

Biapenem の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力について

西野武志・大槻雅子・尾花芳樹・佐々木一尋・吉田益史・今朝洞忠孝
京都薬科大学微生物学教室*

新しい carbapenem 系抗生物質 biapenem(BIPM) の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力について imipenem (IPM), 3(*in vivo* では imipenem/cilastatin: IPM/CS), meropenem (MEPM), flomoxef (FMOX), ceftazidime (CAZ), cefsulodin (CFS), cefoperazone (CPZ) および piperacillin (PIPC) を比較薬として検討し、以下の成績を得た。

BIPM はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対し幅広い抗菌スペクトルを有し、かつ強い抗菌力を示した。各種臨床分離株に対する抗菌力は、比較薬として用いた他の carbapenem 系抗生物質とほぼ同程度であったが、cephem 系抗生物質に比べ優れていた。BIPM は特に、*Pseudomonas aeruginosa* に対し、試験した carbapenem 系および cephem 系抗生物質の中で最も優れた抗菌力を示した。BIPM の *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* および *P. aeruginosa* に対する抗菌作用の形式について検討したところ、薬剤濃度に応じた強い抗菌作用を示した。BIPM を作用させた際の細菌の形態変化を微分干渉顕微鏡および電子顕微鏡により観察したところ、*E. coli* では膨化した細胞が、*P. aeruginosa* ではバルジ状の細胞が観察された。BIPM は *E. coli* の PBP-2, *P. aeruginosa* の PBP-1A, -2 および -4 に強い親和性を示し、この結果は形態変化と良く一致していた。マウス実験的感染症における BIPM の治療効果は、グラム陽性菌および腸内細菌群の細菌に対しては IPM および MEPM とほぼ同等かもしくはやや優っていたが、*P. aeruginosa* および *Acinetobacter calcoaceticus* に対しては明らかに IPM および MEPM より優れていた。マウス実験的尿路感染症における BIPM の治療効果は、*E. coli* では IPM/CS より明らかに優れていたが、MEPM とはほぼ同等であった。*P. aeruginosa* では試験した IPM/CS, MEPM および CAZ より明らかに優れていた。*Klebsiella pneumoniae* を用いたマウス実験的呼吸器感染症に対する BIPM の治療効果は、IPM/CS, MEPM とほぼ同等であったが、これら carbapenem 系抗生物質より CAZ の方が優れていた。

Key words: Biapenem, *in vitro* 抗菌力, *in vivo* 抗菌力

Biapenem(BIPM)は日本レグリー株式会社で開発された注射用 carbapenem 系抗生物質で、母核の4位に methyl 基を導入することによりヒトの腎に存在し imipenem (IPM)等の carbapenem 系抗生物質を分解することが報告されている dehydropeptidase-I (DHP-I)に対し安定性を改善した新規化合物である^{1,2)}。本剤はすでにグラム陽性菌、グラム陰性菌および嫌気性菌に対し幅広い抗菌スペクトルを有すると同時に強い抗菌力を示すこと、および細菌の産生する β -lactam 剤分解酵素(β -lactamase)に対し極めて安定であることが報告されている^{3,4)}。今回我々は BIPM の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力を IPM, meropenem(MEPM), ceftazidime(CAZ), flomoxef(FMOX), cefsulodin (CFS), cefoperazone (CPZ) および piperacillin (PIPC) と比較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19株、グラム陰性菌31株および臨床由来のメチシリン(DMPPC)感受性 *Staphylococcus aureus* 51株、DMPPC 耐性 *S. aureus* (DMPPC に対する MIC が 12.5 μ g/ml 以上の株) 27株、*Staphylococcus epidermidis* 23株、*Streptococcus pyogenes* 33株、*Streptococcus pneumoniae* 22株、*Enterococcus faecalis* 37株、*Haemophilus influenzae* 20株、*Escherichia coli* 39株、*Citrobacter freundii* 34株、*Klebsiella pneumoniae* 40株、*Enterobacter cloacae* 38株、*Enterobacter aerogenes* 29株、*Serratia marcescens* 36株、*Proteus vulgaris* 26株、*Proteus mirabilis* 28株、*Morganella morganii* 29株、*Providencia rettgeri* 25株、*Pseudomonas aeruginosa* 42株、imipenem (IPM) 耐性 *P. aeruginosa* (IPM に対する MIC が

* 〒607 京都市山科区御陸中内町5

3.13 $\mu\text{g/ml}$ 以上の株)35株, および *Acinetobacter calcoaceticus* 40株を使用した。

2. 使用薬剤

BIPM (日本レダリー), IPM (萬有製薬), cilastatin (CS, 萬有製薬), meropenem (MEPM, 住友製薬), flomoxef (FMOX, 塩野義製薬), ceftazidime (CAZ, 日本グラクソ), cefuslodin (CFS, 武田薬品), cefoperazone (CPZ, 富士化学), piperacillin (PIP, 富士化学)のいずれも力価の明らかなものを使用した。

3. 感受性試験測定法

最小発育阻止濃度 (MIC)の測定は, 日本化学療法学会の感受性測定法に準じて行った⁵⁾。培地は前培養に trypto-soya broth (TSB, ニッスイ)を, 測定用に heart infusion agar (HIA, ニッスイ)を用いた。尚, *Streptococcus*属および *Corynebacterium diphtheriae*には 10% 馬脱繊維血液を添加した HIA 培地を用い, *H. influenzae*には 3% Bacto FILDE'S enrichment (Difco)を添加した HIA 培地を用いた。

4. 殺菌曲線

TSBで37℃, 約18時間前培養した *S. aureus* Smithおよび *P. aeruginosa* 15846の各菌液を, *E. coli* K-12は AM3で同様に前培養した菌液を Heart infusion broth (HIB, ニッスイ)で 10^{-3} ~ 10^{-4} 倍に希釈し, 振盪培養を行った。約2~5時間後の対数増殖中期の菌液を同培地で希釈し約 10^6 cell/mlに調整後, 1/2~4 MIC濃度の薬剤を作用させ1, 2および4時間後の生菌数を測定した。

5. 微分干渉顕微鏡による形態変化の観察

HIBで37℃, 18時間前培養した *E. coli* K-12および *P. aeruginosa* 15846の菌液を同培地で希釈し, 対数増殖期中期まで振盪培養し, その菌液の白金耳をカバーグラスに塗抹した。これをスライドガラス上の薬剤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℃で培養し, 2時間後に恒温装置付き微分干渉顕微鏡 (ニコン)で各菌の形態の観察を行った。

6. 走査電子顕微鏡による形態変化の観察

HIBで37℃, 約18時間 *E. coli* K-12および *P. aeruginosa* 15846を培養した後, その培養液を同培地にて, 0.5%の割合で希釈した。その後に対数増殖期中期まで振盪培養し, 薬剤を添加した。薬剤添加2時間後に菌体を遠心(3000 rpm, 5分)にて集菌し, 電子顕微鏡の試料とした。試料作成は, 0.6% glutar aldehyde溶液にて15分間固定した後, エタノール系で脱水した。次いで酢酸イソアミルで置換した試料を臨界点乾燥装置 (HCP-2:日立)にて乾燥した後, イオンコーター (IB-5:エイコーエンジニアリング)を用い, 金を蒸着した。走査電子顕微鏡 (JSM-35:日本電子)にての観察および写真撮影は,

加速電圧3.5KVで行った。

7. PBPsに対する親和性の検討

Sprattの方法に準じて, *E. coli* K-12および *P. aeruginosa* 15846の膜分画を調整し, [¹⁴C] benzylpenicillin ([¹⁴C]PCG (Amersham))との結合試験により親和性を検討した⁶⁾。X線フィルム(富士写真フィルム)上の [¹⁴C]PCGの感光度は, Ultroskan XL Laser Densitometer (LKB)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効果

実験的腹腔内感染症は *S. aureus* Smith, *S. pneumoniae* J-4, *E. coli* 444, *K. pneumoniae* KC-1, *S. marcescens* T-55, *P. aeruginosa* K-13および *A. calcoaceticus* Ac-54を用いて作成した。*S. pneumoniae* J-4を除くいずれの菌種も, 普通ブイオン (NB:ニッスイ)で37℃, 18時間振盪培養後, 同培地にて希釈し, 6% gastric mucin (Orthana Kemisk Fabrik A/S)と等量混合した。*S. pneumoniae* J-4は5% 綿羊血液添加TPBで37℃, 12時間培養後, 血液無添加の同培地にて希釈し, 他株と同様6% gastric mucinと等量混合した。この菌液を1群10匹のマウスの腹腔内に摂取し, 感染2時間後に1回, 薬剤を皮下投与した。その後7日間生死の観察を行い, Probit法によりED₅₀値を算出した。

9. 実験的尿路感染症に対する効果

E. coli 444および *P. aeruginosa* 15846による実験的尿路感染症の作成は既報⁷⁾のように行った。すなわち, 接種菌液の調整は, 普通寒天培地 (NA:ニッスイ)にて37℃, 18時間斜面培養した菌をNBに懸濁し, 同培地で希釈した。菌接種は, 15時間給水制限をした雌性マウスを強制的に排尿させた後, Sodium pentobarbital (Nembutal: Abbott)で麻酔し, 外尿道口周辺をアルコール消毒後, 先端をまるく処理した注射針を装着した注射筒を用い, 経尿道的に0.1mlの菌液を膀胱内に注入した。注入直後に触診により菌液注入の成否を確認後, 外尿道口を小型クリップで4時間閉鎖し, 菌液の漏れを防止した。*E. coli*は菌液注入後, 2, 4および6時間後に薬剤を皮下投与し, 48時間後に両腎を摘出した。摘出した腎をガラスホモジェナイザーにてホモジナイズした後, 腎内生菌数を測定した。

10. 実験的呼吸器感染症に対する効果

K. pneumoniae DT-Sによる実験的呼吸器感染症の作成は松本ら⁷⁾の方法にて行った。ただし噴霧菌液の調整は, NAで37℃, 18時間斜面培養した菌をNBに懸濁(6.5×10^7 cells/ml)し, 使用した。また薬剤投与は, 菌液噴霧終了後4時間目に皮下投与し, 肺内生菌数の測定および生死観察を行った。

II. 実験結果

1. 抗菌スペクトル

BIPMのグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対する抗菌力を Table 1~2 に示した。

グラム陽性菌の *S. aureus* および *S. epidermidis* に対して BIPM は IPM よりやや劣るものの MEPM, CAZ および FMOX より明らかに優れた抗菌力を示した。一方, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* およびその他のグラム陽性菌に対しては IPM とほぼ同等の抗菌力を示した。但し, *E. faecalis* および Viridans group Streptococcus に対しては, 他の carbapenem 系および cephem 系抗生物質と同様に抗菌力はそれほど強くはなかった。グラム陰性菌に対する抗菌力は試験した全ての菌種に対し IPM と同等もしくはそれ以上の抗菌力を示した。*H. influenzae* および腸内細菌群の細菌に対しては BIPM より MEPM の方が優れていたが, *P. aeruginosa* を含むブドウ糖非発酵性菌に対しては MEPM とほぼ同等の抗菌力を, そして他の cephem 系抗生物質より明らかに優れていた。

2. 臨床分離株に対する感受性分布

グラム陽性菌 5 菌種, グラム陰性菌 14 菌種, 計 654 株に対する MIC を測定し, MIC の範囲, MIC₅₀ および MIC₉₀ の値を Table 3 に示した。

1) *S. aureus*, *S. epidermidis*

DMPPC 感受性 *S. aureus* (MSSA) 51 株に対する BIPM の MIC₉₀ 値は 3.13 $\mu\text{g/ml}$ で, IPM の抗菌力とほぼ同等であった。DMPPC 耐性 *S. aureus* (MRSA) 27 株に対しては, 試験したいずれの薬剤もあまり優れた抗菌力を示さなかった。*S. epidermidis* 23 株に対しても MRSA と同様の傾向であったが, carbapenem 系抗生物質の中では BIPM が最も優れていた。

2) *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*

S. pyogenes 33 株に対する BIPM の MIC₉₀ 値は 0.006 $\mu\text{g/ml}$ 以下であり, IPM および MEPM と同様極めて強い抗菌力を示した。*S. pneumoniae* 22 株に対する BIPM の MIC₉₀ 値も 0.006 $\mu\text{g/ml}$ 以下であり, IPM と同等であったが, MEPM (MIC₉₀: 0.025 $\mu\text{g/ml}$) よりはやや優れていた。両菌種に対して BIPM は CAZ および FMOX より明らかに優れていた。

3) *E. faecalis*

E. faecalis 37 株に対する BIPM の MIC₉₀ 値は 3.13 $\mu\text{g/ml}$ で, IPM の 4 倍であったが, 対照薬として用いた MEPM および cephem 系抗生物質より優れていた。

4) *H. influenzae*

H. influenzae 20 株に対する BIPM の MIC₅₀ 値は 0.78

Table 1. Antibacterial spectrum of biapenem against gram-positive bacteria

Organisms	(Inoculum size : 10 ⁶ CFU/ml)				
	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	biapenem	imipenem	meropenem	ceftazidime	flomoxef
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P JC	0.025	≤0.006	0.05	6.25	0.2
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	0.025	0.013	0.05	6.25	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	0.05	0.025	0.1	12.5	0.2
<i>Staphylococcus aureus</i> Neumann	0.05	0.013	0.1	12.5	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	0.05	0.013	0.1	6.25	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> No80(PC-R)	0.025	0.013	0.05	6.25	0.2
<i>Staphylococcus epidermidis</i> KP-1	0.05	0.025	0.1	12.5	0.39
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23*	≤0.006	≤0.006	≤0.006	0.1	0.1
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook*	≤0.006	0.013	0.013	0.1	0.2
<i>Streptococcus pyogenes</i> C-203*	≤0.006	≤0.006	0.013	0.1	0.1
Viridans group Streptococcus*	12.5	3.13	12.5	>100	25
<i>Enterococcus faecalis</i> KP-1	12.5	3.13	12.5	>100	25
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type I*	≤0.006	≤0.006	0.013	0.1	0.025
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type II*	0.013	0.013	0.025	0.2	0.05
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type III*	≤0.006	≤0.006	0.013	0.1	0.025
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> KP-1*	0.2	0.2	0.1	12.5	0.2
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.05	0.013	0.025	0.39	0.05
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.025	0.013	0.025	3.13	0.2
<i>Bacillus anthracis</i>	0.013	0.013	0.025	100	0.39

Medium : heart infusion agar

* : Supplemented with 10% horse blood

μg/ml で、抗菌力の強さは CAZ > MEPM > BIPM = FMOX の順であった。

5) *E. coli*, *C. freundii*, *K. pneumoniae*

E. coli 39株, *C. freundii* 34株および *K. pneumoniae* 40株に対する MIC₉₀値は、各々 0.05 μg/ml, 0.39 μg/ml および 0.39 μg/ml で、MIC range は狭かった。*C. freundii* に対する CAZ の MIC₉₀ 値が 100 μg/ml 以上と高かった以外は対照薬として用いた他の carbapenem 系抗生物質および cephem 系抗生物質も強い抗菌力を示した。

6) *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *S. marcescens*

これらの菌種には対照薬として用いた CAZ に対し高度耐性菌が存在したが、BIPM はこれらの株に対しても、

感受性菌に対するのと同じ抗菌力を示した。*E. cloacae* 38株, *E. aerogenes* 29株および *S. marcescens* 36株に対する BIPM の MIC₉₀ 値は、各々 0.39 μg/ml, 0.78 μg/ml および 6.25 μg/ml であった。

7) *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *M. morgani*, *P. rettgeri*

P. vulgaris 26株, *P. mirabilis* 26株, *M. morgani* 29株および *P. rettgeri* 25株に対する BIPM の MIC₉₀ 値は、各々 3.13 μg/ml, 3.13 μg/ml, 1.56 μg/ml および 1.56 μg/ml であり、いずれの菌種に対しても IPM より優れていた。

8) *P. aeruginosa* および IPM 耐性 *P. aeruginosa*

P. aeruginosa 42株に対する BIPM の MIC₉₀ 値は 1.56 μg/ml で、対照薬として用いた他の carbapenem 系抗生

Table 2. Antibacterial spectrum of biapenem against gram-negative bacteria

Organisms	(Inoculum size : 10 ⁶ CFU/ml)				
	MIC (μg/ml)				
	biapenem	imipenem	meropenem	ceftazidime	flomoxef
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211*	0.78	0.78	0.05	≤0.006	0.39
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.025	0.1	0.025	0.2	0.05
<i>Escherichia coli</i> NIH	0.025	0.1	0.025	0.05	0.025
<i>Escherichia coli</i> K-12	0.05	0.2	0.025	0.05	0.025
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	0.013	0.05	≤0.006	0.1	0.2
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.013	0.05	≤0.006	0.05	0.013
<i>Salmonella typhi</i> O-901	0.025	0.2	0.013	0.05	0.025
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.025	0.1	0.013	0.05	0.025
<i>Salmonella paratyphi</i> B	0.05	0.1	0.013	0.05	0.025
<i>Salmonella enteritidis</i> KP-1	0.05	0.2	0.013	0.05	0.025
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.013	0.025	≤0.006	0.2	0.05
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.025	0.2	0.013	0.1	0.05
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.05	0.2	0.013	0.1	0.025
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.013	0.05	≤0.006	0.1	0.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	0.78	0.78	0.025	0.05	0.05
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	0.05	0.39	0.025	0.39	50
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	0.05	0.39	0.025	0.78	100
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	0.1	0.39	0.025	0.39	0.1
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	0.2	0.39	0.025	0.2	0.39
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.39	1.56	0.1	0.025	0.1
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	0.39	1.56	0.05	0.025	0.2
<i>Morganella morgani</i> Kono	0.39	0.78	0.025	0.1	0.78
<i>Providencia rettgeri</i> NIH 96	0.1	0.39	0.025	0.05	0.025
<i>Providencia alcalifaciens</i> NIH 118	0.39	0.39	0.05	0.1	0.05
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No12	0.39	1.56	0.39	1.56	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NC-5	1.56	12.5	0.39	0.2	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	0.78	1.56	1.56	3.13	>100
<i>Pseudomonas cepacia</i> ATCC 25416	0.013	0.013	0.013	12.5	12.5
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> Ac-54	0.05	0.1	0.05	0.78	0.78
<i>Alcaligenes faecalis</i> IAM 1015	0.05	0.013	0.1	6.25	6.25
<i>Alcaligenes faecalis</i> IFO 1311	0.2	0.39	0.013	1.56	1.56

Medium : heart infusion agar

* : Supplemented with 3% Bacto FILDE's enrichment

物質および抗緑膿菌製剤より明らかに優れていた。一方、IPM耐性 *P. aeruginosa* に対する BIPM の MIC₉₀ 値は 50 µg/ml で IPM の MIC₉₀ 値と同じであった。また、MEPM が 25 µg/ml, CPZ が 100 µg/ml 以上、CFS が 100 µg/ml 以上、CAZ が 100 µg/ml として PIPC が 100 µg/ml 以上であった。

9) *A. calcoaceticus*

A. calcoaceticus 40 株に対する BIPM の MIC₉₀ 値は 0.2 µg/ml で IPM が 0.39 µg/ml, MEPM が 0.39 µg/ml として CAZ が 100 µg/ml 以上で試験した薬剤中 BIPM が最も優

れていた。

3. 殺菌曲線

細菌の増殖に及ぼす BIPM, IPM および MEPM の影響を Fig. 1 の示した。

S. aureus Smith に対して BIPM は 2 MIC (0.05 µg/ml) 以上の濃度で生菌数を減少させ、その殺菌作用には dose response が認められた。同様に IPM および MEPM においても殺菌作用が認められ、そして dose response も認められた。

E. coli K-12 に対して BIPM は、1/2 MIC 以上の濃度で

Table 3-1. Comparative activities of biapenem and other antibiotics tested against clinical isolates

Organism (No. of strains)	Drug	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
methicillin-sensitive <i>Staphylococcus aureus</i> (51)	biapenem	0.025 ~ 50	0.1	3.13
	imipenem	0.013 ~ 50	0.025	3.13
	meropenem	0.05 ~ 50	0.2	6.25
	ceftazidime	6.25 ~ >100	12.5	100
	flomoxef	0.2 ~ 100	0.78	12.5
methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (27)	biapenem	0.1 ~ 50	0.39	50
	imipenem	0.025 ~ 50	0.1	6.25
	meropenem	0.2 ~ 25	0.78	12.5
	ceftazidime	12.5 ~ >100	25	>100
	flomoxef	0.39 ~ 50	1.56	12.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (23)	biapenem	0.013 ~ 25	0.1	12.5
	imipenem	≤0.006 ~ 100	0.1	50
	meropenem	0.05 ~ 50	0.2	25
	ceftazidime	3.13 ~ 100	12.5	50
	flomoxef	0.2 ~ 100	1.56	6.25
<i>Streptococcus pyogenes</i> (33)	biapenem	≤0.006 ~ 0.013	≤0.006	≤0.006
	imipenem	≤0.006 ~ 0.013	≤0.006	≤0.006
	meropenem	≤0.006 ~ 0.025	≤0.006	0.013
	ceftazidime	0.05 ~ 0.2	0.1	0.1
	flomoxef	0.05 ~ 0.2	0.1	0.2
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (22)	biapenem	≤0.006 ~ 0.013	≤0.006	≤0.006
	imipenem	≤0.006	≤0.006	≤0.006
	meropenem	≤0.006 ~ 0.05	≤0.006	0.025
	ceftazidime	0.05 ~ 3.13	0.1	1.56
	flomoxef	0.05 ~ 0.39	0.1	0.2
<i>Enterococcus faecalis</i> (37)	biapenem	1.56 ~ 3.13	1.56	3.13
	imipenem	0.39 ~ 1.56	0.78	0.78
	meropenem	1.56 ~ 12.5	3.13	6.25
	ceftazidime	6.25 ~ >100	50	>100
	flomoxef	100 ~ >100	100	>100

Table 3-2. Comparative activities of biapenem and other antibiotics tested against clinical isolates

Organism (No. of strains)	Drug	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>H. influenzae</i> (20)	biapenem	0.1 ~ 0.78	0.78	0.78
	imipenem	0.1 ~ 3.13	1.56	1.56
	meropenem	0.013 ~ 0.1	0.05	0.1
	ceftazidime	≤0.006 ~ 0.05	0.013	0.025
	flomoxef	0.39 ~ 1.56	0.78	0.78
<i>E. coli</i> (39)	biapenem	0.013 ~ 0.05	0.025	0.05
	imipenem	0.05 ~ 0.39	0.2	0.2
	meropenem	≤0.006 ~ 0.025	0.013	0.013
	ceftazidime	0.05 ~ 0.39	0.2	0.39
<i>Citrobacter freundii</i> (34)	biapenem	0.05 ~ 1.56	0.1	0.39
	imipenem	0.2 ~ 1.56	0.39	0.78
	meropenem	0.025 ~ 0.05	0.05	0.05
	ceftazidime	0.2 ~ >100	12.5	>100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (40)	biapenem	0.1 ~ 1.56	0.39	0.39
	imipenem	0.39 ~ 3.13	0.78	0.78
	meropenem	0.025 ~ 0.1	0.05	0.05
	ceftazidime	0.1 ~ 1.56	0.2	0.78
<i>Enterobacter cloacae</i> (38)	biapenem	0.05 ~ 1.56	0.1	0.39
	imipenem	0.1 ~ 1.56	0.39	0.78
	meropenem	0.025 ~ 0.39	0.05	0.2
	ceftazidime	0.2 ~ >100	0.39	>100
<i>Enterobacter aerogenes</i> (29)	biapenem	0.05 ~ 0.78	0.2	0.78
	imipenem	0.2 ~ 3.13	0.78	1.56
	meropenem	0.025 ~ 0.1	0.025	0.05
	ceftazidime	0.2 ~ 100	0.39	50
<i>Serratia marcescens</i> (36)	biapenem	0.1 ~ 12.5	0.78	6.25
	imipenem	0.2 ~ 6.25	0.78	3.13
	meropenem	0.05 ~ 12.5	0.39	6.25
	ceftazidime	0.1 ~ 100	1.56	50
<i>Proteus vulgaris</i> (26)	biapenem	0.2 ~ 6.25	1.56	3.13
	imipenem	0.2 ~ 6.25	3.13	6.25
	meropenem	0.025 ~ 0.39	0.1	0.2
	ceftazidime	0.025 ~ 3.13	0.05	0.1
<i>Proteus mirabilis</i> (28)	biapenem	0.39 ~ 3.13	1.56	3.13
	imipenem	0.78 ~ 6.25	3.13	6.25
	meropenem	0.05 ~ 0.2	0.1	0.1
	ceftazidime	0.05 ~ 0.2	0.05	0.1
<i>Morganella morganii</i> (29)	biapenem	0.2 ~ 1.56	0.78	1.56
	imipenem	0.78 ~ 3.13	3.13	3.13
	meropenem	0.05 ~ 0.2	0.1	0.1
	ceftazidime	0.05 ~ 50	0.1	25

Table 3-3. Comparative activities of biapenem and other antibiotics tested against clinical isolates

Organisms (No. of strains)	Drug	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Providencia rettgeri</i> (25)	biapenem	0.1 ~ 3.13	0.39	1.56
	imipenem	0.39 ~ 3.13	0.78	3.13
	meropenem	0.025 ~ 0.39	0.05	0.2
	ceftazidime	0.05 ~ 6.25	0.39	1.56
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (42)	biapenem	0.39 ~ 6.25	0.78	1.56
	imipenem	0.39 ~ 6.25	1.56	3.13
	meropenem	0.2 ~ 6.25	0.78	3.13
	cefoperazone	6.25 ~ 100	6.25	6.25
	cefsulodin	1.56 ~ 12.5	3.13	12.5
	ceftazidime	0.78 ~ 25	3.13	6.25
	piperacillin	3.13 ~ >100	6.25	25
imipenem resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (35)	biapenem	1.56 ~ >100	6.25	50
	imipenem	3.13 ~ >100	6.25	50
	meropenem	0.39 ~ 100	6.25	25
	cefoperazone	12.5 ~ >100	50	>100
	cefsulodin	1.56 ~ >100	12.5	>100
	ceftazidime	1.56 ~ >100	6.25	100
	piperacillin	1.56 ~ >100	25	>100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (40)	biapenem	0.025 ~ 0.39	0.1	0.2
	imipenem	0.013 ~ 0.78	0.2	0.39
	meropenem	0.05 ~ 0.78	0.2	0.39
	ceftazidime	1.56 ~ >100	12.5	>100

殺菌作用が認められ、投与量との間には明らかに dose response が認められた。一方、IPM および MEPM 共に、1/2 MIC の濃度では 1 時間目までは増殖が認められた

P. aeruginosa 15846 に対して BIPM は 1/2 MIC (0.39 $\mu\text{g/ml}$) 以上の濃度で急速に生菌数を減少させた。また同時に、IPM も 1/2 MIC (0.78 $\mu\text{g/ml}$) 以上の濃度で急速に生菌数を減少させたが、MEPM の 1/2 MIC 濃度では作用 2 時間目より再増殖が認められた。

4. 形態変化の観察

1) 微分干渉顕微鏡による観察

1/4 から 4 MIC 濃度の BIPM、IPM および MEPM を対数増殖期の *E. coli* K-12 に作用させた 2 時間後の顕微鏡像を Fig. 2 に、同じく *P. aeruginosa* 15846 に作用させた 2 時間後の顕微鏡像を Fig. 3 に示した。

E. coli K-12 に BIPM の 1/4 MIC (0.025 $\mu\text{g/ml}$) を作用させた際、ほとんどの菌が膨化し、球形化しているのが観察された。1 MIC (0.1 $\mu\text{g/ml}$) では一部溶菌像が、2 MIC (0.2 $\mu\text{g/ml}$) 以上では、ほとんどの菌が溶菌を起こしている像が観察された。IPM でも同様に 1/4 MIC (0.05 $\mu\text{g/ml}$) 作用時で一部の菌が膨化し、1 MIC (0.20 $\mu\text{g/ml}$) 作用時では一部の菌の溶菌が観察された。MEPM では 1/4 MIC

(0.006 $\mu\text{g/ml}$) 作用時では膨化と共に菌の伸長 (フィラメント) 化も観察され、1 MIC (0.025 $\mu\text{g/ml}$) では溶菌像が観察された。

P. aeruginosa 15846 に BIPM の 1/4 MIC (0.20 $\mu\text{g/ml}$) を作用させた段階では形態的に大きな変化は観察されなかったが、1 MIC (0.78 $\mu\text{g/ml}$) 作用時にはバルジ形成が観察された。2 MIC (1.56 $\mu\text{g/ml}$) 以上の濃度では溶菌像が観察された。IPM では、1 MIC (1.56 $\mu\text{g/ml}$) 以上の濃度で球形化細胞と溶菌像が観察された。MEPM では 1/4 MIC (0.20 $\mu\text{g/ml}$) でややフィラメント化の傾向が、1 MIC (0.78 $\mu\text{g/ml}$) 以上の濃度でフィラメント化が顕著に認められた。また、2 MIC (0.20 $\mu\text{g/ml}$) から 4 MIC (3.13 $\mu\text{g/ml}$) ではフィラメント化状の中央に球状のバルジ形成が観察された。

2) 走査電子顕微鏡による観察

(1) *E. coli*

Fig. 4 に BIPM および MEPM をそれぞれ 1/4、1 および 4 MIC を 2 時間作用させた際の電顕像を示した。正常な *E. coli* K-12 の表面構造は smooth で、桿状形態を示し分裂時の細胞も認められた。BIPM の 1/4 MIC 電顕像では膨化した菌体像が、1 MIC (0.10 $\mu\text{g/ml}$) 以上では球形化し、表面構造の変化した菌体が観察された。IPM では

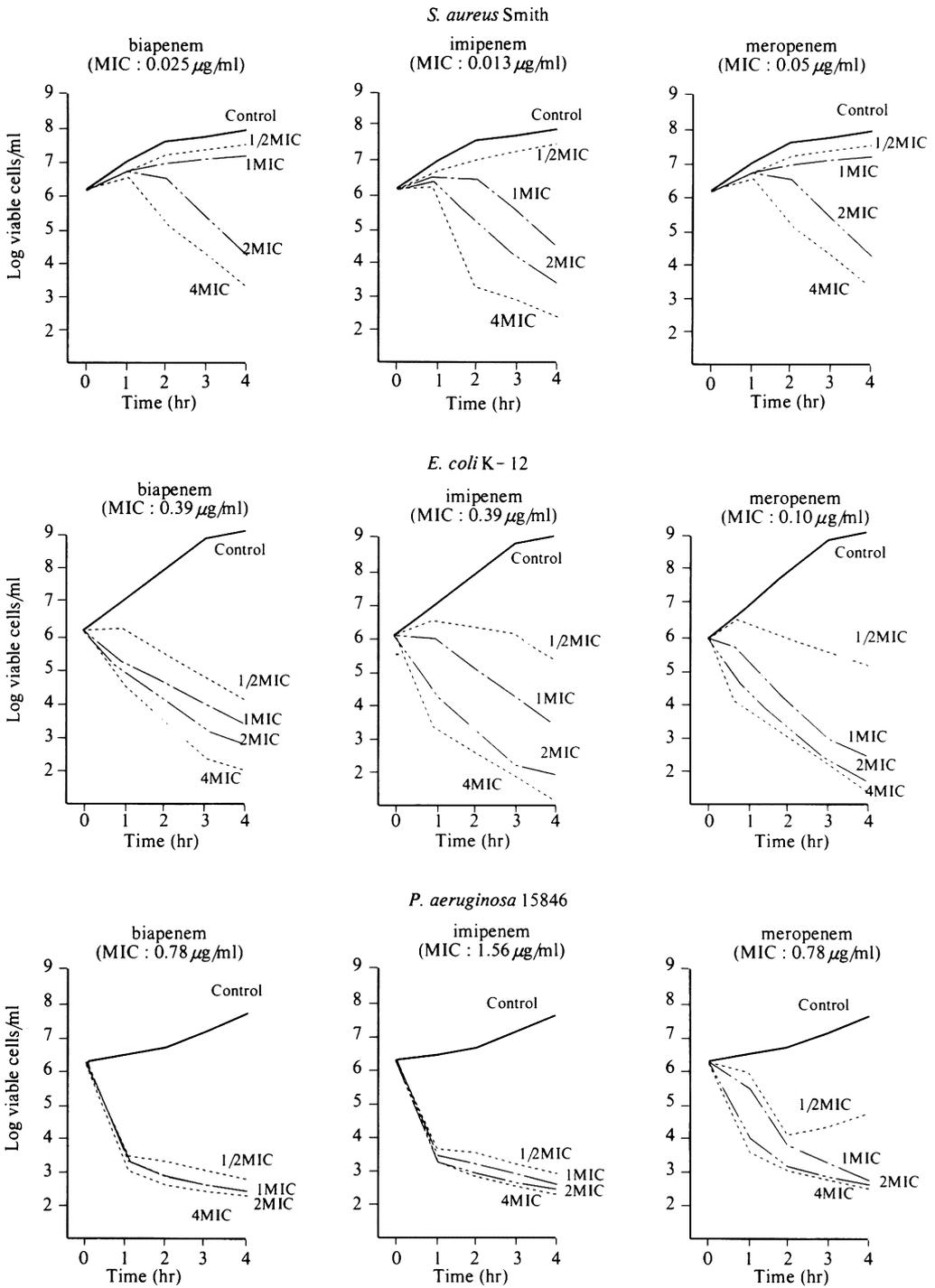


Fig 1. Bactericidal activity of biapenem, imipenem and meropenem

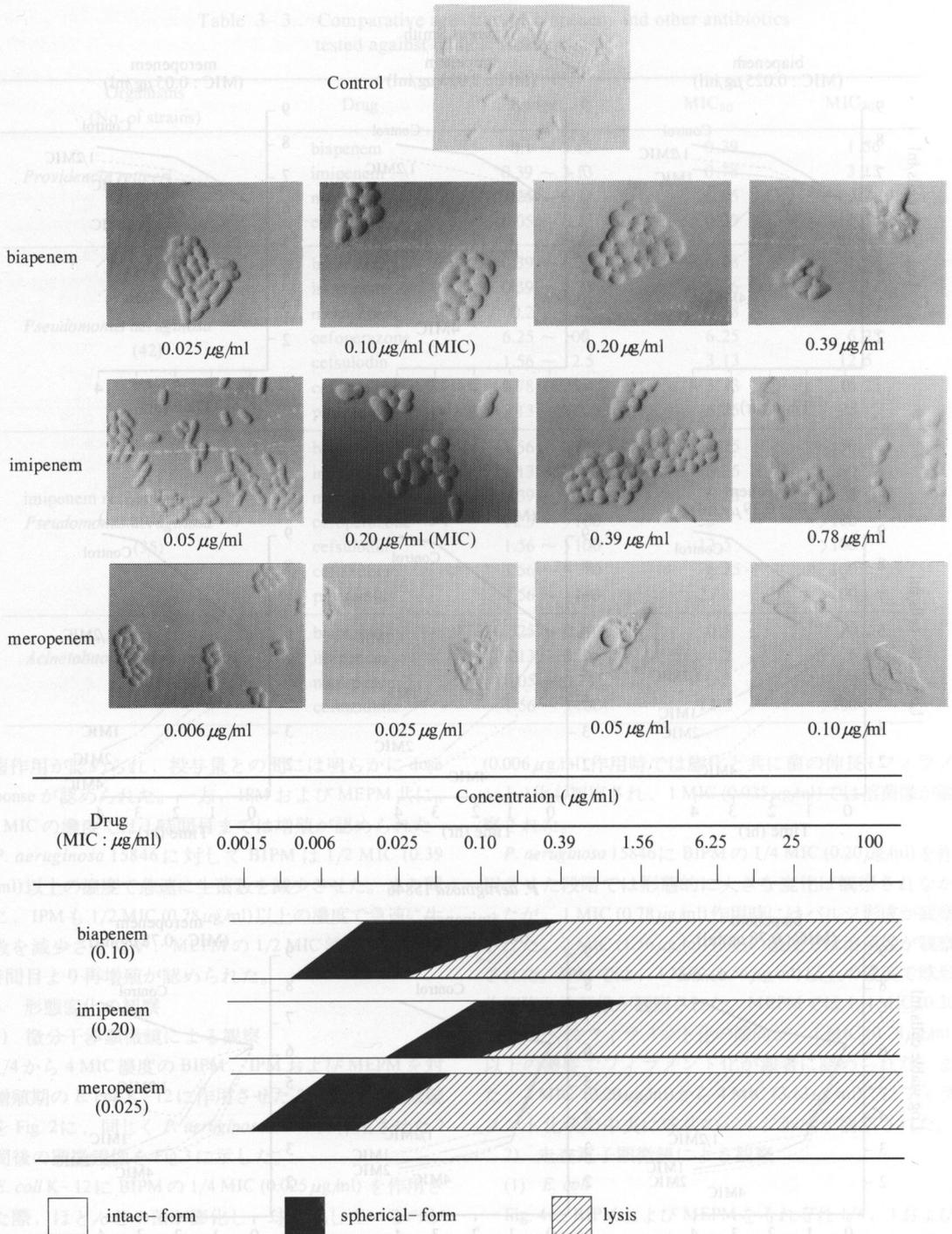


Fig 2. Differential interference contrast micrographs of *E. coli* K-12 exposed to biapenem, imipenem and meropenem for 2h

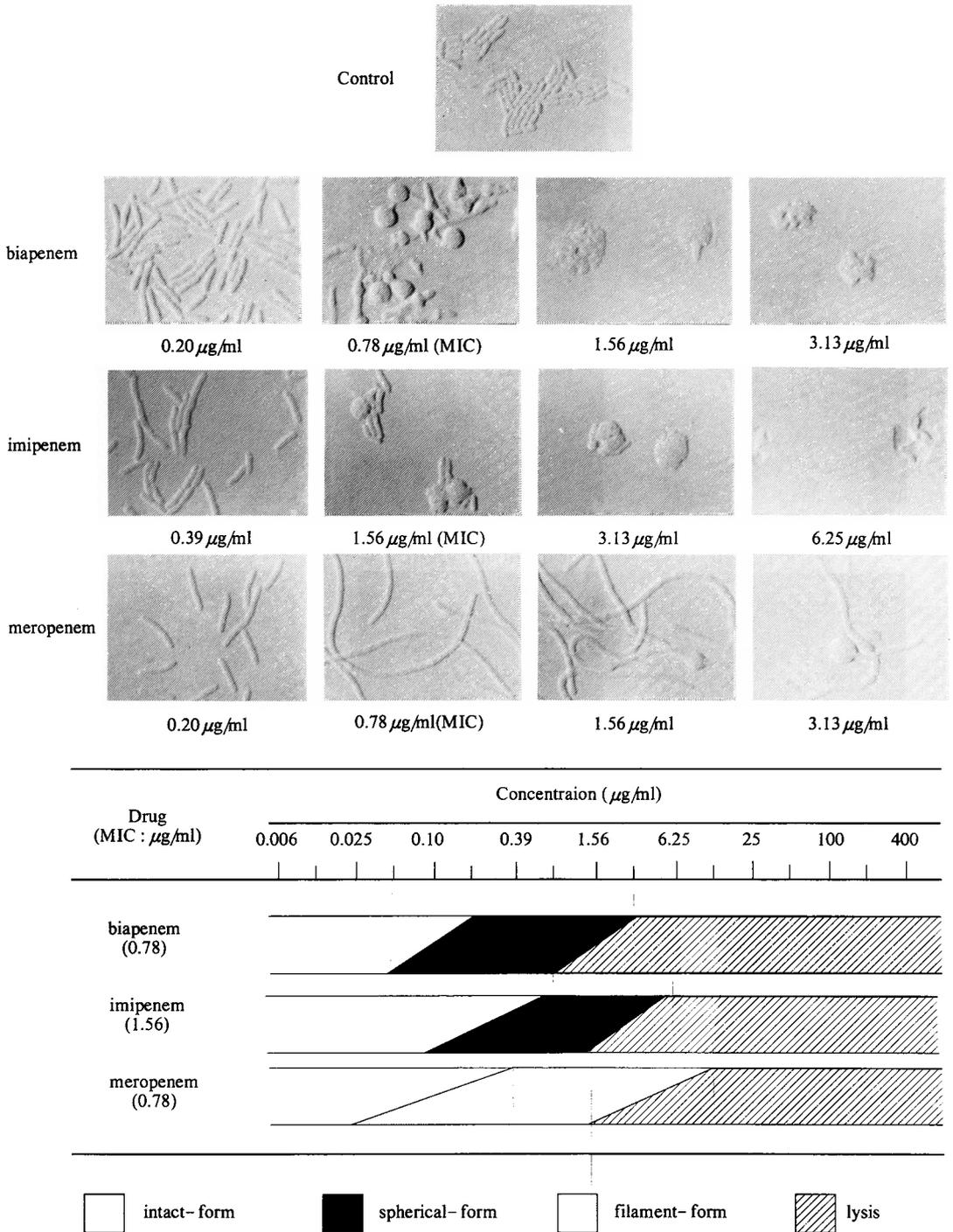


Fig 3. Differential interference contrast micrographs of *P. aeruginosa* 15846 exposed to biapenem, imipenem and meropenem for 2h

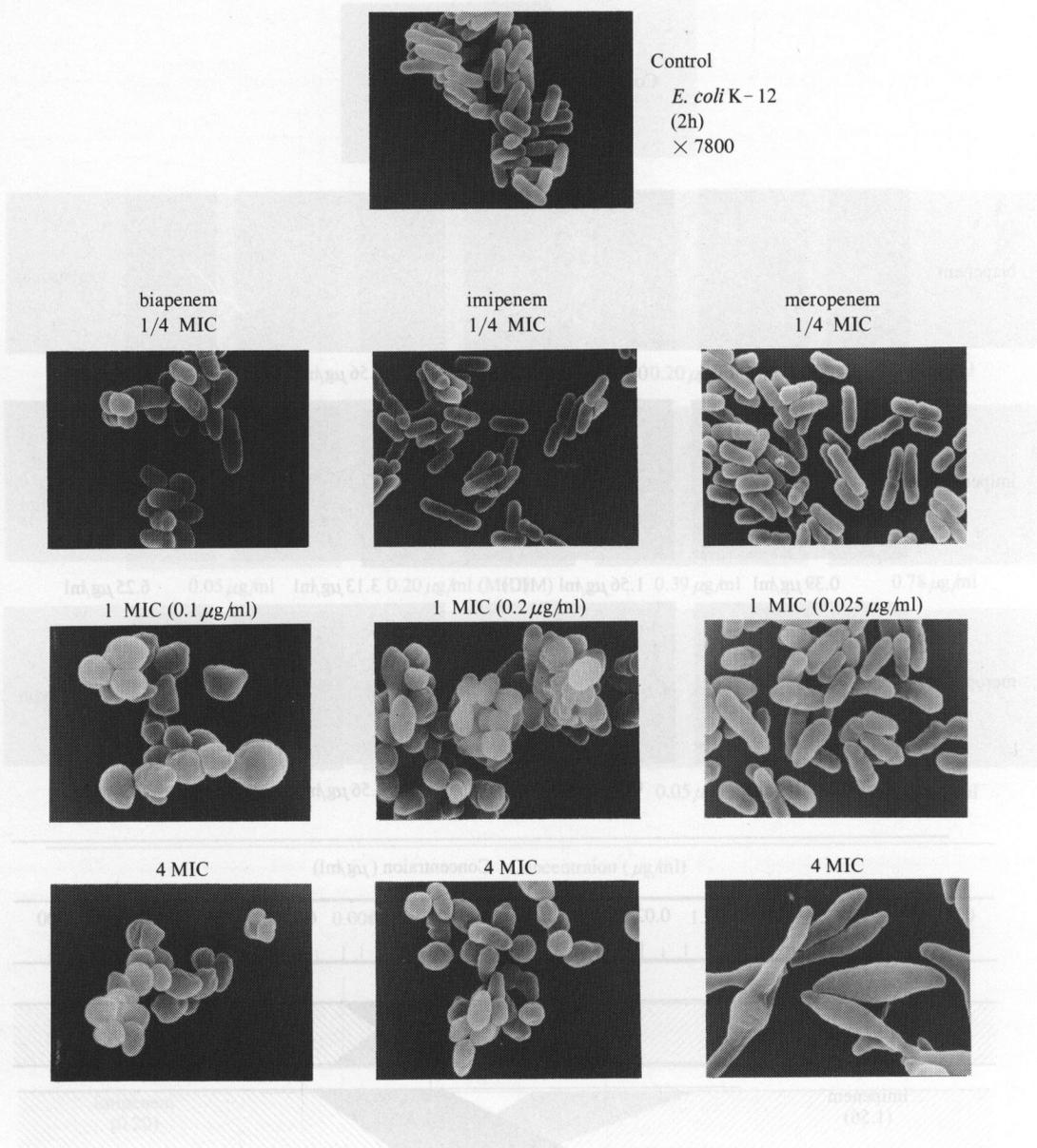


Fig 4. Scanning electron micrographs of *E. coli* K-12 exposed biapenem, imipenem and meropenem for 2h.

1/4 MIC 作用時では菌体の変化は観察されず、1 MIC (0.20 $\mu\text{g/ml}$) 以上で膨化、球形化した菌体像が観察された。一方、MEPM でも 1/4 MIC では菌体の変化は観察されず、1 MIC で膨化像が、4 MIC ですべての菌が膨化し、そして不定型している像が観察された。

2) *P. aeruginosa*

正常 *P. aeruginosa* 15846 の表面は smooth であり桿状形態を示した。BIPM および IPM の 1/4 MIC を作用させた際、菌体はややフィラメント化、そして隔壁部位にバルジの形成が観察された。BIPM の 1 MIC を作用させると、1/4 MIC を作用させた際よりも、菌体のフィラメント化は観察されず、隔壁部位のみにマルチバルジの形

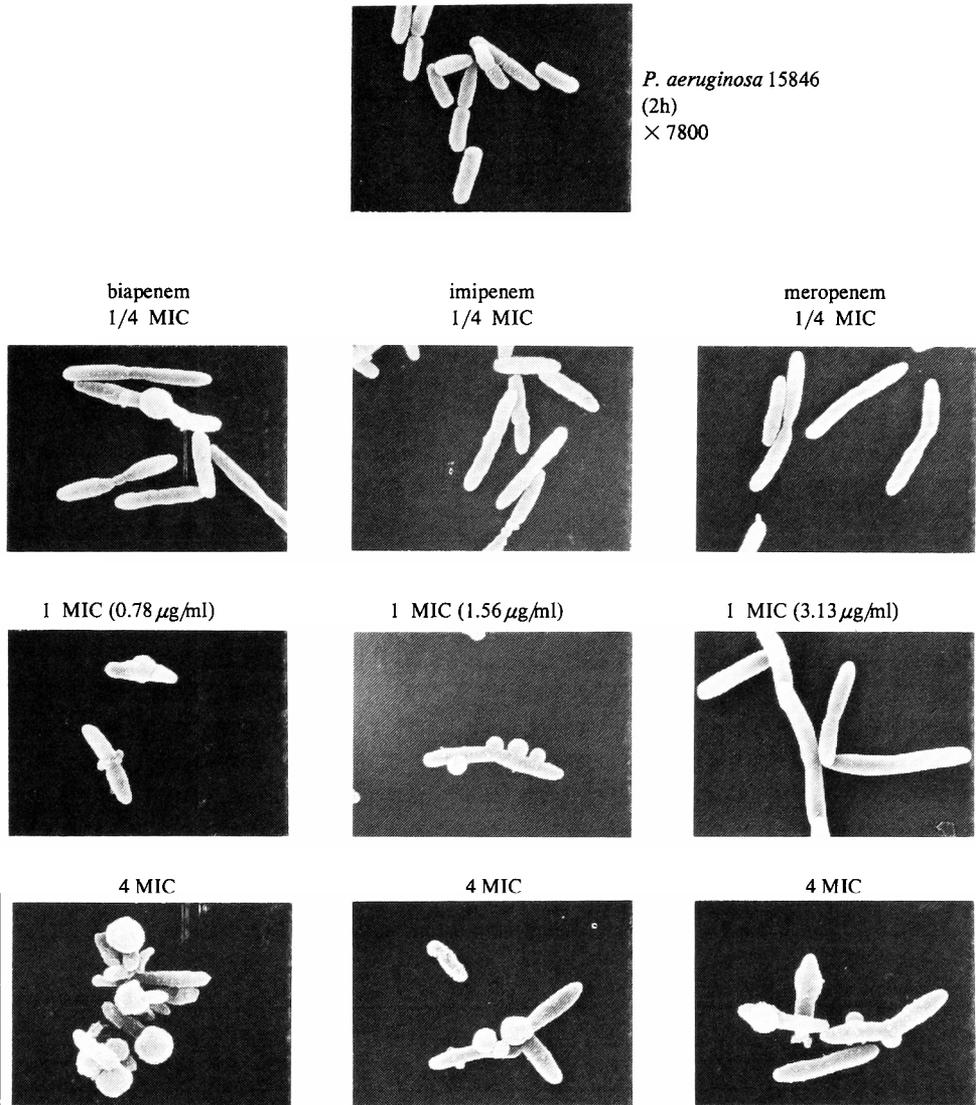


Fig. 5. Scanning electron micrographs of *P. aeruginosa* 15846 exposed biapenem, imipenem and meropenem for 2h.

成が観察された。一方、IPMの1 MICを作用させると隔壁部位のみではなく伸長化部位にもバルジの形成が観察された。MEPMの1 MICの作用ではフィラメント化像が観察された。BIPMおよびIPMの4 MIC濃度の作用ではバルジの形成が観察されたが、MEPMではフィラメント化した菌のみが観察された (Fig. 5)。

5. PBPs に対する結合親和性

E. coli K-12 および *P. aeruginosa* 15846 に対する BIPM, IPM および MEPM の親和性を 50% 阻害濃度として Table 4 に示した。

E. coli の PBP に対し、BIPM は 1A, 2 および特に 4 に強い親和性を示した。一方、IPM は 1A, および 4 に強

い親和性を, MEPMは3および4に強い親和性を示した。

*P. aeruginosa*のPBPに対し, BIPMは1A, 2および特に4に強い親和性を示した。一方, IPMは1Aおよび4に強い親和性を, MEPMは3および4に強い親和性を示した。

6. 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治療効果をED₅₀値としてTable 5に示した。

グラム陽性菌については, *S. aureus* Smithおよび*S. pneumoniae* J-4に対してBIPMはIPM/CSの1/2~1/3の治療効果を示した。しかしFMOXより5~7倍, CAZより60倍以上, そしてMEPMより10~15倍優れていた。

グラム陰性菌については, *E. coli* 444に対してBIPMはIPMの2倍の治療効果を示したが, MEPMおよびCAZよりやや劣っていた。*K. pneumoniae* KC-1に対してBIPMはMEPMとほぼ同等の治療効果を示したが, IPMおよびCAZより劣っていた。*S. marcescens* T-55に対しては, carbapenem系抗生物質の中ではBIPMが最も優れた治療効果を示した。*P. aeruginosa* 15846に対して, BIPMは試験した薬剤中で最も優れていた。また*P. aeruginosa* K-13に対しても試験した薬剤中で最も優れており, IPM/CSの2倍, MEPMの12倍そしてCAZの50倍優れた治療効果を示した。*A. calcoaceticus* Ac-54に対してもBIPMは試験した薬剤中で最も優れており, IPM/CSの7倍, MEPMの14倍そしてCAZの200倍優れた治療効果を示した。

7. 実験的尿路感染症に対する効果

E. coli 444および*P. aeruginosa* 15846を用いた実験的尿路感染症に対する治療効果について検討した結果をFig. 6~7に示した。*E. coli*の場合, 感染48時間後の腎内菌数を検討したところ, いずれの薬剤もdose responseが認められ, 投与量に応じた腎内菌数を示した。BIPMは0.08, 0.4および2.0mg/マウス(2回投与)の各投与量群において, IPM/CSより優れていたものの, CAZより劣った治療効果であった。またMEPMと比較すると, BIPMとMEPMとは高投与量(2.0mg/マウス, 2回)で同等であったが, 低投与量(0.08mg/マウス, 2回)ではBIPMがMEPMより優れていた。*P. aeruginosa*の場合, BIPMは試験した薬剤の中で明らかに最も優れた効果を示した。

8. 実験的呼吸器感染症に対する効果

K. pneumoniae DT-Sによるマウス実験的呼吸器感染症に対する治療効果について検討した結果をFig. 8に示した。

BIPMの同投与量での治療効果はMEPMと同等で, IPM/CSよりやや劣る結果であったが, 本試験菌に対するMIC値と, 総合的に判定するとCAZ>BIPM=IPM/CS>MEPMの順で優れた結果であった。

III. 考 察

BIPMはcarbapenem母核の4位にmethyl基を導入する事により, ヒト腎のDHP-Iに対し極めて高い安定性を示す新規注射用carbapenem系抗生物質である^{1,2)}。本剤はこれまでに*in vitro*における各種の細菌学的試験にお

Table 4. Affinities of biapenem for penicillin-binding proteins

<i>E. coli</i> K-12						
Drug	ID 50 ^a for protein					
	1A	1Bs	2	3	4	5/6
biapenem	0.29	0.19	0.08	3.4	0.10	24
imipenem	0.07	0.13	0.03	1.54	0.26	3.2
meropenem	0.52	0.84	0.02	0.62	0.81	5.4

<i>P. aeruginosa</i> 15846						
Drug	ID 50 ^a for protein					
	1A	1B	2	3	4	5
biapenem	0.90	1.63	0.92	1.65	0.08	>10
imipenem	0.10	1.43	3.21	3.98	0.46	>10
meropenem	6.36	1.98	5.07	0.20	0.02	>10

^a The ID₅₀ values are concentrations (mg/l) of L-627, imipenem and meropenem, required for 50% inhibition of [¹⁴C] penicillin G to PBPs.

Table 5. Protective effect of biapenem and other antibiotics on experimental infection in mice

Organisms	Challenge dose (CFU/mouse)	Mucin	Drugs	MIC* (μ g/ml)	ED ₅₀ (mg/kg)	95% confidence limit
<i>S. aureus</i> Smith	1.9×10^6 (30LD ₅₀)	+	biapenem	0.025	0.0947	(0.0849~0.1061)
			imipenem/cilastatin	0.013	0.0416	(0.0305~0.0567)
			meropenem	0.005	0.9522	(0.6587~1.3372)
			ceftazidime	6.25	6.2768	(3.8000~9.1165)
			flomoxef	0.39	0.4735	(0.4247~0.5308)
<i>S. pneumoniae</i> J-4	3.0×10^2 (300LD ₅₀)	-	biapenem	0.013	4.9400	(2.8000~8.5700)
			imipenem/cilastatin	≤ 0.006	1.7300	(0.9400~3.2000)
			meropenem	0.013	71.9500	(42.6100~169.3800)
			ceftazidime	0.39	>150	
			flomoxef	0.2	33.1000	(22.4300~58.6200)
<i>E. coli</i> 444	1.9×10^6 (300LD ₅₀)	+	biapenem	0.05	3.5316	(2.5779~4.8372)
			imipenem/cilastatin	0.2	4.9759	(4.4530~5.6225)
			meropenem	0.013	1.5987	(1.1768~2.1747)
			ceftazidime	0.1	1.9661	(1.2623~3.6327)
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	1.8×10^4 (200LD ₅₀)	+	biapenem	0.025	15.4800	(9.7300~24.4400)
			imipenem/cilastatin	0.1	6.2900	(3.7300~10.6900)
			meropenem	0.025	12.1400	(7.7500~19.3500)
			ceftazidime	0.2	4.8500	(3.1300~7.5300)
<i>S. marcescens</i> T-55	3.8×10^6 (100LD ₅₀)	+	biapenem	0.78	0.2318	(0.1240~0.3775)
			imipenem/cilastatin	0.78	2.1573	(1.3276~5.0288)
			meropenem	0.05	0.2733	(0.1624~0.4670)
			ceftazidime	0.78	0.0215	(0.0092~0.0423)
<i>P. aeruginosa</i> 15846	6.0×10^4 (150LD ₅₀)	+	biapenem	0.78	0.6848	(0.4764~0.9750)
			imipenem/cilastatin	3.13	0.7065	(0.5069~0.9670)
			meropenem	0.78	4.1524	(2.6214~6.4755)
			ceftazidime	0.78	>100	
<i>P. aeruginosa</i> K-13	4.5×10^4 (15LD ₅₀)	+	biapenem	0.78	0.0880	(0.0558~0.1389)
			imipenem/cilastatin	3.13	0.1639	(0.1000~0.2667)
			meropenem	0.78	1.0670	(0.5546~1.9428)
			ceftazidime	1.56	4.7591	(2.4952~8.3399)
<i>A. calcoaceticus</i> Ac-54	1.5×10^4 (30LD ₅₀)	+	biapenem	0.1	0.3042	(0.1646~0.5193)
			imipenem/cilastatin	0.2	2.0129	(1.3044~3.2583)
			meropenem	0.2	4.2287	(2.5736~7.0905)
			ceftazidime	3.13	61.6009	(32.1668~173.6070)

いて、幅広い抗菌スペクトルを有すると同時に、強い抗菌活性を示す事が報告されている。本報において *in vitro* および *in vivo* における BIPM の抗菌力を他の carbapenem 系抗生物質および cephem 系抗生物質と比較検討した。

BIPM はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して同じ carbapenem 系抗生物質である IPM および MEPM と同じく幅広い抗菌スペクトルを示した。臨床分離株に対

する抗菌力は、グラム陽性菌では *S. aureus*, *S. epidermidis* および *E. faecalis* に対し IPM よりやや劣っていたものの、他の菌種では IPM と同等であった。一方、MEPM と比較すると、MRSA を除く他の全てのグラム陽性菌に対し、BIPM が優れた抗菌力を示した。グラム陰性菌には、*S. marcescens* を除く試験した全ての菌種、*H. influenzae*, *E. coli*, *C. freundii*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *M. morgani*, *P.*

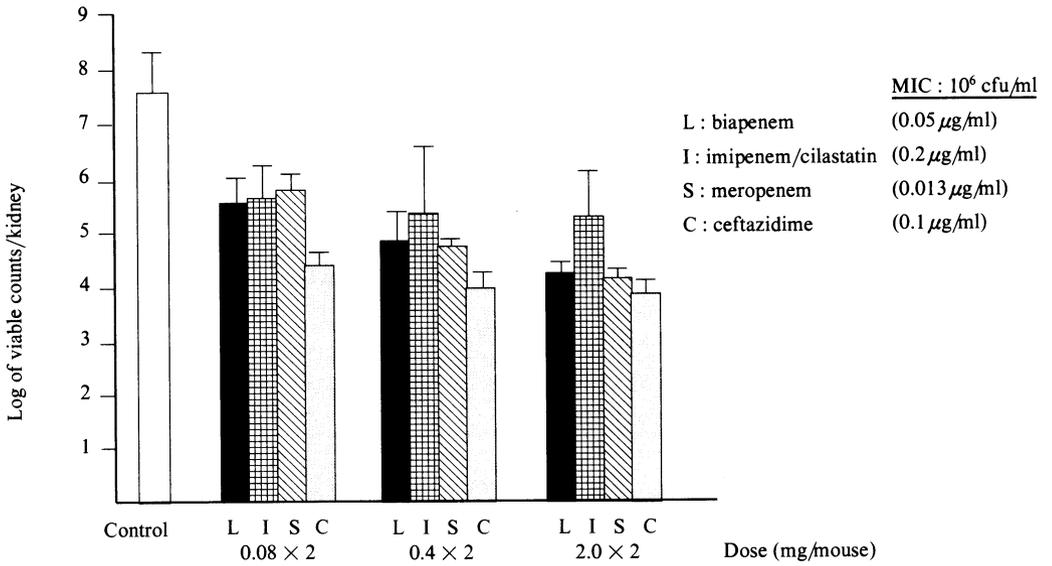


Fig 6. Protective effect on experimental urinary tract infection with *E. coli* 444 in mice

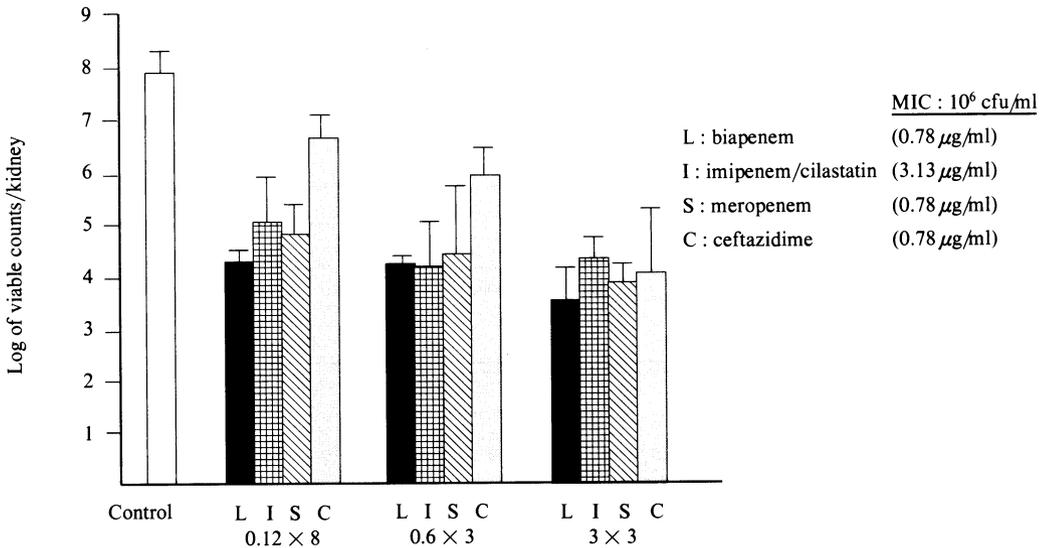


Fig 7. Protective effect on experimental urinary tract infection with *P. aeruginosa* 15846

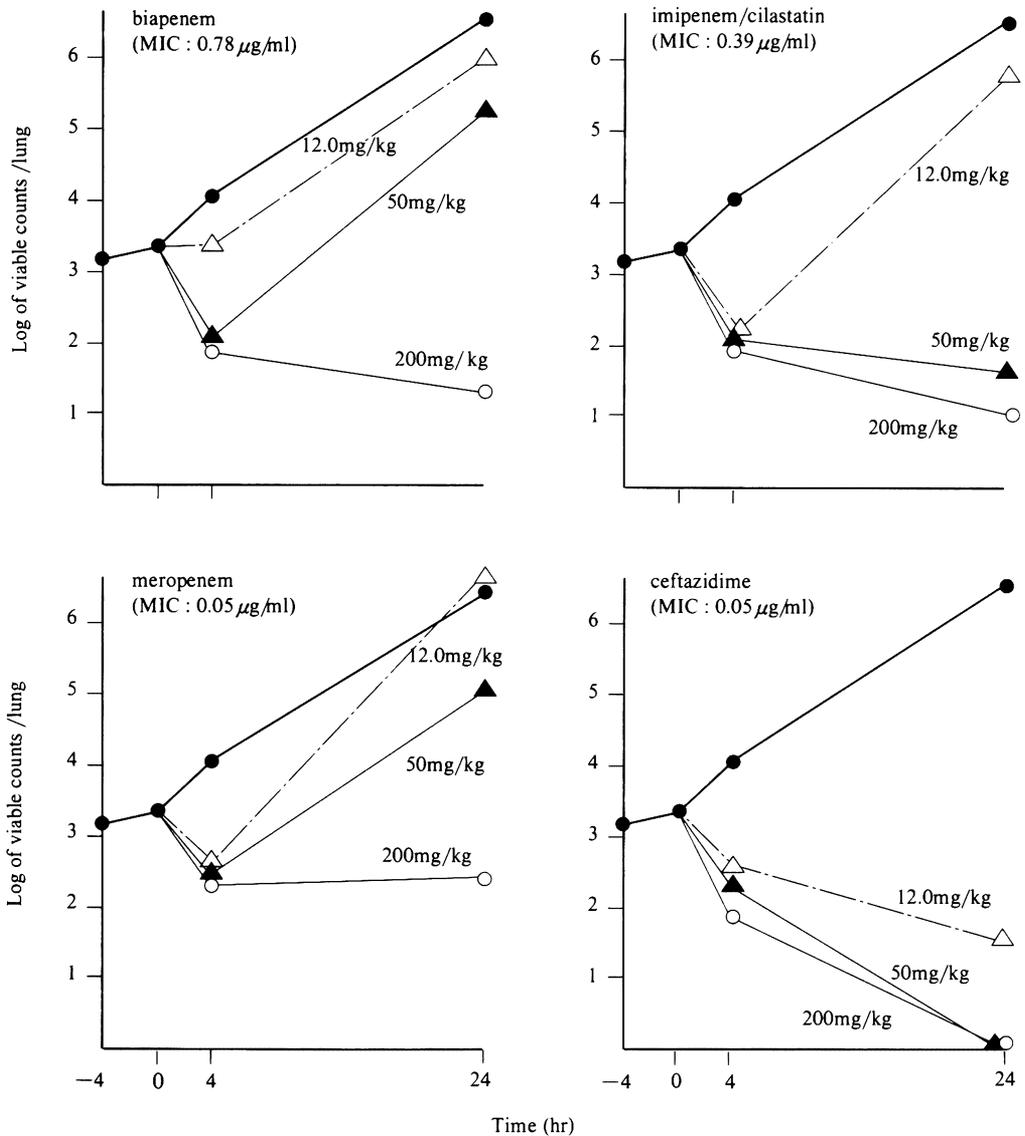


Fig 8. Effect of biapenem and other antibiotics administration on number of bacteria in the lung of mice infected with *K. pneumoniae* DTS by the aerosol method

rettgeri, *P. aeruginosa* および *A. calcoaceticus* に対し IPM の2倍の抗菌力を示した。一方, *H. influenzae* および腸内細菌群の菌種に対しては BIPM より MEPM の方が優れていたが, *P. aeruginosa* および *A. calcoaceticus* に対しては BIPM の方が優れた抗菌力を示した。特に, *P. aeruginosa* に対しては他の抗緑膿菌製剤である CPZ, CFS, CAZ および PIPC と比較しても BIPM が最も優れた抗菌力を示した。

増殖曲線に及ぼす薬剤の影響について検討したところ, BIPM は対数増殖期中期の *S. aureus* および *E. coli* に対して IPM および MEPM と同様に作用薬剤濃度に応じた強い殺菌力を示した。*P. aeruginosa* に対しては, BIPM および IPM は 1/2 MIC (BIPM: 0.39 $\mu\text{g/ml}$, IPM: 0.78 $\mu\text{g/ml}$) 以上の濃度で急速に生菌数を減少させ, その殺菌力は 1/2 MIC と 4 MIC との間で大きな差は認められなかった。一方, MEPM も殺菌作用を示したが, その *S. aureus* およ

び *E. coli* に対する作用と同様に薬剤濃度に応じた殺菌力であった。

微分干渉顕微鏡による形態変化の観察では、BIPM および IPM は *E. coli* の膨化とフィラメント化を誘導した。*P. aeruginosa* においては、BIPM はバルジの形成を、IPM は球形化細胞を、MEPM は顕著なフィラメント化を誘導した。走査電子顕微鏡による形態変化の観察では、*E. coli* に対して BIPM は 1 MIC (0.10 $\mu\text{g/ml}$) 以下の濃度領域にて菌の膨化、球形化の誘導が観察されたが、IPM および MEPM ではこの様な 1 MIC 以下の濃度領域では形態の変化は観察されず、コントロールと同じ形態像が観察された。一方、*P. aeruginosa* に対しては、BIPM および IPM では 1/4 ~ 4 MIC の幅広い濃度領域においてバルジの形成が観察されず、伸長化像のみが観察された。

グラム陽性菌では、*S. aureus* Smith を用いたマウス実験的腹腔内感染症に対する治療効果は試験した各薬剤共、MIC とよく一致していたが、*S. pneumoniae* J-4 で MEPM が優れた MIC を示したにもかかわらず、その MIC を反映せず高い ED₅₀ 値を示した。この理由に関してはバイオフィームの関与の問題等も考えられるが、今後検討すべき点であると考えられた。グラム陰性菌では *K. pneumoniae* KC-1 を除く試験した *E. coli* 444, *S. marcescens* T-55, *P. aeruginosa* 15846, *P. aeruginosa* K-13 および *A. calcoaceticus* Ac-54 に対して BIPM は IPM/CS より明らかに優れていた。*K. pneumoniae* KC-1 に対しては、他の carbapenem 系抗生物質も同様に高い MIC を示したにもかかわらず、治療効果は弱く、CAZ が最も優れていた。*P. aeruginosa* に対し、BIPM は試験した薬剤中で最も優れていた。特に同じ carbapenem 系抗生物質と比較すると BIPM の ED₅₀ 値は MIC より推定される効果よりはるかに優れていた。この理由は、形態変化の観察等にも認められるごとく、BIPM の強い殺菌力に一因があるものと考えられた。

マウス実験的尿路感染症に対しては、試験したいずれの薬剤においても、また *E. coli* および *P. aeruginosa* のいずれの菌株においても Dose response が認められた。また、治療効果はいずれの菌株に対しても carbapenem 系抗生物質の中で BIPM が最も優れていた。

K. pneumoniae DT-S を用いたマウス呼吸器感染症に対

する治療効果は、MIC と肺内生菌数の変動から考え、試験した薬剤中で CAZ が最も優れており、carbapenem 系抗生物質 3 剤はほぼ同程度の治療効果であったと考えられた。

以上の結果より、BIPM は *in vitro* における抗菌力同様 *in vivo* においても十分に優れた治療効果が認められた。これらの結果より、今後の臨床使用においても優れた治療効果が期待される薬剤であると考えられた。

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 Agents Chemother* 34 : 994~1000, 1990
- 2) Hikida M, Kawashima K, Nishiki K, Furukawa Y, Nishizawa K, Saito I and Kuwao S : Renal dehydropeptidase - I stability of LJC 10,627, a new carbapenem antibiotic. *Antimicrob Agents Chemother* 36 : 481~483, 1992
- 3) Yoshida M, Mitsuhashi S : *In Vitro* antibacterial activity and beta - lactamase stability of the new carbapenem LJC 10,627. *Eur J Clin Microb Infect Dis* 9 : 625~629, 1990
- 4) Harold C Neu, Jian - Wei Gu, Wei Fang and Nai - Xun Chin : *In Vitro* activity and β - lactamase stability of LJC 10,627. *Antimicrob Agents Chemother* 36 : 1418~1423, 1990
- 5) 日本化学療法学会 MIC 測定法改訂委員会:最小発育濃度 (MIC) 測定法の再改訂について。 *Chemotherapy* 29: 76~79, 1981
- 6) Spratt B G : Properties of penicillin binding proteins of *Escherichia coli* K - 12. *Eur J Biochem* 72 : 341~352, 1977
- 7) 尾花芳樹, 折笠義則, 西野武志, 谷野輝男: *Acinetobacter calcoaceticus* に関する研究。 *Chemotherapy* 30: 996~1003, 1982
- 8) 松本慶蔵, 宇塚良夫, 永武 毅, 宍戸春美, 鈴木 寛, 野口行雄, 玉置公俊, 羅 士易, 井出政利: 噴霧吸入感染によるグラム陰性桿菌モデル。 *日胸疾会誌* 16: 581~587, 1978

In vitro and *in vivo* antibacterial activity of biapenem, a new carbapenem antibiotic

Takeshi Nishino, Masako Otsuki, Yoshiaki Obana, Kazuhiro Sasaki,
Masuhito Yoshida and Tadataka Kesado

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

The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities of biapenem (BIPM), a new 4-methyl carbapenem antibiotic were investigated, and were compared with those of imipenem/cilastatin (IPM/CS), meropenem (MEPM), ceftazidime (CAZ), flomoxef (FMOX), cefsulodin (CFS), cefoperazone (CPZ) and piperacillin (PIPC). BIPM had a broad antibacterial spectrum against Gram-positive and -negative bacteria, such as IPM and MEPM. Against almost all of Gram-negative clinical isolates, BIPM was more active than IPM. Especially, BIPM was the most active in the all antibiotics tested against *Pseudomonas aeruginosa*. BIPM showed dose-related bactericidal activity against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *P. aeruginosa*. Only, BIPM induced spherical cell formation in *E. coli* under the concentration of 1 MIC. In *P. aeruginosa*, BIPM and IPM induced bulge formation. On the other hand, MEPM induced filamentous cell formation. The morphological change was due to affinity for PBP-2 in *E. coli* and PBP-1A, -2 and -4 in *P. aeruginosa*. The therapeutical effect of BIPM against systemic infection in mice was superior to that of IPM against *E. coli*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa* and *A. calcoaceticus* and superior to that of MEPM against *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. calcoaceticus*, but similar to that of MEPM against *E. coli*, *K. pneumoniae* and *S. marcescens*. Against the experimental systemic infection and experimental urinary tract infection with *P. aeruginosa*, BIPM was the most active in all the antibiotics tested.