

## Sulbactam・Ampicillinの抗菌活性

川崎賢二・新美博仕・後迫敏幸・松永敏幸  
台糖ファイザー株式会社新薬開発センター\*

Sulbactam (SBT) を Ampicillin (ABPC) と併用すると、ABPC 耐性菌に対する抗菌作用において著明な協力作用が認められ、とくに *Staphylococcus* spp., *B. catarrhalis*, *H. influenzae*, *B. fragilis* において顕著であった。

ABPC 耐性菌に対する殺菌作用も ABPC に SBT を併用することにより増強された。

SBT と ABPC の至適配合比を *in vitro* および *in vivo* で各種種の  $\beta$ -lactamase 産生株を用いて検討した結果、*in vitro* 抗菌力測定では SBT : ABPC の配合比率がほぼ 1 : 2 から 1 : 1 の範囲で最も低い MIC 値が得られ、マウス感染治療実験でも SBT : ABPC の比率が 1 : 2 から 1 : 1 の範囲で最も併用効果が顕著であった。

種々の  $\beta$ -lactamase 産生菌を用いたマウス感染治療実験において ABPC と比較して SBT 併用による治療効果は勝れていた。また、*S. pneumoniae* と  $\beta$ -lactamase 産生弱毒菌を混合感染すると、ABPC の治療効果は *S. pneumoniae* 単独感染時と比較し明らかに低下したが、SBT の併用は ABPC の効果減弱を防いだ。

**Key Words** : Sulbactam, Ampicillin, A fixed combination, Antibacterial activity

Sodium sulbactam (SBT) は Pfizer 社が開発した  $\beta$ -lactam 系化合物で、既に Cefoperazone との配合剤として、また Ampicillin (ABPC) との mutual prodrug (Sultamicillin) として臨床で使用されている。 $\beta$ -lactamase 産生菌に対する SBT と各種  $\beta$ -lactam 抗生物質との協力作用についてはこれまで多くの報告<sup>1-4)</sup> がなされているが、本報では SBT と ABPC の *in vitro* および *in vivo* での併用効果について、新鮮臨床分離株を用いて検討した成績を報告する。

### I. 実験材料および方法

#### 1. 使用薬物

Sodium sulbactam (SBT, 890 $\mu$ g 力価/mg, 台糖ファイザー) および sodium ampicillin (ABPC, 920 $\mu$ g 力価/mg, 東洋醸造), piperacillin (PIPC, 859 $\mu$ g 力価/mg, 富山化学), cefazolin (CEZ, 808 $\mu$ g 力価/mg, 藤沢薬品), cefmetazole (CMZ, 863 $\mu$ g 力価/mg, 三共) を使用した。SBT・ABPC は両成分を力価比 1 : 2、あるいは種々な比率に混合調製して用いた。薬液は、滅菌蒸留水、または滅菌生理食塩液で用時調製した。SBT・ABPC の MIC, MBC および ED<sub>50</sub> を表示する場合は、両薬物の総和で示した。

#### 2. 使用菌株

標準菌株は当研究所で継代保存しているものを用い、臨床分離株は国内の臨床施設より分与を受けた新鮮な分

離株を使用した。薬剤感受性の比較に用いた臨床分離株 2,261 株中、1,062 株は昭和 57 年 11 月から昭和 60 年 7 月の間に、他の 1,199 株は昭和 60 年 7 月以降に分離された。

#### 3. MIC 測定

日本化学療法学会標準法に準じ<sup>5,6)</sup>、Mueller Hinton agar (Difco) を用いて寒天平板希釈法によって測定した。ただし、*Streptococcus* 属、*Haemophilus* 属、*Neisseria* 属には 5% 馬脱線維血液を添加した培地を用いた。また *Bacteroides* 属には GAM 培地 (日水) を使用し、培養は GAS-PAK 法で行った。10<sup>8</sup> および 10<sup>6</sup> cells/ml の菌浮遊液をスタンプ法で接種した。

抗菌力に対する培地の種類の影響は、nutrient agar (栄研), heart infusion agar (栄研), brain heart infusion agar (栄研), tryptose agar (栄研) および Mueller Hinton agar (Difco) を用いて検討した。平均 MIC は geometric mean MIC で表わした。

至適配合比の検討では、各種種の  $\beta$ -lactamase 産生株を用い、SBT と ABPC の配合比を 17 段階に変化させて MIC を測定し、各配合比での平均 MIC と MIC<sub>90</sub> を比較した。

#### 4. 殺菌作用

倍数希釈濃度の被験薬物を含む Mueller Hinton broth (Difco) または GAM broth (日水) に試験菌を 10<sup>5</sup> cells/ml 接種し 37°C, 18 時間培養後、肉眼的に発育が

\* 愛知県知多郡武豊町字 5 号地 2 番地

認められない最小薬物濃度をMICとし、生菌数を $10^8$  cells/ml以下に減少させた最小薬物濃度をMBCとした。

増殖曲線に及ぼす影響については、一夜培養した *Staphylococcus aureus* No.374および *Haemophilus influenzae* No.210を Mueller Hinton broth, またはこれに hemin を  $10\mu\text{g/ml}$ , nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) を  $2\mu\text{g/ml}$  添加した培地で 1,000倍に希釈して、 $37^\circ\text{C}$  で振盪培養し、菌数が約  $10^8$  cells/ml に達したときに各薬物を  $1/4$ MIC 濃度, MIC 濃度および 4 MIC 濃度となるように添加して、経時的に生菌数を測定した。

### 5. 形態変化

Brain heart infusion broth(Difco)に hemin を  $10\mu\text{g/ml}$ , NAD を  $2\mu\text{g/ml}$  となるように添加した培地 (以下、XV 加 BHI-broth と略す) で *H. influenzae* No.522を  $37^\circ\text{C}$  18時間培養した。その  $0.1\text{ml}$  を種々の濃度に SBT・ABPC, ABPC および PIPC を含む XV 加 BHI-broth  $9.9\text{ml}$  に接種し、 $37^\circ\text{C}$  4時間培養後、各菌液をスライドグラス上に塗抹し、クリスタル紫-シュウ酸溶液で染色して光顕像を観察した。

### 6. 試験管内耐性獲得

Mueller Hinton broth を用い、液体培地希釈法で MIC を測定した。対照と同程度の発育を示した最高薬物濃度含有菌液を用い、倍数希釈濃度の被験薬物を含有する Mueller Hinton broth へ約  $10^8$  cells/ml となるように接種した。同様に 25代継代してこの間の MIC の変動を観察した。

### 7. マウス実験感染

Heart infusion agar(栄研), またはこれに馬脱線維血液を 5% 添加した培地で感染菌を  $37^\circ\text{C}$ , 18時間培養後、滅菌生理食塩液, または 5% ムチン液に懸濁した。1薬物濃度当たり 1群 10匹の ICR 系雄マウス (体重  $18\sim 20\text{g}$ ) の腹腔内へ菌液  $0.5\text{ml}$  を接種して感染を成立させた。*S. aureus* 感染および *Streptococcus pneumoniae* 感染では感染 1時間後と 4時間後の 2回, 他の菌種の感染では感染 1時間後に薬物を 1回マウス背部皮下に投与し, 7日後のマウスの生存数より  $\text{ED}_{50}$  を Probit 法で算出した。

## II. 実験成績

### 1. 抗菌スペクトル

SBT・ABPCの標準株に対する抗菌活性を, ABPC, SBT および PIPC のそれと比較して Table 1 に示した。

ABPC 感受性の *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *S. pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae* お

よび *H. influenzae* に対する SBT・ABPC の抗菌力はほぼ ABPC と同等で, MIC は  $0.78\mu\text{g/ml}$  以下に分布した。

腸内細菌科の菌種の中,  $\beta$ -lactamase 産生が認められる *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris* および *Morganella morganii* に対しては SBT・ABPC と ABPC の MIC には明らかな差があり, SBT による ABPC の抗菌力の増強が認められた。

SBT・ABPC の *Pseudomonas aeruginosa* に対する抗菌力は弱く,  $10^8$  cells/ml 接種での発育阻止に  $400\mu\text{g/ml}$  を要したが, *Acinetobacter calcoaceticus* に対しては  $0.39\mu\text{g/ml}$  で発育を抑制した。

*Bacteroides fragilis* に対して SBT・ABPC は ABPC, PIPC より 3管以上勝れた抗菌力を示した。

### 2. 臨床分離株に対する抗菌力

臨床検体からの検出頻度の高い菌種に対する SBT・ABPC, ABPC, SBT, PIPC, CEZ および CMZ の抗菌力を Table 2 および 3 に示した。

*S. aureus* 347株に対する SBT・ABPC の平均 MIC は  $10^8$  cells/ml で  $7.39\mu\text{g/ml}$  であり, ABPC の  $42.2\mu\text{g/ml}$ , PIPC の  $100\mu\text{g/ml}$  に明らかに優れたが, CMZ の  $3.30\mu\text{g/ml}$ , CEZ の  $3.74\mu\text{g/ml}$  には約 1管及ばなかった。

コアグラール陰性の *Staphylococcus* spp. 200株に対する SBT・ABPC の平均 MIC は  $10^8$  cells/ml で  $3.16\mu\text{g/ml}$  であり, CEZ の  $2.86\mu\text{g/ml}$  と大差なく, CMZ の  $5.24\mu\text{g/ml}$ , ABPC の  $10.6\mu\text{g/ml}$ , PIPC の  $30.5\mu\text{g/ml}$  より勝れていた。

*S. pyogenes* 26株および *Streptococcus agalactiae* 16株に対する SBT・ABPC の MIC はそれぞれ  $0.05\mu\text{g/ml}$  以下および  $0.10\sim 0.20\mu\text{g/ml}$  に分布した。

*S. pneumoniae* 66株中 63株は SBT・ABPC, ABPC, PIPC に高感受性を示したが, MIC が  $0.78\sim 3.13\mu\text{g/ml}$  に上昇した株が 3株認められた。

*Enterococcus faecalis* 97株および *Enterococcus faecium* 25株に対する SBT・ABPC の MIC はそれぞれ  $0.20\sim 6.25\mu\text{g/ml}$ ,  $0.78\sim 200\mu\text{g/ml}$  に分布した。

*Branhamella catarrhalis* 72株に対する SBT・ABPC の MIC は  $0.78\mu\text{g/ml}$  以下に分布し,  $10^8$  cells/ml での平均 MIC の比較で CMZ の約 2倍, ABPC の約 100倍強い抗菌活性を示した。

*Escherichia coli* 243株に対する SBT・ABPC の平均 MIC は  $10^8$  cells/ml で  $10.2\mu\text{g/ml}$  であり, ABPC の  $33.4\mu\text{g/ml}$  に比べ約 3倍の抗菌力増強が認められ, PIPC の  $15.7\mu\text{g/ml}$  に優れたが, CEZ の  $3.88\mu\text{g/ml}$ ,

Table 1. Antimicrobial spectrum of subactam · ampicillin, ampicillin, subactam and piperacillin

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )								
	subactam·ampicillin		ampicillin		subactam		piperacillin		
	$10^6$	$10^4$	$10^6$	$10^4$	$10^6$	$10^4$	$10^6$	$10^4$	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0.20	0.10	0.10	$\leq 0.05$	100	100	100	0.78	0.78
SMITH	0.39	0.10	0.20	0.10	200	200	200	1.56	0.78
NEUMAN	0.20	0.20	0.20	0.10	200	200	200	0.78	0.78
209-P	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	25	200	100	0.39	0.39
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	6.25	0.39	25	0.39	200	200	100	50	1.56
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	50	50	50	0.10	0.10
S 8	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	50	50	50	0.10	0.10
T 3	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	25	25	25	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type I	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	50	50	50	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$
Type II	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	50	50	50	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$
Type III	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	50	50	50	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> IID 839	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	100	100	100	0.10	0.10
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	6.25	6.25	6.25	6.25	100	100	50	3.13	1.56
NIHJ JC-2	3.13	3.13	6.25	1.56	25	25	25	1.56	0.78
<i>Klebsiella pneumoniae</i> IID 979	100	12.5	>800	50	100	100	25	400	6.25
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 17	12.5	6.25	25	6.25	100	100	25	1.56	0.78
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	100	25	800	200	100	100	25	800	3.13
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	400	200	>800	>800	400	100	100	50	6.25
<i>Serratia marcescens</i> No.10	25	25	>800	>800	400	100	100	50	3.13
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.78	0.39	0.78	0.39	200	50	50	0.20	0.10
<i>Proteus vulgaris</i> IAM 1203	12.5	6.25	>800	200	200	50	50	3.13	0.78
<i>Morganella morganii</i> KONO	50	25	400	200	400	100	100	3.13	0.39
<i>Salmonella typhi</i> 0901	0.39	0.20	0.39	0.20	50	25	25	0.78	0.39
TANAKA	0.78	0.39	0.39	0.20	100	50	50	1.56	0.78
<i>Shigella flexneri</i> 2a	3.13	1.56	1.56	0.78	50	25	25	0.78	0.39
2b	3.13	1.56	3.13	0.78	25	25	25	0.78	0.39
<i>Shigella sonnei</i> EW 33	1.56	1.56	1.56	1.56	25	25	25	0.78	0.39
<i>Hafnia alvei</i> NIH 64	50	50	100	25	100	50	50	12.5	1.56
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 9327	0.78	0.39	0.39	0.20	200	200	200	0.20	$\leq 0.05$
ATCC 9334	0.78	0.39	0.39	0.39	200	200	100	0.20	0.10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	800	400	>800	>800	>800	400	400	12.5	3.13
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> No.1	0.39	0.39	3.13	1.56	0.20	0.20	0.20	0.39	0.39
<i>Bacteroides fragilis</i> No.4	6.25	6.25	200	100	12.5	12.5	200	200	50

a) : Inoculum size (cells/ml)

Table 2-1. Susceptibility distribution of clinical isolates

Inoculum size: 10<sup>8</sup> cells/ml

Organism	Antibiotic <sup>a)</sup>	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )														Mean MIC				
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400		800	>800		
<i>S. aureus</i>	SBT·ABPC		3	29	17	7	12	22	68	86	34	48	21					7.39		
	ABPC	2	13	32	4	5	2	8	10	21	42	49	38	22	12	31	56	42.2		
	SBT													2	20	209	26	37	53	320
	PIPC			1	3	31	14	4	10	10	17	42	45	35	30	14	91	100		
	CEZ		1	4	44	102	69	26	8	5	2	9	25	38	11	1	2	3.74		
	CMZ				6	27	183	37	9	19	41	18	5	1			1	3.30		
Coagulase-negative staphylococci	SBT·ABPC	7	17	8	20	8	21	15	28	22	33	17	4					3.16		
	ABPC	16	10	8	20	4	4	7	13	15	17	21	17	16	16	14	2	10.6		
	SBT									1	2	1	30	49	25	32	60	439		
	PIPC	1	1	8	17	11	12	11	9	9	17	11	18	17	16	19	23	30.5		
	CEZ		4	10	40	37	24	17	15	11	6	12	4	11	9			2.86		
	CMZ			1	3	10	63	29	25	29	17	7	13	3				5.24		
<i>S. pyogenes</i>	SBT·ABPC	26																0.0488		
	ABPC	26																0.0488		
	SBT												5	17	4			48.7		
	PIPC	15	11															0.0655		
	CEZ	3	16	7														0.109		
	CMZ			6	17	3												0.361		

(continued)

Table 2-2. Susceptibility distribution of clinical isolates

Organism	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )														Mean MIC		
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400		800	>800
<i>S. agalactiae</i>	SBT·ABPC		3	13														0.171
	ABPC	2	12	2														0.0977
	SBT												7	5	3	1		183
	PIPC		3	11	2													0.187
	CEZ		11	5														0.121
	CMZ					3	10	3										1.56
<i>S. pneumoniae</i>	SBT·ABPC	54	6	3		2		1										0.0642
	ABPC	56	6	1		2		1										0.0615
	SBT										10	32	14	6		2	2	71.4
	PIPC	54	4	5			3											0.0662
	CEZ	20	33	5	4	2	2											0.105
	CMZ		6	10	29	14	4	2		1								0.439
<i>E. faecalis</i>	SBT·ABPC				2	14	45	35	1									1.79
	ABPC				8	28	57	4										1.17
	SBT														2	95		1580
	PIPC				1	16	50	29					1					3.50
	CEZ								1	13	53	25	5					28.8
	CMZ													2	58	32	5	532

(continued)

Table 2-3. Susceptibility distribution of clinical isolates

Organism	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )													Mean MIC			
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200		400	800	>800
<i>E. faecium</i>	SBT•ABPC					4	3	2	3	1		2	7	3				14.4
	ABPC				2	3	3	3	2			1	3	8				10.0
	SBT															1	24	1560
	PIPC							1	2	4	4	2	1	1	2	6	2	89.5
	CEZ								1	1		3	4	2	1	2	11	339
	CMZ										1	5	3	3		1	1	11
<i>B. catarrhalis</i>	SBT•ABPC	6	23	23	16	4												0.176
	ABPC	3				1	3	2	9	16	9	13	15	1				17.3
	SBT			1	1	1	31	6	13	14	5							3.64
	PIPC	3		2		1	3	3	6	5	8	16	10	8	7			26.0
	CEZ				1	3		1	3	9	18	31	4	1	1			26.7
	CMZ	1	14	22	5	12	13	5										0.391
<i>E. coli</i>	SBT•ABPC				3	7	19	56	48	25	24	32	19	8	1	1		10.2
	ABPC			1	1	14	22	63	33	10	1	4	8	1	9	76		33.4
	SBT										23	149	56	12	2	1		30.3
	PIPC	1	2		9	39	68	27	3	4	5	1	1	9	12	62		15.7
	CEZ				4	43	90	39	12	6	13	9	11	7	6	1	2	3.88
	CMZ		2	20	73	94	27	12	5	7	1	2						0.768

(continued)

Table 2-4. Susceptibility distribution of clinical isolates

Organism	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )													Mean MIC			
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200		400	800	>800
<i>K. pneumoniae</i>	SBT•ABPC						3	5	28	64	11	4	1	6	3	1	3	15.6
	ABPC					2	1	1	1	1	8	21	26	30	12	6	20	156
	SBT										1	41	71	11	1	2	2	45.9
	PIPC				1	3	1	5	14	24	22	19	11	6	2	5	16	41.9
	CEZ					24	56	28	5	2	5	1	2	3	2		1	2.73
	CMZ			1	19	54	43	6	2	3	1							1.06
<i>P. mirabilis</i>	SBT•ABPC					1	5	15	26	2	1	3		1			5.50	
	ABPC					6	7	26	8		1				2	1	3	5.15
	SBT											5	15	33		1		149
	PIPC		2	3	7	30	6	1					1	1		2	1	1.22
	CEZ						7	19	22	1	2	1				2		10.6
	CMZ					2	9	33	5	4	1							3.25
<i>P. vulgaris</i>	SBT•ABPC								1	5	12	22	6	2				40.2
	ABPC													2	3	6	37	1230
	SBT												9	31	8			197
	PIPC				4	10	9	3	4	1	2	1	1			1	12	20.7
	CEZ															2	46	1550
	CMZ					1	15	17	8	6	1							6.92

(continued)

Table 2-5. Susceptibility distribution of clinical isolates

Organism	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )													Mean MIC			
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200		400	800	>800
<i>M. morgani</i>	SBT・ABPC								1	1	9	25	11	4	3		59.8	
	ABPC							1			1	3	8	18	11	12	455	
	SBT									1	2	13	29	8	1		169	
	PIPC				2	5	7	5	10	11	2	2	2	2	2	4	11.7	
	CEZ						1					2	1	11	21	18	704	
	CMZ					2		1	7	24	13	3	1	2	1		15.7	
<i>P. rettgeri</i>	SBT・ABPC					1	1	3	2		1	14	12	9	3		57.3	
	ABPC					2	1	2		2	3	6	1	3	1	1	24	232
	SBT											6	21	14	5		262	
	PIPC				1	5	6	7	1	1	2	2	3	2	4	12	43.0	
	CEZ				1	1		4		1	2	1	1		2	33	444	
	CMZ					6	5	5	11	4	3	5	3	2	2		9.25	
<i>P. stuartii</i>	SBT・ABPC							1	1	2	9	8	2				29.1	
	ABPC						1	1	1	1	3	9	6	1			38.1	
	SBT											4	16	3			97.1	
	PIPC				1	3	4	6	5	4							3.13	
	CEZ							1				1		3	1	4	13	668
	CMZ					1	5	12	1	1		1		2				4.49

(continued)

Table 2-6. Susceptibility distribution of clinical isolates

Organism	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )													Mean MIC			
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200		400	800	>800
<i>C. freundii</i>	SBT・ABPC							1	13	14	3	5	11	7	8	5	47.5	
	ABPC								1	2	6	4	7	8	8	2	29	346
	SBT										11	31	10	11	3		1	71.8
	PIPC				1			9	18	4	1	2	1	3	11	2	15	34.8
	CEZ											2	1		4	8	52	1150
	CMZ								2	1	3	11	17	12	12	5	2	2
<i>E. aerogenes</i>	SBT・ABPC						1	1	1	1	4	17	16	16	1		74.2	
	ABPC									2	2	2	4	5	16	27	677	
	SBT										8	32	14	3	1		59.8	
	PIPC						2	17	6		3	5	6	7		2	10	38.9
	CEZ									1	1	1	1		1	5	48	1130
	CMZ				1	1						1	3	10	24	13	4	1
<i>E. cloacae</i>	SBT・ABPC							1	4	19	13	13	14	22	11	3	64.2	
	ABPC							1		7	14	5	6	11	13	5	38	273
	SBT										2	49	35	12	2		77.4	
	PIPC				1	7	28	19	5	1	1	6	4	5	5	5	13	15.5
	CEZ					1					1				3	13	82	1250
	CMZ				1	1	1		1	3	2	16	15	27	20	12	1	144

(continued)

Table 2-7. Susceptibility distribution of clinical isolates

Organism	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )													Mean MIC			
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200		400	800	>800
<i>S. marcescens</i>	SBT•ABPC										1	3	10	16	21	29	9	394
	ABPC										1	2	2	12	8	6	58	845
	SBT												17	26	22	21	3	309
	PIPC					2	2	5	8	1	11	1	5	4	1	3	46	202
	CEZ																89	1600
	CMZ								3	13	6	3	5	14	10	18	17	202
<i>H. influenzae</i>	SBT•ABPC			3	21	70	20	2	6	12	10	3						0.724
	ABPC	1	12	47	45	9	1	1				2	1	1	2	3	22	1.52
	SBT										2	3	22	61	54	4	1	116
	PIPC	102	13	1							1	1	2	8	15	4		0.282
	CEZ			1	3	3	2	12	22	40	32	18	7	5	2			14.7
	CMZ					6	41	62	36	2								2.94
<i>H. parainfluenzae</i>	SBT•ABPC			3	2	3	5	2	7	7	9	3						2.64
	ABPC	3		3	4	3	4	4	3		1	1		1	2	3	9	12.7
	SBT							1	2	2	6	17	10	1	2			48.3
	PIPC	5	3	5	3	3	2	2	1		1	1	3	1	2		9	7.15
	CEZ			1	3		4	7	11	4	5	3					3	7.92
	CMZ			2	1	3		1	13	11	10							3.52

(continued)

Table 2-8. Susceptibility distribution of clinical isolates

Organism	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )													Mean MIC			
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200		400	800	>800
<i>P. aeruginosa</i>	SBT•ABPC										1		2	10	35	31	10	513
	ABPC												1		2	3	83	1470
	SBT											1		2	6	24	56	1110
	PIPC					1	2	9	21	20	11	9	1	2	7	1	5	21.1
	CEZ																89	1600
	CMZ														1	1	87	1560
<i>A. calcoaceticus</i>	SBT•ABPC						7	22	14	5								3.99
	ABPC							2	3	8	11	14	4	1	2		3	39.1
	SBT					6	19	18	5									2.15
	PIPC							2	5	13	10	8	4	3	3			28.1
	CEZ												5	5	14	19	5	490
	CMZ									3	6	13	13	11	2			76.0
<i>B. fragilis</i>	SBT•ABPC					1	9	19	15	8	1	3						4.82
	ABPC						2	1	4	1	19	12	5	4	7	1		44.7
	SBT								1	2	19	26	6	2				41.0
	PIPC					1	6	3	21	12	1	4	4	4				21.6
	CEZ									5	6	16	10	3	10	6		97.5
	CMZ								7	17	30	1	1					17.7

\* SBT•ABPC: sulbactam•ampicillin, ABPC: ampicillin, SBT: sulbactam, PIPC: piperacillin, CEZ: cefazolin, CMZ: cefmetazole

Table 3-1. Susceptibility distribution of clinical isolates

Inoculum size: 10<sup>8</sup> cells/ml

Organism	Antibiotic <sup>a)</sup>	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )															Mean MIC		
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400	800		>800	
<i>S. aureus</i>	SBT-ABPC	1	7	41	18	33	61	78	23	31	45	8	1					2.41	
	ABPC	4	31	20	7	27	57	62	29	22	13	12	45	17		1		3.85	
	SBT			3								1	3	36	207	36	40	21	246
	PIPC			1	4	44	33	47	61	35	25	13	8	15	44	17			12.5
	CEZ	1	1	22	131	93	10	6	4	10	21	22	12	9	3	1	1		1.52
	CMZ				9	45	191	11	57	24	4	4		1				1	2.27
	Coagulase-negative staphylococci	SBT-ABPC	10	17	23	30	19	30	23	15	16	12	5						1.14
ABPC		20	17	23	24	16	19	14	15	15	19	9	7	2				1.38	
SBT											1	2	7	39	59	28	31	33	310
PIPC		3	1	14	14	32	30	30	14	6	13	17	7	6	9	4			4.18
CEZ		3	6	30	52	38	24	8	13	5	5	2	4	6	4				1.13
CMZ			1	3	1	25	67	38	34	10	13	4	3	1					3.05
<i>S. pyogenes</i>	SBT-ABPC	26																0.0488	
	ABPC	26																0.0488	
	SBT											6	16	4				47.4	
	PIPC	17	9															0.0621	
	CEZ	3	18	5														0.103	
	CMZ			8	16	2													0.333

(continued)

Table 3-2. Susceptibility distribution of clinical isolates

Organism	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )															Mean MIC	
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400	800		>800
<i>S. agalactiae</i>	SBT-ABPC		5	11														0.157
	ABPC	3	12	1														0.0896
	SBT											7	6	2	1			176
	PIPC		4	11	1													0.171
	CEZ		12	4														0.116
	CMZ					5	11											1.26
<i>S. pneumoniae</i>	SBT-ABPC	55	7	1		2		1										0.0621
	ABPC	59	3	1	1	1	1											0.0584
	SBT									1	13	36	7	5	1	2	1	60.4
	PIPC	57	2	4		1	2											0.0628
	CEZ	25	31	3	3	2	2											0.0956
	CMZ	1	7	13	30	8	5	1	1									0.371
<i>E. faecalis</i>	SBT-ABPC			1	4	16	44	31	1									1.63
	ABPC			1	12	29	53	2										1.06
	SBT														2	95		1580
	PIPC					1	26	51	18				1					3.01
	CEZ							1		15	53	25	3					27.4
	CMZ												1	2	59	31	4	514

(continued)



Table 3-3. Susceptibility distribution of clinical isolates

Organism	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )													Mean MIC					
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200		400	800	>800		
<i>E. faecium</i>	SBT•ABPC					5	3	2	2	1		2	8	2				12.9		
	ABPC				2	3	4	2	2			1	3	8				9.74		
	SBT															1	24	1560		
	PIPC						1			3	6	2	1	1	1	3	5	2	73.7	
	CEZ								1			1		4	3	2	1	2	11	320
	CMZ											1	5	3	3	2	1	1	9	211
<i>B. catarrhalis</i>	SBT•ABPC	41	17	10	4														0.0788	
	ABPC	10	8	18	8	11	7	9	1										0.362	
	SBT			2		12	23	9	13	13									2.68	
	PIPC	11	16	31	12				2										0.164	
	CEZ	1			6	5	7	23	24	6									2.98	
	CMZ	2	23	15	6	14	9	3											0.304	
<i>E. coli</i>	SBT•ABPC			1	3	11	36	56	45	26	22	27	13	1	2			7.05		
	ABPC			2	5	18	43	47	28	2	2	1	11	29	13	17	25	18.4		
	SBT								2	71	136	27	5	2				22.8		
	PIPC	1	2	4	25	70	37	15	15	19	12	9	13	14	5	1	1	3.52		
	CEZ			1	18	89	76	18	17	12	5	2	4		1			1.66		
	CMZ		6	46	98	64	11	10	2	3	1	1	1					0.523		

(continued)

Table 3-4. Susceptibility distribution of clinical isolates

Organism	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )													Mean MIC			
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200		400	800	>800
<i>K. pneumoniae</i>	SBT•ABPC				1	4	2	26	51	22	8	7	3	2	2	1		8.36
	ABPC				2	1	1	2	9	26	50	14	3	2	3	8	8	33.6
	SBT									6	76	39	5	2	1		33.2	
	PIPC		1	2	4	6	24	52	16	4	3	6	3	1	2	4	1	4.60
	CEZ				8	31	71	10	2	4	1	1		1				1.52
	CMZ		2	11	42	56	12	1	3	2								0.634
<i>P. mirabilis</i>	SBT•ABPC					3	10	31	4	1	4		1				3.42	
	ABPC				3	6	18	19	1		2			2	2	1		3.21
	SBT											13	37	3	1			90.3
	PIPC	2	2	5	14	25	3			2	1							0.597
	CEZ					1	24	24	3						2			5.43
	CMZ					7	22	22	2	1								2.07
<i>P. vulgaris</i>	SBT•ABPC							1	5	11	23	4	4				21.0	
	ABPC								1	1			5	7	5	16	13	490
	SBT											3	28	16	1			124
	PIPC			2	2	20	7	8	3				1	3	1	1		2.34
	CEZ								1	1		1	3	10	12	14	6	378
	CMZ						9	30	5	1	2	1						3.51

Table 3-5. Susceptibility distribution of clinical isolates

Organism	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )													Mean MIC				
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200		400	800	>800	
<i>M. morgani</i>	SBT・ABPC							1	3	6	25	12	3	2	2			31.1	
	ABPC							1	1	1	1	1	5	14	13	9	8	294	
	SBT										2	1	2	26	21	2		121	
	PIPC		1	4	5	15	13	3	3			2	5		3			2.07	
	CEZ					1	1					2		20	19	4	7	290	
	CMZ				1	2			5	34	4	1	4		2	1		7.98	
<i>P. rettgeri</i>	SBT・ABPC				2		3	6	1	2	7	11	7	7				25.0	
	ABPC			1	1	1	2	3	4	4	2		2	2		8	16	111	
	SBT											2	11	24	8	1		185	
	PIPC			2	5	6	6	2	3			5	2	6	8		1	9.11	
	CEZ				3	5	6	2	2	6	1	4	4			3	4	6	23.9
	CMZ				4	11	8	7	4	1	4	4			2	1			3.69
<i>P. stuartii</i>	SBT・ABPC						3	2	2	4	8	4						12.9	
	ABPC					1	3	2	3	6	5	1	2					10.1	
	SBT										1	10	11	1				71.8	
	PIPC		2		1	5	4	6	4	1								1.66	
	CEZ					1	3	3			4	1	5	3	1			2	22.2
	CMZ				3	4	12			1			1	1	1				2.11

(continued)

Table 3-6. Susceptibility distribution of clinical isolates

Organism	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )													Mean MIC			
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200		400	800	>800
<i>C. freundii</i>	SBT・ABPC							6	16	10	5	4	12	5	8	1		30.8
	ABPC							1	5	6	8	8	6	3	1	4	25	168
	SBT										3	23	22	8	9	1	1	52.7
	PIPC		1			7	15	10	2	3	1	5	8	3	8	3	1	13.9
	CEZ							3	2	4	10	5	10	4	2	2	25	175
	CMZ					1	1	1	2	8	13	14	16	3	6	2		49.0
<i>E. aerogenes</i>	SBT・ABPC						2	1		5	10	15	21	4				47.1
	ABPC							1	1	2	2	1	3	7	8	22	11	386
	SBT										2	16	30	9	1			44.9
	PIPC				3	6	18	1	4	7	9	4	3	3				12.1
	CEZ					1	1	5	3	3	7	6	4	5	13	10		161
	CMZ			1	1				1	2	1	7	19	18	6	1	1	101
<i>E. cloacae</i>	SBT・ABPC							3	14	16	18	7	16	18	8			41.2
	ABPC						1	1	8	16	7	7	7	9	3	14	27	144
	SBT										8	56	27	9				64.6
	PIPC			2	6	19	27	5	5	8	4	3	5	7	6	2	1	5.75
	CEZ					1		2	2	1	6	16	5	10	12	9	36	281
	CMZ				1	2			1	2	1	13	18	18	26	14	3	1

(continued)

Table 3-7. Susceptibility distribution of clinical isolates

Organism	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )														Mean MIC			
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400		800	>800	
<i>S. marcescens</i>	SBT•ABPC									1	2	8	11	11	34	19	3	282	
	ABPC									1	3	3	10	7	6	4	55	643	
	SBT											1	23	25	23	17		257	
	PIPC					5	5	8	6	12	4	3	1	17	14	5	9	53.6	
	CEZ																3	86	1560
	CMZ							2	8	12	2	6	8	9	14	13	15	145	
<i>H. influenzae</i>	SBT•ABPC		6	35	90	79	23	26	8									0.636	
	ABPC	2	17	64	94	21	5	4	9	15	13	10	10	3				0.862	
	SBT									3	14	115	109	24	2			72.5	
	PIPC	185	15	3	7	5	4	11	4	5	10	12	4	2				0.176	
	CEZ			1	5	4	9	22	62	104	48	12						9.45	
	CMZ					10	65	154	36	2								2.78	
<i>H. parainfluenzae</i>	SBT•ABPC		3	2	4	5	6	11	7	3								1.64	
	ABPC	3		4	3	5	5	4	2	1	5	2	5	1	1			3.52	
	SBT						1	1	2	2	8	18	9					36.9	
	PIPC	9	4	2	5	6		2	2	1	5	4	1					0.973	
	CEZ		1	1	2	2	7	15	7	3	3							2.92	
	CMZ		3	1	2		2	16	12	5								2.87	

(continued)

Table 3-8. Susceptibility distribution of clinical isolates

Organism	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )														Mean MIC		
		$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400		800	>800
<i>P. aeruginosa</i>	SBT•ABPC							1		1	1	5	24	38	16	3	324	
	ABPC									1	1			2	3	8	74	1220
	SBT											1	2	2	8	37	39	913
	PIPC				1	4	8	30	16	13	4	4	4	2	2	1		7.08
	CEZ																89	1600
	CMZ														1	1	1	86
<i>A. calcoaceticus</i>	SBT•ABPC					6	13	20	8	1								2.52
	ABPC						1	5	3	12	15	5	3	1	1	1	1	22.3
	SBT			2	3	21	16	6										1.06
	PIPC						1	9	9	11	9	4	2	3				13.4
	CEZ									1	2	3	9	18	6	8	1	200
	CMZ						1		2	5	7	14	14	4	1			47.9
<i>B. fragilis</i>	SBT•ABPC					5	26	14	6	2	3							2.53
	ABPC					2	2	2	2	24	9	3	3	7	2			21.0
	SBT								1	8	46	1						22.4
	PIPC				1	4	8	26	6	3	4	4						8.11
	CEZ								1	11	26	7	3	6	2			34.5
	CMZ							1	6	33	14	2						14.2

a) See footnote a), Table 2.

CMZの0.768 $\mu$ g/mlに及ばなかった。

ペニシリンーゼ型 $\beta$ -lactamaseを産生する*K. pneumoniae* 129株はABPC、PIPCに耐性を示し、 $10^8$  cells/mlの平均MICはそれぞれ156 $\mu$ g/ml、41.9 $\mu$ g/mlを示した。SBT・ABPCの平均MICは15.6 $\mu$ g/mlでCMZ、CEZに及ばないものの、ABPCに比べ10倍の抗菌力増強が認められた。

*Proteus mirabilis* 54株は大半がABPC感受性のため平均MICではSBT・ABPC、ABPCの間に明らかな差はみられなかったが、 $10^8$  cells/mlでABPCに400 $\mu$ g/ml以上のMICを示す耐性株が6株認められ、SBT・ABPCは12.5~200 $\mu$ g/mlでこれらの耐性株の発育を阻止した。

*P. vulgaris* 48株、*M. morgani* 54株、*Providencia rettgeri* 46株、*Providencia stuartii* 23株のいわゆるインドール陽性のProteus類に対してSBT・ABPCは比較的良好な抗菌力を示し、 $10^8$  cells/mlで被検菌の80%を阻害するMIC<sub>80</sub>はそれぞれ25 $\mu$ g/ml、50 $\mu$ g/ml、100 $\mu$ g/ml、25 $\mu$ g/mlに認められた。これらの菌種に対する抗菌力はPIPC、CMZが強く、ついでSBT・ABPCの順になり、SBT・ABPCはABPC、CEZより明らかに勝れていた。

*Citrobacter freundii*、*Enterobacter aerogenes*、*Enterobacter cloacae*および*S. marcescens*に対してSBT・ABPCはABPCに明らかに優る抗菌力を示したが、これらの菌種に対するSBT・ABPCの平均MICは $10^8$  cells/mlで30.8 $\mu$ g/ml、47.1 $\mu$ g/ml、41.2 $\mu$ g/mlおよび282 $\mu$ g/mlと比較的高値であった。

$\beta$ -lactamase産生ABPC耐性の31株を含む*H. influenzae* 147株に対するSBT・ABPCのMICは25 $\mu$ g/ml以下に分布し、 $10^8$  cells/mlでの平均MICは0.724 $\mu$ g/mlであった。*Haemophilus parainfluenzae* 41株に対してもSBT・ABPCの抗菌力は強く、25 $\mu$ g/mlで全株の発育を阻止した。一方、ABPC、PIPCに対しては $10^8$  cells/mlでMICが50 $\mu$ g/ml以上の耐性を示す株が16株(39%)認められた。

*P. aeruginosa*に対するSBT・ABPCの抗菌力は弱く、 $10^8$  cells/mlでのMICは1株を除き、100 $\mu$ g/ml以上に分布した。MICが1600 $\mu$ g/ml以上の高度耐性株はABPCに83株(93%)認められたのに対し、SBT・ABPCでは10株(11%)と明らかに少なかった。

*A. calcoaceticus* 48株に対するSBT・ABPCのMICは0.78~12.5 $\mu$ g/mlに分布し、 $10^8$  cells/mlでの平均MICは3.99 $\mu$ g/mlであった。

*B. fragilis* 56株に対するSBT・ABPCの平均MICは $10^8$  cells/mlで4.82 $\mu$ g/ml、 $10^6$  cells/mlで2.53 $\mu$ g/ml

であり、SBT・ABPCの抗菌力は供試薬物中もっとも強かった。

### 3. 抗菌力に対する諸因子の影響

培地の種類、培地pH、接種菌量および血清添加による抗菌力の変動を、*S. aureus* 209-P、*E. coli* NIHJ JC-2、*E. coli* 273および*K. pneumoniae* IID 979を用いて検討し、成績をTable 4~7に示した。

SBT・ABPCの抗菌力は培地の種類による影響は受けなかった(Table 4)。Table 5に示すように培地pHを5から8の範囲で変化させても、SBT・ABPCの抗菌力に大きな変動は認められなかった。

Table 6に示したように、供試菌に対するSBT・ABPCのMICは接種菌量の増加に伴い1~2管上昇した。

Table 7に示すようにSBT・ABPCの抗菌力は馬血清添加の影響を受けなかった。

### 4. 殺菌力

Table 8に示すように、SBT・ABPCのMBCは*S. aureus* No.316で4 MICに、また*S. aureus* 209-Pおよび*P. vulgaris* IAM 1203で2 MICに相当し、他の菌株ではMICと一致した。

### 5. 増殖曲線に及ぼす影響

ABPC、PIPCに耐性を示す*S. aureus* No.374に対して、SBT・ABPC、CEZおよびCMZは1/4MIC濃度である3.13 $\mu$ g/mlで、培養8時間後まで殺菌的に作用した。SBT・ABPCおよびCMZは4 MIC濃度で培養8時間以降の菌の再増殖を阻止した(Fig. 1)。

ABPC、PIPCに高度耐性の*H. influenzae* No.210に対してSBT・ABPCはMIC濃度である6.25 $\mu$ g/mlで培養24時間後まで殺菌的に作用した(Fig. 2)。

### 6. 形態変化

*H. influenzae* No.522にSBT・ABPC、ABPCおよびPIPCを4時間作用させたときの形態変化をFig. 3に示した。

SBT・ABPC作用では0.78~6.25 $\mu$ g/mlの濃度域で菌体の伸長化が観察され、12.5 $\mu$ g/mlで99%以上の菌が溶菌像を呈していた。一方、ABPC作用では6.25~200 $\mu$ g/ml、PIPCでは0.39~200 $\mu$ g/mlの広い濃度域で菌体の伸長化が認められた。

### 7. 試験管内耐性獲得

*S. aureus* 209-Pを試験菌として用いた場合、25代の継代でSBT・ABPC、ABPCおよびSBTに対しそれぞれ5段階、5段階、2段階の耐性獲得が認められた。*E. coli* NIHJ JC-2ではSBT・ABPC、ABPCおよびSBTに対してそれぞれ4段階、4段階、2段階のMIC上昇が観察された(Fig. 4)。

Table 4. Effect of medium on antimicrobial activity of SBT·ABPC, ABPC and SBT

Organism	Medium	SBT·ABPC		ABPC		SBT	
		10 <sup>8a)</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>
<i>S. aureus</i> 209-P	NA <sup>b)</sup>	≤ 0.05 <sup>c)</sup>	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05	100	100
	HI	0.10	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05	100	100
	BHI	0.10	≤ 0.05	0.10	≤ 0.05	100	100
	TS	0.10	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05	100	100
	MH	0.10	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05	200	100
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	NA	1.56	0.78	1.56	0.78	12.5	12.5
	HI	3.13	1.56	1.56	1.56	12.5	12.5
	BHI	3.13	1.56	3.13	0.78	25	12.5
	TS	3.13	1.56	3.13	1.56	25	12.5
	MH	6.25	1.56	3.13	1.56	25	12.5
<i>E. coli</i> 273	NA	3.13	3.13	12.5	6.25	25	25
	HI	6.25	6.25	200	50	25	25
	BHI	12.5	6.25	200	50	25	25
	TS	6.25	3.13	100	50	25	25
	MH	6.25	6.25	200	50	25	25
<i>K. pneumoniae</i> IID 979	NA	25	25	800	50	25	25
	HI	25	25	400	100	25	25
	BHI	25	25	200	50	25	25
	TS	25	25	200	50	50	25
	MH	25	25	100	50	25	25

a): Inoculum size (cells/ml)

b): Abbreviations of media : NA : nutrient agar, HI : heart infusion agar, BHI : brain heart infusion agar,

TS : tryptose agar, MH : Mueller-Hinton agar

c): MIC (μg/ml) by agar dilution method

Table 5. Effect of pH on antimicrobial activity of SBT·ABPC, ABPC and SBT

Organism	pH of Medium	SBT·ABPC		ABPC		SBT	
		10 <sup>8a)</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>
<i>S. aureus</i> 209-P	6	0.10 <sup>b)</sup>	0.10	0.10	≤ 0.05	100	100
	7	0.10	≤ 0.05	0.10	≤ 0.05	200	100
	8	0.10	0.10	0.10	0.10	100	100
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	5	3.13	1.56	3.13	1.56	50	25
	6	3.13	1.56	1.56	0.78	50	12.5
	7	1.56	0.78	1.56	0.78	12.5	12.5
	8	3.13	3.13	3.13	3.13	25	12.5
<i>E. coli</i> 273	5	6.25	3.13	6.25	3.13	100	50
	6	6.25	6.25	6.25	3.13	50	25
	7	12.5	6.25	200	50	25	25
	8	12.5	6.25	> 800	200	50	25
<i>K. pneumoniae</i> IID 979	5	50	25	400	100	100	100
	6	25	25	400	50	50	25
	7	25	12.5	200	50	50	25
	8	25	25	200	50	50	50

a): Inoculum size (cells/ml)

b): MIC (μg/ml) by agar dilution method

Table 6. Effect of inoculum size on antimicrobial activity of SBT・ABPC, ABPC and SBT

Organism	Antibiotic	Inoculum size (cells/ml)				
		10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>9</sup>	10 <sup>10</sup>
<i>S. aureus</i> 209-P	SBT・ABPC	0.10 <sup>a)</sup>	0.10	≤0.05	≤0.05	≤0.05
	ABPC	≤0.05	≤0.05	≤0.05	≤0.05	≤0.05
	SBT	200	100	100	100	100
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	SBT・ABPC	6.25	3.13	1.56	1.56	1.56
	ABPC	3.13	3.13	1.56	1.56	1.56
	SBT	25	25	12.5	12.5	12.5
<i>E. coli</i> 273	SBT・ABPC	6.25	6.25	6.25	3.13	3.13
	ABPC	200	100	50	50	50
	SBT	25	25	25	25	25
<i>K. pneumoniae</i> IID 979	SBT・ABPC	25	25	25	12.5	12.5
	ABPC	100	50	50	50	25
	SBT	25	25	25	25	25

a): MIC (μg/ml) by agar dilution method

Table 7. Effect of horse serum concentration on antimicrobial activity of SBT・ABPC, ABPC and SBT

Organism	Horse serum (%)	SBT・ABPC		ABPC		SBT	
		10 <sup>6a)</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup>
<i>S. aureus</i> 209-P	0	0.10 <sup>b)</sup>	0.10	≤0.05	≤0.05	100	100
	5	0.10	0.10	0.10	≤0.05	100	100
	10	0.10	0.10	0.10	≤0.05	100	100
	20	0.20	0.10	0.10	≤0.05	100	100
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0	1.56	0.78	1.56	0.78	25	12.5
	5	1.56	0.78	1.56	0.78	25	12.5
	10	1.56	1.56	1.56	1.56	25	12.5
	20	3.13	1.56	1.56	1.56	12.5	12.5
<i>E. coli</i> 273	0	12.5	3.13	200	100	25	12.5
	5	12.5	6.25	200	100	25	25
	10	12.5	6.25	400	100	25	12.5
	20	6.25	6.25	400	100	25	25
<i>K. pneumoniae</i> IID 979	0	12.5	12.5	100	50	25	25
	5	25	12.5	100	25	25	25
	10	25	12.5	100	25	25	25
	20	25	12.5	100	50	25	25

a): Inoculum size (cells/ml)

b): MIC (μg/ml) by agar dilution method

## 8. 至適配合比の検討

β-lactamase 産生の *Staphylococcus* spp. 78株, *B. catarrhalis* 40株, *E. coli* 37株, *P. vulgaris* 59株, *H. influenzae* 40株および *B. fragilis* 53株を用いて SBT と ABPC の至適配合比の検討を行った。SBT と ABPC の配合比を17段階に変化させ、接種菌量10<sup>8</sup> cells/ml で MIC の測定を行い、その結果を80%の供試

菌株の発育を阻止した両薬物の濃度 (MIC<sub>80</sub>) および平均 MIC で示した (Fig. 5~10)。

*Staphylococcus* spp. では SBT : ABPC の比が1 : 2 で抗菌力は最大となった。

*B. catarrhalis* では SBT : ABPC の比が1 : 2 から 2 : 1 の範囲で ABPC 単独と比較して64倍以上の抗菌力増強が認められた。

Table 8. Comparison of MIC and MBC values for SBT·ABPC, ABPC, PIPC and CEZ

Organism	SBT·ABPC		ABPC		PIPC		CEZ	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>S. aureus</i> 209-P	0.10	0.20	≤0.05	0.10	0.39	0.78	0.10	0.39
<i>S. aureus</i> No.261	25	25	800	>800	>800	>800	100	200
<i>S. aureus</i> No.312	25	25	400	>800	800	>800	50	100
<i>S. aureus</i> No.316	6.25	25	100	>800	800	>800	1.56	50
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	6.25	6.25	3.13	6.25	1.56	1.56	3.13	3.13
<i>E. coli</i> 273	12.5	12.5	400	400	25	50	6.25	6.25
<i>K. pneumoniae</i> IID 979	25	25	100	200	6.25	25	12.5	25
<i>P. mirabilis</i> 1287	0.78	0.78	0.39	0.39	0.10	0.10	6.25	6.25
<i>P. vulgaris</i> IAM 1203	1.56	3.13	50	100	≤0.05	≤0.05	100	200
<i>H. influenzae</i> No.191	0.78	0.78	0.39	0.39	≤0.05	≤0.05	3.13	6.25
<i>H. influenzae</i> No.210	6.25	6.25	800	800	400	800	12.5	12.5
<i>B. fragilis</i> No.84	6.25	6.25	400	400	50	100	200	800

Inoculum size:  $10^8$  cells/ml

Medium: Mueller-Hinton broth for aerobes

Hemin ( $10\mu\text{g/ml}$ ) and NAD ( $2\mu\text{g/ml}$ ) were added to the medium for *H. influenzae*.

GAM broth for *B. fragilis*

*E. coli* に対する  $\text{MIC}_{50}$  を  $100\mu\text{g/ml}$  に、平均 MIC を  $50\mu\text{g/ml}$  以下に低下させるためには、SBT の対 ABPC 配合比を 1 : 2 以上にすることが必要であった。

*P. vulgaris* に対する平均 MIC は SBT : ABPC の比が 1 : 2 から 2 : 1 の範囲で  $50\mu\text{g/ml}$  以下となった。

*H. influenzae* に対する至適配合比は SBT : ABPC の比 1 : 2 から 4 : 1 の範囲にあり、 $\text{MIC}_{50}$ 、平均 MIC 共に  $6.25\mu\text{g/ml}$  以下となった。

*B. fragilis* に対する至適配合比は SBT : ABPC の比 1 : 16 から 1 : 1 の範囲にあり、 $\text{MIC}_{50}$  は  $25\mu\text{g/ml}$ 、平均 MIC は  $12.5\mu\text{g/ml}$  以下となった。

*in vivo* での至適配合比の検討は、ABPC 耐性 *E. coli* No.1037 および *P. vulgaris* No.24 を用いて、マウス感染実験を行った。SBT と ABPC の配合比を 13 段階に変化させ感染マウスの治療を行い、その結果を  $\text{ED}_{50}$  で示した (Fig. 11)。

*E. coli* No.1037 感染での ABPC の  $\text{ED}_{50}$  は  $500\text{mg/kg}$  以上であったが、SBT : ABPC の比が 1 : 8 から 2 : 1 の範囲で  $\text{ED}_{50}$  は  $50\text{mg/kg}$  以下となり、1 : 2 から 1 : 1 の範囲で最大の抗菌力増強が観察された。

*P. vulgaris* No.24 感染に対する SBT と ABPC の至適配合比も 1 : 2 から 1 : 1 の範囲にあった。

#### 9. マウス実験感染に対する治療効果

##### 1) 単一菌感染

マウス実験的腹腔内単一菌感染に対する各薬物の治療効果を  $\text{ED}_{50}$  で比較し、Table 9 に示した。

ABPC 耐性の *S. aureus* No.374 および No.375 による感染に対して、SBT·ABPC の治療効果は CMZ と同等か僅かに劣り、CEZ より勝れていた。ABPC、PIPC は  $500\text{mg/kg}$  の投与でも効果を示さなかった。

ABPC に感受性を示す *S. aureus* No.320 感染に対する治療効果は ABPC がもっとも勝れ、次いで SBT·ABPC で、 $\text{ED}_{50}$  の比較で SBT·ABPC は CEZ に比べ 5 倍、CMZ に比べ 18 倍、PIPC に 28 倍優っていた。

ABPC 耐性の *E. coli* No.1037、*K. pneumoniae* No.442 および No.444 による感染に対しては、CMZ の効果をもっとも勝れ、SBT·ABPC の効果は CEZ に劣り、PIPC に優った。ABPC に感受性の *E. coli* No.23 感染では、SBT·ABPC、ABPC、PIPC、CEZ および CMZ の効果の間に大きな差は認められなかった。

ABPC、CEZ に耐性の *P. vulgaris* No.24 による感染に対して、SBT·ABPC ( $\text{ED}_{50}$  :  $23.7\text{mg/kg}$ ) PIPC ( $19.2\text{mg/kg}$ ) および CMZ ( $15.3\text{mg/kg}$ ) は良好な効果を示した。

*A. calcoaceticus* No.24 感染に対する SBT·ABPC の  $\text{ED}_{50}$  は  $15.3\text{mg/kg}$  で、ABPC に 6 倍、PIPC に 8 倍、CMZ に 10 倍まさる効果が認められた。

##### 2) 複数菌感染

マウス腹腔内へ ABPC 感受性 *S. pneumoniae* No. 55 と ABPC 耐性 *B. catarrhalis* No.69 を同時接種して実験的混合感染を作成し、SBT·ABPC の治療効果を ABPC、SBT、PIPC と比較し Table 10 に示した。また同時に *S. pneumoniae* 単独感染での効果との比較も

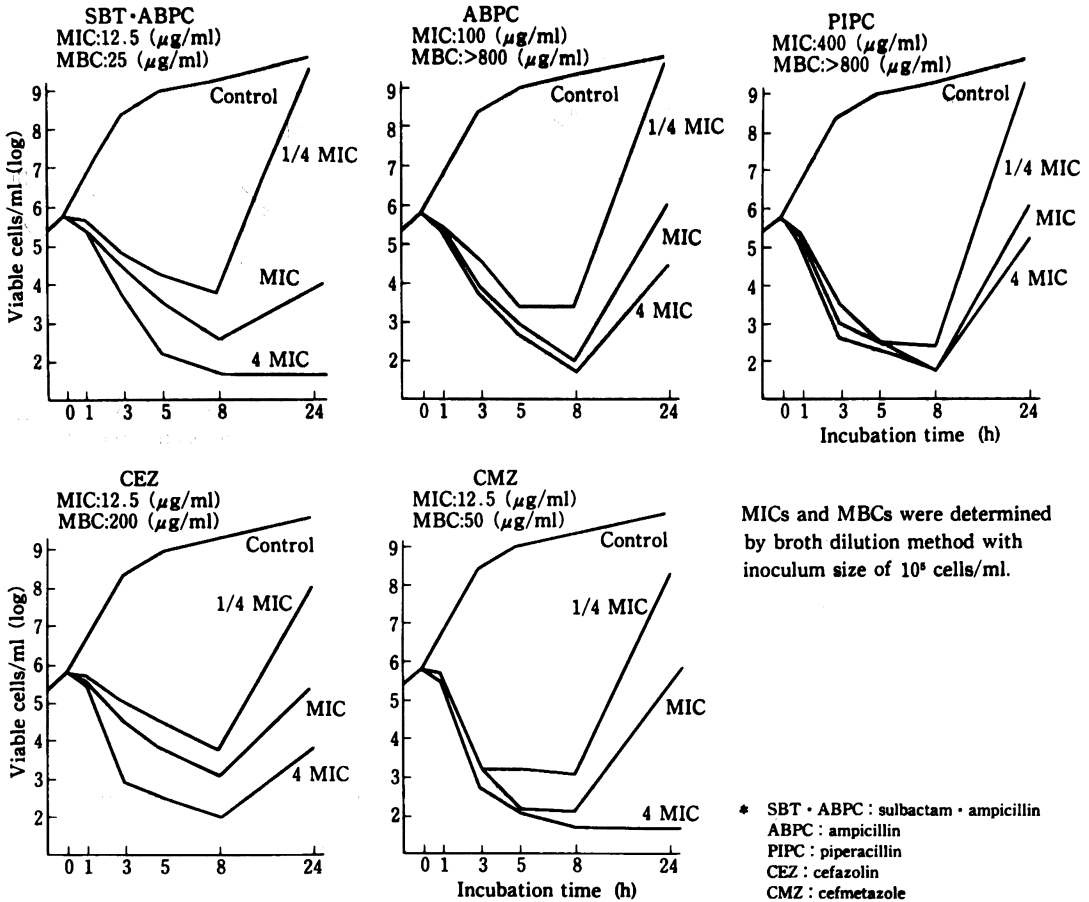


Fig. 1. Bactericidal activity of SBT·ABPC\*, ABPC, PIPC, CEZ and CMZ against *S. aureus* No. 374

行った。

*S. pneumoniae* No.55単独感染での治療効果はABPCがもっとも勝れ、SBT·ABPC、PIPCの順に強い効果が認められた。*S. pneumoniae* No.55の感染菌量を変えず、これに単独ではマウスを弊さない *B. catarrhalis* No.69  $3.8 \times 10^8$  cells/mouse を合わせて接種した場合、SBT·ABPCのED<sub>50</sub>は2.14mg/kgで *S. pneumoniae* 単独感染時のED<sub>50</sub> 1.34mg/kgと大差なかったが、ABPC、PIPCは100mg/kgの投与でも効果を示さなかった。

*S. pneumoniae* No.55と *H. influenzae* No.522の混合感染でのABPCのED<sub>50</sub>は8.40mg/kgで *S. pneumoniae* 単独感染でのED<sub>50</sub>の5.5倍となったが、SBT·ABPCのED<sub>50</sub>は混合感染で4.39mg/kgで単独感染でのED<sub>50</sub> 2.01mg/kgに比べ2.2倍の上昇にとどまった (Table 11)。

### III. 考 察

SBTをABPCに併用すると、ABPC感受性菌に対するABPCの抗菌力に影響を与えず、ABPC耐性菌に対して著しい抗菌力の増強が認められた。併用によるMICの低下はβ-lactamase産生の *Staphylococcus* spp., *B. catarrhalis*, *H. influenzae* および *B. fragilis* で特に顕著であった。β-lactamase産生菌を用いたとき、既存のpenicillin系薬剤では接種菌量の増大に伴う明らかなMICの上昇、所謂 Inoculum effectが観察されたが、SBT·ABPCに対する接種菌量の影響は小さく、SBTのβ-lactamase不活化作用<sup>7)</sup>とABPCのpenicillin結合蛋白群への均衡のとれた親和性<sup>8)</sup>によりSBT·ABPCが殺菌的に作用した結果と推察される。

SBTとABPCの配合比の検討では、各菌種のβ-lactamase産生株を用いたMIC測定およびマウス感染治療実験いずれにおいても、SBT:ABPCが1:2



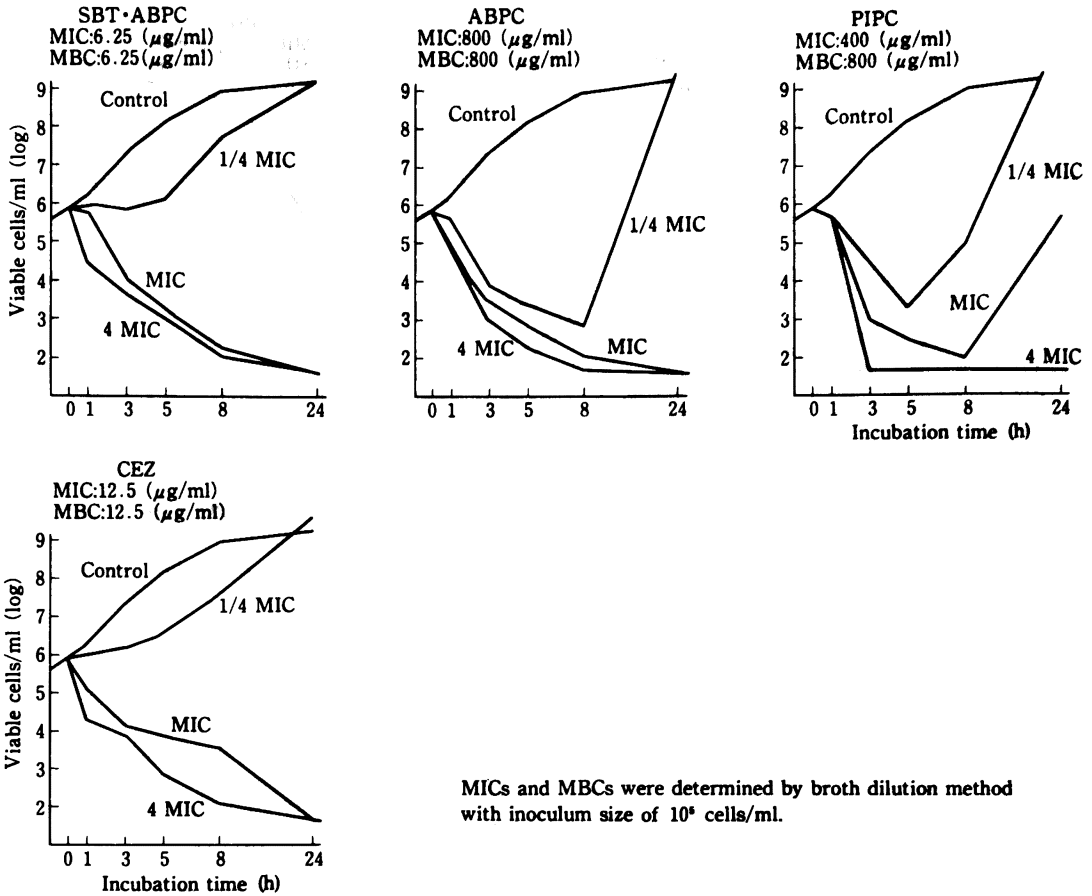


Fig. 2. Bactericidal activity of SBT·ABPC, ABPC, PIPC and CEZ against *H. influenzae* No. 210

から1:1の範囲でもっとも強い協力作用が認められた。SBT·ABPC 1.5gをヒトに静注した場合、SBTとABPCの血中および尿中濃度比は投与8時間後でも至適配合比である1:2から1:1の範囲にあり<sup>9)</sup>、ヒト体内においても *in vitro* およびマウス感染治療実験で認められた SBT と ABPC の協力作用が有効に発現するものと思われる。

SBT と ABPC の協力効果は単に ABPC 耐性菌に対する抗菌力増強にとどまらず、病巣内の ABPC を  $\beta$ -lactamase による加水分解から防ぎ、 $\beta$ -lactamase 産生菌と混合接種した感受性菌に対する ABPC の治療効果の低下を防止することを我々は既に報告した<sup>10)</sup>。今回実施した *S. pneumoniae* とマウスへは弱毒菌である *B. catarrhalis* および *H. influenzae* とのマウス混合感染治療実験においても、ABPC 単剤では  $\beta$ -lactamase を産生する弱毒菌の影響を受け、その治療効果は *S.*

*pneumoniae* 単独感染に対する効果に比べ著しく低下したが、SBT を併用することにより間接病原菌の ABPC に対する影響を減弱することが可能であった。Maddocks らが報告<sup>11)</sup> した間接病原菌の治療上での重要性は、*B. catarrhalis* に代表される近年の  $\beta$ -lactamase 産生菌の増加に伴い一層高まっていくことが予想され、各種の  $\beta$ -lactamase に不可逆的阻害作用を示す SBT の併用は意義あるものと考えられる。

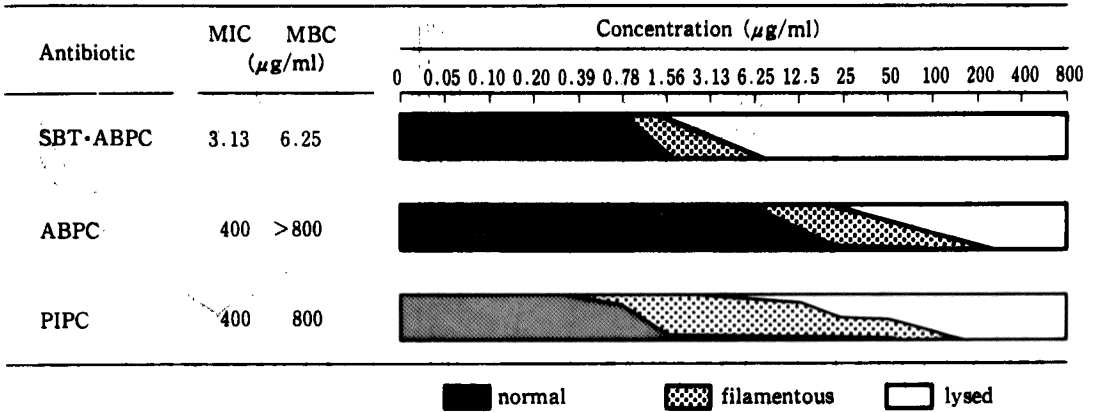


Fig. 3. Morphological effects of SBT・ABPC, ABPC and PIPC on *H. influenzae* No. 522 after 4 hours exposure

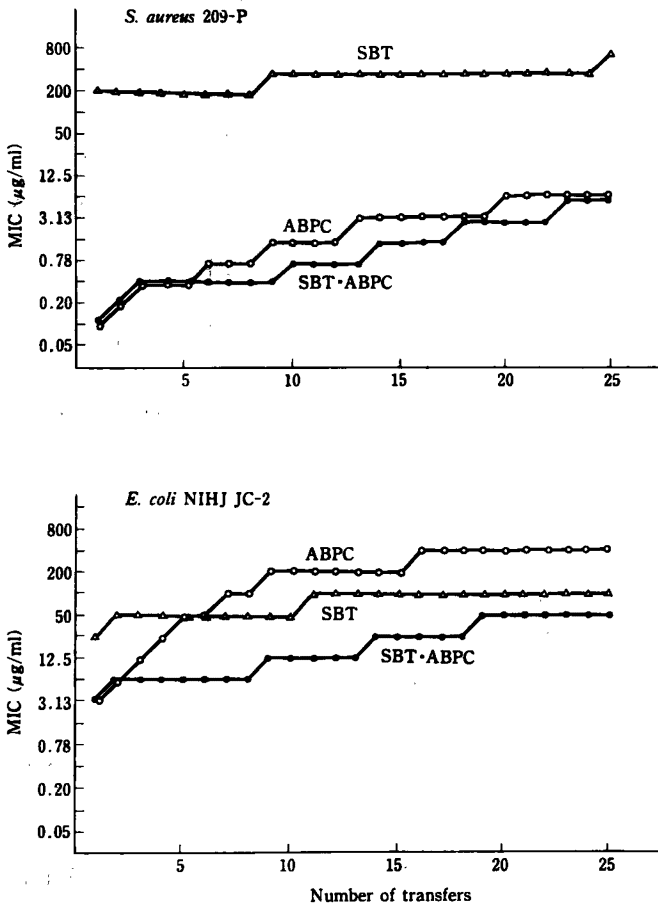


Fig. 4. Development of resistance of *S. aureus* 209-P and *E. coli* NIHJ JC-2 to SBT・ABPC, ABPC and SBT

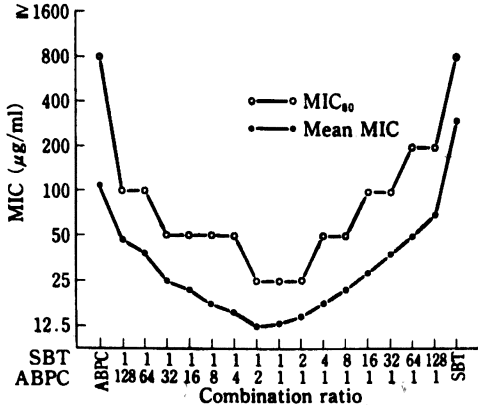


Fig. 5. Effect of combination ratio of SBT to ABPC on MIC against 78 strains of  $\beta$ -lactamase producing *Staphylococcus* spp. ( $10^8$  cells/ml)

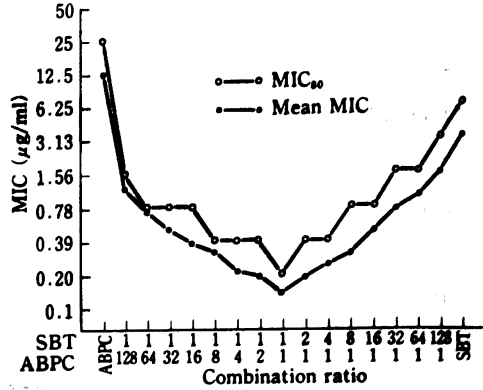


Fig. 6. Effect of combination ratio of SBT to ABPC on MIC against 40 strains of  $\beta$ -lactamase producing *B. catarrhalis* ( $10^8$  cells/ml)

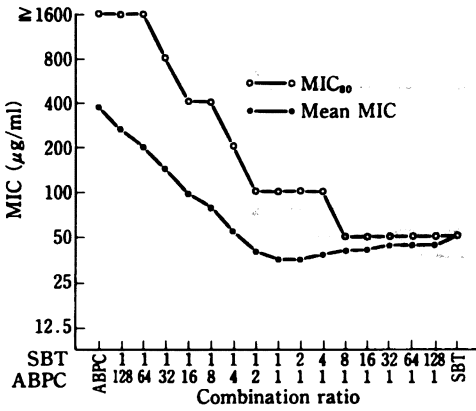


Fig. 7. Effect of combination ratio of SBT to ABPC on MIC against 37 strains of  $\beta$ -lactamase producing *E. coli* ( $10^8$  cells/ml)

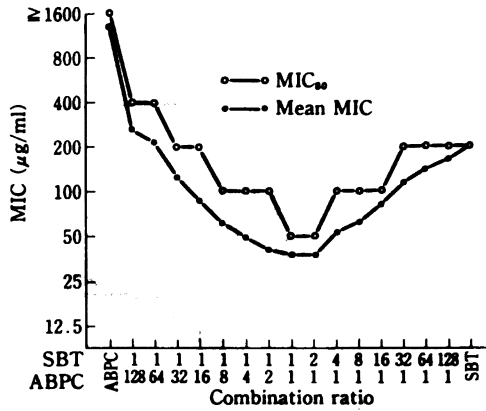


Fig. 8. Effect of combination ratio of SBT to ABPC on MIC against 59 strains of  $\beta$ -lactamase producing *P. vulgaris* ( $10^8$  cells/ml)

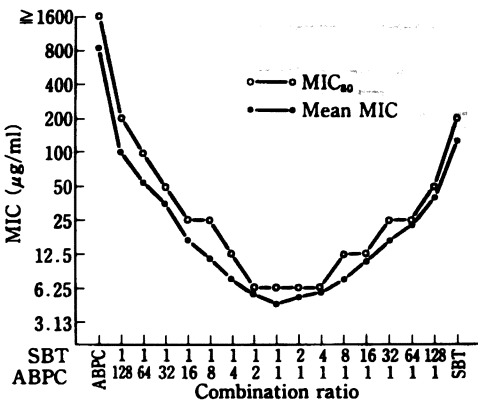


Fig. 9. Effect of combination ratio of SBT to ABPC on MIC against 40 strains of  $\beta$ -lactamase producing *H. influenzae* ( $10^8$  cells/ml)

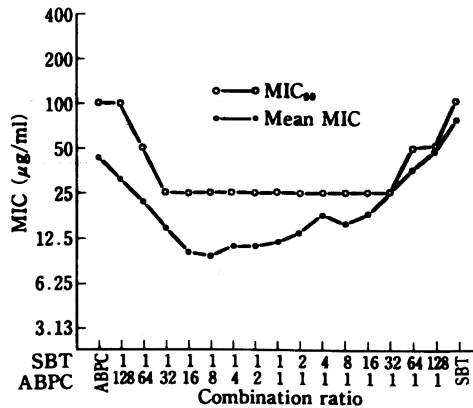


Fig. 10. Effect of combination ratio of SBT to ABPC on MIC against 53 strains of  $\beta$ -lactamase producing *B. fragilis* ( $10^8$  cells/ml)

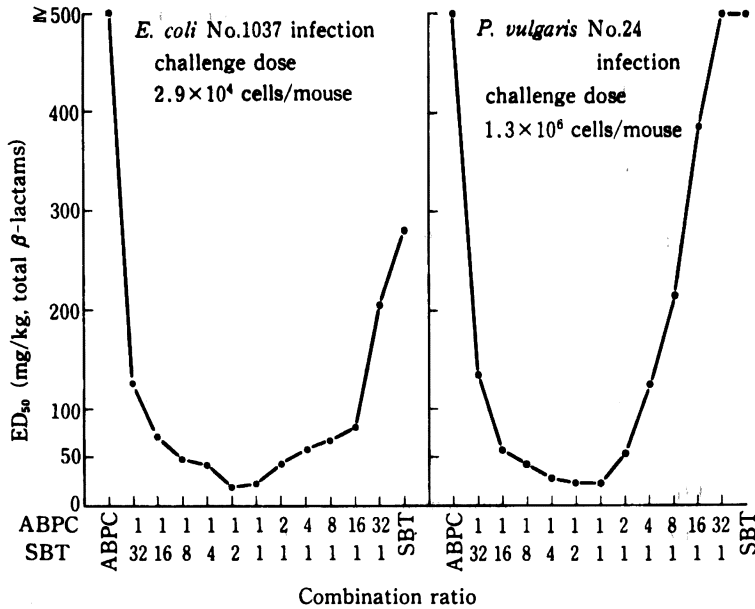


Fig. 11. Protective effect of SBT·ABPC in varied ratios against experimental infection in mice

#### 文 献

- 1) ENGLISH AR, RETSEMA JA, GIRARD AE, LYNCH JE, BARTH WE: CP-45,899, a beta-lactamase inhibitor that extends the antibacterial spectrum of beta-lactams: initial bacteriological characterization. Antimicrob Agents Chemother 14: 414~419, 1978
- 2) RETSEMA JA, ENGLISH AR, GIRARD AE: CP-45,899 in combination with penicillin or ampicillin against penicillin-resistant *Staphylococcus*, *Haemophilus influenzae* and *Bacteroides*. Antimicrob Agents Chemother 17: 615~622, 1980
- 3) WISE R, ANDREWS JM, BEDFORD KA: Clavulanic acid and CP-45,899: a comparison of their *in vitro* activity in combination with penicillin. J Antimicrob Chemother 6: 197~206, 1980
- 4) 横田 健, 東 映子, 鈴木映子: Sulbactamと Cefoperazone 合剤の各種細菌臨床分離株に対する抗菌力. Chemotherapy 32 (S-4): 1~10, 1984
- 5) 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
- 6) 日本化学療法学会嫌気性菌 MIC 測定法検討委員
- 7) 横田 健, 関口玲子, 東 映子, 鈴木映子: Sulbactam の各種 β-lactamase 不活化作用とペニシリン結合蛋白に対する親和性. Chemotherapy 32 (S-4): 11~19, 1984
- 8) CURTIS NAC, ORR D, ROSS GW, BOULTON MG: Affinities of penicillins and cephalosporins for the penicillin-binding proteins of *Escherichia coli* K-12 and their antibacterial activity. Antimicrob Agents Chemother 16: 533~539, 1979
- 9) 柴 孝也, 齊藤 篤, 嶋田甚五郎, 大森雅久, 山路武久, 北條敏夫, 加地正伸, 奥田新一郎, 堀 誠治, 宮原 正, 上田 泰: Sulbactam・Ampicillin に関する臨床的検討. Chemotherapy 36 (S-8): 149~159, 1988
- 10) 川崎賢二, 新美博仕, 松村好章, 沖俊一: Sultamicillin の抗菌活性. Chemotherapy 33 (S-2): 82~101, 1985
- 11) MADDOCKS JL, MAY JR: "Indirect pathogenicity" of penicillinase-producing enterobacteria in chronic bronchial infections. Lancet 1: 793~795, 1969

Table 9-1. Protective effect against experimental infection in mice

Organism	Antibiotic <sup>(c)</sup>	Challenge dose (cells/mouse)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		ED <sub>50</sub> (mg/kg)
			Inoculum (cells/ml)		
			10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	
<i>S. aureus</i> <sup>(a)</sup> No. 374	SBT•ABPC	5.9×10 <sup>7</sup> (4.7 MLD) with mucin	25	12.5	308 (237-463)
	ABPC		400	25	>500
	SBT		800	800	>500
	PIPC		>800	200	>500
	CEZ		50	12.5	>500
	CMZ		12.5	6.25	341 (249-689)
<i>S. aureus</i> <sup>(a)</sup> No. 375	SBT•ABPC	1.6×10 <sup>7</sup> (2.0 MLD) with mucin	50	25	46.6 (36.3-61.2)
	ABPC		>800	800	>500
	SBT		800	400	>500
	PIPC		>800	800	>500
	CEZ		200	50	87.1 (65.0-120)
	CMZ		12.5	6.25	24.4 (17.6-31.8)
<i>S. aureus</i> <sup>(a)</sup> No. 320	SBT•ABPC	2.7×10 <sup>7</sup> (1.8 MLD) with mucin	0.20	0.20	0.99 (0.55-1.83)
	ABPC		0.20	0.10	0.85 (0.46-1.63)
	SBT		200	200	>500
	PIPC		0.78	0.78	27.4 (15.8-47.5)
	CEZ		0.39	0.39	4.49 (2.57-9.99)
	CMZ		1.56	1.56	18.7 (8.07-65.5)
<i>E. coli</i> <sup>(b)</sup> No. 1037	SBT•ABPC	8.7×10 <sup>8</sup> (33 MLD) with mucin	25	12.5	54.6 (36.1-83.0)
	ABPC		>800	400	>500
	SBT		25	25	395 (283-926)
	PIPC		>800	12.5	317 (237-515)
	CEZ		6.25	1.56	6.77 (3.63-11.7)
	CMZ		0.78	0.39	2.45 (1.10-4.44)
<i>E. coli</i> <sup>(b)</sup> No. 23	SBT•ABPC	3.8×10 <sup>8</sup> (4.5 MLD) with mucin	1.56	1.56	8.35 (4.55-15.5)
	ABPC		1.56	0.78	7.51 (4.12-13.8)
	SBT		50	25	139 (74.0-274)
	PIPC		0.78	0.39	7.67 (4.12-14.5)
	CEZ		1.56	1.56	5.37 (3.01-9.85)
	CMZ		0.78	0.39	5.48 (3.01-9.99)

(continued)

Table 9-2. Protective effect against experimental infection in mice

Organism	Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		ED <sub>50</sub> (mg/kg)
			Inoculum (cells/ml)		
			10 <sup>8</sup>	10 <sup>9</sup>	
<i>K. pneumoniae</i> <sup>b)</sup> No. 442	SBT·ABPC	7.9×10 <sup>8</sup> (7.2 MLD) with mucin	25	6.25	26.3 (14.4-48.9)
	ABPC		50	12.5	136 (59.6-274)
	SBT		50	25	>500
	PIPC		25	3.13	113 (54.8-379)
	CEZ		3.13	1.56	19.7 (10.8-38.6)
	CMZ		1.56	0.78	12.8 (6.90-24.3)
<i>K. pneumoniae</i> <sup>b)</sup> No. 444	SBT·ABPC	6.5×10 <sup>8</sup> (1.7 MLD) with mucin	6.25	3.13	18.4 (8.70-39.4)
	ABPC		100	12.5	168 (88.0-314)
	SBT		25	25	338 (198-871)
	PIPC		12.5	1.56	53.4 (21.4-219)
	CEZ		1.56	0.78	6.82 (2.86-14.6)
	CMZ		0.78	0.39	5.39 (2.75-9.90)
<i>P. vulgaris</i> <sup>b)</sup> No. 24	SBT·ABPC	9.3×10 <sup>5</sup> (5.8 MLD) with mucin	6.25	3.13	23.7 (13.0-43.7)
	ABPC		400	50	>500
	SBT		100	100	>500
	PIPC		1.56	0.78	19.2 (10.5-35.5)
	CEZ		>800	200	>500
	CMZ		3.13	3.13	15.3 (8.05-28.8)
<i>A. calcoaceticus</i> <sup>b)</sup> No.24	SBT·ABPC	3.1×10 <sup>8</sup> (4.0 MLD) with mucin	3.13	3.13	15.3 (8.52-28.3)
	ABPC		12.5	12.5	69.6 (38.0-141)
	SBT		1.56	0.78	6.76 (3.65-12.6)
	PIPC		12.5	6.25	126 (73.0-208)
	CEZ		400	200	>500
	CMZ		50	50	152 (80.8-268)

Mice were infected intraperitoneally with test organism in 5% mucin.

<sup>a)</sup> Antibiotics were administered subcutaneously twice at 1 and 4 hours after infection. ED<sub>50</sub> value is expressed as a single dose.

<sup>b)</sup> Mice were treated with a single administration at 1 hour after infection.

<sup>c)</sup> SBT·ABPC: sulbactam·ampicillin, ABPC: ampicillin, SBT: sulbactam, PIPC: piperacillin, CEZ: cefazolin, CMZ: cefmetazole

Numbers in parentheses at ED<sub>50</sub> values indicate 95% confidence limits.

MLD means minimum lethal dose.

Table 10. Protective effect of SBT·ABPC and reference antibiotics on experimental infection of *S. pneumoniae* with or without *B. catarrhalis* in mice

Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)		MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		ED <sub>50</sub> (mg/kg)		
	<i>B. catarrhalis</i> No. 69	<i>S. pneumoniae</i> No. 55	<i>B. catarrhalis</i> No. 69			<i>S. pneumoniae</i> No. 55	
			10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>		10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>
SBT·ABPC	3.8×10 <sup>8</sup>	1.5×10 <sup>4</sup>	0.78	0.20	≤0.05	≤0.05	2.14 (1.60–2.84)
ABPC			200	3.13	≤0.05	≤0.05	>100
SBT			12.5	12.5	25	25	>100
PIPC			400	3.13	≤0.05	≤0.05	>100
SBT·ABPC		1.5×10 <sup>4</sup>			≤0.05	≤0.05	1.34 (0.97–1.83)
ABPC					≤0.05	≤0.05	0.74 (0.54–1.00)
SBT					25	25	>100
PIPC					≤0.05	≤0.05	5.16 (3.69–7.79)

Mice were infected intraperitoneally with test organisms.

Antibiotics were administered subcutaneously twice at 1 and 4 hours after infection. ED<sub>50</sub> value is expressed as a single dose.

Table 11. Protective effect of SBT·ABPC and reference antibiotics on experimental infection of *S. pneumoniae* with or without *H. influenzae* in mice

Antibiotic	Challenge dose (cells/mouse)		MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		ED <sub>50</sub> (mg/kg)		
	<i>H. influenzae</i> No. 522	<i>S. pneumoniae</i> No. 55	<i>H. influenzae</i> No. 522			<i>S. pneumoniae</i> No. 55	
			10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>		10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>
SBT·ABPC	1.8×10 <sup>8</sup>	3.0×10 <sup>4</sup>	12.5	3.13	≤0.05	≤0.05	4.39 (2.59–6.97)
ABPC			>800	50	≤0.05	≤0.05	8.40 (4.33–17.4)
SBT			200	100	25	25	>100
SBT·ABPC		3.0×10 <sup>4</sup>			≤0.05	≤0.05	2.01 (1.46–2.75)
ABPC					≤0.05	≤0.05	1.52 (1.07–2.12)
SBT					25	25	>100

Experimental conditions were the same as in footnotes to Table 10.

## ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SULBACTAM·AMPICILLIN

KENJI KAWASAKI, HIROSHI NIIMI, TOSHIYUKI USHIROSAKO and TOSHIYUKI MATSUNAGA

New Product Development Center, Pfizer Taito Co., Ltd.

5-2 Taketoyo-cho, Chita-gun, Aichi 470-23, Japan

The combination of sulbactam (SBT) and ampicillin (ABPC) in the ratio 1 : 2 (SBT·ABPC) was found to be widely effective against both Gram-positive and -negative bacteria, showing particularly strong activity against  $\beta$ -lactamase-producing ABPC-resistant strains of *Staphylococcus* spp., *B. catarrhalis*, *H. influenzae* and *B. fragilis*.

The bactericidal activity of ABPC was also potentiated by the addition of SBT, and the bactericidal action of SBT·ABPC was observed at a concentration of around its MIC value.

The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities of various ratios of SBT and ABPC were compared using  $\beta$ -lactamase-producing strains of *Staphylococcus* spp., *B. catarrhalis*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *H. influenzae* and *B. fragilis*, the most effective ratio being between 1 : 2 and 1 : 1.

In mice, the therapeutic effect of SBT·ABPC was remarkable against not only infections caused by ABPC-resistant strains, but mixed infections due to *S. pneumoniae* and avirulent  $\beta$ -lactamase producers against which ABPC alone proved to be ineffective.