

## 新 carbapenem 系抗生物質 Biapenem の細菌学的研究

村上研一郎・宮崎修一・金子康子・辻 明良・山口恵三・五島瑳智子  
東邦大学医学部微生物学教室\*

新規注射用 carbapenem 系抗生物質である biapenem(BIPM) の *in vitro* 及び *in vivo* の抗菌作用を imipenem/cilastatin(IPM/CS), cefpirome(CPR), ceftazidime(CAZ), aztreonam (AZT) 及び cefuzonam(CZON) と比較した。

BIPM の *in vitro* における抗菌力は対照薬剤と較べ、グラム陽性菌に対し IPM と同等ないしはやや弱い、グラム陰性菌に対しては IPM よりも強く、特に *Pseudomonas aeruginosa* を含むブドウ糖非発酵菌に対しては強い抗菌力を示した。又、嫌気性菌に対しても IPM と同様に強い抗菌力を示した。

BIPM は、*P. aeruginosa* に対して強い殺菌作用を示し、新鮮マウス血清存在下では殺菌力の増強が認められた。

マウス全身感染モデルにおける *in vivo* での効果は、単剤で優れた治療効果を示し、特に *P. aeruginosa* 感染において *in vitro* 抗菌力に比べ *in vivo* での治療効果が他剤と比べ著しく優れ、本剤が生体内で不活化を受けにくいことが確認された。*Klebsiella pneumoniae* を感染菌としたマウス呼吸器感染症実験では、BIPM 投与マウスは IPM と同様に速やかな肺内生菌数の減少が認められた。

*P. aeruginosa* によるマウス尿路感染症では、BIPM 投与群は対照薬剤群に比べ腎内生菌数の減少が著明に認められた。

**Key words:** Biapenem, カルバペネム, *in vitro* 抗菌力, *in vivo* 抗菌力, 体内動態

Biapenem(BIPM) は日本レダリー株式会社において新しく開発された、母核の4位に methyl基を導入した新規 Carbapenem 系注射用抗生物質である。

本剤は、ヒトをはじめ各種動物の腎臓に多く存在するデヒドロペプチダーゼ-I (DHP-I) に対し安定で、かつ広範囲な抗菌力を有することが報告されている<sup>1)</sup>。したがって本剤は、*in vivo* においてもこの酵素に対する阻害剤を用いず単剤で抗菌活性を発揮する事が期待される。

本報告は、BIPM の *in vitro* 及び *in vivo* における抗菌力を imipenem (IPM, *in vitro*), imipenem/cilastatin (IPM/CS, *in vivo*), cefpirome (CPR), ceftazidime (CAZ), aztreonam (AZT), 及び cefuzonam (CZON) と比較検討したものである。

### I. 実験材料及び方法

#### 1. 使用菌株

教室保存の標準菌株及び1985～1989年の5年間に臨床材料から分離した33菌種、961株を使用した。

#### 2. 使用薬剤

BIPM (956 µg/mg, 日本レダリー)

imipenem (IPM, 956 µg/mg, 萬有製薬)

cilastatin (CS, 萬有製薬)

cefpirome (CPR, 816 µg/mg, ヘキスト)

ceftazidime (CAZ, 839 µg/mg, 日本グラクソ)

aztreonam (AZT, 947 µg/mg, スクイブ)

cefuzonam (CZON, 913 µg/mg, 日本レダリー)

#### 3. 薬剤感受性測定

*Bordetella pertussis*, *Neisseria gonorrhoeae*, 嫌気性菌及びマウス感染治療実験に使用した菌株は寒天平板希釈法により、その他の菌株は微量液体希釈法により、それぞれ日本化学療法学会法<sup>2,3)</sup> に準じて感受性を測定した。

微量液体希釈法による感受性測定用培地は Mueller-Hinton broth (MHB: Difco) を使用した。*Streptococcus* 属及び *Haemophilus influenzae* の感受性測定は、NCCLS<sup>4)</sup> に準じ、*Streptococcus* 属では馬溶血液を、*H. influenzae* では Fildes enrichment (Difco) をそれぞれ培地に5% 添加した。

寒天平板希釈法による好気性菌の感受性測定は標準法に準じて行なった。すなわち、*B. pertussis* は馬脱繊維素血液10% 及びグリセリン(和光純薬)1% を添加した

\* 〒143 東京都大田区大森西5丁目21-16

Bordet-Gengou medium (Difco)を用いて48時間培養した。

*N. gonorrhoeae*は、cocarboxylase (和光純薬) 1mg, glucose (和光純薬) 20g 及び glutamine (和光純薬) 0.5g を蒸留水 100ml に溶解したものを supplement として GC medium base (Difco) へ 2% 添加した培地を用いてローソク培養した。

その他の菌種は Mueller-Hinton medium (MHM: Difco) を培地として使用した。嫌気性菌は、標準法<sup>5)</sup>に準じ、培地には GAM 寒天培地 (日水) を用い、嫌気培養装置内で 37℃, 48 時間培養した。

#### 4. 殺菌作用

##### 1) 殺菌作用

*Pseudomonas aeruginosa* E7 を MHB にて前培養の後、増殖期の菌を MHB にて約  $10^6$  CFU/ml に調製し、各薬剤をそれぞれ 1/4, 1/2, 1, 2 及び 4 MIC になるように添加し、37℃ にて振盪培養を行なった。

薬剤添加後 1, 2, 4, 6 及び 24 時間後に生菌数を測定した。

##### 2) 血清との協力殺菌作用

Hanks 液 (日水) を基に、10% 新鮮マウス血清添加、10% 非働化マウス血清 (56℃, 30 分加温) 添加及び血清無添加の 3 群を作製し、これに各薬剤をそれぞれ 1/4 MIC になるように添加した。*P. aeruginosa* E7 を MHB にて前培養の後、生菌数を約  $10^6$  CFU/ml になるように上記培地へ接種し、37℃ で振盪培養を行ない、接種後 30, 60 及び 120 分後に生菌数を測定した。

#### 5. $\beta$ -lactamase に対する安定性

##### 1) 粗酵素液の調製

$\beta$ -lactamase 産生株である *Citrobacter freundii* GN346, *Escherichia coli* 35, *Proteus vulgaris* 9, *Proteus mirabilis* GN79, *E. coli* ML1410 RGN823, *Klebsiella pneumoniae* GN69 及び *E. coli* ML1410 RGN238 を普通ブイヨン (日水) で 37℃, 18 時間培養の後、遠心分離にて得られた菌体を、適量の 1/15M リン酸緩衝液 (pH7.0) に懸濁し、超音波破碎した。この破碎液の遠心上清を粗酵素液とした<sup>6)</sup>。

##### 2) $\beta$ -lactamase 活性測定

粗酵素液を培養時の培地量になるように 1/15M リン酸緩衝液にて希釈し、各薬剤の最終濃度が 50  $\mu$ g/ml となるように加え、これを反応液とした。

37℃, 4 時間反応後、各反応液は、酵素の不活化目的に加熱処理 (100℃, 1 分) を行なった。

なお、対照にはあらかじめ同条件で加熱処理を行ない、不活化した酵素液に反応液と同濃度に各薬剤を添加し、これを用いた。

反応液中の各薬剤の残存活性は、BIPM は *Staphylococcus aureus* Terajima を、IPM, ampicillin (ABPC), ce-

phaloridine (CER), cefuroxime (CXM) は *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を、CPR, CAZ, AZT は *E. coli* NIHJ JC-2 を検定菌として bioassay 法 (ペーパーディスク法) にて測定した。

#### 6. マウス全身感染治療実験

マウスは ICR 系, 雄, 4 週齢, 体重 19  $\pm$  1g, 1 群 6 匹として用いた。

感染菌株として *S. aureus* Smith, *S. aureus* TMS33, *S. aureus* TMS417, *K. pneumoniae* 3K25, *P. aeruginosa* E7, 及び gentamicin 耐性 (MIC; 25  $\mu$ g/mg) *P. aeruginosa* TMS11 を使用した。また、 $\beta$ -lactamase 産生株に対する治療効果を検討する目的で  $\beta$ -lactamase 産生株の *P. vulgaris* 9, *P. mirabilis* GN79, *E. coli* 35 及び *E. coli* ML1410 RGN823 を感染菌として使用した。

各菌株を Heart Infusion agar (HIA: Difco) 平板で 37℃, 18 時間培養し、生理食塩液に懸濁し所定の菌量になるように調製した。

調製した菌液に 10% gastric mucin (Difco) を等量加えマウスの腹腔内に接種し、感染 1 時間後に薬剤を皮下投与した。感染後 5 日間マウスの生死を観察し、van der Waerden 法により、ED<sub>50</sub> 値を算出した。IPM には等量の cilastatin (CS) を添加して用いた。

#### 7. 白血球減少症マウスにおける全身感染治療実験

全身感染治療実験と同一条件のマウスを用い、感染 4 日前に cyclophosphamide (Sigma), 250mg/kg を腹腔内投与し、白血球減少症マウスを作製した<sup>7)</sup>。

*P. aeruginosa* E7 を感染菌とし、前述の方法により全身感染治療実験を行ない、ED<sub>50</sub> 値を算出した。

#### 8. 複数菌感染実験

マウスは全身感染治療実験と同条件とし、*E. coli* C11 及び *P. aeruginosa* E7 を感染菌として用いた。前述の方法により各菌株が所定の菌量となるように混合したものを感染菌液 (但し mucin は添加せず) とし、腹腔内接種により全身感染治療実験を行なった。ED<sub>50</sub> 値は前述の方法にて算出した。

#### 9. マウス尿路感染実験

マウスは ICR 系, 雌, 4 週齢, 体重 19  $\pm$  1g, 1 群 6 匹として用いた。感染菌として、*E. coli* KU3 及び *P. aeruginosa* KU1 を用いた。マウスは感染前日に一夜絶水させ、生理食塩液に所定の菌量となるように懸濁した菌液 0.05ml を、ポリエチレンカテーテルを用いて経尿道的に膀胱内に接種した<sup>8)</sup>。菌接種後に外尿道口を小型クリップで閉塞、1 時間後にこれを解除し、感染 2 時間後より給水を再開した。治療は、感染 24 時間後より薬剤 1mg/mouse を 1 日 2 回、3 日間皮下投与した。4 日後に両側腎を摘出し、生理食塩液を加えてホモジナイズし、

混釈法により腎重量 1g 当たりの生菌数を求めた。

#### 10. マウス呼吸器感染治療実験

マウスは全身感染治療実験と同一条件のものを用いた。*K. pneumoniae* 3K25 株を感染菌として生理食塩液に所定の菌量となるように懸濁し、その菌液 0.02ml をマウスに経鼻接種した<sup>9)</sup>。感染 6 時間後より BIPM 及び IPM/CS を各々 1mg/mouse, 1 日 1 回, 4 日間皮下投与した。感染 1, 3, 5 及び 7 日後に肺を摘出し、一定量の生理食塩液を加えてホモジナイズし、肺重量 1g 当たりの生菌数を求めた。

#### 11. マウス血清、肺及び腎内における薬剤濃度

全身感染治療実験と同一条件のマウスを用いた。BIPM 及び各対照薬剤を 1mg/mouse 皮下投与後 5, 15, 30, 60 及び 120 分後に血液、肺及び腎を採取した。

BIPM 及び IPM/CS 投与マウスでは、血清中における薬剤力価の低下を防ぐため、血清分離後に等量の 2-(N-Morpholino) ethane - sulfonic acid(MES) 緩衝液 (1M, pH6.0, 同仁化学) を加え、肺及び腎のホモジナイズも血清と同様に処理した。

その他の薬剤投与マウスでは 1/15M リン酸緩衝液 (pH7.0) を使用した。血清中及びホモジナイズした後の遠心分離上清中の薬剤濃度は bioassay 法により測定、検定菌は  $\beta$  - lactamase 活性測定と同様の株を用いた。

## II. 実験成績

### 1. 抗菌スペクトル

グラム陽性菌、グラム陰性菌に対する抗菌力を Table 1 に示した。

グラム陽性菌に対する BIPM の抗菌力は、IPM とほぼ

Table 1. Antibacterial spectra of Biapenem and other drugs against aerobic bacteria

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )				
	biapenem	imipenem	cefpirome	ceftazidime	aztreonam
<i>S. aureus</i> 209P	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	2	>128
<i>S. epidermidis</i> ATCC 13228	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	2	>128
<i>S. pneumoniae</i> Type 2	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	0.25	64
<i>S. pneumoniae</i> Type 3	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	0.125	64
<i>S. pyogenes</i> ATCC 10389	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	0.125	8
<i>E. faecalis</i> 64	2	1	8	>128	>128
<i>M. luteus</i> IFO 9341	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	1	32
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	0.25	8	>128
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	1	0.5	$\leq 0.063$	0.25	0.25
<i>S. typhi</i> S 60	0.125	0.125	$\leq 0.063$	0.5	0.25
<i>C. freundii</i> 2	$\leq 0.063$	1	$\leq 0.063$	0.5	$\leq 0.063$
<i>K. pneumoniae</i> IFO 3512	0.125	0.5	$\leq 0.063$	0.25	$\leq 0.063$
<i>K. oxytoca</i> 1	$\leq 0.063$	0.25	$\leq 0.063$	0.125	$\leq 0.063$
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	$\leq 0.063$	0.25	$\leq 0.063$	0.125	$\leq 0.063$
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	2	2	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
<i>P. mirabilis</i> 1287	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
<i>P. rettgeri</i> IFO 13501	2	2	$\leq 0.063$	0.5	$\leq 0.063$
<i>P. inconstans</i> IFO 12930	1	2	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
<i>M. morgani</i> IFO 3848	0.5	2	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
<i>V. cholerae</i> 569B	0.5	1	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	0.125
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	1	1	4	2	8

Inoculum size:  $10^5$  cfu/ml  
Micro broth dilution method

同等、他の対照薬剤に比べ強い抗菌力を示した。

腸内細菌科の菌種に対する本剤の抗菌力は全体的に IPM と同等ないしはやや強いが、CPR、CAZ、AZT より若干弱い傾向が認められた。嫌気性菌に対し BIPM は、IPM とほぼ同等で、他の対照薬剤より強い抗菌力を示した (Table 2)。

## 2. 臨床分離株の感受性分布

臨床材料から分離された各種細菌の *in vitro* 抗菌力を

対照薬剤として BIPM、IPM、CPR、CAZ、AZT を用いて行った結果を Table 3~6 に示した。

*S. aureus* (37 株) に対する BIPM の MIC 値は  $\leq 0.063$  -  $4.0 \mu\text{g/ml}$  に分布し、90% の被験菌の発育を阻害する MIC<sub>90</sub> 値は BIPM;  $1.0 \mu\text{g/ml}$ 、IPM;  $0.25 \mu\text{g/ml}$  で、BIPM の抗菌力は IPM より弱いですが、CPR、CAZ、AZT より強かった。

Methicillin resistant *S. aureus* (MRSA、DMPPC の MIC

Table 2. Antibacterial spectra of biapenem and other drugs against anaerobic bacteria

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )				
	biapenem	imipenem	ceftazidime	ceftazidime	aztreonam
<i>B. fragilis</i> GM 7000	0.20	0.39	6.25	12.5	100
<i>B. fragilis</i> GM 7004	0.20	0.39	>100	>100	>100
<i>B. fragilis</i> TMS 26	0.20	0.05	12.5	12.5	100
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL 3304	0.20	0.05	12.5	12.5	100
<i>B. thetaiotaomicron</i> TMS 126	0.10	0.025	12.5	12.5	100
<i>B. distasonis</i> TMS 58	0.20	0.05	6.25	12.5	50
<i>B. distasonis</i> TMS 128	0.20	0.10	12.5	12.5	50
<i>B. vulgatus</i> ATCC 29327	0.39	0.20	0.39	0.78	6.25
<i>B. vulgatus</i> TMS 129	0.39	0.20	0.78	0.78	6.25
<i>F. nucleatum</i> TMS 110	0.20	0.20	0.39	0.39	6.25
<i>F. mortiferum</i> VPI 4249	$\leq 0.006$	$\leq 0.006$	0.10	0.39	0.78
<i>P. asaccharolyticus</i> GM 1003	0.78	0.39	12.5	12.5	>100
<i>P. asaccharolyticus</i> TMS 83	0.78	0.39	12.5	12.5	>100
<i>C. botulinum</i> type A	0.20	0.10	3.13	50	>100
<i>C. botulinum</i> type B	0.20	0.10	0.39	0.78	6.25
<i>C. botulinum</i> type D	0.10	0.10	0.39	1.56	6.25
<i>C. botulinum</i> type F	0.10	0.05	0.39	0.78	6.25
<i>C. perfringens</i> ATCC 13123	0.20	0.20	3.13	12.5	>100
<i>C. perfringens</i> GM 1006	0.10	0.05	1.56	12.5	>100
<i>C. perfringens</i> NCTC 4969	6.25	0.39	6.25	12.5	>100
<i>C. difficile</i> TMS 29	6.25	3.13	25	25	>100
<i>C. difficile</i> ATCC 17859	6.25	6.25	25	>100	>100
<i>C. tetani</i> TMS 89	0.20	0.10	3.13	50	>100

Inoculum size:  $10^6$  cfu/ml  
Agar dilution method

Table 3. The comparative antibacterial activity (gram positive cocci)

Organism (No. of strains)	Antimicrobial agent	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		Range	50%	90%
<i>Staphylococcus aureus</i> (37)	biapenem	$\leq 0.063 \sim 4.0$	$\leq 0.063$	1.0
	imipenem	$\leq 0.063 \sim 1.0$	$\leq 0.063$	0.25
	ceftazidime	0.25 $\sim$ 32	0.5	4.0
	ceftazidime	2.0 $\sim$ 128	4.0	32
	aztreonam	64 $\sim$ >128	>128	>128
<i>Staphylococcus aureus</i> <sup>1)</sup> [MRSA] (43)	biapenem	$\leq 0.063 \sim 32$	1.0	16
	imipenem	$\leq 0.063 \sim 32$	0.25	8.0
	ceftazidime	0.25 $\sim$ 64	8.0	32
	ceftazidime	2.0 $\sim$ >128	64	128
	aztreonam	>128	>128	>128
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (33)	biapenem	$\leq 0.063 \sim 2.0$	$\leq 0.063$	0.125
	imipenem	$\leq 0.063 \sim 0.125$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
	ceftazidime	$\leq 0.063 \sim 2.0$	0.25	0.5
	ceftazidime	1.0 $\sim$ 16	4.0	8.0
	aztreonam	4.0 $\sim$ >128	>128	>128
<i>Streptococcus pyogenes</i> (29)	biapenem	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
	imipenem	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
	ceftazidime	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
	ceftazidime	$\leq 0.063 \sim 0.125$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
	aztreonam	$\leq 0.063 \sim 16$	8.0	16
<i>Streptococcus agalactiae</i> (29)	biapenem	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
	imipenem	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
	ceftazidime	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
	ceftazidime	0.125 $\sim$ 1.0	0.25	0.5
	aztreonam	32 $\sim$ >128	128	128
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (30)	biapenem	$\leq 0.063 \sim 0.5$	$\leq 0.063$	0.125
	imipenem	$\leq 0.063 \sim 0.5$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
	ceftazidime	$\leq 0.063 \sim 0.5$	$\leq 0.063$	0.25
	ceftazidime	$\leq 0.063 \sim 16$	0.125	8.0
	aztreonam	4.0 $\sim$ >128	64	>128
<i>Enterococcus faecalis</i> (30)	biapenem	2.0 $\sim$ 16	2.0	8.0
	imipenem	0.5 $\sim$ 4.0	1.0	2.0
	ceftazidime	2.0 $\sim$ 64	8.0	32
	ceftazidime	16 $\sim$ >128	>128	>128
	aztreonam	>128	>128	>128

1) MIC of methicillin:  $\geq 12.5 \mu\text{g/ml}$

12.5  $\mu\text{g/ml}$ 以上、43株)に対する各抗菌薬の MIC<sub>90</sub>値は、BIPM; 16  $\mu\text{g/ml}$ , IPM; 8.0  $\mu\text{g/ml}$ , CPR; 32  $\mu\text{g/ml}$ , CAZ; 128  $\mu\text{g/ml}$ , AZT; >128  $\mu\text{g/ml}$ で、BIPMはIPMより2倍大きな値を示したが、CPR, CAZ, AZTに比べMIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub>とも小さく強い抗菌活性を認めた。

*Staphylococcus epidermidis* (33株)に対するBIPMの抗菌力は、CPR, CAZ, AZTよりも強くIPMより若干弱かった。

*Streptococcus pyogenes* (29株)および*Streptococcus agalactiae* (29株)に対する各抗菌薬のMIC<sub>90</sub>値はそれぞれ、BIPM;  $\leq 0.063$ ,  $\leq 0.063 \mu\text{g/ml}$ , IPM;  $\leq 0.063$ ,  $\leq 0.063 \mu\text{g/ml}$ , CPR;  $\leq 0.063$ ,  $\leq 0.063 \mu\text{g/ml}$ , CAZ;  $\leq 0.063$ , 0.5  $\mu\text{g/ml}$ , AZT; 16, 128  $\mu\text{g/ml}$ を示し、BIPMはIPM, CPRと共に強い抗菌活性を示した。

*Streptococcus pneumoniae* (30株)に対するBIPMの抗菌力(MIC<sub>90</sub>値; 0.125  $\mu\text{g/ml}$ )はIPMより若干弱いが、他の

Table 4-1. The comparative antibacterial activity (Enterobacteriaceae)

Organism (No. of strains)	Antimicrobial agent	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		Range	50%	90%
<i>Escherichia coli</i> (37)	biapenem	$\leq 0.063 \sim 0.125$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
	imipenem	$\leq 0.063 \sim 0.25$	0.125	0.125
	cefpirome	$\leq 0.063 \sim 0.125$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
	ceftazidime	$\leq 0.063 \sim 2.0$	0.125	1.0
	aztreonam	$\leq 0.063 \sim 4.0$	$\leq 0.063$	2.0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (32)	biapenem	$\leq 0.063 \sim 1.0$	$\leq 0.063$	0.25
	imipenem	$\leq 0.063 \sim 1.0$	0.25	0.5
	cefpirome	$\leq 0.063 \sim 1.0$	$\leq 0.063$	0.25
	ceftazidime	$\leq 0.063 \sim 4.0$	0.25	1.0
	aztreonam	$\leq 0.063 \sim 0.25$	$\leq 0.063$	0.25
<i>Klebsiella oxytoca</i> (33)	biapenem	$\leq 0.063 \sim 1.0$	0.125	0.5
	imipenem	0.125 $\sim 1.0$	0.25	0.5
	cefpirome	$\leq 0.063 \sim 4.0$	$\leq 0.063$	0.25
	ceftazidime	$\leq 0.063 \sim 1.0$	0.125	0.5
	aztreonam	$\leq 0.063 \sim 16$	0.125	0.5
<i>Salmonella</i> spp. (34)	biapenem	$\leq 0.063 \sim 0.25$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
	imipenem	0.125 $\sim 0.25$	0.125	0.25
	cefpirome	$\leq 0.063 \sim 0.25$	$\leq 0.063$	0.125
	ceftazidime	$\leq 0.063 \sim 0.5$	0.25	0.5
	aztreonam	$\leq 0.063 \sim 0.5$	$\leq 0.063$	0.125
<i>Shigella</i> spp. (32)	biapenem	$\leq 0.063 \sim 0.125$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
	imipenem	$\leq 0.063 \sim 0.25$	0.125	0.25
	cefpirome	$\leq 0.063 \sim 0.25$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
	ceftazidime	$\leq 0.063 \sim 0.5$	0.25	0.25
	aztreonam	$\leq 0.063 \sim 0.25$	$\leq 0.063$	0.125
<i>Serratia marcescens</i> (31)	biapenem	0.25 $\sim 64$	2.0	8.0
	imipenem	0.25 $\sim 16$	1.0	8.0
	cefpirome	$\leq 0.063 \sim >128$	2.0	>128
	ceftazidime	0.25 $\sim >128$	1.0	128
	aztreonam	$\leq 0.063 \sim >128$	1.0	128
<i>Enterobacter cloacae</i> (34)	biapenem	$\leq 0.063 \sim 4.0$	$\leq 0.063$	0.5
	imipenem	0.125 $\sim 4.0$	0.5	1.0
	cefpirome	$\leq 0.063 \sim 32$	0.125	8.0
	ceftazidime	$\leq 0.063 \sim >128$	0.5	128
	aztreonam	$\leq 0.063 \sim 128$	0.125	64

対照薬剤よりも強い抗菌力を示した。

*Enterococcus faecalis* (30 株) に対し、各抗菌薬の MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub> 値はそれぞれ BIPM; 2.0/8.0  $\mu\text{g/ml}$ , IPM; 1.0/2.0  $\mu\text{g/ml}$ , CPR; 8.0/32  $\mu\text{g/ml}$ , CAZ; >128/>128  $\mu\text{g/ml}$ , AZT; >128/>128  $\mu\text{g/ml}$  で、BIPM の抗菌力は IPM よりやや弱い、CPR よりも強い抗菌力を示し、CAZ, AZT に対して本菌種はほとんど感受性を示さなかった。

*E. coli* (35 株) に対し、BIPM の抗菌力 (MIC<sub>Range</sub>;  $\leq 0.063 \sim 0.125 \mu\text{g/ml}$ , MIC<sub>90</sub> 値;  $\leq 0.063 \mu\text{g/ml}$ ) は CPR と同

等であり、IPM, CAZ, AZT と比べ強かった。

*K. pneumoniae* (32 株) 及び *Klebsiella oxytoca* (33 株) に対する各抗菌薬の MIC<sub>90</sub> 値はそれぞれ BIPM; 0.25/0.5  $\mu\text{g/ml}$ , IPM; 0.5/0.5  $\mu\text{g/ml}$ , CPR; 0.25/0.25  $\mu\text{g/ml}$ , CAZ; 1.0/0.5  $\mu\text{g/ml}$ , AZT; 0.25/0.5  $\mu\text{g/ml}$  で、BIPM は他の対照薬剤とほぼ同等の抗菌力を示した。

*Salmonella* spp. (34 株) 及び *Shigella* spp. (32 株) に対し BIPM の MIC<sub>90</sub> 値はそれぞれ  $\leq 0.063$ ,  $\leq 0.063 \mu\text{g/ml}$  で、CPR と同等、IPM, CAZ, AZT より小さい値を示した。

Table 4-2. The comparative antibacterial activity (Enterobacteriaceae)

Organism (No. of strains)	Antimicrobial agent	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		Range	50%	90%
<i>Citrobacter freundii</i> (26)	biapenem	$\leq 0.063 \sim 2.0$	0.125	0.5
	imipenem	0.125 $\sim$ 2.0	1.0	2.0
	ceftirome	$\leq 0.063 \sim 64$	2.0	16
	ceftazidime	0.25 $\sim$ >128	64	>128
	aztreonam	$\leq 0.063 \sim 128$	16	64
<i>Proteus mirabilis</i> (28)	biapenem	0.25 $\sim$ 2.0	2.0	2.0
	imipenem	0.5 $\sim$ 4.0	2.0	4.0
	ceftirome	$\leq 0.063 \sim$ >128	0.125	0.25
	ceftazidime	$\leq 0.063 \sim 0.25$	$\leq 0.063$	0.25
	aztreonam	$\leq 0.063 \sim 0.25$	$\leq 0.063$	0.125
<i>Proteus vulgaris</i> (30)	biapenem	$\leq 0.063 \sim 4.0$	1.0	2.0
	imipenem	$\leq 0.063 \sim 4.0$	1.0	4.0
	ceftirome	$\leq 0.063 \sim 32$	0.125	1.0
	ceftazidime	$\leq 0.063 \sim 2.0$	$\leq 0.063$	0.25
	aztreonam	$\leq 0.063 \sim 1.0$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
<i>Morganella morganii</i> (33)	biapenem	$\leq 0.063 \sim 1.0$	0.5	1.0
	imipenem	0.25 $\sim$ 2.0	1.0	2.0
	ceftirome	$\leq 0.063 \sim 0.125$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
	ceftazidime	$\leq 0.063 \sim 4.0$	0.125	1.0
	aztreonam	$\leq 0.063 \sim 1.0$	$\leq 0.063$	0.125
<i>Providencia rettgeri</i> (34)	biapenem	0.125 $\sim$ 1.0	0.5	1.0
	imipenem	0.25 $\sim$ 1.0	0.5	1.0
	ceftirome	$\leq 0.063 \sim 0.25$	$\leq 0.063$	0.125
	ceftazidime	$\leq 0.063 \sim 4.0$	$\leq 0.063$	1.0
	aztreonam	$\leq 0.063 \sim 0.125$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$
<i>Providencia stuartii</i> (31)	biapenem	$\leq 0.063 \sim 2.0$	1.0	1.0
	imipenem	$\leq 0.063 \sim 2.0$	1.0	1.0
	ceftirome	$\leq 0.063 \sim 2.0$	$\leq 0.063$	0.25
	ceftazidime	$\leq 0.063 \sim 16$	0.125	1.0
	aztreonam	$\leq 0.063 \sim 0.125$	$\leq 0.063$	$\leq 0.063$

*Serratia marcescens* (31 株) に対する BIPM の抗菌力 (MIC<sub>90</sub> 値; 8.0  $\mu\text{g/ml}$ ) は IPM と同等であり, CPR, CAZ, AZT と比べ強い抗菌活性を示した。

*Enterobacter cloacae* (34 株) に対し BIPM の MIC<sub>90</sub> 値は 0.5  $\mu\text{g/ml}$  で, 対照薬剤中最も小さな値を示した。

*C. freundii* (26 株) に対する各抗菌薬の MIC<sub>90</sub> 値はそれぞれ BIPM; 0.5  $\mu\text{g/ml}$ , IPM; 2.0  $\mu\text{g/ml}$ , CPR; 16  $\mu\text{g/ml}$ , CAZ; >128  $\mu\text{g/ml}$ , AZT; 64  $\mu\text{g/ml}$  で, BIPM の抗菌力が最も強かった。

*P. mirabilis* (28 株) 及び *P. vulgaris* (30 株) に対する BIPM の抗菌力 (MIC<sub>90</sub> 値; 共にに 2.0  $\mu\text{g/ml}$ ) は, IPM より強く CPR, CAZ, AZT より弱い傾向を示した。

*Morganella morganii* (33 株), *Providencia rettgeri* (34 株) 及び *P. stuartii* (31 株) に対する各抗菌剤の MIC<sub>90</sub> 値は,

BIPM; いずれも 1.0  $\mu\text{g/ml}$ , IPM; 1.0  $\sim$  2.0  $\mu\text{g/ml}$ , CPR;  $\leq 0.063 \sim 0.25 \mu\text{g/ml}$ , CAZ; いずれも 1.0  $\mu\text{g/ml}$ , AZT;  $\leq 0.063 \sim 0.125 \mu\text{g/ml}$  で, BIPM の抗菌力は IPM, CAZ と同等, CPR, AZT より若干弱かった。

*P. aeruginosa* (35 株) 及び GM<sup>r</sup>-*P. aeruginosa* (gentamicin resistant; MIC  $\geq 16 \mu\text{g/ml}$ , 33 株) に対する BIPM の MIC<sub>90</sub> 値は, それぞれ 0.5, 1.0  $\mu\text{g/ml}$  で, 対照薬剤に比べ最も強い抗菌活性を示した。

*Pseudomonas cepacia* (17 株) に対する BIPM の抗菌力 (MIC<sub>Range</sub>;  $\leq 0.063 \sim 16 \mu\text{g/ml}$ , MIC<sub>90</sub> 値; 8.0  $\mu\text{g/ml}$ ) は, 対照薬剤に比べ強かった。

*Xanthomonas maltophilia* (28 株) に対しては, CAZ の MIC<sub>90</sub> 値 64  $\mu\text{g/ml}$  を示すのみで BIPM を含むいずれの抗菌剤も 128  $\mu\text{g/ml}$  以上の MIC<sub>90</sub> 値で本菌種に対する抗菌

Table 5. The comparative antibacterial activity  
(Non fermentation gram negative rods and others)

Organism (No. of strains)	Antimicrobial agent	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		Range	50%	90%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (35)	biapenem	0.125 ~ 1.0	0.5	0.5
	imipenem	0.5 ~ 1.0	1.0	1.0
	cefprome	0.5 ~ 64	4.0	32
	ceftazidime	0.5 ~ 64	2.0	8.0
	aztreonam	0.25 ~ 64	4.0	32
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <sup>1)</sup> (33)	biapenem	0.25 ~ 16	0.5	1.0
	imipenem	0.5 ~ 32	1.0	1.0
	cefprome	4.0 ~ >128	64	128
	ceftazidime	1.0 ~ 32	4.0	16
	aztreonam	2.0 ~ 64	16	64
<i>Pseudomonas cepacia</i> (17)	biapenem	$\leq$ 0.063 ~ 16	0.125	8.0
	imipenem	$\leq$ 0.063 ~ 64	0.125	32
	cefprome	$\leq$ 0.063 ~ >128	2.0	>128
	ceftazidime	0.125 ~ >128	4.0	128
	aztreonam	$\leq$ 0.063 ~ >128	16	>128
<i>Xanthomonas maltophilia</i> (28)	biapenem	32 ~ >128	>128	>128
	imipenem	8.0 ~ >128	>128	>128
	cefprome	4.0 ~ >128	64	128
	ceftazidime	$\leq$ 0.063 ~ >128	4.0	64
	aztreonam	0.5 ~ >128	64	>128
<i>Alcaligenes xylosoxydans</i> (20)	biapenem	0.5 ~ 2.0	1.0	2.0
	imipenem	0.5 ~ 4.0	1.0	2.0
	cefprome	0.5 ~ >128	16	>128
	ceftazidime	0.125 ~ 32	0.5	16
	aztreonam	1.0 ~ >128	4.0	128
<i>Flavobacterium meningosepticum</i> (17)	biapenem	$\leq$ 0.063 ~ 16	4.0	8.0
	imipenem	$\leq$ 0.063 ~ 32	16	32
	cefprome	$\leq$ 0.063 ~ 64	8.0	32
	ceftazidime	0.5 ~ >128	32	>128
	aztreonam	8.0 ~ >128	>128	>128
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (20)	biapenem	$\leq$ 0.063 ~ 4.0	$\leq$ 0.063	$\leq$ 0.063
	imipenem	$\leq$ 0.063 ~ 32	$\leq$ 0.063	0.125
	cefprome	$\leq$ 0.063 ~ 32	0.25	1.0
	ceftazidime	$\leq$ 0.063 ~ 64	0.5	2.0
	aztreonam	0.25 ~ >128	1.0	8.0
<i>Haemophilus influenzae</i> (35)	biapenem	$\leq$ 0.063 ~ 0.5	0.25	0.5
	imipenem	$\leq$ 0.063 ~ 1.0	0.5	1.0
	cefprome	$\leq$ 0.063	$\leq$ 0.063	$\leq$ 0.063
	ceftazidime	$\leq$ 0.063 ~ 0.125	$\leq$ 0.063	0.125
	aztreonam	$\leq$ 0.063	$\leq$ 0.063	$\leq$ 0.063

1) MIC of gentamicin:  $\geq$  16  $\mu\text{g/ml}$ 

活性は著しく弱いことが認められた。

*Alcaligenes xylosoxydans* (20株) に対する BIPM の MIC<sub>Range</sub> は 0.5 ~ 2.0  $\mu\text{g/ml}$  と分布域が狭く本剤の MIC<sub>90</sub> 値は 2.0  $\mu\text{g/ml}$  で、IPM と同等、CPR、CAZ、AZT により強い抗菌活性を示した。

*Flavobacterium meningosepticum* (17株) に対する各抗菌剤の MIC<sub>90</sub> 値はそれぞれ BIPM; 8.0  $\mu\text{g/ml}$ 、IPM; 32  $\mu\text{g/ml}$ 、CPR; 32  $\mu\text{g/ml}$ 、CAZ; >128  $\mu\text{g/ml}$ 、AZT; 128  $\mu\text{g/ml}$  で、BIPM

が最も強い抗菌活性を示した。

*Acinetobacter calcoaceticus* (20株) に対する BIPM の MIC<sub>90</sub> 値は  $\leq$  0.063  $\mu\text{g/ml}$  で、対照薬剤より強い抗菌活性を示した。

*Haemophilus influenzae* (35株) に対する BIPM の抗菌力 (MIC<sub>90</sub> 値; 0.5  $\mu\text{g/ml}$ ) は IPM より若干強いが、CPR、CAZ、AZT より弱かった。

*Bordetella pertussis* (21株) に対する BIPM の MIC<sub>Range</sub> は



Table 6. The comparative antibacterial activity

Organism (No. of strains)	Antimicrobial agent	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		Range	50%	90%
<i>Bordetella pertussis</i> (21)	biapenem	$\leq 0.006 \sim 0.39$	0.20	0.39
	imipenem	0.10 $\sim$ 0.78	0.20	0.39
	ceftazidime	0.20 $\sim$ 6.25	0.39	6.25
	ceftazidime	0.10 $\sim$ 6.25	0.20	6.25
	aztreonam	0.05 $\sim$ 6.25	1.56	6.25
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (22) [non-PPNG]	biapenem	$\leq 0.006 \sim 0.10$	0.05	0.05
	imipenem	0.025 $\sim$ 0.20	0.10	0.20
	ceftazidime	$\leq 0.006 \sim 0.05$	$\leq 0.006$	0.025
	ceftazidime	$\leq 0.006 \sim 0.10$	0.05	0.05
	aztreonam	0.025 $\sim$ 0.20	0.10	0.20
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (21) [PPNG]	biapenem	$\leq 0.006 \sim 0.025$	0.012	0.025
	imipenem	$\leq 0.006 \sim 0.05$	0.012	0.025
	ceftazidime	$\leq 0.006 \sim 0.05$	0.025	0.05
	ceftazidime	$\leq 0.006 \sim 0.10$	0.025	0.10
	aztreonam	0.025 $\sim$ 0.20	0.10	0.20
<i>Bacteroides fragilis</i> (27)	biapenem	0.05 $\sim$ 0.78	0.39	0.78
	imipenem	0.05 $\sim$ 0.78	0.78	0.78
	ceftazidime	6.25 $\sim$ 100	25	50
	ceftazidime	6.25 $\sim$ 100	25	50
	aztreonam	100 $\sim$ >100	>100	>100
<i>Clostridium difficile</i> (19)	biapenem	3.13 $\sim$ 6.25	6.25	6.25
	imipenem	3.13 $\sim$ 6.25	6.25	6.25
	ceftazidime	25 $\sim$ 50	25	50
	ceftazidime	25 $\sim$ 50	50	50
	aztreonam	>100	>100	>100

MIC determination: Agar dilution method, inoculum size  $10^6$  cfu/ml.

$\leq 0.006 \sim 0.39 \mu\text{g/ml}$  に分布し、MIC<sub>90</sub> 値は  $0.39 \mu\text{g/ml}$  で、BIPM の抗菌力は IPM と同等、他の対照薬剤より強かった。

*Neisseria gonorrhoeae* (non-penicillinase producing *N. gonorrhoeae*; non-PPNG, 22株) と PPNG (21株) に対し、BIPM の抗菌力は CPR に若干弱いのが、他の対照薬剤と同等であった。

*Bacteroides fragilis* (27株) に対する MIC<sub>90</sub> 値は BIPM;  $0.78 \mu\text{g/ml}$ , IPM;  $0.78 \mu\text{g/ml}$  で、BIPM は IPM と同様に強い抗菌力を示したが、他の対照薬剤はほとんど抗菌活性を示さなかった。

*Clostridium difficile* (19株) に対する BIPM の抗菌力 (MIC<sub>90</sub> 値;  $6.25 \mu\text{g/ml}$ ) は IPM と同等であり CPR, CAZ, AZT より強かった。

### 3. $\beta$ -lactamase に対する安定性

BIPM 及び各対照薬剤の  $\beta$ -lactamase に対する安定性を Fig. 1 に示した。BIPM は IPM や CAZ と同様に各種  $\beta$ -

lactamase (Richimond type I ~ V) に対して非常に安定であった。

### 4. 殺菌作用

*P. aeruginosa* E7 に対する BIPM の殺菌作用は、6時間後まで 1/2MIC 以上の薬剤添加群において明らかな生菌数の減少が認められ、1MIC 以上添加群では 24時間後生菌数は検出限界以下になっていた (Fig. 2)。しかし、他の対照薬剤では、1MIC 添加群において、24時間目の生菌数は  $10^7$  CFU/ml 以上に達し再増殖を示した。また、1/4MIC の薬剤添加群にマウス新鮮血清 10% を加えた場合、BIPM 及び IPM は、薬剤のみの添加により、2時間後の生菌数は接種菌数の 1/10 となり、CAZ は再増殖を示したが (Fig. 3)、マウス新鮮血清の添加により、BIPM の殺菌作用は増強したが、IPM では血清添加による影響は認められなかった。

非働化血清添加群においては、BIPM の殺菌増強作用は認められなかった。

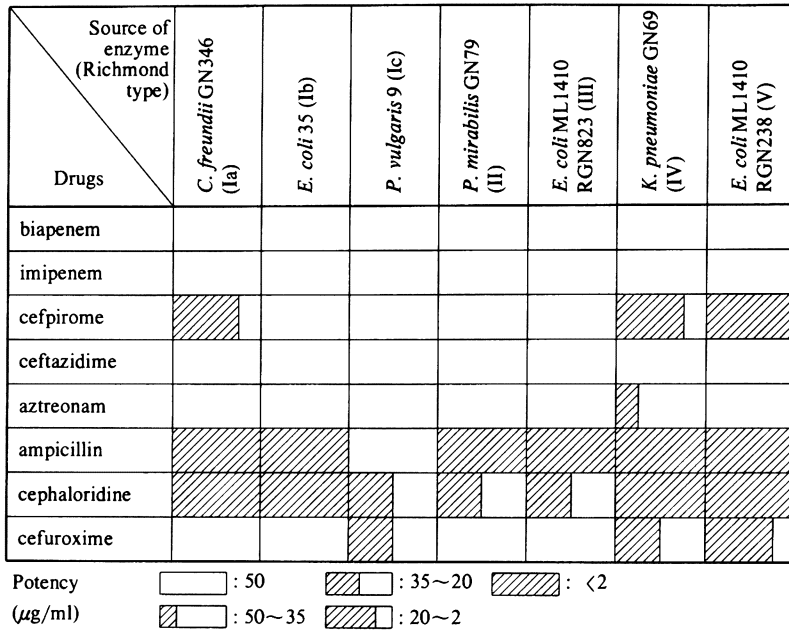


Fig. 1. Enzymatic stability of biapenem and other antibiotics to various type of Richmond

5. マウス体内動態

マウスにおける BIPM, IPM, CPR, CAZ, 及び AZT の体内動態を Fig. 4 に示した。

BIPM, IPM, CPR, CAZ, 及び AZT の 1mg/mouse 皮下投与時の血清濃度ピーク値は、それぞれ 86.0, 72.0, 68.0, 73.0, 73.0 μg/ml で、BIPM が最も高い値を示した。肺内濃度ピーク値 (1mg/mouse) は、各薬剤とも 28.2~36.5 μg/g と、ほぼ同じ値を示した。腎内濃度ピーク値 (1mg/mouse) は、IPM (198.4 μg/g) が最も高く、CAZ, CPR, BIPM, AZT の順であった。

6. マウスの各種の感染モデルにおける感染防御効果

1) 単独菌感染モデル *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* を感染菌とした場合の成績を Table 7 に示した。

*S. aureus* Smith 株 [methicillin 感受性] に対する、BIPM の ED<sub>50</sub> 値は 0.124mg/mouse で、IPM/CS とほぼ同等、CPR, CAZ, CZON よりも優れた治療効果を示した。

*S. aureus* TMS33 株 [methicillin 耐性] に対する、各抗菌剤の ED<sub>50</sub> 値は BIPM (0.248 mg/mouse), IPM/CS (1.575 mg/mouse), CPR (5.0mg/mouse), CAZ (6.3mg/mouse), CZON (5.0 mg/mouse) で、BIPM は MRSA 感染に対しても優れた治療効果を示した。

*S. aureus* TMS417 株 [methicillin, ofloxacin 耐性] に対

する、BIPM の ED<sub>50</sub> 値は 1.25 mg/mouse で、IPM/CS; 1.984mg/mouse とほぼ同等、CPR, CAZ, CZON よりも優れていた。

*P. aeruginosa* E7 株に対する、*in vitro* 抗菌力は各抗菌剤ともほぼ同等 (MIC: 3.13~6.25 μg/ml) であるが、BIPM の ED<sub>50</sub> 値は 0.062mg/mouse で IPM/CS の約 1/6, CPR の 1/64, CAZ の 1/25, AZT の 1/64 と非常に小さい値を示した。

*P. aeruginosa* TMS11 株 [gentamicin 耐性] に対する、BIPM の ED<sub>50</sub> 値は 0.008 mg/mouse で、IPM/CS の約 1/8, CAZ 及び AZT の約 1/500 以下であり優れた治療効果を示した。

*K. pneumoniae* 3K25 株に対する、各抗菌剤の ED<sub>50</sub> 値は BIPM (0.039 mg/mouse), IPM/CS (0.099 mg/mouse), CPR (0.016 mg/mouse), CAZ (0.098 mg/mouse), AZT (0.313 mg/mouse) で、BIPM の治療効果は CPR には若干劣るが IPM/CS, CAZ, AZT よりは優れていた。

2) β-lactamase 産生株を用いた単独菌感染モデル

*E. coli*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis* に対する成績を Table 8 に示した。

*E. coli* 35 株に対する、BIPM の ED<sub>50</sub> 値は 0.024 mg/mouse で、IPM/CS, CPR, CAZ, AZT に比べ優れた治療効果を示した。

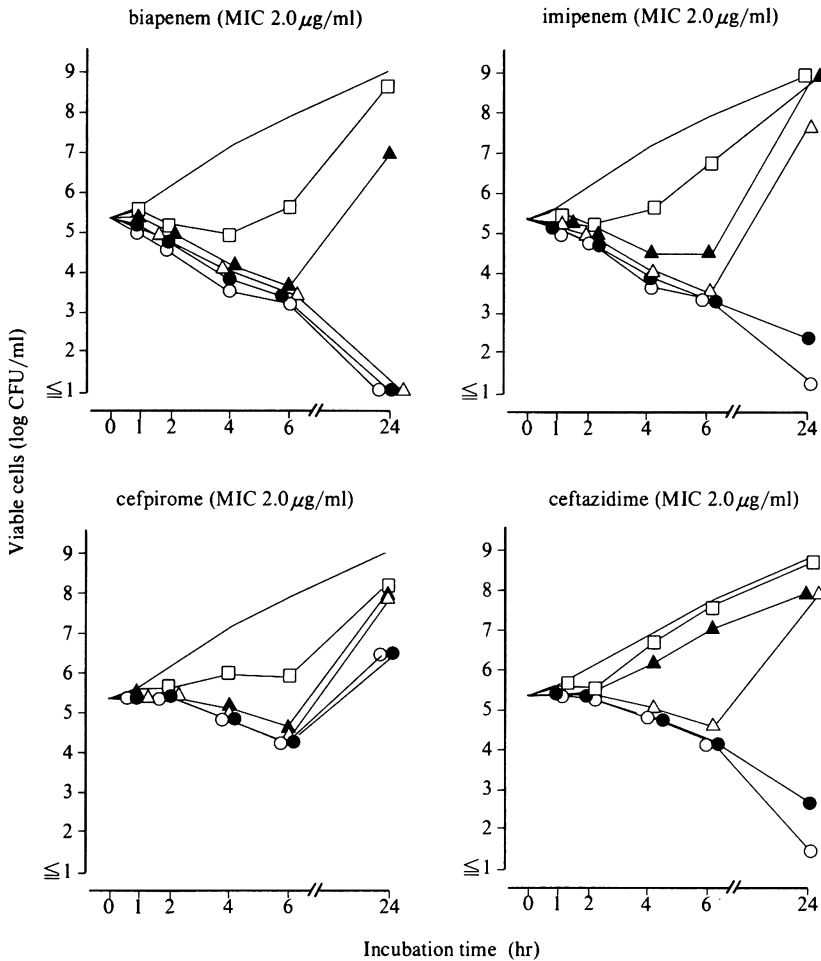


Fig. 2. Bactericidal activity of biapenem and other antibiotics against *P. aeruginosa* E7  
 Symbols: ○, 4 × MIC; ●, 2 × MIC; △, 1 × MIC; ▲, 1/2MIC; □, 1/4MIC;  
 —, control.

*P. vulgaris* No. 9 株に対する、各抗菌剤の ED<sub>50</sub> 値は BIPM(5.0 mg/mouse), IPM/CS (5.0 mg/mouse), CPR (7.937 mg/mouse), CAZ(3.969 mg/mouse), AZT(7.937 mg/mouse) で、BIPM の治療効果は、CPR, AZT より優れ、IPM/CS と同等、CAZ より低い成績であった。

*P. mirabilis* GN79 株に対する、BIPM の ED<sub>50</sub> 値は 0.625mg/mouse で、IPM/CS (0.992 mg/mouse) より若干優れてはいるが、CPR, CAZ, AZT より劣っていた。

*E. coli* ML1410 RGN823 株に対する、BIPM の ED<sub>50</sub> 値は 0.496 mg/mouse で、IPM/CS の 1/10, CPR の 1/2, CAZ の 1/3, AZT の 1/10 の小さい値を示し、良好な成績であった。

### 3) 複数菌感染モデル

*E. coli* C11 株 1.0MLD 菌量と *P. aeruginosa* E7 株 0.4MLD 菌量を混合感染させた場合の治療効果を Table 9 に示した。

各抗菌剤の ED<sub>50</sub> 値は BIPM(0.248mg/mouse), IPM/CS (0.394mg/mouse), CPR(1.250mg/mouse), CAZ (0.787mg/mouse), AZT (0.992 mg/mouse) で、BIPM の治療効果は対照薬剤に比べ優れていた。

### 4) 白血球減少症マウスにおける感染

*P. aeruginosa* E7 株に対する成績を Table 10 に示した。BIPM の ED<sub>50</sub> 値は 0.197mg/mouse で、IPM/CS の 1/5, CPR の 1/25, CAZ の 1/10, AZT の 1/25 と小さい値を示

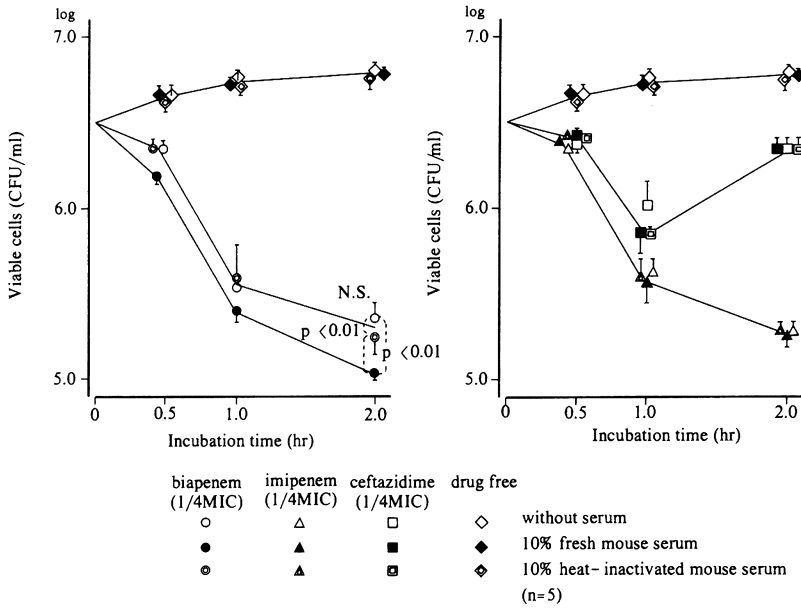


Fig. 3. Bactericidal activity of biapenem against *P. aeruginosa* E7 with or without mouse serum

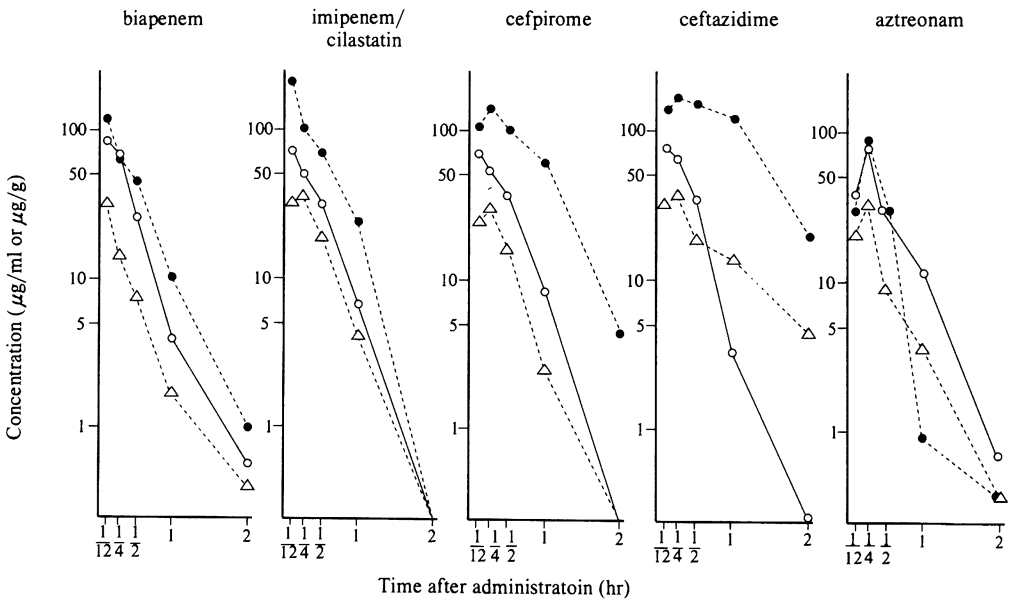


Fig. 4. Levels of biapenem, imipenem/cilastatin, ceftazidime and aztreonam in serum and tissue after administration of single subcutaneous dose (1mg/mouse) to mice.

Symbols : ○, serum ; ●, kidney ; △, lung

Table 7. Protecting effect of biapenem and other antibiotic in experimental systemic infection in mice

Organism (Challenge dose, MLD)	Antimicrobial agent	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		ED <sub>50</sub> (mg/mouse)	95% confidence limit
		[10 <sup>8</sup> ,	10 <sup>6</sup> cfu/ml]		
<i>S. aureus</i> Smith ( $3.6 \times 10^7$ cfu/mouse) [5.5 MLD]	biapenem	0.10	0.05	0.124	(0.081~0.190)
	imipenem/cilastatin	0.05	0.025	0.156	(0.101~0.242)
	ceftazidime	0.78	0.39	0.197	(0.123~0.316)
	ceftazidime	12.5	12.5	0.394	(0.254~0.610)
	cefuzonam	1.56	0.39	0.248	(0.160~0.385)
<i>S. aureus</i> TMS 33 <sup>1)</sup> ( $6.5 \times 10^9$ cfu/mouse) [2.7 MLD]	biapenem	12.5	0.78	0.248	(0.153~0.403)
	imipenem/cilastatin	12.5	0.20	1.575	(1.176~2.110)
	ceftazidime	25	3.13	5.000	(3.667~6.817)
	ceftazidime	100	50	6.300	(4.703~8.438)
	cefuzonam	50	6.25	5.000	(3.667~6.817)
<i>S. aureus</i> TMS 417 <sup>2)</sup> ( $1.5 \times 10^8$ cfu/mouse) [2.0 MLD]	biapenem	25	0.78	1.250	(0.917~1.704)
	imipenem/cilastatin	12.5	0.39	1.984	(1.296~3.038)
	ceftazidime	25	0.78	2.500	(1.654~3.780)
	ceftazidime	>100	50	7.937	(6.300~10.000)
	cefuzonam	100	3.13	3.969	(2.696~5.842)
<i>P. aeruginosa</i> E7 ( $1.5 \times 10^4$ cfu/mouse) [27.0 MLD]	biapenem	6.25	3.13	0.062	(0.041~0.094)
	imipenem/cilastatin	3.13	3.13	0.394	(0.267~0.580)
	ceftazidime	50	6.25	3.969	(2.696~5.842)
	ceftazidime	12.5	3.13	1.575	(1.176~2.110)
	aztreonam	6.25	3.13	3.969	(2.696~5.842)
<i>P. aeruginosa</i> TMS 11 ( $1.2 \times 10^6$ cfu/mouse) [72.5 MLD]	biapenem	1.56	0.20	0.008	(0.006~0.010)
	imipenem/cilastatin	1.56	0.39	0.062	(0.046~0.083)
	ceftazidime	25	3.13	3.969	(2.560~6.125)
	aztreonam	25	25	>5.000	
<i>K. pneumoniae</i> 3K25 ( $1.3 \times 10^4$ cfu/mouse) [13.3 MLD]	biapenem	3.13	0.39	0.039	(0.028~0.054)
	imipenem/cilastatin	0.78	0.20	0.099	(0.074~0.132)
	ceftazidime	0.05	0.05	0.016	(0.012~0.021)
	ceftazidime	1.56	0.10	0.098	(0.067~0.145)
	aztreonam	0.10	0.05	0.313	(0.199~0.490)

1) MIC of methicillin: 12.5  $\mu\text{g/ml}$ 2) MIC of methicillin: 12.5  $\mu\text{g/ml}$ , ofloxacin: 16  $\mu\text{g/ml}$ 

し、正常マウスにおける成績と同様に優れた治療効果を示した。

## 5) 呼吸器感染モデル

*K. pneumoniae* 3K25株を用いた呼吸器感染症マウスに対するBIPM及びIPM/CSの治療成績をFig. 5に示した。対照群の肺内細菌数は感染時から感染7日後まで<sup>6</sup>

~10<sup>8</sup> CFU/gの間を推移した。薬剤投与群はBIPM, IPM/CS共に翌日には肺内細菌数が10<sup>3</sup>CFU/g、感染3日後には10<sup>2</sup> CFU/g以下となり、感染7日後(薬剤投与終了2日後)まで菌数の増加は認められなかった。

## 6) 上行性尿路感染モデル

*E. coli* KU3株及び*P. aeruginosa* KU1株を用いた尿路感

Table 8. Protecting effect of biapenem and other antibiotic in experimental systemic infection in mice

Organism (Challenge dose, MLD)	Antimicrobial agent	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		ED <sub>50</sub> (mg/mouse)	95% confidence limit
		[10 <sup>8</sup> ,	10 <sup>6</sup> cfu/ml]		
<i>E. coli</i> 35 (6.5 × 10 <sup>7</sup> cfu/mouse) [1.36 MLD]	biapenem	0.78	0.05	0.024	(0.017~0.036)
	imipenem/cilastatin	1.56	0.20	0.062	(0.046~0.083)
	cefpirome	0.025	≤0.006	0.049	(0.032~0.075)
	ceftazidime	3.13	0.78	0.049	(0.039~0.062)
	aztreonam	3.13	0.78	0.496	(0.339~0.796)
<i>P. vulgaris</i> 9 (1.6 × 10 <sup>8</sup> cfu/mouse) [1.3 MLD]	biapenem	1.56	1.56	5.000	(3.667~6.817)
	imipenem/cilastatin	6.25	0.78	5.000	(3.445~7.257)
	cefpirome	0.39	0.10	7.937	(6.300~10.000)
	ceftazidime	0.10	0.10	3.969	(2.696~5.842)
	aztreonam	0.05	0.025	7.937	(6.300~10.000)
<i>P. mirabilis</i> GN79 (5.5 × 10 <sup>8</sup> cfu/mouse) [1.2 MLD]	biapenem	3.13	0.78	0.625	(0.413~0.945)
	imipenem/cilastatin	6.25	1.56	0.992	(0.674~1.460)
	cefpirome	0.78	0.39	0.313	(0.229~0.426)
	ceftazidime	0.20	0.20	0.496	(0.309~0.796)
	aztreonam	0.025	0.025	0.313	(0.199~0.490)
<i>E. coli</i> ML1410 RGN823 (3.5 × 10 <sup>8</sup> cfu/mouse) [1.0 MLD]	biapenem	0.20	0.05	0.496	(0.342~0.720)
	imipenem/cilastatin	1.56	1.56	5.000	(3.667~6.817)
	cefpirome	0.20	0.05	0.992	(0.674~1.460)
	ceftazidime	0.78	0.39	1.575	(1.176~2.110)
	aztreonam	0.20	0.10	5.000	(3.445~7.257)

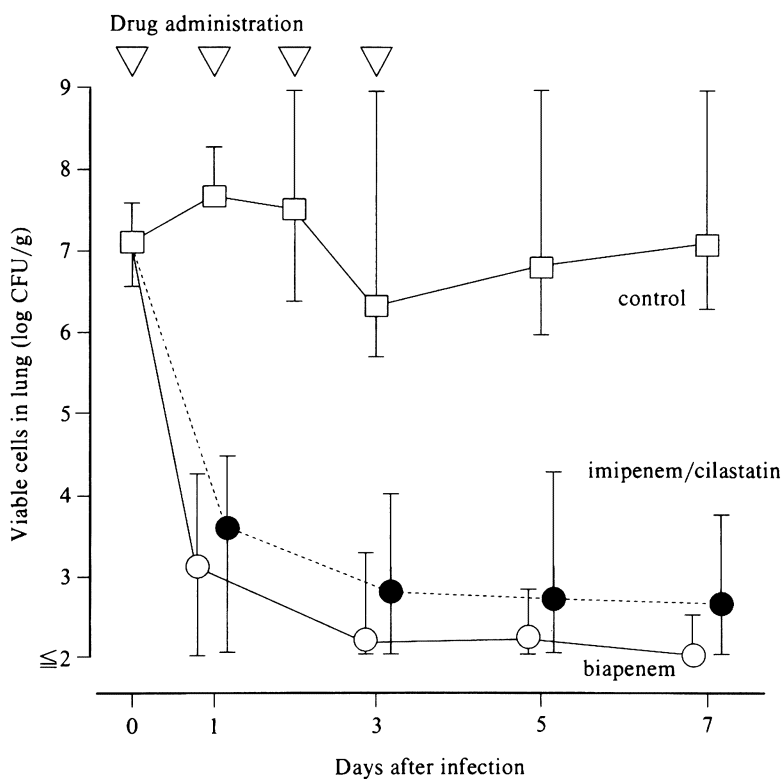
Table 9. Protecting effect of biapenem and other antibiotics in mixed infection with *E. coli* and *P. aeruginosa* in mice

Organism (Challenge dose, MLD)	Antimicrobial agent	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ , 10 <sup>6</sup> cfu/ml)		ED <sub>50</sub> (mg/mouse)	95% confidence limit
		[ <i>E. coli</i> / <i>P. aeruginosa</i> ]			
<i>E. coli</i> C11 [1.0 MLD]* (3.0 × 10 <sup>8</sup> cfu/mouse)	biapenem	0.025	3.13	0.248	(0.169~0.365)
	imipenem/cilastatin	0.10	3.13	0.394	(0.243~0.639)
<i>P. aeruginosa</i> E7 [0.4 MLD]* (2.0 × 10 <sup>6</sup> cfu/mouse)	cefpirome	≤0.006	6.25	1.250	(0.861~1.814)
	ceftazidime	0.025	3.13	0.787	(0.490~1.264)
	aztreonam	≤0.006	3.13	0.992	(0.674~1.460)

\*:mucin( - )

Table 10. Protecting effect of biapenem and other antibiotic in experimental systemic infection in neutropenic mice

Organism (Challenge dose, MLD)	Antimicrobial agent	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		ED <sub>50</sub> (mg/mouse)	95% confidence limit
		[10 <sup>8</sup> ,	10 <sup>6</sup> cfu/ml]		
<i>P. aeruginosa</i> E7 (1.3 × 10 <sup>3</sup> cfu/mouse) [16.0 MLD]	biapenem	6.25	3.13	0.197	(0.136~0.286)
	imipenem/cilastatin	3.13	3.13	0.992	(0.674~1.460)
	ceftazidime	50	6.25	5.000	(3.667~6.817)
	ceftazidime	12.5	3.13	1.984	(1.367~2.880)
	aztreonam	6.25	3.13	5.000	(3.667~6.817)



Mouse : ICR, 4W, male,  $19 \pm 1$ g, 6 animals/group  
 Challenge dose : intranasal infection ( $20 \mu\text{l}$  :  $1.0 \times 10^7$  CFU/ml)  
 Therapy : subcutaneously, once a day for 4 days, each 1mg/mouse  
 MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ),  $10^6$ CFU/ml) : biapenem, imipenem (0.10, 0.20)  
 ───┐ : The data represent the range of each value of 6 animals

Fig. 5. Therapeutic effect of biapenem and imipenem/cilastatin on respiratory tract infection due to *K. pneumoniae* 3K25 in mice.

Table 11. Therapeutic effects of biapenem and other antibiotics on experimental urinary tract infections in mice

Organism	Challenge dose (CFU/mouse)	Antibiotic <sup>1)</sup>	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		Viable cells in kidneys <sup>2)</sup> ( $\log_{10}$ CFU/g)	
			$10^8$	$10^6$	Mean	Range
<i>Escherichia coli</i> KU3	$1.0 \times 10^7$	biapenem	0.78	0.05	2.36	1.60~4.20
		imipenem/cilastatin	0.78	0.39	2.72	1.60~4.94
		cefpirome	0.05	0.025	2.82	1.60~5.12
		ceftazidime	0.20	0.20	2.45	1.60~3.42
		aztreonam	0.10	0.05	3.47	1.90~5.08
		Control	—	—	7.77	6.20~8.90
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KU1	$2.2 \times 10^7$	biapenem	0.78	0.39	3.19	1.60~6.22
		imipenem/cilastatin	0.78	0.78	4.48	4.48~8.54
		cefpirome	3.13	3.13	6.66	6.66~7.43
		ceftazidime	3.13	3.13	3.82	3.82~8.02
		aztreonam	12.5	6.25	6.33	6.33~7.31
		Control	—	—	8.77	8.77~9.66

1) Therapy was 1 mg/mouse subcutaneously twice a day for 3 days 24 h after infection.

2) Viable cells in kidneys were counted 24 hr after administration.

染症マウスに対する BIPM 及び対照薬剤の治療成績を Table 11 に示した。

*E. coli* KU3 株による感染後 5 日目の平均腎内生菌数は、薬剤非投与群で  $10^7$  CFU/g であり、BIPM 投与群及び IPM/CS, CPR, CAZ 投与群は平均腎内生菌数が  $10^2$  CFU/g, AZT 投与群は  $10^3$  CFU/g まで減少しており、いずれの薬剤も著明な菌数の減少が認められた。

*P. aeruginosa* KU1 株感染後 5 日目の平均腎内生菌数は、薬剤非投与群で  $10^8$  CFU/g であり、BIPM 及び CAZ 投与群は  $10^3$  CFU/g, IPM/CS は  $10^4$  CFU/g, CPR 及び AZT は  $10^6$  CFU/g であり、BIPM 及び CAZ 投与群の治療効果が優れていた。

### III. 考 察

BIPM の *in vitro* における抗菌力は、グラム陽性球菌に対して、IPM と同等あるいは若干弱い、腸内細菌科の菌種に対しては、IPM とほぼ同等もしくはより強く、*Pseudomonas* 属 (*X. maltophilia* を除く) を含むブドウ糖非発酵菌に対し、IPM をはじめ対照薬剤に比べ明らかに強かった。また、嫌気性菌に対しても BIPM は IPM と同様に強い抗菌力を示した。

BIPM は、既存のカルバペネム抗菌剤と異なり DHP-I に安定なので DHP-I 阻害剤や腎毒性軽減剤を必要とせず単剤で治療に用いることができると報告されている<sup>10,11)</sup>。本実験では *in vivo* のマウス感染モデルへの投

与に DHP-I 阻害剤は併用しなかった。その結果、全身感染に用いたグラム陽性、グラム陰性及び  $\beta$ -lactamase 産生の各菌に対する *in vitro* 抗菌力は必ずしも本剤が最も強くはなかったが、*in vivo* の治療効果は対照薬剤に比べ最も優れた成績が得られた。特に *P. aeruginosa* 感染で著明に確認された。正常マウスにおける *E. coli* と *P. aeruginosa* の混合全身感染及び *P. aeruginosa* 単独での尿路感染、さらに compromised host の状態を想定した白血球減少症マウスでの単独感染でも優れた治療効果が認められた。臨床では *P. aeruginosa* が compromised host に感染すると重篤化し易いことから、この成績は BIPM が本菌による重症感染症にも有用となる可能性を示唆すると考える。

*P. aeruginosa* 感染に対し BIPM の *in vivo* 効果が優れている理由としては、殺菌作用の強い点、DHP-I に対する安定性の高いこともあげられよう。 $\beta$ -lactam 剤が補体との協力作用により、殺菌作用が増強されることはすでに各種の報告があるが、白血球減少症マウスでは血清中の補体の活性も減少していると考えられるので、本剤がマウス血清の添加により殺菌効果が増強するという成績が臨床上的程度有効かはさらに検討が必要である。

以上の実験成績により BIPM は DHP-I 阻害剤の添加なしに単剤での有用性が期待できる物質であると考え



られる。

### 文 献

- 1) 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 Agent Chemother* 34: 994~1000, 1990
- 2) 日本化学療法学会:微量液体希釈による MIC 測定法。 *Chemotherapy* 36: 103 ~ 105, 1990
- 3) 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: 76~79, 1981
- 4) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically - Second Edition, Tentative Standard, NCCLS, Villanova, 1988
- 5) 日本化学療法学会:嫌気性菌の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法。 *Chemotherapy* 27: 559~560, 1979
- 6) 吉田 勇, 小川正俊, 宮崎修一, 西勝恵子, 五島瑳智子: グラム陰性桿菌の産生する不活化酵素に対する各種  $\beta$  - lactam 系薬剤の安定性。 *Chemotherapy* 29: 865~879, 1981
- 7) 川崎賢二, 関口金雄, 小川正俊, 辻 明良, 五島瑳智子: Opportunistic Pathogen と宿主防衛機能の関連について, 実験的白血球減少マウスにおける各菌種の易感染化と抗菌薬の治療効果について。 *Chemotherapy* 28: 14~21, 1980
- 8) 大森康男, 小川正俊, 宮崎修一, 五島瑳智子: 各種グラム陰性桿菌による実験的尿路感染症に関する基礎的研究。 *Chemotherapy* 30: 1237~1250, 1982
- 9) 宮崎修一, 大野 章, 北矢 進, 草地信也, 五島瑳智子: 呼吸器感染における *H. influenzae* および *S. pneumoniae* の組織親和性と発生機序に関する実験的研究。 *感染症学雑誌* 61: 310~317, 1987
- 10) Nakashima M, Uematsu T, and Ueno K: Pharmacokinetics and safety of L-627, a new parenteral carbapenem, in healthy volunteers. *Abstracts of the 31st ICAAC*: 819, 1991
- 11) Tanimura H, Kawaguchi T, Ochiai M, and Kobayashi Y: Penetration of a new  $1\beta$  - methyl carbapenem compound, L-627 into bile and tissues in patients of surgical infection. *Abstracts of the 32nd ICAAC*: 142, 1992

## Antibacterial activity of biapenem, a new carbapenem

Kenichiro Murakami, Shuichi Miyazaki, Yasuko Kaneko, Akiyoshi Tsuji,  
Keizo Yamaguchi and Sachiko Goto

Department of Microbiology, Toho University School of Medicine  
5-21-16, Ohmori-nishi, Ohta-ku, Tokyo 143, Japan

We compared the *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities of biapenem (BIPM) with imipenem/cilastatin (IPM/CS), cefpirome (CPR), ceftazidime (CAZ), aztreonam (AZT) and cefuzonam (CZON).

The *in vitro* activity of BIPM against gram-positive and gram-negative organisms was potent and almost the same as that of IPM.

Especially, against the glucose-nonfermentative bacteria including *Pseudomonas* spp., the activity of BIPM was higher than that of IPM.

BIPM showed a potent bactericidal activity and this activity was enhanced in presence of fresh mouse serum.

In experimental mice infections of various organisms, the therapeutic effect of BIPM was superior to IPM/CS, though BIPM and IPM were similar in *in vitro* antibacterial activities.

Especially, the efficacy of BIPM was remarkable in *Pseudomonas aeruginosa* infection.

Against respiratory tract infection with *Klebsiella pneumoniae* 3K25, the significant reduction level in the number of lungs organisms achieved by BIPM was almost the same as that of IPM.

In urinary tract infection with *P. aeruginosa* KU-1, the therapeutic effect of BIPM was superior to that of the reference antibiotics because viable cells in the kidneys decreased rapidly treated with BIPM.