\text{ED}_{50}$ は0.10mg/mouseで、IPM/CSの0.12mg/mouseと同等で、CAZの0.038mg/mouseよりはやや劣るが、FMOXの0.26mg/mouseよりは優れていた。

6) *S. marcescens* T-55の場合

PAPM/BPの $\text{ED}_{50}$ は0.026mg/mouseで、CAZの0.00089mg/mouseよりも劣っていたが、IPM/CSの0.047mg/mouseおよびFMOXの0.018mg/mouseとほぼ同等の

治療効果を示した。

7) *P. aeruginosa* E-2の場合

PAPM/BPはMICが6.25 $\mu\text{g/ml}$ とIPMの1.56 $\mu\text{g/ml}$ に比べて劣っているにもかかわらず、その $\text{ED}_{50}$ は0.0096mg/mouseでIPM/CSの0.0089mg/mouseと同等であり、またCAZの0.052mg/mouseやGMの0.16mg/mouseと比較しても優れた治療効果を示した。

8) *P. aeruginosa* KA-5の場合

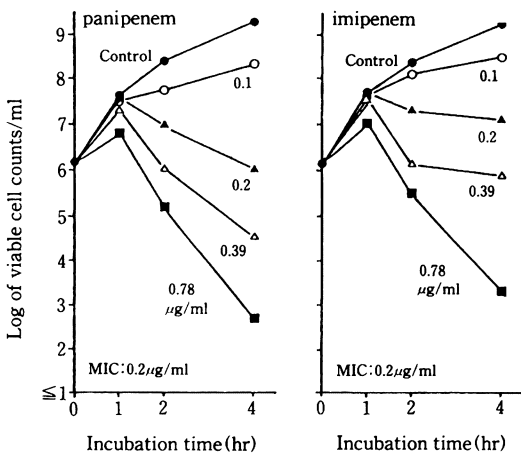


Fig. 3. Effect of panipenem and imipenem on the viability of *Klebsiella pneumoniae* KC-1

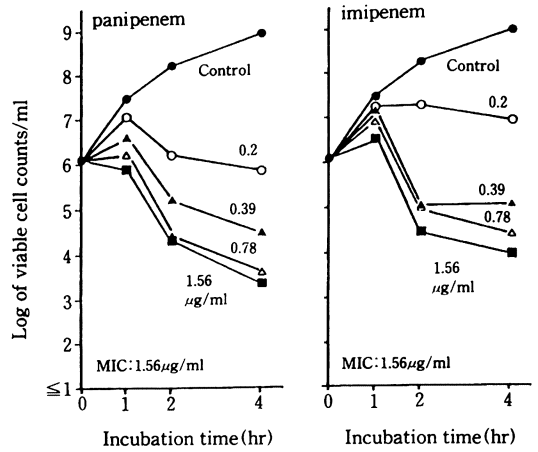


Fig. 4. Effect of panipenem and imipenem on the viability of *Serratia marcescens* T-55

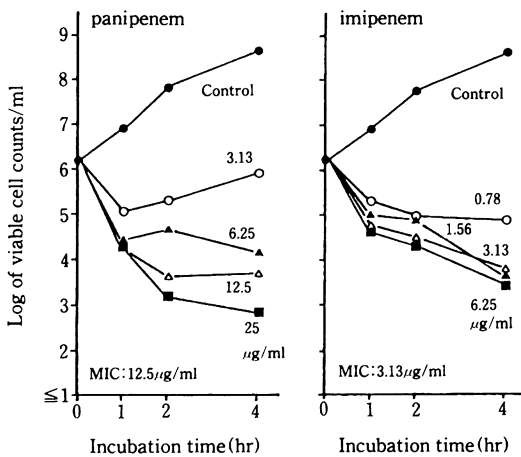


Fig. 5. Effect of panipenem and imipenem on the viability of *Pseudomonas aeruginosa* E-2

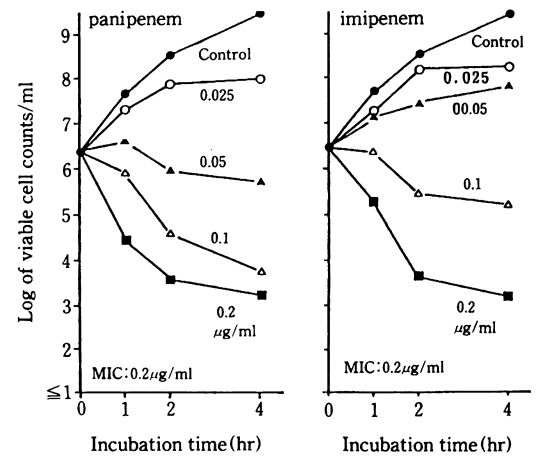


Fig. 6. Effect of panipenem and imipenem on the viability of *Acinetobacter calcoaceticus* AC54

PAPM/BPはIPMよりMICが劣るにもかかわらず、そのED<sub>50</sub>は0.0083mg/mouseでIPM/CSの0.010mg/mouseと同等で他の比較薬に比べて良好な治療効果を示した。

#### 9) *A. calcoaceticus* AC54の場合

PAPM/BPのED<sub>50</sub>は0.031mg/mouseでIPM/CSの0.033mg/mouseと同等で他の比較薬より優れた治療効果を示した。

### III. 考 察

PAPM/BPはIPMと同様のカルバペネム系抗生物質

であるPAPMとその腎毒性軽減剤であるBPを重量比1:1に配合した注射用抗生物質である。

PAPMはグラム陽性菌、グラム陰性菌および嫌気性菌に対して同じカルバペネム系薬剤であるIPMと同等の幅広い抗菌スペクトラムを示した。臨床分離株の感受性分布をみると全体的にIPMと同等で他の比較薬と比べて優れた抗菌力を示した。特に、グラム陽性菌に対してはIPMと並んで最強の抗菌力を有し、従来のβ-ラクタム剤に感受性の低かったEnterococcus属に対してもIPMと同等の優れた抗菌力を示した。また、臨床上

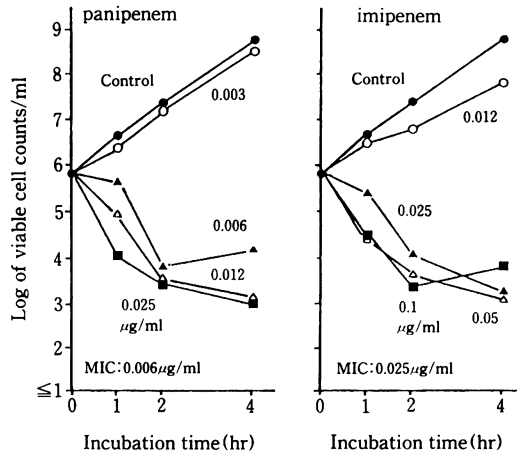


Fig. 7. Effect of panipenem and imipenem on the viability of *Branhamella catarrhalis* NNBR5

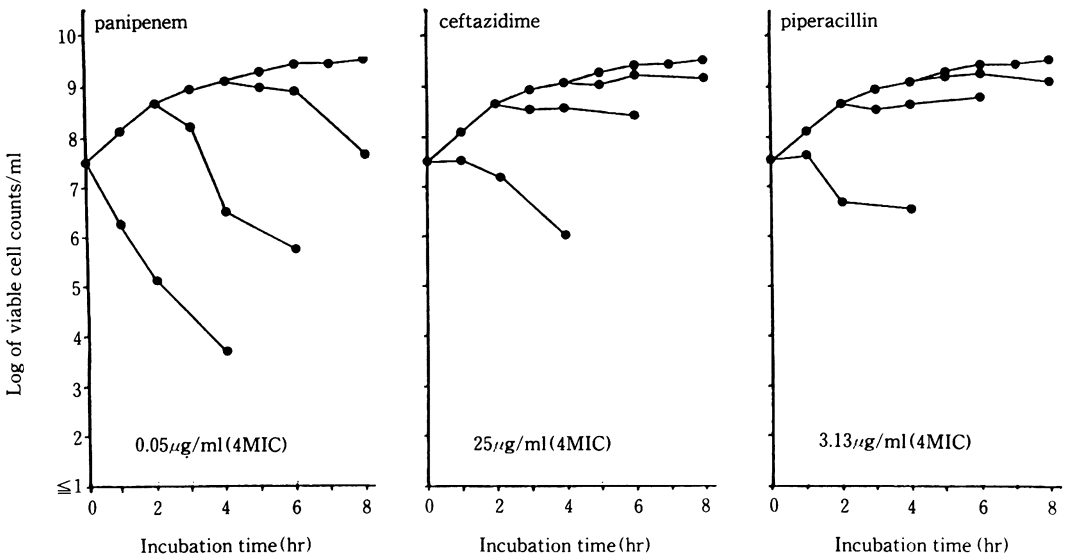


Fig. 8. Effect of panipenem, ceftazidime and piperacillin on the viability of *Staphylococcus aureus* 209-P JC during growth

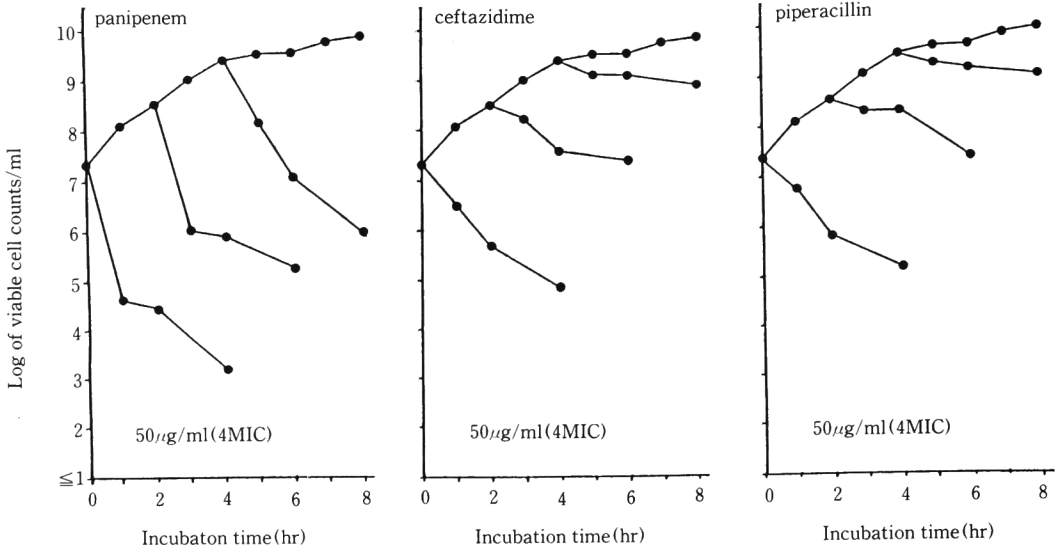


Fig. 9. Effect of panipenem, ceftazidime and piperacillin on the viability of *Pseudomonas aeruginosa* E-2 during growth

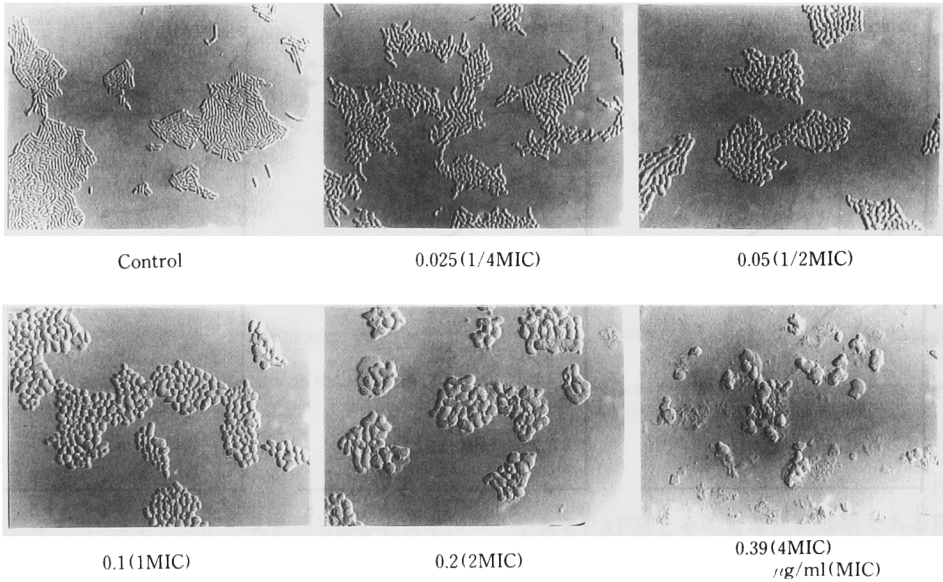


Fig. 10. Differential interference contrast micrographs of *Escherichia coli* K-12 exposed to panipenem for 3 hours



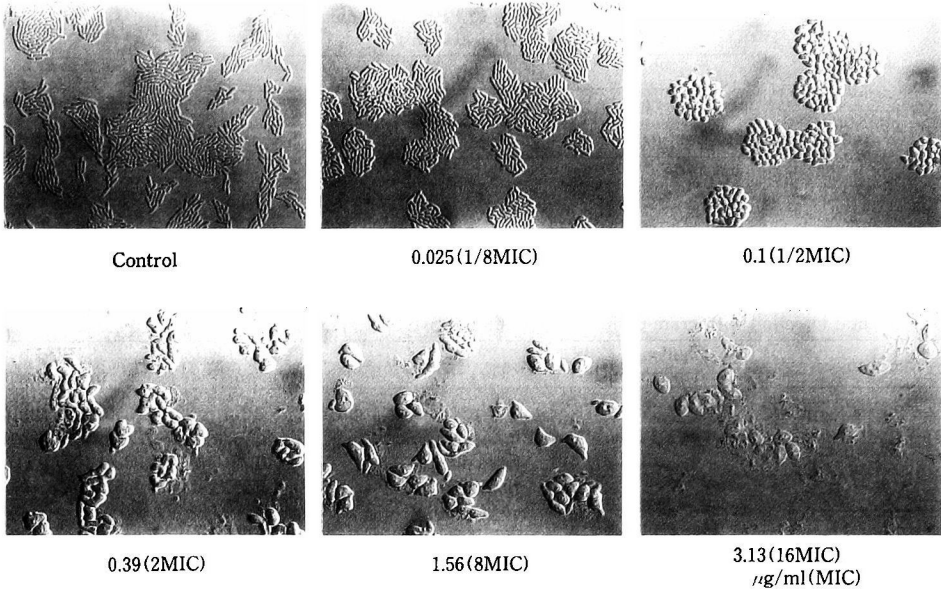


Fig. 11. Differential interference contrast micrographs of *Serratia marcescens* T-55 exposed to panipenem for 4 hours

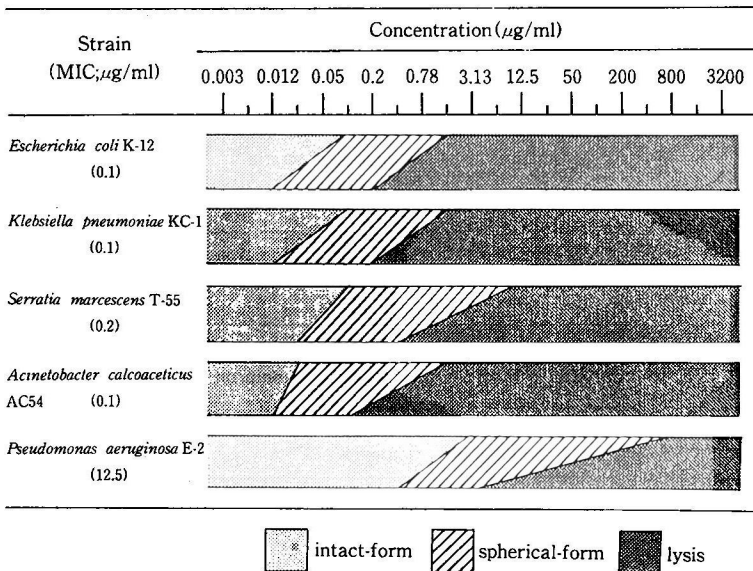


Fig. 12. Morphological effects of panipenem on *Escherichia coli* K-12, *Klebsiella pneumoniae* KC-1, *Serratia marcescens* T-55, *Acinetobacter calcoaceticus* AC54 and *Pseudomonas aeruginosa* E-2 after 3 hours exposure

Table 8. Competition of panipenem with  $^{14}\text{C}$ -labeled penicillin G binding to PBPs in cytoplasmic membrane of *Escherichia coli* K-12

Drug	ID <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )					
	1A	1Bs	2	3	4	5/6
panipenem	0.063	0.27	0.061	3.4	2.4	19

Table 9. Protective effect of panipenem/betamipron, imipenem/cilastatin, ceftazidime, flomoxef and gentamicin on experimental infection with gram-positive and gram-negative bacteria in mice

Organism	Challenge dose (cells/mouse)	Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	$5.6 \times 10^6$ ( 3 LD <sub>50</sub> )	panipenem/betamipron	0.012	0.00034(0.00024~0.00049)*
		imipenem/cilastatin	0.012	0.00039(0.00028~0.00059)
		ceftazidime	6.25	0.062(0.040~0.11)
		flomoxef	0.39	0.0051(0.0038~0.0069)
<i>Streptococcus pyogenes</i> C-203	$1.1 \times 10^3$ ( 49 LD <sub>50</sub> )	panipenem/betamipron	$\leq 0.006$	0.0011(0.00044~0.0025)
		imipenem/cilastatin	$\leq 0.006$	0.0021(0.00096~0.0042)
		ceftazidime	0.1	0.0052(0.0035~0.0077)
		flomoxef	0.1	0.37(0.22~0.63)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type III	$1.4 \times 10^2$ ( 59 LD <sub>50</sub> )	panipenem/betamipron	$\leq 0.006$	0.00093(0.00067~0.0013)
		imipenem/cilastatin	0.025	0.0028(0.0019~0.0045)
		ceftazidime	0.39	0.51(0.28~1.1)
		flomoxef	0.2	0.053(0.035~0.077)
<i>Escherichia coli</i> KC-14	$1.4 \times 10^6$ (570 LD <sub>50</sub> )	panipenem/betamipron	0.1	0.048(0.034~0.083)
		imipenem/cilastatin	0.1	0.044(0.032~0.059)
		ceftazidime	0.1	0.015(0.010~0.021)
		flomoxef	0.05	0.015(0.0064~0.024)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	$1.5 \times 10^2$ ( 14 LD <sub>50</sub> )	panipenem/betamipron	0.1	0.10(0.092~0.12)
		imipenem/cilastatin	0.2	0.12(0.086~0.16)
		ceftazidime	0.05	0.038(0.023~0.55)
		flomoxef	0.05	0.26(0.20~0.35)
<i>Serratia marcescens</i> T-55	$7.6 \times 10^5$ ( 23 LD <sub>50</sub> )	panipenem/betamipron	0.2	0.026(0.011~0.051)
		imipenem/cilastatin	0.2	0.047(0.020~0.096)
		ceftazidime	0.1	0.00089(0.00018~0.0024)
		flomoxef	0.2	0.018(0.0041~0.056)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	$3.2 \times 10^5$ ( 14 LD <sub>50</sub> )	panipenem/betamipron	6.25	0.0096(0.0032~0.033)
		imipenem/cilastatin	1.56	0.0089(0.0061~0.013)
		ceftazidime	3.13	0.052(0.020~0.12)
		flomoxef	3.13	0.16(0.11~0.19)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KA-5	$6.1 \times 10^5$ ( 6 LD <sub>50</sub> )	panipenem/betamipron	3.13	0.0083(0.0057~0.012)
		imipenem/cilastatin	1.56	0.010(0.0072~0.014)
		ceftazidime	25	2.8
		flomoxef	>100	>4
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> AC-54	$5.5 \times 10^6$ (200 LD <sub>50</sub> )	panipenem/betamipron	0.1	0.031(0.018~0.049)
		imipenem/cilastatin	0.1	0.033(0.015~0.059)
		ceftazidime	3.13	1.7
		flomoxef	25	>4

\* 95% confidence limits

問題となっているメチシリン耐性 *S. aureus* に対しては幅広い分布を示したが、MIC<sub>50</sub>が1.56 $\mu$ g/mlと他剤と比べて優れた抗菌力を示した。グラム陰性菌では *Proteus* 属に対する抗菌力がセフェム系の比較薬よりも若干劣っていた。しかし、その他の菌種に対しては比較薬と比べてほぼ同等以上の強い抗菌力を有し、セフェム系薬剤に感受性の低い *Enterobacter* 属、*A. calcoaceticus* および *C. freundii* に対してもIPMと同等の強い抗菌力を示した。また、*P. aeruginosa* に対してもIPMに約4倍、CAZに約2倍劣るもののMIC<sub>50</sub>が6.25 $\mu$ g/mlと中等度の抗菌力を示した。セフェム系薬剤に耐性を示す菌に対してPAPMが優れた抗菌力を示す1つの要因としては、PAPMが *E. cloacae* や *C. freundii* 等の各種細菌の $\beta$ -lactamaseに対して安定性が高いことが考えられる<sup>6)</sup>。

PAPMの抗菌力は培地 pH、血清添加や接種菌量などの諸因子の影響をほとんど受けなかった。また、BPはPAPMの抗菌力に全く影響を与えなかった。

増殖曲線に及ぼす薬剤の影響について検討したところ、PAPMは対数期中期の菌に対してIPMと同様の作用薬剤濃度に応じた強い殺菌力を示した。薬剤作用時の菌の増殖 phaseの影響を *S. aureus* 209-P JC および *P. aeruginosa* E-2 について検討したところ、定常期初期の菌に対してもPAPMは強い殺菌力を示した。特に、定常期初期の *P. aeruginosa* E-2 に対する殺菌力は対数増殖期中期の菌に薬剤を作用させた場合とほぼ同等の強い殺菌効果が認められた。一般的に、 $\beta$ -ラクタム剤の殺菌力は薬剤作用時の菌の増殖 phaseに依存しており、増殖速度の低下した菌に対しては静菌的にしか作用しない<sup>7)</sup>。一方、生体内に感染した菌は増殖速度が低下している場合が多く、そのことが $\beta$ -ラクタム剤の感染治療効果を低下させる可能性がある。今回、PAPMが定常期初期の菌に対しても強い殺菌力を示したことから、他の $\beta$ -ラクタム剤に比べてより高い治療効果を期待できると考えられる。

微分干渉顕微鏡による菌の形態変化の観察では、使用したグラム陰性桿菌のいずれにおいても、PAPMの濃度が高くなるにつれて菌の膨化や球形化が観察され、2~4 MICから溶菌像も多く認められるようになった。菌の球形化はPBP 2に高い親和性を示す薬剤に特徴的な形態変化で、*E. coli*のPBP<sub>s</sub>に対する親和性について検討したときPAPMがPBP 2, 1A, 1Bの順に高い親和性を示したことによって裏付けられた。また、PBP 1A, 1Bsとともに2の機能を阻害すると強い溶菌活性と殺菌力を示すことも知られており<sup>8)9)</sup>、本薬剤の優れた殺菌力はこれらのPBP<sub>s</sub>に対して高い親和性を示したことに

よるものと考えられた。

マウス実験の腹腔内感染症に対する治療効果について、PAPM/BPはIPM/CSと比べて同等以上の治療効果を示した。PAPM/BPのED<sub>50</sub>を他の対照薬剤と比較すると、*E. coli* KC-14および *S. marcescens* T-55 に対してはCAZおよびFMOXに、*K. pneumoniae* KC-11 に対してはCAZにやや劣るものの、その他の菌種についてはいずれもPAPM/BPの方が優れた治療効果を示した。注目すべき点として *P. aeruginosa* E-2 および *P. aeruginosa* KA-5 に対してMICがIPMよりも2~4倍劣るにもかかわらずED<sub>50</sub>は同等で他剤に比べて優れた治療効果を示した。この理由については明らかではないが、PAPMはIPMよりも *P. aeruginosa* に対する post-antibiotic effect や生体成分との協力的殺菌作用が優れているとの報告<sup>10)</sup>があることから、そういった因子が相加的あるいは相乗的に働いた結果だと思われる。

以上のようにPAPM/BPは幅広い抗菌スペクトラムと強い殺菌力を有し、*P. aeruginosa* を含む実験的腹腔内感染症に対しても優れた治療効果を示したことから、臨床においても優れた治療効果が期待できると考えられる。

#### 文 献

- 1) 上野一恵, 島田 馨: 第38回日本化学療法学会西日本支部総会, 新薬シンポジウム(1). CS-976, 岐阜, 1990
- 2) 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. *Chemotherapy* 29(1): 76~79, 1981
- 3) 日本化学療法学会嫌気性菌MIC測定法検討委員会: 嫌気性菌の最小発育阻止濃度(MIC)測定法. *Chemotherapy* 27(3): 559~560, 1979
- 4) Spratt B G: Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation, and shape of *Escherichia coli* K-12. *Proc Nat Acad Sci* 72: 2999~3003, 1975
- 5) Bills C I: The method of Probit. *Science* 79: 38~39, 409~410, 1934
- 6) Neu H C, Chin N, Saha G, and Labthavikul P: *In vitro* activity against aerobic and anaerobic gram-positive and gram-negative bacteria and  $\beta$ -lactamase stability of RS-533 a novel carbapenem. *Antimicrob Agents Chemother* 30(6): 828~834, 1986
- 7) Tuomanen E: Phenotypic tolerance: The search for  $\beta$ -lactam antibiotics that kill nongrowing bacteria. *Rev Infect Dis* 8(Suppl): S279~S291, 1986
- 8) Berenguer J, De Pedro M A, and Vazquez D: Induction of cell lysis in *Escherichia coli*: cooperative effect of nocardicin A and mecillinam. *Antimicrob Agents Chemother* 21: 195~200, 1982

- 9) Gutmann L, Vicent S, Billot-Klein D, Acar J F, Mrina E, and Willianson R : Involvement of penicillin-binding protein 2 with other penicillin-binding proteins in lysis of *Escherichia coli* by some  $\beta$ -lactam antibiotics and in synergistic lytic effect of amdinocillin (mecillinam). *Antimicrob Agents Chemother* 30 : 906~912, 1986
- 10) Ohya S, Utsui Y, Yasuda H, Katsuta M, Fukuoka T, Magaribuchi T, Iwata M, and Kuwahara S : *In vitro* and *in vivo* evaluation of CS-533. Abstracts of the 30th ICACC (Atlanta) : 235, 1990

## IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PANIPENEM/BETAMIPRON, A NEW CARBAPENEM ANTIBIOTIC

Takeshi Nishino, Takashi Fukuoka, Takuya Honmura,  
Yumiko Nishiguchi, and Masako Otsuki

Department of Microbiology, Kyoto Pharmaceutical University  
5 Nakauchi-cho, Misasagi, Yamashina-ku, Kyoto 607, Japan

The *in vitro* activity of panipenem (PAPM), a new carbapenem, and the *in vivo* activity of panipenem/betamipron (PAPM/BP) which is the combination of PAPM and betamipron (BP), an organic anion transport inhibitor, on experimental infections in mice were compared with those of imipenem (IPM), ceftazidime (CAZ), flomoxef (FMOX), cefuzonam (CZON), cefotiam (CTM), gentamicin (GM) and piperacillin (PIPC).

PAPM had broad-spectrum activity against gram-positive and gram-negative aerobes and anaerobes. The MICs of PAPM against clinical isolates were almost equal to those of IPM. The MIC<sub>90</sub> of PAPM against the strains of methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae*, *Acinetobacter calcoaceticus*, and *Branhamella catarrhalis* were  $\leq 1.56 \mu\text{g/ml}$ . The MIC<sub>50</sub> of PAPM against methicillin-resistant *S. aureus* was  $1.56 \mu\text{g/ml}$  and superior to the reference antibiotics. The MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> of PAPM against *Pseudomonas aeruginosa* were 6.25 and  $12.5 \mu\text{g/ml}$ , respectively, and were fourfold less active than those of IPM.

The antibacterial activity of PAPM was not affected by the pH of the medium, inoculum size and the addition of horse serum or BP.

Killing kinetic study of PAPM against exponentially growing bacteria showed that the bactericidal action which were dependent on the concentration of the drug occurred above MIC and the activity was similar to that of IPM. The bactericidal activity of PAPM also remained against slowly growing bacteria in early stationary phase. PAPM had a high affinity for penicillin-binding proteins 2, 1A and 1Bs of *E. coli*. In morphological observation of five strains by the differential interference contrast microscope, the exposure to PAPM resulted in the formation of spherical cells and the bacteriolysis was observed above twofold or fourfold MIC.

The therapeutic efficacy of PAPM/BP was superior to the reference antibiotics against the experimental systemic infections of gram-positive bacteria in mice and was almost equal to imipenem/cilastatin (IPM/CS) against those of the gram-negative bacteria including *P. aeruginosa*.