

## Tazobactam/Piperacillinの細菌学的評価

東谷房広・三橋 進  
エビゾーム研究所\*

井上松久  
北里大学医学部微生物学教室

$\beta$ -Lactamase阻害剤tazobactam (TAZ) と piperacillin (PIPC) の1:4配合剤TAZ/PIPCの*in vitro*および*in vivo*抗菌作用についてclavulanic acid/ticarcillin (CVA/TIPC), sulbactam/ampicillin (SBT/ABPC), sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ) およびPIPC, CPZ, cefotiam (CTM) と比較検討した。

TAZ/PIPCは*Pseudomonas aeruginosa*を含む標準菌株に対して幅広い抗菌スペクトルを有し、ペニシリン系薬剤の中ではグラム陽性菌の一部を除いて最も強い抗菌力を示した。TAZ/PIPCは各菌種の代表的 $\beta$ -lactamase産生菌に対しても良好な抗菌力を示し、特にすべてのペニシリナーゼ(PCase)産生菌および*Xanthomonas maltophilia*などのL-1型を除くオキシイミノセファロスポリナーゼ(CXase)産生菌に対して最も優れた抗菌力を示した。臨床分離株に対する抗菌活性を15菌種726株を用いて調べた結果、 $\beta$ -lactamase産生菌の多く存在する菌種においてTAZとPIPCの相乗効果が認められ、その値はPIPCおよび他の配合剤よりも優れており、*Proteus vulgaris*や*Morganella morganii*などのCXase、セファロスポリナーゼ(CEPase)産生菌種ではcephem剤よりも優れた抗菌力を示した。メチシリン感受性*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. vulgaris*および*M. morganii*の5菌種 $\beta$ -lactamase産生臨床分離株に対するTAZ/PIPCの最小発育阻止濃度と最小殺菌濃度との差はほとんど認められず、増殖曲線に及ぼす影響からもTAZ/PIPCの強い殺菌作用が証明された。 $\beta$ -Lactamase産生の*E. coli*, *K. pneumoniae*および*P. vulgaris*を用いたマウス全身感染モデルを用いた治療効果の検討によりTAZ/PIPCはCVA/TIPC, PIPCよりも2~10倍優れた治療効果を示し、その強い抗菌活性が*in vivo*においても確認された。

**Key words** : TAZ/PIPC,  $\beta$ -lactamase inhibitor, 抗菌活性

Tazobactam (TAZ) は大鵬薬品工業株式会社で開発された新規 $\beta$ -lactamase阻害剤であり、現在富山化学工業株式会社のpiperacillin (PIPC) との間で配合剤TAZ:PIPC=1:4として臨床での開発が進められている (Fig. 1)。TAZは、ペニシリナーゼ(PCase)およびオキシイミノセファロスポリナーゼ(CXase)、さらには一部のセファロスポリナーゼ(CEPase)に対しても強い阻害効果を示し、幅広い阻害スペクトルを示す。また、その阻害スペクトルから、 $\beta$ -ラクタム剤の中でも特にペニシリン系薬剤との併用で優れた相乗作用が得られると期待される<sup>1-4)</sup>。

今回、細菌学的評価のひとつとして標準菌株、臨床分離株および $\beta$ -lactamase産生株に対するTAZ/PIPC (1:4)の*in vitro*抗菌活性、殺菌力、マウス全身感染モ

デルを用いた*in vivo*治療効果等について同じく $\beta$ -lactamase阻害剤と $\beta$ -ラクタム剤との配合剤であるclavulanic acid/ticarcillin (CVA/TIPC), sulbactam/ampicillin (SBT/ABPC), sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ), および $\beta$ -ラクタム剤単剤のPIPC, cefoperazone (CPZ), およびcefotiam (CTM)を対照薬とし、比較検討したので報告する。

## I. 実験材料および方法

### 1. 使用薬剤

TAZは大鵬薬品、PIPC, CPZは富山化学、CVA/TIPCはスミスクライン・ピーチャム製薬、SBTはファイザー製薬、CTMは武田薬品より力価の明らかなものの分与を受け使用した。また、TAZ/PIPCは両成分を力価比1:4に、CVA/TIPCは1:15に、SBT/ABPC

は1:2に, SBT/CPZは1:1になるように配合し調製した。また, PIPC+TAZはTAZが最終濃度として $2.5\mu\text{g/ml}$ になるように添加した。

## 2. 使用菌株

化学療法学会設定の標準菌株<sup>5)</sup>,  $\beta$ -lactamase産生株および各種臨床分離株および感染治療試験に用いた菌株は当研究所保存株を用いた。

## 3. 薬剤感受性測定法

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<sup>6)</sup>および同学会の嫌気性菌感受性測定法<sup>7)</sup>に準じて行った。Table 1にその使用培地および培養法を示した。37°Cで約18時間静置培養した菌液をゼラチン加緩衝生理食塩水(NaCl 8.5g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.3g,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0.6g, geratin 0.1g/1l)を用いて希釈し, 約 $10^6$ あるいは $10^8$ CFU/mlの菌数の接種菌液を調整した。偏性嫌気性菌では希釈液としてGAM broth(ニッスイ)を用いた。この菌液をマイクロプランター(佐久間

製作所)を用いて約 $5\mu\text{l}$ ( $10^4$ CFU/spot)ずつ薬剤含有寒天平板上に接種し, 37°C, 18~24時間培養後, 肉眼的に発育の認められない最小薬剤濃度をMICとした。

*Neisseria gonorrhoeae*は, Table 1に示した寒天平板で前培養後, 菌体を0.8% Proteose peptone No. 3 (Difco)に約McFarland 1になるように懸濁し, これを0.8% Proteose peptone No. 3を用いて希釈して接種菌液を調整した。以下, 同様の操作によってこの菌液を接種し培養した。なお, *N. gonorrhoeae*および*Haemophilus influenzae*の培養はローソク培養とし, 偏性嫌気性菌の培養は嫌気条件下で行った。

## 4. 抗菌力に対する諸因子の影響

抗菌力に対する培地の種類の影響は, Nutrient agar (栄研), Heart infusion agar (ニッスイ), Brain heart infusion agar (ニッスイ), Tryptosoy agar (栄研)およびMueller-Hinton agar (Difco)を用いて検討した。接種菌量の影響は, 一夜培養菌液を約 $10^8$ ,  $10^7$ ,  $10^6$ ,  $10^5$

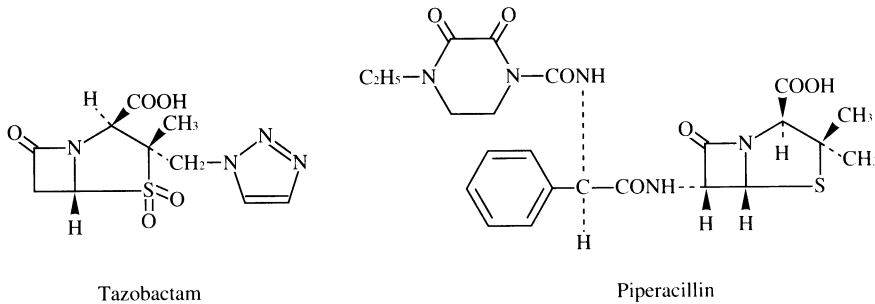


Fig. 1. Chemical structures of tazobactam and piperacillin.

Table 1. Media used for preculture and MIC determination

Media	Organisms
<b>For preculture</b>	
BHIB .....	<i>Streptococcus pyogenes</i>
BHIB + 5% horse blood .....	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
BHIB + 5% Fildes Enrichment (Difco) .....	<i>Haemophilus influenzae</i>
GCA + 1% Hemoglobin (Difco) + 1% Iso Vitale X (BBL) .....	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
GAMB .....	<i>Bacteroides fragilis</i>
STB + 0.4% $\text{KNO}_3$ .....	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
STB .....	Other organisms
<b>For MIC determination</b>	
SDA-N + 5% horse blood .....	Streptococci
SDA-N + 5% Fildes Enrichment (Difco) .....	<i>Haemophilus influenzae</i>
GCA + 1% Hemoglobin (Difco) + 1% Iso Vitale X (BBL) .....	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
GAMA .....	Anaerobes
SDA-N .....	Other organisms

BHIB: Brain heart infusion broth (Difco), GCA: GC agar (Difco), GAMB: GAM broth (Nissui),  
STB: Sensitivity test broth (Nissui), SDA-N: Sensitivity test agar-N (Nissui), GAMA: GAM agar (Nissui)

および $10^4$ CFU/mlの5段階濃度に調製したもので検討した。培地のpH影響は1N HClおよび1N NaOHでpH 6.0, 7.0および8.0に調整した培地でMICを測定した。

### 5. 殺菌効果

被験菌を感受性測定用ブロス(STB: ニッスイ)を用いて対数増殖期まで $37^{\circ}\text{C}$ で振盪培養した。薬剤を含むSTBに最終菌量が $10^5 \sim 10^6$ CFU/mlになるように菌液を接種し、 $37^{\circ}\text{C}$ 、24時間静置培養後、肉眼で濁度の認められない最小濃度をMICとした。さらに培養液の $10\mu\text{l}$ を感受性ディスク用培地:N(SDA-N: ニッスイ)10mlに混釈し、 $37^{\circ}\text{C}$ 、48時間培養後、初発菌量の99.9%を殺菌する最小濃度を求め、これを最小殺菌濃度(MBC)とした。また、MBCを求めるにあたり、この条件下では薬剤のcarryoverがないことを確認した。

### 6. 増殖曲線に及ぼす影響

被験菌をSBTで $37^{\circ}\text{C}$ において対数増殖期中期まで振盪培養し、薬剤を添加しさらに培養を続けた。その後、1, 2, 4, 8および24時間後に培養菌液を採取し、

適当に希釈して生菌数の測定を行った。なお、この条件下での生菌数の検出限界は10CFU/mlである。

### 7. マウス全身感染治療効果( $\text{ED}_{50}$ 値)の検討

Std-ddY系雄マウス、4週齢を1薬剤1濃度あたり1群10匹使用した。感染菌は5% mucin (Difco) 添加の菌懸濁液をマウス腹腔内に接種したのち、1時間および3時間後に薬剤を皮下投与した。 $\text{ED}_{50}$ 値は、感染後5日後の生存率からProbit法によって求めた。また、 $\text{ED}_{50}$ 値は2回薬剤投与した時の総量で示した。

## II. 実験結果

### 1. 抗菌スペクトル

標準菌株に対するTAZ/PIPC、PIPC+TAZの抗菌力をPIPC、CVA/TIPC、SBT/ABPC、SBT/CPZ、CPZおよびCTMの抗菌力と比較検討した。その結果をTable 2-1, 2-2に示す。

TAZ/PIPCはグラム陽性菌に対して $10^6$ CFU/mlで、 $\leq 0.025$ から $0.78\mu\text{g/ml}$ 、 $10^6$ CFU/mlで0.2から $1.56\mu\text{g/ml}$ でその発育を阻止した。また、グラム陰性菌に対

Table 2-1. Antibacterial spectra of tazobactam/piperacillin, piperacillin + tazobactam (2.5) and other drugs against standard strains of bacteria

Organisms	Antibiotics							
	PIPC	TAZ/PIPC	P+T (2.5)	CVA/TIPC	SBT/ABPC	SBT/CPZ	CPZ	CTM
<i>S. aureus</i> FDA209P JC-1	0.78	0.78	0.78	1.56	0.2	3.13	1.56	0.39
<i>S. aureus</i> Terajima	0.1	0.2	0.1	0.1	$\leq 0.025$	0.78	0.2	$\leq 0.025$
<i>S. aureus</i> MS353	0.39	0.39	0.39	0.78	0.1	1.56	0.78	0.2
<i>S. pyogenes</i> Cook	0.1	0.1	0.05	0.78	0.05	0.2	0.1	0.05
<i>B. subtilis</i> ATCC663	0.2	0.39	0.1	0.1	$\leq 0.025$	0.78	0.39	0.1
<i>M. luteus</i> ATCC9341	0.05	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	0.1	$\leq 0.025$	0.1	0.05	0.1
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	1.56	1.56	1.56	1.56	6.25	0.1	0.05	$\leq 0.025$
<i>E. coli</i> K-12 C600	1.56	1.56	1.56	1.56	3.13	0.05	0.05	$\leq 0.025$
<i>E. cloacae</i> 963	1.56	1.56	1.56	3.13	100	0.39	0.39	0.39
<i>E. aerogenes</i> ATCC13048	3.13	3.13	3.13	6.25	100	0.2	0.2	0.39
<i>K. pneumoniae</i> PCI-602	0.78	0.2	$\leq 0.025$	3.13	3.13	0.05	0.05	$\leq 0.025$
<i>S. typhimurium</i> IID971	1.56	1.56	0.78	1.56	1.56	0.39	0.2	0.1
<i>S. typhi</i> 901	1.56	1.56	1.56	1.56	0.78	0.78	0.39	$\leq 0.025$
<i>S. paratyphi</i> 1015	0.05	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	0.78	0.39	0.05	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$
<i>S. schottmuelleri</i> 8006	1.56	1.56	1.56	1.56	0.78	0.39	0.2	$\leq 0.025$
<i>S. enteritidis</i> G14	0.2	0.2	0.1	0.78	0.2	0.2	0.1	0.025
<i>S. marcescens</i> IAM1184	0.78	1.56	0.78	1.56	50	0.78	0.39	3.13
<i>M. morgani</i> IFO3848	0.05	0.05	0.05	0.78	1.56	0.05	$\leq 0.025$	0.05
<i>P. mirabilis</i> IFO3849	0.2	0.39	0.39	1.56	3.13	0.78	0.78	0.39
<i>P. vulgaris</i> OX-19	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	0.78	1.56	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	0.2
<i>P. vulgaris</i> HX-19	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	0.78	1.56	$\leq 0.025$	$\leq 0.025$	0.2
<i>P. rettgeri</i> IFO3850	0.2	0.2	0.2	0.39	0.78	0.2	0.2	$\leq 0.025$
<i>P. aeruginosa</i> IFO3445	6.25	3.13	3.13	6.25	100	6.25	3.13	>100
<i>P. aeruginosa</i> NCTC10490	0.78	0.78	0.78	3.13	50	1.56	0.78	>100
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	3.13	3.13	3.13	25	>100	6.25	3.13	>100

PIPC: piperacillin, TAZ/PIPC: tazobactam/piperacillin, P+T: piperacillin+tazobactam

CVA/TIPC: clavulanic acid/ticarcillin, SBT/ABPC: sulbactam/ampicillin, SBT/CPZ: sulbactam/cefoperazone

CPZ: cefoperazone, CTM: cefotiam, Agar dilution method, Inoculum size:  $3 \sim 5 \times 10^6$  CFU/ml

して $10^6$ CFU/mlで、 $\leq 0.025$ から $3.13\mu\text{g/ml}$ 、 $10^8$ CFU/mlで $0.05$ から $12.5\mu\text{g/ml}$ でその発育を阻止し、幅広い抗菌スペクトルを示した。このように、ペニシリン系薬剤の中ではグラム陽性菌の一部を除いて最も優れたものであった。特に $10^8$ CFU/ml接種で*Bacillus subtilis* ATCC663および*Klebsiella pneumoniae* PCI-602に対しては、PIPCよりも64倍優れた値を示した。その他の菌に対してはPIPCとほぼ同じ程度の抗菌力を示した。また、TAZ/PIPCはSBT/ABPCやCTMが無効であった*Pseudomonas aeruginosa*に対しても良好な値を示した。

## 2. 各種 $\beta$ -lactamase産生菌に対する抗菌力

代表的な $\beta$ -lactamaseを産生する菌株に対する抗菌力をTable 3-1~3-4に示す。PCaseを産生する菌株に対しては、すべてのタイプでTAZ/PIPCとPIPC+TAZは、PIPCよりはるかに優れた抗菌力を示した。また、その値はCVA/TIPC、SBT/ABPCよりもほとんどの菌株において勝っていた。さらに、 $10^8$ CFU/ml接種でPIPCは $10^6$ CFU/ml接種に比べて、そのMICの上昇が顕著であったが、TAZ/PIPCでは*K. pneumoniae* GN69を

除いて目立った変化は認められず、CPZよりも優れた抗菌力を示した菌株もあった。

次に、CEPaseおよびCXaseを産生する菌株に対する抗菌力を検討した。PIPC自体が比較的CEPaseに安定であり、CEPaseを産生する菌株に対してTAZ添加による併用効果は顕著なものではなかった。しかし、中には*Escherichia coli* GN14929, *Serratia marcescens* GN10857およびGN14931や*Citrobacter freundii* GN346の様に強い相乗作用を示すものも認められた。また、CVA/TIPC、SBT/ABPCやCTMと比べてもほとんどのCEPaseを産生する菌に対してTAZ/PIPCとPIPC+TAZは最も優れた抗菌力を示した。

CXase産生の*Proteus vulgaris*, *Pseudomonas cepacia*に対するMICは接種菌量の変動にもかかわらず、TAZ/PIPCとPIPC+TAZはPIPCや他の薬剤よりもはるかに優れた抗菌力を示し、強い併用効果が認められた。しかし、他の薬剤同様*Xanthomonas maltophilia*, *Klebsiella oxytoca*に対しては抗菌力は弱かった。

Table 2-2. Antibacterial spectra of tazobactam/piperacillin, piperacillin + tazobactam (2.5) and other drugs against standard strains of bacteria

Organisms	Antibiotics							
	PIPC	TAZ/PIPC	P+T (2.5)	CVA/TIPC	SBT/ABPC	SBT/CPZ	CPZ	CTM
<i>S. aureus</i> FDA209P JC-1	1.56	1.56	0.78	3.13	0.39	6.25	3.13	1.56
<i>S. aureus</i> Terajima	0.2	0.39	0.2	0.39	0.05	0.78	0.78	0.2
<i>S. aureus</i> MS353	0.39	0.78	0.39	1.56	0.2	1.56	0.78	0.39
<i>S. pyogenes</i> Cook	0.1	0.05	0.05	0.39	0.39	0.39	0.1	0.1
<i>B. subtilis</i> ATCC663	25	0.39	0.2	0.39	0.05	1.56	0.78	0.39
<i>M. luteus</i> ATCC9341	0.1	0.2	0.05	0.78	0.05	0.39	0.2	0.78
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	3.13	3.13	3.13	3.13	12.5	0.39	0.39	0.1
<i>E. coli</i> K-12 C600	3.13	3.13	3.13	3.13	6.25	0.2	0.39	0.2
<i>E. cloacae</i> 963	3.13	3.13	3.13	12.5	100	3.13	0.78	>100
<i>E. aerogenes</i> ATCC13048	6.25	6.25	6.25	12.5	100	0.78	0.39	>100
<i>K. pneumoniae</i> PCI-602	25	0.39	0.05	6.25	12.5	0.2	0.2	0.1
<i>S. typhimurium</i> IID971	6.25	12.5	12.5	12.5	12.5	3.13	0.78	3.13
<i>S. typhi</i> 901	1.56	3.13	1.56	3.13	1.56	1.56	0.78	0.2
<i>S. paratyphi</i> 1015	0.1	0.1	0.05	1.56	0.39	0.1	0.1	0.1
<i>S. schottmuelleri</i> 8006	1.56	3.13	1.56	3.13	1.56	0.78	0.39	0.2
<i>S. enteritidis</i> G14	0.2	0.39	0.1	3.13	0.2	0.2	0.2	0.1
<i>S. marcescens</i> IAM1184	0.78	1.56	0.78	3.13	50	1.56	1.56	100
<i>M. morgani</i> IFO3848	0.2	0.1	0.05	1.56	3.13	0.1	0.05	25
<i>P. mirabilis</i> IFO3849	1.56	1.56	1.56	12.5	12.5	3.13	3.13	3.13
<i>P. vulgaris</i> OX-19	0.1	0.05	$\leq 0.025$	1.56	3.13	0.05	0.05	25
<i>P. vulgaris</i> HX-19	0.1	0.05	$\leq 0.025$	1.56	12.5	0.05	0.05	100
<i>P. rettgeri</i> IFO3850	0.2	0.39	0.2	0.39	3.13	0.39	0.2	0.1
<i>P. aeruginosa</i> IFO3445	6.25	6.25	3.13	25	>100	12.5	6.25	>100
<i>P. aeruginosa</i> NCTC10490	1.56	1.56	1.56	6.25	50	3.13	1.56	>100
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	6.25	3.13	3.13	25	>100	6.25	6.25	>100

P+T: piperacillin + tazobactam, Agar dilution method, Inoculum size:  $3 \sim 5 \times 10^8$  CFU/ml

## 3. 臨床分離株に対する抗菌力

臨床分離の methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA), *Streptococcus pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *C. freundii*, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Morganella morganii*, *H. influenzae*, *P. aeruginosa*, *N. gonorrhoeae*, *Moraxella catarrhalis* および *Bacteroides fragilis* について TAZ/PIPC と各薬剤の抗菌力の検討を行った (Table 4-1~4-15)。

*S. aureus* に対する TAZ/PIPC と PIPC + TAZ の MIC<sub>50</sub> はそれぞれ 3.13, 1.56 μg/ml で、PIPC の 6.25 μg/ml より優れた値を示し併用効果が認められた。また、CVA/TIPC, SBT/ABPC, SBT/CPZ および CPZ と同様の値を示した。しかし、CTM よりは劣っていた。10<sup>8</sup> CFU/ml 接種時では、PIPC の MIC<sub>50</sub> は 200 μg/ml にまで上昇したが、TAZ/PIPC と PIPC + TAZ の MIC<sub>50</sub> はそれぞれ 6.25 μg/ml で抗菌力に大きな変化は認められず、10<sup>6</sup>

Table 3-1. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against β-lactamase producing strains (3~5 × 10<sup>6</sup> CFU/ml)

Organism	MIC (μg/ml)							
	PIPC	TAZ/PIPC	P+T (2.5)	CVA/TIPC	SBT/ABPC	SBT/CPZ	CPZ	CTM
<i>E. coli</i> ML4901	1.56	1.56	1.56	3.13	12.5	0.2	0.2	0.1
ML4901/Rms149	50	1.56	1.56	25	6.25	0.39	1.56	0.1
/Rms212	50	3.13	1.56	25	25	0.78	0.78	0.2
/Rms213	50	12.5	12.5	50	50	0.39	0.39	0.2
/Ret16	6.25	1.56	1.56	25	12.5	0.39	0.78	0.39
<i>E. coli</i> TEM-1	25	1.56	1.56	25	12.5	0.39	0.39	0.2
TEM-2	>200	25	100	100	>200	12.5	25	0.39
OXA-1	25	12.5	6.25	50	50	0.2	0.39	0.1
OXA-2	50	1.56	1.56	50	12.5	0.78	6.25	3.13
PSE-1	50	3.13	1.56	100	25	1.56	3.13	0.2
PSE-3	50	1.56	1.56	25	6.25	0.2	1.56	0.2
SVH-1	>200	25	50	50	200	6.25	12.5	0.2
<i>S. aureus</i> ML15009	≤0.05	0.2	≤0.05	0.2	≤0.05	0.39	0.1	≤0.05
ML15009/pI258	6.25	1.56	1.56	1.56	0.78	3.13	3.13	0.39
<i>K. pneumoniae</i> GN69	25	3.13	1.56	25	25	1.56	1.56	≤0.05

P+T: piperacillin + tazobactam

Table 3-2. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against β-lactamase producing strains (3~5 × 10<sup>8</sup> CFU/ml)

Organism	MIC (μg/ml)							
	PIPC	TAZ/PIPC	P+T (2.5)	CVA/TIPC	SBT/ABPC	SBT/CPZ	CPZ	CTM
<i>E. coli</i> ML4901	3.13	3.13	3.13	6.25	12.5	0.78	0.39	0.39
ML4901/Rms149	>200	3.13	1.56	25	100	3.13	50	0.39
/Rms212	>200	6.25	3.13	50	100	3.13	50	1.56
/Rms213	200	50	100	100	100	1.56	6.25	3.13
/Ret16	50	3.13	3.13	12.5	12.5	0.78	3.13	3.13
<i>E. coli</i> TEM-1	>200	3.13	3.13	25	25	1.56	25	0.78
TEM-2	>200	25	200	100	>200	25	>200	6.25
OXA-1	200	25	50	100	50	0.78	3.13	3.13
OXA-2	>200	3.13	1.56	50	25	1.56	200	25
PSE-1	>200	12.5	12.5	100	50	6.25	50	0.39
PSE-3	200	3.13	1.56	25	12.5	0.39	3.13	0.39
SVH-1	>200	50	>200	50	>200	25	>200	3.13
<i>S. aureus</i> ML15009	0.2	0.2	≤0.05	0.39	≤0.05	0.39	0.39	0.1
ML15009/pI258	>200	3.13	1.56	3.13	6.25	3.13	6.25	0.78
<i>K. pneumoniae</i> GN69	>200	50	100	100	>200	12.5	200	0.78

P+T: piperacillin + tazobactam

CFU/ml接種時と同様強い併用効果があった。

*S. pneumoniae*では、試験を行ったすべての薬剤が0.1~0.2 $\mu$ g/mlで接種菌量にかかわらず90%以上の菌が発育を阻止し、感受性であった。なかでも、PIPC+TAZはMIC<sub>90</sub>が0.013 $\mu$ g/ml以下を示し最も優れていた。TAZ/PIPC、PIPCおよびSBT/ABPCはほぼ同等の感受性分布を示し、CVA/TIPC、CPZ、CTMよりも優れていた。

PIPCに感受性を示す*E. coli*に対しては、TAZによる抗菌力の増強はあまり強いものではなかったが、PIPC耐性菌に対しては、TAZ/PIPCとPIPC+TAZはMIC<sub>90</sub>が3.13 $\mu$ g/mlでPIPCのMIC<sub>90</sub>(50 $\mu$ g/ml)よりも優れた値を示し、その抗菌力はCVA/TIPC、SBT/ABPCより勝っていた。また、10<sup>8</sup>CFU/ml接種時でも同様の傾向が認められPIPC耐性菌に対してTAZ/PIPCとPIPC+TAZのMIC<sub>90</sub>はそれぞれ12.5および6.25 $\mu$ g/mlで、PIPC、CVA/TIPC、SBT/ABPCのそれ(>200, 50, 50 $\mu$ g/ml)より優れていた。

*K. pneumoniae*では、10<sup>6</sup>CFU/ml接種時でTAZ/PIPC

とPIPC+TAZのMIC<sub>90</sub>はそれぞれ6.25, 3.13 $\mu$ g/mlでPIPCのMIC<sub>90</sub>よりも8倍優れており、*E. coli*と同様PIPC耐性菌に対してより抗菌力増強が認められた。10<sup>8</sup>CFU/ml接種時では半数近くの株が、PIPCに対して200 $\mu$ g/ml以上のMICを示し10<sup>6</sup>CFU/mlに比べ抗菌力が低下したが、TAZ/PIPCとPIPC+TAZはMIC<sub>50</sub>がそれぞれ6.25と3.13 $\mu$ g/ml、MIC<sub>90</sub>はそれぞれ25と6.25 $\mu$ g/mlで良好な抗菌力を示した。

*S. marcescens*においてはPIPCとTAZ/PIPCは同様の抗菌力を示し、明確な併用効果は認められず、PIPCに対して高度耐性を示す菌株に対して僅かにMICが低下したが、その感受性分布は幅広いもので、他の薬剤と同様であった。

*E. cloacae*に対してはPIPCとTAZ/PIPCは同程度の抗菌力を示した。しかし、*S. marcescens*の場合と同様にPIPCに対して高いMICを示す菌株には、高い値ではあるがTAZの配合による抗菌力の改善の認められるものもあった。*C. freundii*に対して、PIPCは約半数の菌株に対して3.13 $\mu$ g/ml以下のMICを示し、これらPIPC

Table 3-3. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against  $\beta$ -lactamase producing strains (3~5 $\times$ 10<sup>6</sup> CFU/ml)

Organism	MIC ( $\mu$ g/ml)							
	PIPC	TAZ/PIPC	P+T (2.5)	CVA/TIPC	SBT/ABPC	SBT/CPZ	CPZ	CTM
<i>P. rettgeri</i> GN 5284	1.56	1.56	0.78	1.56	50	1.56	1.56	$\leq$ 0.05
<i>P. rettgeri</i> GN 4430	1.56	1.56	0.78	1.56	50	1.56	1.56	$\leq$ 0.05
<i>P. rettgeri</i> GN 4762	3.13	3.13	1.56	3.13	50	6.25	6.25	1.56
<i>E. coli</i> GN 5482	1.56	1.56	0.39	12.5	50	0.39	0.2	1.56
<i>E. coli</i> GN 14929	100	3.13	1.56	25	25	1.56	0.78	0.2
<i>E. coli</i> GN 14930	3.13	6.25	3.13	12.5	25	0.39	0.39	1.56
<i>E. cloacae</i> GN 7471	6.25	6.25	3.13	50	50	3.13	3.13	100
<i>E. cloacae</i> GN 7476	3.13	3.13	1.56	25	50	3.13	3.13	>200
<i>E. cloacae</i> GN 5797	3.13	3.13	3.13	100	100	1.56	0.78	>200
<i>M. morgani</i> GN 5407	1.56	0.39	0.2	0.78	25	1.56	0.78	1.56
<i>M. morgani</i> GN 5307	0.78	0.39	0.2	0.39	12.5	1.56	0.78	0.78
<i>M. morgani</i> GN 5375	0.39	0.39	0.2	0.39	12.5	1.56	0.78	0.78
<i>P. aeruginosa</i> GN 918	12.5	6.25	6.25	100	>200	25	12.5	>200
<i>P. aeruginosa</i> GN 10362	3.13	3.13	3.13	12.5	>200	6.25	3.13	>200
<i>P. aeruginosa</i> GN 10367	12.5	6.25	6.25	25	>200	12.5	12.5	>200
<i>S. marcescens</i> GN 10857	200	12.5	25	100	>200	50	50	>200
<i>S. marcescens</i> GN 14931	12.5	1.56	0.39	100	100	1.56	3.13	100
<i>S. marcescens</i> GN 14932	3.13	1.56	3.13	6.25	200	0.39	0.39	12.5
<i>C. freundii</i> GN 346	50	6.25	6.25	50	100	12.5	25	100
<i>C. freundii</i> GN 7391	>200	200	200	>200	200	100	200	>200
<i>P. vulgaris</i> GN 76	0.39	$\leq$ 0.05	0.1	0.39	12.5	0.78	0.39	3.13
<i>P. vulgaris</i> GN 7919	100	0.78	1.56	12.5	25	6.25	50	100
<i>P. vulgaris</i> GN 4413	3.13	0.39	1.56	12.5	50	6.25	3.13	>200
<i>X. maltophilia</i> GN 12873	100	25	50	12.5	>200	12.5	25	>200
<i>P. cepacia</i> GN 11164	0.78	0.2	0.2	50	200	6.25	6.25	200
<i>K. oxytoca</i> GN10650	>200	100	200	50	>200	100	100	25

P+T: piperacillin+tazobactam

感受性菌に対してはTAZ添加によるPIPCの抗菌力の増強はほとんど認められなかったが、*S. marcescens*や*E. cloacae*の場合と同じくPIPCに対して高いMICを示す菌株に対してTAZ/PIPCはPIPCよりも明らかに勝る抗菌力を示し、そのMIC<sub>90</sub>は両接種菌量で50 $\mu$ g/mlで高い値ではあるが、他の薬剤よりは優れていた。

*P. mirabilis*では、その大半がPIPC感受性のためPIPCとTAZ/PIPCの間に明らかな抗菌力の差は認められなかった。10<sup>8</sup>CFU/ml接種においてPIPCに対して200 $\mu$ g/ml以上のMICを示す耐性株が8株存在したが、TAZ/PIPCおよびPIPC+TAZはこれら耐性菌の発育を12.5 $\mu$ g/ml以下で阻止した。

TAZ/PIPCとPIPC+TAZは、*P. vulgaris*に対して両接種菌量で極めて良好な抗菌力を示し、比較したすべての薬剤のなかで最も優れていた。特に10<sup>8</sup>CFU/ml接種でその抗菌力の増強は顕著なものでPIPC、CPZおよびCTMがほとんどの株に対して100 $\mu$ g/ml以上のMICを示したのに対し、TAZ/PIPCとPIPC+TAZは12.5 $\mu$ g/ml以下ですべての菌株の発育を阻止した。

*M. morganii*に対しても、*P. vulgaris*同様TAZ/PIPCとPIPC+TAZはきわめて良好な抗菌力を示し、PIPCと比べて強い抗菌力の増強が認められた。10<sup>8</sup>CFU/ml接種でもTAZの添加効果は強く、TAZ/PIPCとPIPC+TAZのMIC<sub>90</sub>が3.13と0.78 $\mu$ g/mlであったのに対し、CVA/TIPC、SBT/ABPC、CPZおよびCTMのMIC<sub>90</sub>はそれぞれ25、100、100、>200 $\mu$ g/mlの高い値を示した。

*H. influenzae*に対しては、各薬剤ともに良好な抗菌力を示した。しかし、10<sup>8</sup>CFU/ml接種時でPIPCのMIC<sub>90</sub>が50 $\mu$ g/mlと上昇したが、TAZ/PIPCは0.2 $\mu$ g/mlであり強い抗菌力を示した。

*P. aeruginosa*に対しては10<sup>8</sup>CFU/ml接種で僅かにTAZの併用効果が認められたが、PIPCとTAZ/PIPCは同程度の抗菌力を示し、SBT/ABPC、CTMよりも優れていた。又、PIPCとTAZの併用による拮抗作用は認められなかった。TAZ/PIPCは*N. gonorrhoeae*に対して接種菌量にかかわらず良好な抗菌力を示し、CPZと同等であった。しかし、PIPCでは菌量の影響が大きくPCaseを産生すると思われる菌株に対して、著しい抗

Table 3-4. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against  $\beta$ -lactamase producing strains (3~5 $\times$ 10<sup>8</sup> CFU/ml)

Organism	MIC ( $\mu$ g/ml)								
	PIPC	TAZ/PIPC	P+T (2.5)	CVA/TIPC	SBT/ABPC	SBT/CPZ	CPZ	CTM	
<i>P. rettgeri</i> GN 5284	6.25	3.13	3.13	0.78	100	1.56	1.56	0.2	
<i>P. rettgeri</i> GN 4430	6.25	3.13	3.13	0.78	100	3.13	1.56	0.39	
<i>P. rettgeri</i> GN 4762	12.5	3.13	3.13	3.13	100	25	6.25	200	
<i>E. coli</i> GN 5482	25	3.13	3.13	12.5	50	0.78	3.13	100	
<i>E. coli</i> GN 14929	>200	6.25	6.25	50	50	3.13	200	3.13	
<i>E. coli</i> GN 14930	50	12.5	6.25	12.5	25	3.13	3.13	50	
<i>E. cloacae</i> GN 7471	50	25	25	100	50	12.5	100	>200	
<i>E. cloacae</i> GN 7476	50	12.5	12.5	100	100	12.5	>200	>200	
<i>E. cloacae</i> GN 5797	25	12.5	12.5	200	100	6.25	25	>200	
<i>M. morganii</i> GN 5407	6.25	0.78	0.39	3.13	100	1.56	1.56	200	
<i>M. morganii</i> GN 5307	12.5	0.39	0.39	1.56	25	1.56	1.56	100	
<i>M. morganii</i> GN 5375	6.25	0.39	0.39	1.56	50	3.13	3.13	100	
<i>P. aeruginosa</i> GN 918	25	25	12.5	100	>200	25	25	>200	
<i>P. aeruginosa</i> GN 10362	25	12.5	6.25	25	>200	12.5	12.5	>200	
<i>P. aeruginosa</i> GN 10367	>200	25	25	200	>200	12.5	>200	>200	
<i>S. marcescens</i> GN 10857	>200	100	>200	>200	>200	200	>200	>200	
<i>S. marcescens</i> GN 14931	>200	6.25	6.25	100	100	12.5	>200	200	
<i>S. marcescens</i> GN 14932	12.5	6.25	6.25	100	200	3.13	50	>200	
<i>C. freundii</i> GN 346	100	25	50	100	100	25	200	>200	
<i>C. freundii</i> GN 7391	>200	100	>200	>200	>200	100	>200	>200	
<i>P. vulgaris</i> GN 76	0.39	0.78	0.2	1.56	25	1.56	0.78	>200	
<i>P. vulgaris</i> GN 7919	200	3.13	1.56	25	25	12.5	>200	>200	
<i>P. vulgaris</i> GN 4413	200	3.13	1.56	50	50	100	>200	>200	
<i>X. maltophilia</i> GN 12873	>200	>200	>200	200	>200	>200	>200	>200	
<i>P. cepacia</i> GN 11164	25	3.13	0.39	>200	>200	50	50	>200	
<i>K. oxytoca</i> GN10650	>200	>200	200	100	>200	>200	>200	>200	

P+T: piperacillin+tazobactam

Table 4-1. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Antibiotics	Inoculum size (CFU/ml)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
			range	50%	90%
<i>S. aureus</i> (MSSA) (54)	TAZ/PIPC	$10^6$	0.78 ~ 100	3.13	50
		$10^8$	0.78 ~ 200	6.25	100
	PIPC + TAZ	$10^6$	0.39 ~ 100	1.56	100
		$10^8$	0.78 ~ 200	6.25	200
	PIPC	$10^6$	0.78 ~ 200	6.25	200
		$10^8$	0.78 ~ >200	200	>200
	CVA/TIPC	$10^6$	0.78 ~ >200	3.13	100
		$10^8$	1.56 ~ >200	6.25	>200
	SBT/ABPC	$10^6$	0.20 ~ 50	3.13	25
		$10^8$	0.20 ~ 100	12.5	50
	SBT/CPZ	$10^6$	1.56 ~ >200	3.13	100
		$10^8$	3.13 ~ >200	6.25	>200
	CPZ	$10^6$	0.78 ~ >200	1.56	>200
		$10^8$	1.56 ~ >200	6.25	>200
CTM	$10^6$	0.39 ~ >200	0.78	200	
	$10^8$	0.39 ~ >200	1.56	>200	

Table 4-2. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Antibiotics	Inoculum size (CFU/ml)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
			range	50%	90%
<i>S. pneumoniae</i> (20)	TAZ/PIPC	$10^6$	$\leq 0.013$ ~ 0.2	$\leq 0.013$	0.02
		$10^8$	$\leq 0.013$ ~ 0.78	0.025	0.05
	PIPC + TAZ	$10^6$	$\leq 0.013$ ~ 0.1	$\leq 0.013$	$\leq 0.013$
		$10^8$	$\leq 0.013$ ~ 0.39	$\leq 0.013$	$\leq 0.013$
	PIPC	$10^6$	$\leq 0.013$ ~ 0.1	$\leq 0.013$	$\leq 0.013$
		$10^8$	$\leq 0.013$ ~ 0.78	$\leq 0.013$	0.025
	CVA/TIPC	$10^6$	0.2 ~ 0.39	0.39	0.39
		$10^8$	0.2 ~ 1.56	0.39	0.39
	SBT/ABPC	$10^6$	$\leq 0.013$ ~ 0.025	0.025	0.025
		$10^8$	$\leq 0.013$ ~ 0.05	0.025	0.025
	SBT/CPZ	$10^6$	0.025 ~ 1.56	0.05	0.2
		$10^8$	0.025 ~ 3.13	0.05	0.2
	CPZ	$10^6$	$\leq 0.013$ ~ 0.78	0.025	0.05
		$10^8$	0.025 ~ 1.56	0.05	0.1
CTM	$10^6$	0.025 ~ 0.2	0.05	0.05	
	$10^8$	0.025 ~ 0.39	0.05	0.2	



Table 4-3. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Antibiotics	Inoculum size (CFU/ml)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
			range	50%	90%
<i>E. coli</i> (54)	TAZ/PIPC	$10^6$	0.78 ~ 12.5	1.56	6.25
		$10^8$	1.56 ~ 25	3.13	12.5
	PIPC + TAZ	$10^6$	0.78 ~ 12.5	1.56	6.25
		$10^8$	1.56 ~ 200	3.13	6.25
	PIPC	$10^6$	0.78 ~ >200	1.56	50
		$10^8$	1.56 ~ >200	6.25	>200
	CVA/TIPC	$10^6$	0.78 ~ 50	1.56	25
		$10^8$	0.78 ~ 100	3.13	50
	SBT/ABPC	$10^6$	3.13 ~ 100	6.25	25
		$10^8$	6.25 ~ 200	12.5	50
	SBT/CPZ	$10^6$	0.05 ~ 3.13	0.2	1.56
		$10^8$	0.1 ~ 12.5	0.39	3.13
	CPZ	$10^6$	$\leq 0.025$ ~ 0.39	0.05	0.2
		$10^8$	0.05 ~ 12.5	0.2	1.56
CTM	$10^6$	$\leq 0.025$ ~ 3.13	0.1	0.39	
	$10^8$	0.05 ~ >200	0.2	50	

Table 4-4. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Antibiotics	Inoculum size (CFU/ml)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
			range	50%	90%
<i>K. pneumoniae</i> (54)	TAZ/PIPC	$10^6$	0.1 ~ 25	1.56	6.25
		$10^8$	1.56 ~ 100	6.25	25
	PIPC + TAZ	$10^6$	0.78 ~ 12.5	1.56	3.13
		$10^8$	0.78 ~ >200	3.13	6.25
	PIPC	$10^6$	0.1 ~ 100	3.13	50
		$10^8$	3.13 ~ >200	200	>200
	CVA/TIPC	$10^6$	0.78 ~ 50	3.13	25
		$10^8$	1.56 ~ 100	6.25	50
	SBT/ABPC	$10^6$	0.78 ~ 50	6.25	12.5
		$10^8$	3.13 ~ >200	12.5	50
	SBT/CPZ	$10^6$	$\leq 0.025$ ~ 6.25	0.2	0.78
		$10^8$	0.2 ~ 50	0.39	3.13
	CPZ	$10^6$	$\leq 0.025$ ~ 3.13	0.1	0.39
		$10^8$	0.05 ~ >200	0.39	200
CTM	$10^6$	0.05 ~ 1.56	0.1	0.1	
	$10^8$	0.05 ~ 6.25	0.2	0.78	

Table 4-5. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Antibiotics	Inoculum size (CFU/ml)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
			range	50%	90%
<i>S. marcescens</i> (53)	TAZ/PIPC	$10^6$	1.56 ~ >200	50	200
		$10^8$	1.56 ~ >200	100	>200
	PIPC + TAZ	$10^6$	0.78 ~ >200	100	>200
		$10^8$	1.56 ~ >200	>200	>200
	PIPC	$10^6$	1.56 ~ >200	>200	>200
		$10^8$	1.56 ~ >200	>200	>200
	CVA/TIPC	$10^6$	0.78 ~ >200	200	>200
		$10^8$	1.56 ~ >200	200	>200
	SBT/ABPC	$10^6$	12.5 ~ >200	>200	>200
		$10^8$	25 ~ >200	>200	>200
	SBT/CPZ	$10^6$	0.78 ~ >200	100	>200
		$10^8$	1.56 ~ >200	200	>200
	CPZ	$10^6$	0.78 ~ >200	100	>200
		$10^8$	1.56 ~ >200	>200	>200
CTM	$10^6$	1.56 ~ >200	>200	>200	
	$10^8$	25 ~ >200	>200	>200	

Table 4-6. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Antibiotics	Inoculum size (CFU/ml)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
			range	50%	90%
<i>E. cloacae</i> (54)	TAZ/PIPC	$10^6$	0.78 ~ 50	3.13	50
		$10^8$	1.56 ~ >200	12.5	100
	PIPC + TAZ	$10^6$	0.78 ~ 200	3.13	100
		$10^8$	1.56 ~ >200	12.5	200
	PIPC	$10^6$	0.78 ~ >200	6.25	>200
		$10^8$	1.56 ~ >200	12.5	>200
	CVA/TIPC	$10^6$	0.78 ~ >200	50	200
		$10^8$	1.56 ~ >200	100	200
	SBT/ABPC	$10^6$	3.13 ~ >200	100	200
		$10^8$	6.25 ~ >200	100	>200
	SBT/CPZ	$10^6$	$\leq 0.1$ ~ 50	1.56	50
		$10^8$	0.2 ~ 200	6.25	50
	CPZ	$10^6$	$\leq 0.1$ ~ >200	0.78	100
		$10^8$	0.2 ~ >200	25	>200
CTM	$10^6$	0.2 ~ >200	100	>200	
	$10^8$	12.5 ~ >200	>200	>200	

Table 4-7. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Antibiotics	Inoculum size (CFU/ml)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
			range	50%	90%
<i>C. freundii</i> (54)	TAZ/PIPC	$10^6$	1.56 ~ 50	6.25	50
		$10^8$	3.13 ~ 100	6.25	50
	PIPC + TAZ	$10^6$	1.56 ~ 200	3.13	100
		$10^8$	1.56 ~ >200	6.25	200
	PIPC	$10^6$	1.56 ~ >200	12.5	>200
		$10^8$	3.13 ~ >200	25	>200
	CVA/TIPC	$10^6$	0.78 ~ >200	6.25	200
		$10^8$	1.56 ~ >200	50	>200
	SBT/ABPC	$10^6$	6.25 ~ >200	50	200
		$10^8$	6.25 ~ >200	100	200
	SBT/CPZ	$10^6$	0.2 ~ 50	1.56	50
		$10^8$	0.39 ~ 100	1.56	50
	CPZ	$10^6$	$\leq 0.1$ ~ >200	1.56	100
		$10^8$	0.39 ~ >200	12.5	>200
CTM	$10^6$	0.2 ~ >200	1.56	>200	
	$10^8$	6.25 ~ >200	100	>200	

Table 4-8. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Antibiotics	Inoculum size (CFU/ml)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
			range	50%	90%
<i>P. mirabilis</i> (54)	TAZ/PIPC	$10^6$	0.1 ~ 3.13	0.39	0.78
		$10^8$	0.2 ~ 12.5	0.78	3.13
	PIPC + TAZ	$10^6$	0.1 ~ 1.56	0.39	0.78
		$10^8$	0.2 ~ 6.25	0.78	1.56
	PIPC	$10^6$	0.1 ~ 200	0.39	25
		$10^8$	0.2 ~ >200	0.78	>200
	CVA/TIPC	$10^6$	0.2 ~ 12.5	0.78	6.25
		$10^8$	0.78 ~ 50	1.56	25
	SBT/ABPC	$10^6$	0.78 ~ 50	1.56	12.5
		$10^8$	1.56 ~ 100	3.13	50
	SBT/CPZ	$10^6$	0.39 ~ 12.5	1.56	3.13
		$10^8$	0.39 ~ 25	3.13	6.25
	CPZ	$10^6$	0.2 ~ 12.5	0.78	1.56
		$10^8$	0.2 ~ >200	0.78	>200
CTM	$10^6$	$\leq 0.05$ ~ 6.25	0.2	0.39	
	$10^8$	0.2 ~ 200	0.39	50	

Table 4-9. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Antibiotics	Inoculum size (CFU/ml)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
			range	50%	90%
<i>P. vulgaris</i> (75)	TAZ/PIPC	$10^6$	0.1 ~ 6.25	0.78	3.13
		$10^8$	0.39 ~ 12.5	1.56	6.25
	PIPC + TAZ	$10^6$	0.2 ~ 3.13	0.78	1.56
		$10^8$	0.39 ~ 12.5	1.56	3.13
	PIPC	$10^6$	0.39 ~ >100	1.56	50
		$10^8$	0.78 ~ >100	>100	>100
	CVA/TIPC	$10^6$	0.39 ~ 25	3.13	12.5
		$10^8$	0.78 ~ 100	25	50
	SBT/ABPC	$10^6$	1.56 ~ 50	25	50
		$10^8$	12.5 ~ >100	50	100
	SBT/CPZ	$10^6$	0.39 ~ 6.25	1.56	3.13
		$10^8$	1.56 ~ 100	6.25	100
	CPZ	$10^6$	0.39 ~ 12.5	1.56	6.25
		$10^8$	1.56 ~ >100	>100	>100
CTM	$10^6$	0.39 ~ >100	>100	>100	
	$10^8$	100 ~ >100	>100	>100	

Table 4-10. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Antibiotics	Inoculum size (CFU/ml)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
			range	50%	90%
<i>M. morganii</i> (50)	TAZ/PIPC	$10^6$	0.2 ~ 6.25	0.39	3.13
		$10^8$	0.39 ~ 12.5	0.39	3.13
	PIPC + TAZ	$10^6$	$\leq 0.1$ ~ 1.56	0.39	0.39
		$10^8$	0.2 ~ 3.13	0.39	0.78
	PIPC	$10^6$	0.2 ~ 50	0.78	25
		$10^8$	1.56 ~ >200	12.5	100
	CVA/TIPC	$10^6$	0.39 ~ 200	0.78	12.5
		$10^8$	1.56 ~ >200	12.5	25
	SBT/ABPC	$10^6$	6.25 ~ 50	25	50
		$10^8$	6.25 ~ 200	100	100
	SBT/CPZ	$10^6$	0.39 ~ 6.25	1.56	3.13
		$10^8$	0.39 ~ 6.25	3.13	6.25
	CPZ	$10^6$	0.2 ~ 25	0.78	6.25
		$10^8$	0.78 ~ >200	3.13	100
CTM	$10^6$	$\leq 0.1$ ~ 200	25	100	
	$10^8$	12.5 ~ >200	200	>200	

Table 4-11. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Antibiotics	Inoculum size (CFU/ml)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
			range	50%	90%
<i>H. influenzae</i> (53)	TAZ/PIPC	$10^6$	$\leq 0.05 \sim 0.2$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$
		$10^8$	$\leq 0.05 \sim 0.78$	0.1	0.2
	PIPC + TAZ	$10^6$	$\leq 0.05 \sim 0.1$	$\leq 0.05$	0.1
		$10^8$	0.1 ~ 0.39	0.1	0.39
	PIPC	$10^6$	$\leq 0.05 \sim 100$	$\leq 0.05$	3.13
		$10^8$	$\leq 0.05 \sim > 100$	0.2	50
	CVA/TIPC	$10^6$	$\leq 0.05 \sim 0.78$	0.1	0.39
		$10^8$	$\leq 0.05 \sim 6.25$	0.2	3.13
	SBT/ABPC	$10^6$	0.1 ~ 3.13	0.39	1.56
		$10^8$	0.2 ~ 12.5	0.78	3.13
	SBT/CPZ	$10^6$	$\leq 0.05 \sim 0.39$	$\leq 0.05$	0.1
		$10^8$	$\leq 0.05 \sim 1.56$	0.1	0.78
	CPZ	$10^6$	$\leq 0.05 \sim 0.2$	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$
		$10^8$	$\leq 0.05 \sim 12.5$	0.2	0.78
CTM	$10^6$	0.2 ~ 1.56	0.39	0.78	
	$10^8$	0.2 ~ 3.13	1.56	3.13	

Table 4-12. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Antibiotics	Inoculum size (CFU/ml)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
			range	50%	90%
<i>P. aeruginosa</i> (54)	TAZ/PIPC	$10^6$	0.39 ~ >200	12.5	200
		$10^8$	1.56 ~ >200	12.5	200
	PIPC + TAZ	$10^6$	0.39 ~ 200	12.5	200
		$10^8$	0.78 ~ >200	12.5	200
	PIPC	$10^6$	0.39 ~ >200	12.5	200
		$10^8$	3.13 ~ >200	25	>200
	CVA/TIPC	$10^6$	0.78 ~ >200	50	200
		$10^8$	1.56 ~ >200	50	>200
	SBT/ABPC	$10^6$	50 ~ >200	200	>200
		$10^8$	100 ~ >200	>200	>200
	SBT/CPZ	$10^6$	0.78 ~ 100	25	100
		$10^8$	1.56 ~ 200	25	100
	CPZ	$10^6$	0.78 ~ >200	12.5	200
		$10^8$	1.56 ~ >200	25	>200
CTM	$10^6$	>200	>200	>200	
	$10^8$	>200	>200	>200	

Table 4-13. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Antibiotics	Inoculum size (CFU/ml)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
			range	50%	90%
<i>N. gonorrhoeae</i> (28)	TAZ/PIPC	$10^6$	$\leq 0.013 \sim 0.05$	$\leq 0.013$	0.05
		$10^8$	$\leq 0.013 \sim 0.78$	0.025	0.2
	PIPC	$10^6$	$\leq 0.013 \sim 0.39$	$\leq 0.013$	0.2
		$10^8$	$\leq 0.013 \sim >100$	0.025	>100
	CVA/TIPC	$10^6$	0.025 ~ 0.78	0.2	0.78
		$10^8$	0.05 ~ 3.13	0.39	1.56
	SBT/ABPC	$10^6$	0.025 ~ 0.78	0.2	0.78
		$10^8$	0.05 ~ 6.25	0.39	3.13
	SBT/CPZ	$10^6$	$\leq 0.013 \sim 0.1$	0.025	0.05
		$10^8$	$\leq 0.013 \sim 0.39$	0.025	0.2
	CPZ	$10^6$	$\leq 0.013 \sim 0.05$	$\leq 0.013$	0.025
		$10^8$	$\leq 0.013 \sim 0.39$	0.05	0.2
	CTM	$10^6$	$\leq 0.013 \sim 0.39$	0.05	0.1
		$10^8$	$\leq 0.013 \sim 0.78$	0.05	0.2

Table 4-14. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Antibiotics	Inoculum size (CFU/ml)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
			range	50%	90%
<i>M. catarrhalis</i> (42)	TAZ/PIPC	$10^6$	$\leq 0.013 \sim 0.1$	0.025	0.05
		$10^8$	0.025 ~ 0.78	0.2	0.39
	PIPC + TAZ	$10^6$	$\leq 0.013 \sim 0.025$	$\leq 0.013$	0.025
		$10^8$	$\leq 0.013 \sim 0.05$	0.025	0.05
	PIPC	$10^6$	$\leq 0.013 \sim 3.13$	0.2	0.39
		$10^8$	0.05 ~ >200	>200	>200
	CVA/TIPC	$10^6$	$\leq 0.013 \sim 0.2$	0.05	0.1
		$10^8$	0.05 ~ 1.56	0.2	0.78
	SBT/ABPC	$10^6$	$\leq 0.013 \sim 0.39$	0.05	0.2
		$10^8$	0.05 ~ 1.56	0.2	0.39
	SBT/CPZ	$10^6$	0.025 ~ 0.78	0.39	0.78
		$10^8$	0.05 ~ 1.56	0.39	0.78
	CPZ	$10^6$	0.025 ~ 1.56	0.2	1.56
		$10^8$	0.1 ~ 6.25	3.13	6.25
CTM	$10^6$	0.1 ~ 1.56	0.39	0.78	
	$10^8$	0.2 ~ 25	12.5	12.5	

菌力の低下が認められた。

*M. catarrhalis* に対しても、*N. gonorrhoeae* 同様に PCase 産生の菌株に対しても PIPC 単独とは異なり強い抗菌力を TAZ/PIPC と PIPC+TAZ は示し、CPZ や CTM よりも優れたものであった。

偏性嫌気性菌の *B. fragilis* に対して TAZ/PIPC と PIPC+TAZ は、SBT/ABPC に次ぐ抗菌力を示し、PIPC、CPZ および CTM よりも優れた抗菌力を示した。

#### 4. 抗菌力に対する諸因子の影響

培地の種類、培地 pH および接種菌量による抗菌力の変動を各種  $\beta$ -lactamase 産生菌を用いて TAZ/PIPC、PIPC および TAZ について検討した。その成績を Table 5~7 に示した。

5 種類の培地における抗菌力の変化を検討してみたが、TAZ/PIPC、PIPC および TAZ ともすべての菌株で大きな MIC の変動は認められなかった。

培地の pH の変化において、TAZ/PIPC では *E. coli* ML4901/Rms212 および *K. pneumoniae* GN69 に対してアルカリ側で MIC 値が低くなる傾向を示した。他の菌株に対しては、3 薬剤ともに培地の pH による MIC の大

きな変化は認められなかった。

次に接種菌量による影響を検討したところ、TAZ/PIPC では菌量が 10 倍変化することにより MIC が 2 倍以上上昇した株は、*K. pneumoniae* GN69 と *P. aeruginosa* GN10362 の 2 株であった。PIPC では、*P. aeruginosa* GN10362 を除くすべての菌株で菌量の変化に伴い、MIC が 2 倍以上上昇し、*S. aureus* ML15009/pI258 では  $10^6 \sim 10^7$  CFU/ml の変化で 32 倍、*M. morgani* GN5407 では  $10^7 \sim 10^8$  CFU/ml の変化で 8 倍、*E. coli* ML4901/Rms212 および *K. pneumoniae* GN69 では  $10^6 \sim 10^7$  CFU/ml の変化で 4 倍以上の上昇が認められた。これに対して、TAZ はすべての被験菌でほとんど MIC に変化は認められなかった。

#### 5. 殺菌効果

$\beta$ -Lactamase を産生する *S. aureus* 12 株を用いた結果をまとめたものを Table 8 に、各菌株に対するそれぞれの結果を Table 9 に示す。PIPC 単独では、これらの菌に対して MIC<sub>80</sub>、MIC<sub>90</sub> がそれぞれ 200、>200  $\mu$ g/ml であったのに対して、TAZ/PIPC は 3.13、6.25  $\mu$ g/ml になり、明らかに抗菌力の増強が認められた。個々の

Table 4-15. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Antibiotics	Inoculum size (CFU/ml)	MIC ( $\mu$ g/ml)		
			range	50%	90%
<i>B. fragilis</i> (27)	TAZ/PIPC	$10^6$	0.39~50	3.13	25
		$10^8$	3.13~100	12.5	25
	PIPC+TAZ	$10^6$	0.39~>100	1.56	6.25
		$10^8$	1.56~>100	6.25	50
	PIPC	$10^6$	0.78~>100	25	100
		$10^8$	3.13~>100	50	>100
	CVA/TIPC	$10^6$	0.39~50	3.13	6.25
		$10^8$	0.78~50	6.25	25
	SBT/ABPC	$10^6$	0.78~100	1.56	6.25
		$10^8$	0.78~100	3.13	12.5
	SBT/CPZ	$10^6$	6.25~50	12.5	50
		$10^8$	12.5~>100	50	100
CPZ	$10^6$	3.13~>100	50	>100	
	$10^8$	12.5~>100	>100	>100	
CTM	$10^6$	25~>100	100	>100	
	$10^8$	25~>100	>100	>100	

菌株についてみても、PIPC単独ではMBCとMICの値に64倍もの違いを示すものがあったのにもかかわらず、TAZ/PIPCでは4倍以上の違いを示したものは1株にすぎなかった。また、TAZ/PIPCはCVA/TIPC、SBT/ABPCとほとんど同じ結果であった。

$\beta$ -Lactamase産生の*E. coli* 16株を用いた結果をTable 10, 11に示す。TAZ/PIPCのMIC<sub>80</sub>, MBC<sub>80</sub>がそれぞれ25 $\mu$ g/mlであったが、PIPCのそれは>800 $\mu$ g/mlという高い値を示し、CVA/TIPC、SBT/ABPCと比較してもTAZ/PIPCは優れていた。また、個々の菌株についてもTAZ/PIPCにはMBCとMICの間に4倍以上の違いを示すものはなかった。

$\beta$ -Lactamase産生の*K. pneumoniae* 14株に対しても*E. coli*の場合と同様にTAZ/PIPCが最も優れた抗菌力を示し、MIC<sub>80</sub>とMBC<sub>80</sub>がそれぞれ12.5 $\mu$ g/mlでPIPCと顕著な相乗効果が認められた(Table 12, 13)。

$\beta$ -Lactamase産生*P. vulgaris* 11株の結果をTable 14, 15に示した。*P. vulgaris*に対してもTAZ/PIPCは最も良好な抗菌力を示しMIC<sub>80</sub>, MBC<sub>80</sub>がそれぞれ12.5, 25 $\mu$ g/mlでPIPCのそれよりも優れていた。

$\beta$ -Lactamase産生の*M. morgani* 16株に対する結果をTable 16, 17に示した。*M. morgani*に対しても上記の菌種同様、TAZとPIPCの間に強い相乗効果が認められ、PIPC単独のMIC<sub>80</sub>とMBC<sub>80</sub>がそれぞれ200, 400

Table 5. Effect of medium on antimicrobial activity of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam

Organism	Medium	TAZ/PIPC		PIPC		TAZ	
		10 <sup>6</sup> a)	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>
<i>S. aureus</i> ML15009/pl258 (PCase Type V)	MHA <sup>b)</sup>	0.78 <sup>c)</sup>	3.13	3.13	>200	25	25
	NA	0.78	3.13	1.56	200	12.5	12.5
	HIA	0.78	3.13	3.13	>200	12.5	25
	BHIA	1.56	3.13	6.25	>200	12.5	25
	TSA	0.78	3.13	1.56	>200	12.5	12.5
<i>E. coli</i> ML4901/Rms212 (PCase Type I)	MHA	3.13	6.25	25	>200	200	>200
	NA	3.13	3.13	50	>200	200	200
	HIA	1.56	6.25	25	>200	200	200
	BHIA	3.13	12.5	50	>200	200	>200
	TSA	3.13	6.25	50	>200	200	>200
<i>K. pneumoniae</i> GN69 (PCase)	MHA	3.13	25	25	>200	200	200
	NA	6.25	25	50	>200	200	200
	HIA	6.25	25	50	>200	200	>200
	BHIA	6.25	50	50	>200	200	>200
	TSA	6.25	25	50	>200	200	200
<i>P. vulgaris</i> GN7919 (CXase)	MHA	1.56	3.13	100	>200	100	>200
	NA	3.13	6.25	200	>200	200	>200
	HIA	1.56	3.13	100	>200	200	>200
	BHIA	3.13	6.25	200	>200	200	>200
	TSA	3.13	12.5	200	>200	200	>200
<i>M. morgani</i> GN5407 (CEPase)	MHA	0.78	0.78	0.78	6.25	200	>200
	NA	0.39	1.56	0.78	12.5	200	>200
	HIA	0.39	0.78	0.78	3.13	>200	>200
	BHIA	0.78	0.78	0.78	3.13	200	>200
	TSA	0.39	0.78	0.78	6.25	200	>200
<i>P. aeruginosa</i> GN10362 (CEPase)	MHA	1.56	6.25	1.56	6.25	>200	>200
	NA	3.13	6.25	3.13	6.25	>200	>200
	HIA	3.13	6.25	3.13	12.5	>200	>200
	BHIA	3.13	6.25	3.13	25	>200	>200
	TSA	3.13	6.25	6.25	12.5	>200	>200

a): Inoculum size (CFU/ml)

b): Abbreviations of media; MHA: Mueller-Hinton agar, NA: nutrient agar, HIA: heart infusion agar, BHIA: brain heart infusion agar, TSA: trypto soya agar

c): MIC ( $\mu$ g/ml) by agar dilution method



Table 6. Effect of pH on antimicrobial activity of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam

Organism	pH of Medium	TAZ/PIPC		PIPC		TAZ	
		10 <sup>6</sup> a)	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>
<i>S. aureus</i> ML15009/pI258 (PCase Type V)	6	1.56 <sup>b)</sup>	3.13	3.13	>200	12.5	12.5
	7	1.56	3.13	3.13	>200	25	25
	8	1.56	3.13	3.13	>200	25	25
<i>E. coli</i> ML4901/Rms212 (PCase Type I)	6	6.25	12.5	50	>200	200	200
	7	1.56	6.25	25	>200	>200	>200
	8	1.56	3.13	25	>200	>200	>200
<i>K. pneumoniae</i> GN69 (PCase)	6	6.25	50	25	>200	200	>200
	7	3.13	12.5	12.5	>200	200	200
	8	1.56	6.25	12.5	>200	200	200
<i>P. vulgaris</i> GN7919 (CXase)	6	3.13	12.5	200	>200	200	>200
	7	1.56	6.25	100	>200	200	>200
	8	1.56	12.5	100	>200	200	>200
<i>M. morgani</i> GN5407 (CEPase)	6	0.78	0.78	0.78	6.25	>200	>200
	7	0.78	1.56	0.78	6.25	>200	>200
	8	0.39	0.78	0.78	3.13	>200	>200
<i>P. aeruginosa</i> GN10362 (CEPase)	6	3.13	12.5	3.13	12.5	>200	>200
	7	1.56	6.25	3.13	6.25	>200	>200
	8	1.56	6.25	3.13	12.5	>200	>200

a): Inoculum size (CFU/ml)

b): MIC ( $\mu$ g/ml) by agar dilution method

Table 7. Effect of inoculum size on antimicrobial activity of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam

Organism	Antibiotic	Inoculum size (CFU/ml)				
		10 <sup>8</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>
<i>S. aureus</i> ML15009/pI258 (PCase Type V)	TAZ/PIPC	3.13 <sup>a)</sup>	1.56	0.78	0.78	0.78
	PIPC	>200	100	3.13	1.56	0.78
	TAZ	25	25	25	25	12.5
<i>E. coli</i> ML4901/Rms212 (PCase Type I)	TAZ/PIPC	6.25	3.13	3.13	3.13	3.13
	PIPC	>200	>200	25	12.5	12.5
	TAZ	>200	200	200	200	200
<i>K. pneumoniae</i> GN69 (PCase)	TAZ/PIPC	25	3.13	3.13	1.56	1.56
	PIPC	>200	200	25	12.5	6.25
	TAZ	200	200	200	200	200
<i>P. vulgaris</i> GN7919 (CXase)	TAZ/PIPC	3.13	3.13	1.56	1.56	1.56
	PIPC	>200	>200	100	50	50
	TAZ	>200	200	100	100	100
<i>M. morgani</i> GN5407 (CEPase)	TAZ/PIPC	0.78	0.78	0.78	0.78	0.39
	PIPC	6.25	0.78	0.78	0.78	0.78
	TAZ	>200	>200	200	200	200
<i>P. aeruginosa</i> GN10362 (CEPase)	TAZ/PIPC	6.25	1.56	1.56	1.56	1.56
	PIPC	6.25	3.13	1.56	1.56	0.78
	TAZ	>200	>200	>200	>200	>200

a): MIC ( $\mu$ g/ml) by agar dilution method

$\mu\text{g/ml}$ であったのが、TAZ/PIPCではそれぞれ12.5 $\mu\text{g/ml}$ に低下し、CVA/TIPC, SBT/ABPCと比べても優れていた。

#### 6. 増殖曲線に及ぼす影響

$\beta$ -Lactamase産生菌でPIPCに耐性を示す *S. aureus* MS16020 (PIPC MIC; 25 $\mu\text{g/ml}$ ), *P. vulgaris* GN7919 (PIPC MIC; 200 $\mu\text{g/ml}$ )を用いてTAZ/PIPCの増殖曲線に及ぼす影響を調べ、PIPC, CVA/TIPCおよびSBT/

CPZと比較検討した。

*S. aureus* MS16020に対する結果をFig. 2に示した。TAZ/PIPCでは3.13 $\mu\text{g/ml}$  (1 MIC) 以上では1~4時間で殺菌的な作用を示した。その後、1 MICのTAZ/PIPCでは菌の増殖が認められ、6.25 $\mu\text{g/ml}$  (2 MIC) 以上では静菌的に作用した。これに比べ、PIPC単独ではTAZ/PIPCと同等の殺菌作用を示すのに50 $\mu\text{g/ml}$  (2MIC) 以上の薬剤濃度を必要としたが、それでも4時

Table 8. MIC and MBC of piperacillin, tazobactam/piperacillin, clavulanic acid/ticarcillin and sulbactam/ampicillin against  $\beta$ -lactamase producing strains

Strain	Drug	Drug concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )					
		MIC range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>80</sub>	MBC range	MBC <sub>50</sub>	MBC <sub>80</sub>
<i>S. aureus</i> (12)	PIPC	1.56 ~ >200	6.25	200	25 ~ >200	200	>200
	TAZ/PIPC	1.56 ~ 6.25	3.13	3.13	1.56 ~ 12.5	3.13	6.25
	CVA/TIPC	1.56 ~ 6.25	3.13	6.25	1.56 ~ 6.25	3.13	6.25
	SBT/ABPC	0.78 ~ 6.25	1.56	3.13	0.78 ~ 12.5	3.13	6.25

Table 9. Correlation between MICs and MBCs against  $\beta$ -lactamase producing *Staphylococcus aureus*

Organism	PIPC			TAZ/PIPC			CVA/TIPC			SBT/ABPC			
	MIC	MBC	Ratio	MIC	MBC	Ratio	MIC	MBC	Ratio	MIC	MBC	Ratio	
<i>S. aureus</i>	MS 1	200	>200	-	3.13	3.13	1	6.25	6.25	1	3.13	3.13	1
	3	200	>200	-	6.25	12.5	2	6.25	6.25	1	6.25	12.5	2
	11	1.56	50	32	1.56	3.13	2	3.13	3.13	1	0.78	1.56	2
	13	1.56	50	32	1.56	3.13	2	3.13	3.13	1	0.78	0.78	1
	14	3.13	200	64	1.56	6.25	4	3.13	3.13	1	1.56	3.13	2
	20	25	>200	-	3.13	6.25	2	3.13	3.13	1	1.56	3.13	2
	30	100	>200	-	3.13	3.13	1	3.13	3.13	1	3.13	3.13	1
	40	100	>200	-	3.13	6.25	2	3.13	3.13	1	3.13	6.25	2
	44	6.25	200	32	3.13	3.13	1	3.13	3.13	1	1.56	3.13	2
	49	1.56	25	16	1.56	1.56	1	1.56	1.56	1	1.56	1.56	1
	55	6.25	50	8	3.13	6.25	2	3.13	3.13	1	1.56	6.25	4
	65	>200	>200	-	6.25	6.25	1	6.25	6.25	1	6.25	6.25	1

Inoculum size:  $5 \times 10^5 \sim 2 \times 10^6$  CFU/ml Medium: Sensitivity Test Broth (Nissui) Ratio: MBC/MIC

Table 10. MIC and MBC of piperacillin, tazobactam/piperacillin, clavulanic acid/ticarcillin and sulbactam/ampicillin against  $\beta$ -lactamase producing strains

Strain	Drug	Drug concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )					
		MIC range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>80</sub>	MBC range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>80</sub>
<i>E. coli</i> (16)	PIPC	1.56 ~ >800	>800	>800	1.56 ~ >800	>800	>800
	TAZ/PIPC	1.56 ~ 50	6.25	25	3.13 ~ 50	6.25	25
	CVA/TIPC	3.13 ~ 100	50	100	3.13 ~ 100	50	100
	SBT/ABPC	3.13 ~ 400	50	200	6.25 ~ 400	50	200

Table 11. Correlation between MICs and MBCs against  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli*

Organism	PIPC			TAZ/PIPC			CVA/TIPC			SBT/ABPC		
	MIC	MBC	Ratio	MIC	MBC	Ratio	MIC	MBC	Ratio	MIC	MBC	Ratio
<i>E. coli</i> ML4901 /Rms212	800	800	1	6.25	6.25	1	50	100	2	50	50	1
<i>E. coli</i> GN16257	>800	>800	—	6.25	6.25	1	50	50	1	50	50	1
16261	>800	>800	—	50	50	1	100	100	1	100	100	1
16267	>800	>800	—	6.25	6.25	1	50	50	1	50	50	1
16274	>800	>800	—	6.25	6.25	1	50	50	1	50	50	1
16279	>800	>800	—	50	50	1	100	100	1	400	400	1
16284	>800	>800	—	6.25	12.5	2	50	50	1	50	100	2
16286	1.56	1.56	1	1.56	3.13	2	6.25	6.25	1	3.13	6.25	2
16287	>800	>800	—	25	25	1	100	100	1	200	200	1
16288	>800	>800	—	25	25	1	100	100	1	200	200	1
16291	>800	>800	—	12.5	12.5	1	50	50	1	50	50	1
16294	>800	>800	—	50	50	1	100	100	1	200	200	1
16296	>800	>800	—	12.5	12.5	1	50	50	1	100	100	1
16297	3.13	3.13	1	3.13	3.13	1	3.13	3.13	1	3.13	6.25	2
16299	>800	>800	—	6.25	6.25	1	25	25	1	50	50	1
16300	>800	>800	—	6.25	6.25	1	50	50	1	25	50	2

Inoculum size:  $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$  CFU/ml Medium: Sensitivity Test Broth (Nissui) Ratio: MBC/MICTable 12. MIC and MBC of piperacillin, tazobactam/piperacillin, clavulanic acid/ticarcillin and sulbactam/ampicillin against  $\beta$ -lactamase producing strains

Strain	Drug	Drug concentration ( $\mu$ g/ml)					
		MIC range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>80</sub>	MBC range	MBC <sub>50</sub>	MBC <sub>80</sub>
<i>K. pneumoniae</i> (14)	PIPC	12.5 ~ >800	200	>800	25 ~ >800	400	>800
	TAZ/PIPC	1.56 ~ 50	6.25	12.5	1.56 ~ 50	6.25	12.5
	CVA/TIPC	3.13 ~ 100	25	100	6.25 ~ 100	25	100
	SBT/ABPC	6.25 ~ 400	12.5	200	12.5 ~ 400	25	200

Table 13. Correlation between MICs and MBCs against  $\beta$ -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae*

Organism	PIPC			TAZ/PIPC			CVA/TIPC			SBT/ABPC		
	MIC	MBC	Ratio	MIC	MBC	Ratio	MIC	MBC	Ratio	MIC	MBC	Ratio
<i>K. pneumoniae</i> GN16404	800	>800	—	12.5	12.5	1	50	50	1	100	100	1
16405	>800	>800	—	12.5	12.5	1	50	50	1	100	100	1
16406	>800	>800	—	12.5	12.5	1	100	100	1	100	100	1
16408	800	800	1	12.5	12.5	1	50	50	1	100	100	1
16413	>800	>800	—	50	50	1	100	100	1	400	400	1
16415	25	50	2	3.13	3.13	1	12.5	12.5	1	12.5	25	2
16427	12.5	25	2	1.56	1.56	1	3.13	12.5	4	6.25	12.5	2
16430	25	25	1	3.13	3.13	1	12.5	12.5	1	12.5	12.5	1
16440	100	400	4	6.25	6.25	1	25	25	1	12.5	12.5	1
16455	800	>800	—	25	25	1	50	50	1	400	400	1
16428	50	100	2	3.13	3.13	1	6.25	6.25	1	12.5	12.5	1
16434	100	200	2	6.25	6.25	1	12.5	12.5	1	12.5	12.5	1
16437	200	200	1	3.13	3.13	1	12.5	12.5	1	12.5	12.5	1
16452	>800	>800	—	12.5	12.5	1	100	100	1	200	200	1

Inoculum size:  $5 \times 10^5 \sim 4 \times 10^6$  CFU/ml Medium: Sensitivity Test Broth (Nissui) Ratio: MBC/MIC

間以降では急激な菌の増殖が認められた。また、TAZ/PIPCをCVA/TIPC, SBT/CPZと比較すると3薬剤ともに2 MIC以上ではほぼ同様の殺菌作用を示した。なお、すべての薬剤で24時間後には菌の増殖が認められた。

*P. vulgaris* GN7919を用いて殺菌作用を調べた結果をFig.3に示した。1.56 $\mu$ g/mlのTAZ/PIPC(1/2 MIC)以上の濃度を作用させると、1~4時間で顕著な殺菌作用が認められ、その後も作用は持続し24時間目でも菌の再増殖はほとんど認められなかった。一方、

PIPC単独でTAZ/PIPCと同様の殺菌作用を示すためには少なくともPIPCは400 $\mu$ g/ml(2 MIC)以上の濃度を必要とし、100 $\mu$ g/ml(1/2 MIC)では4時間目以降菌の増殖が認められた。また、TAZ/PIPCとCVA/TIPC, SBT/CPZの抗菌力を比較すると、TAZ/PIPCと同等の殺菌作用を示すのにそれぞれ12.5 $\mu$ g/ml(4 MIC), 6.25 $\mu$ g/ml(1 MIC)を必要とし、いずれの薬剤もTAZ/PIPCよりも高い薬剤濃度であった。

#### 7. マウス全身感染治療効果(ED<sub>50</sub>値)の検討

*E. coli* ML5005 (PCase), *K. pneumoniae* ML5006

Table 14. MIC and MBC of piperacillin, tazobactam/piperacillin, clavulanic acid/ticarcillin and sulbactam/ampicillin against  $\beta$ -lactamase producing strains

Strain	Drug	Drug concentration ( $\mu$ g/ml)					
		MIC range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>80</sub>	MBC range	MBC <sub>50</sub>	MBC <sub>80</sub>
<i>P. vulgaris</i> (11)	PIPC	400 ~ >800	>800	>800	800 ~ >800	>800	>800
	TAZ/PIPC	3.13 ~ 50	12.5	12.5	3.13 ~ 50	12.5	25
	CVA/TIPC	12.5 ~ 100	25	50	12.5 ~ 400	50	100
	SBT/ABPC	25 ~ 200	100	100	25 ~ 400	100	100

Table 15. Correlation between MICs and MBCs against  $\beta$ -lactamase producing *Proteus vulgaris*

Organism	PIPC			TAZ/PIPC			CVA/TIPC			SBT/ABPC		
	MIC	MBC	Ratio	MIC	MBC	Ratio	MIC	MBC	Ratio	MIC	MBC	Ratio
<i>P. vulgaris</i>												
GN7919	400	800	2	3.13	3.13	1	12.5	12.5	1	25	25	1
BI 1750	>800	>800	—	12.5	12.5	1	25	100	4	100	100	1
1751	>800	>800	—	12.5	25	2	50	100	2	100	100	1
1754	>800	>800	—	12.5	12.5	1	50	100	2	100	100	1
1755	>800	>800	—	12.5	25	2	25	50	2	100	100	1
1757	>800	>800	—	50	50	1	100	400	4	200	400	2
1758	>800	>800	—	25	25	1	50	50	1	100	100	1
1891	>800	>800	—	6.25	6.25	1	25	25	1	100	100	1
1899	>800	>800	—	6.25	12.5	2	25	50	2	100	100	1
1903	>800	>800	—	12.5	50	2	25	50	2	100	200	2
1904	400	800	2	1.56	1.56	1	25	25	1	25	50	2

Inoculum size:  $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$  CFU/ml Medium: Sensitivity Test Broth (Nissui) Ratio: MBC/MIC

Table 16. MIC and MBC of piperacillin, tazobactam/piperacillin, clavulanic acid/ticarcillin and sulbactam/ampicillin against  $\beta$ -lactamase producing strains

Strain	Drug	Drug concentration ( $\mu$ g/ml)					
		MIC range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>80</sub>	MBC range	MBC <sub>50</sub>	MBC <sub>80</sub>
<i>M. morgani</i> (16)	PIPC	1.56 ~ 400	25	200	1.56 ~ 800	25	400
	TAZ/PIPC	0.39 ~ 25	3.13	12.5	0.78 ~ 25	3.13	12.5
	CVA/TIPC	6.25 ~ 50	12.5	50	12.5 ~ 50	25	50
	SBT/ABPC	25 ~ 50	50	50	50 ~ 100	100	100

(PCase), *P. vulgaris* ML5008 (CXase) および *P. aeruginosa* GN11189 に対する TAZ/PIPC の *in vivo* 効果を対照薬である CVA/TIPC, SBT/CPZ, CTM と比較検討した (Table 18)。

試験を行ったすべての菌株による感染モデルにおいて TAZ/PIPC は、PIPC 単独よりも優れた治療効果を示し、その ED<sub>50</sub> 値はそれぞれ *E. coli* ML5005 に対して 36.01mg/kg, *K. pneumoniae* ML5006 に対して 51.16 mg/kg, *P. vulgaris* ML5008 に対して 70.61mg/kg, *P. aeruginosa* GN11189 では 46.19mg/kg で、PIPC よりも 2~10 倍以上強い治療効果があり、TAZ と PIPC の相乗効果が *in vivo* においても認められた。また、CVA/TIPC と比較しても PIPC 単独では治療効果の劣る菌株に対しても、TAZ を併用することにより CVA/TIPC に勝る治療効果を示した。セフェム系薬剤である SBT/CPZ, CTM と比較すると *E. coli* ML5005, *K. pneumoniae* ML5006 では比較薬剤にまで PIPC の効果を改善できなかったが、*P. vulgaris* ML5008 および *P. aeruginosa* GN11189 に対する TAZ/PIPC の効果はこれらの薬剤と同等もしくはそれ以上の治療効果を示し、*P. vulgaris* ML5008 には最も優れていた。

### Ⅲ. 考 察

TAZ/PIPC (TAZ:PIPC=1:4) はグラム陽性菌および緑膿菌を含むグラム陰性菌に対して幅広い抗菌スペクトルを有していた。特に、PCase および CXase を産生す

る PIPC 耐性菌に対する抗菌力は PIPC 単独よりはるかに優れていた。また、一部の CEPase 産生菌に対しても TAZ と PIPC の併用効果が認められた。これは、TAZ の  $\beta$ -lactamase 阻害スペクトルと良く相関しており、TAZ の配合により PIPC の分解が防止されたためと考えられる。

さらに、TAZ と PIPC の併用による PIPC の抗菌力の増強は臨床分離菌に対しても確認され、*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *M. morgani*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *N. gonorrhoeae* 等の PIPC 耐性菌に対して TAZ を添加することによる PIPC の抗菌力の増強が顕著であった。さらに、PIPC 単独では  $10^6$  cells/ml 以下の菌量では比較的優れた抗菌作用を示したが、 $10^7$  cells/ml 以上になると MIC の上昇が認められ、その抗菌作用は菌量による影響を強く受けた。また、このような現象は特に  $\beta$ -lactamase 産生菌において顕著に認められ、PIPC の  $\beta$ -lactamase に対する安定性が劣るためと考えられる。この点、TAZ/PIPC は TAZ の配合によりこのような菌量による影響は低下し、PIPC 本来の持つ抗菌力を示すようになった。また、TAZ と PIPC の併用効果は *in vivo* でも認められ、*in vitro* 同様に  $\beta$ -lactamase 産生菌を用いて作製したマウス全身感染モデル治療試験でも PIPC 単剤よりも優れた治療効果を示した。

近年、 $\beta$ -ラクタム剤耐性菌の増加が問題とされて

Table 17. Correlation between MICs and MBCs against  $\beta$ -lactamase producing *Morganella morgani*

Organism	PIPC			TAZ/PIPC			CVA/TIPC			SBT/ABPC		
	MIC	MBC	Ratio	MIC	MBC	Ratio	MIC	MBC	Ratio	MIC	MBC	Ratio
<i>M. morgani</i>												
GN5407	50	50	1	0.78	0.78	1	12.5	12.5	1	50	100	2
14595	50	200	4	3.13	3.13	1	25	25	1	50	100	2
14597	25	25	1	6.25	6.25	1	12.5	12.5	1	50	50	1
14599	1.56	1.56	1	0.39	0.78	2	1.56	12.5	8	25	50	2
14604	200	400	2	25	25	1	50	50	1	50	50	1
14606	200	400	2	25	25	1	12.5	12.5	1	50	50	1
14608	12.5	25	2	6.25	6.25	1	25	25	1	50	100	2
14609	25	50	2	3.13	3.13	1	50	50	1	50	50	1
14628	6.25	6.25	1	3.13	3.13	1	12.5	12.5	1	50	50	1
17107	200	400	2	12.5	12.5	1	25	25	1	50	50	1
17113	400	800	2	12.5	12.5	1	50	50	1	50	100	2
17127	50	200	4	3.13	6.25	2	50	50	1	50	100	2
17131	25	25	1	3.13	3.13	1	6.25	12.5	2	50	50	1
17133	25	25	1	3.13	3.13	1	12.5	25	2	50	50	1
17135	12.5	25	2	3.13	3.13	1	12.5	12.5	1	50	50	1
17139	6.25	12.5	2	1.56	1.56	1	12.5	50	2	50	100	2

Inoculum size:  $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$  CFU/ml Medium: Sensitivity Test Broth (Nissui) Ratio: MBC/MIC

いる。この $\beta$ -ラクタム耐性の主な生化学的機構はMRSAを除き、PCaseやCEPaseによる薬剤の加水分解であることは周知のことである。特にトランスポゾンに支配されているPCaseの場合であれば遺伝子の数の

増加と共に総酵素活性が増量したものや、CEPaseであれば本来誘導型であったものがampDの変異によりCEPaseを多量に産生する構成型になった菌株の増加が懸念されている<sup>8,9)</sup>。このような $\beta$ -lactamaseの産生

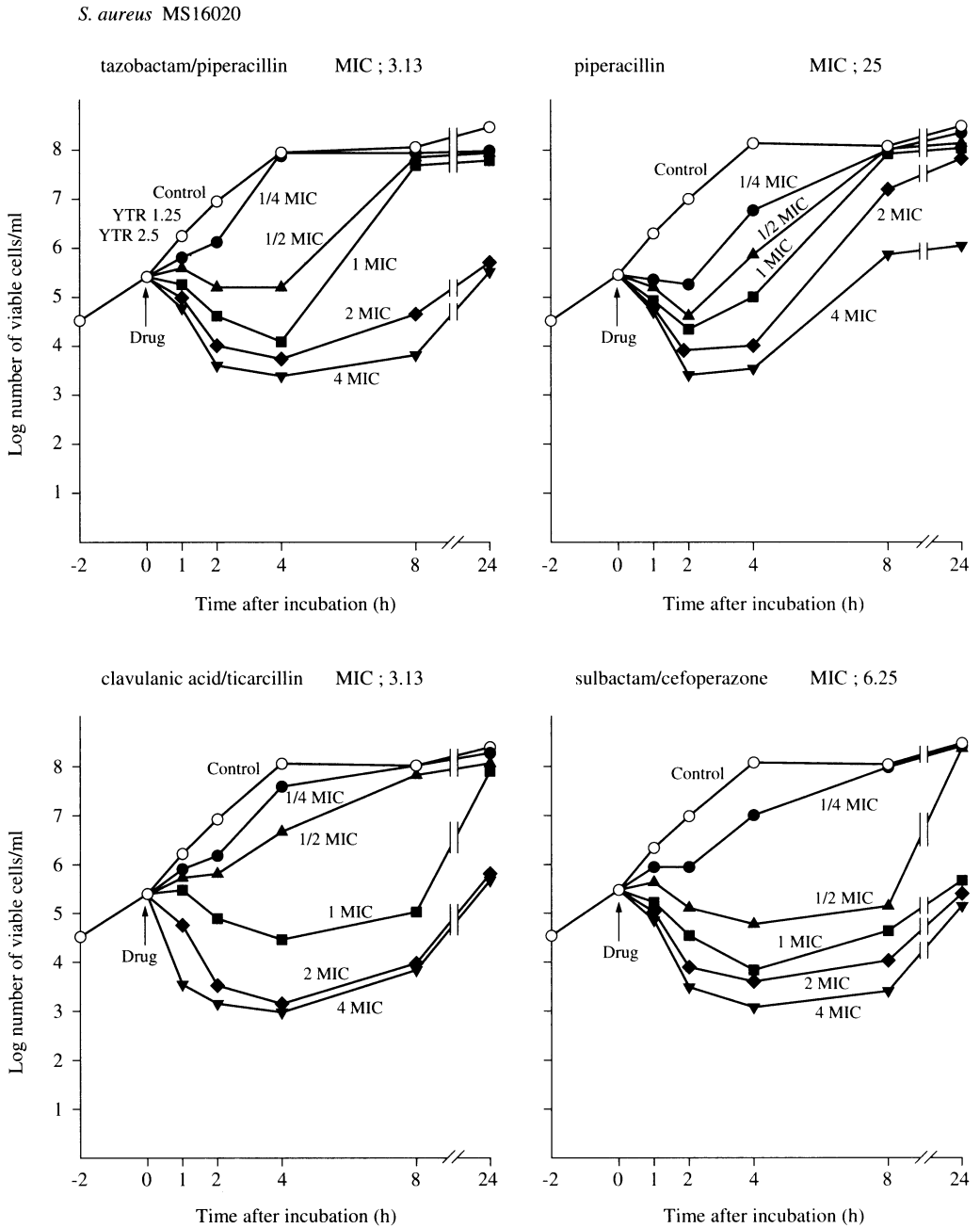


Fig. 2. Bactericidal activity of tazobactam/piperacillin against *Staphylococcus aureus*.

量に注目すると、高い接種菌量、たとえば $10^8$ cells/ml 接種時の抗菌力などは、より多量の酵素が存在する状態と想定することができ、 $\beta$ -lactamase高度産生菌に対する薬剤の効果を推察するうえで重要なマーカーに

なり得ると考えられる。この点、各種の $\beta$ -lactamase産生菌や臨床分離株に対する高菌量接種時の抗菌力は、多少低菌量時よりも劣るもの他剤に比べると比較的その変動が少なく、先に述べたような $\beta$ -lacta-

*P. vulgaris* GN7919

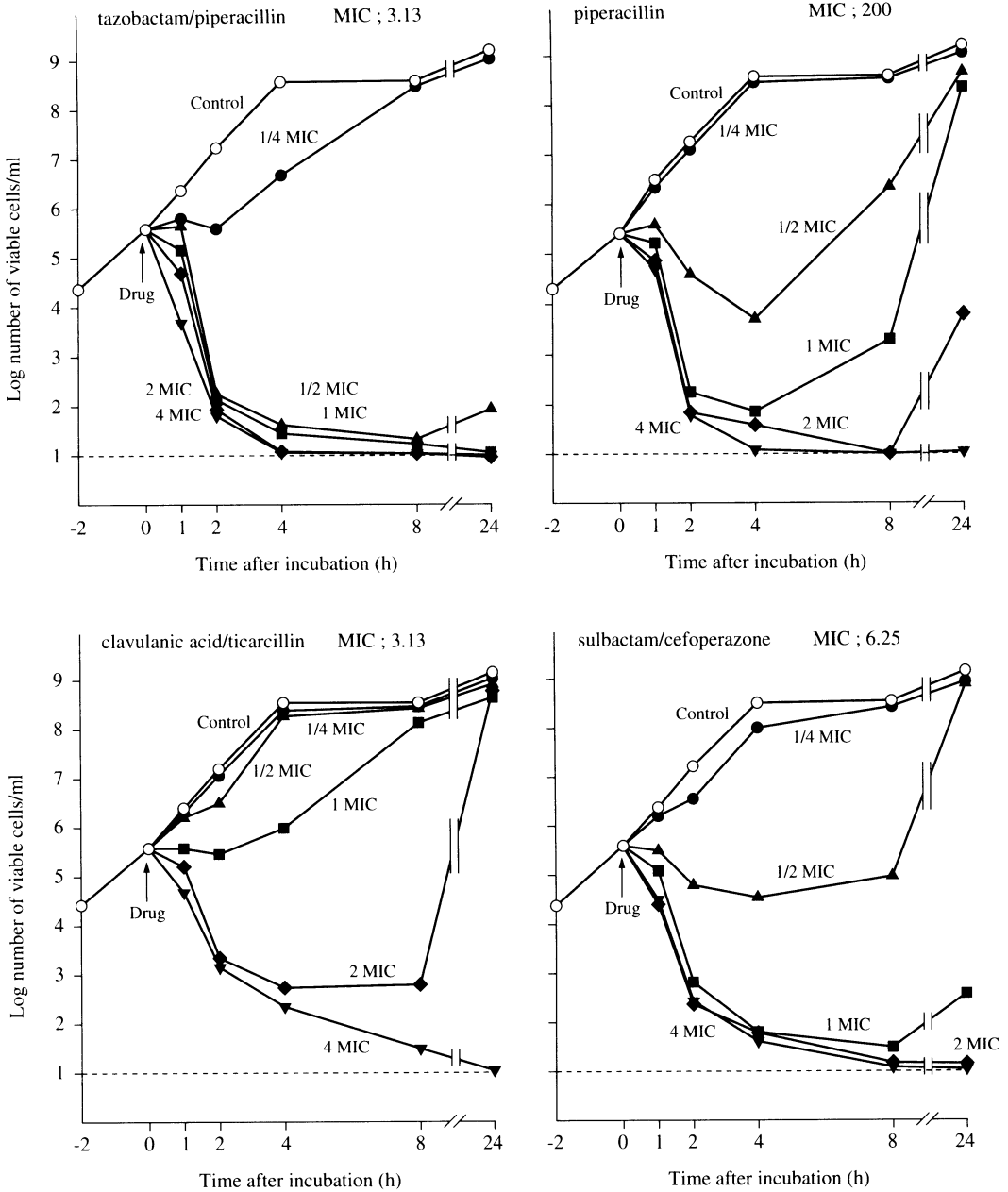


Fig. 3. Bactericidal activity of tazobactam/piperacillin against *Proteus vulgaris*.

Table 18. *In vivo* antibacterial activity of TAZ/PIPC against systemic infection in mice

Organism	Challenge dose (cells/mouse)	Mucin (5%)	Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		ED <sub>50</sub> (mg/kg)	95% confidence limit
				10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>		
<i>E. coli</i> ML5005 (PCase)	3.4 × 10 <sup>5</sup> (2 MLD)	+	TAZ/PIPC	1.56	3.13	36.01	20.45–58.34
			PIPC	50	>200	333.54	220.58–736.96
			CVA/TIPC	25	50	150.07	95.06–278.26
			SBT/CPZ	0.78	1.56	18.09	11.85–26.99
			CTM	0.39	0.1	1.57	0.503–6.62
<i>K. pneumoniae</i> ML5006 (PCase)	5.6 × 10 <sup>5</sup> (2 MLD)	+	TAZ/PIPC	3.13	6.25	51.16	26.58–92.84
			PIPC	50	>200	>500	—
			CVA/TIPC	25	50	152.01	110.32–210.06
			SBT/CPZ	1.56	12.5	29.95	17.67–50.24
			CTM	0.39	3.13	4.54	2.61–6.80
<i>P. vulgaris</i> ML5008 (CXase)	4.0 × 10 <sup>5</sup> (2 MLD)	+	TAZ/PIPC	0.39	0.78	70.61	41.48–128.84
			PIPC	1.56	12.5	162.86	116.35–230.17
			CVA/TIPC	3.13	6.25	305.48	159.66–1261.59
			SBT/CPZ	1.56	1.56	154.81	98.55–277.29
			CTM	200	>200	>500	—
<i>P. aeruginosa</i> GN11189	2.0 × 10 <sup>5</sup> (1 MLD)	+	TAZ/PIPC	3.13	6.25	46.19	28.19–69.12
			PIPC	3.13	12.5	63.33	30.10–114.2
			CVA/TIPC	6.25	25	56.93	33.21–89.55
			SBT/CPZ	3.13	12.5	30.90	12.64–51.19
			CTM	>200	>200	>500	—

Infection: Bacterial suspension was inoculated intraperitoneally

Therapy: Drug was administrated subcutaneously 1 and 3 h after infection

Mouse: Std-ddY, Male, 4 weeks old, 20 ± 1 g

mase高度産生菌に対しても有効となる可能性が示された。

既に述べたようにTAZ/PIPCは幅広く強い抗菌力を示し、特に $\beta$ -lactamase産生菌に対して強い相乗効果が認められ、これらの菌種による感染症の治療に対して臨床上優れた効果が期待できる配合剤といえよう。

#### 文 献

- 1) Aronoff S C, Jacobs M R, Johanning J and Yamabe S: Comparative activities of the  $\beta$ -lactamase inhibitors YTR830, sodium clavulanate, and sulbactam combined with amoxicillin or ampicillin. *Antimicrob Agents Chemother* 26: 580–582, 1984
- 2) Gutmann L, Kitzis M D, Yamabe S and Acar J F: Comparative evaluation of a new  $\beta$ -lactamase inhibitor, YTR830, combined with different  $\beta$ -lactam antibiotics against bacteria harboring known  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 29: 955–957, 1986
- 3) Jacobs M R, Aronoff S C, Johanning S, Shlase D M and Yamabe S: Comparative activities of the  $\beta$ -lactamase inhibitors YTR830, clavulanate, and sulbactam combined with ampicillin and broad-spectrum penicillins against defined  $\beta$ -lactamase producing aerobic gram-negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother* 29: 980–985, 1986
- 4) Higashitani F, Hyodo A, Ishida N, Inoue M and Mitsuhashi S: Inhibition of  $\beta$ -lactamases by tazobactam and in-vitro antibacterial activity of tazobactam combined with piperacillin. *J Antimicrob Chemother* 25: 567–574, 1990
- 5) 三橋 進, 井上松久: 測定用標準株. *Chemotherapy* 27: 561, 1979
- 6) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度(MIC)の測定法改訂について. *Chemotherapy* 29: 76–79, 1981
- 7) 嫌気性菌MIC測定法検討委員会: 嫌気性菌の最小発育阻止濃度(MIC)測定法. *Chemotherapy* 27: 559–560, 1979
- 8) 井上松久: 基礎から見た薬剤耐性防止対策— $\beta$ ラクタム・アミノグリコシド系薬剤を中心に



- ー。Chemotherapy 41: 136~137, 1993  
9) 井上松久：セフェム剤とその耐性機構。日本

細菌学雑誌 48: 81, 1993

### *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of tazobactam/piperacillin

Fusahiro Higashitani and Susumu Mitsuhashi

Episome Institute

2220 Kogure, Fujimi-mura, Seta-gun Gunma 371-01, Japan

Matsuhisa Inoue

Department of Microbiology, Kitasato University School of Medicine

The *in vitro* and *in vivo* activities of tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC) were tested in comparison with clavulanic acid/ticarcillin (CVA/TIPC), sulbactam/ampicillin (SBT/ABPC), sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ), PIPC, CPZ and cefotiam. TAZ/PIPC showed good activity against laboratory strains of gram-positive and gram-negative bacteria, including *Pseudomonas aeruginosa*. The activity of TAZ/PIPC showed the most potent activity of the penicillins tested. Tazobactam caused a remarkable reduction in the MICs of PIPC for penicillinase- and oxyiminocephalosporinase (CXase)-producing strains (except *Xanthomonas maltophilia* L-1), and also showed a moderate synergistic effect for cephalosporinase (CEPase)-producing strains. TAZ/PIPC was highly active against clinical isolates, showing the best activity of the combination drugs tested. In addition, the activity of TAZ/PIPC was stronger than those of cephems against CXase-producing *Proteus vulgaris* and CEPase-producing *Morganella morganii*.

TAZ/PIPC also showed bactericidal activity against  $\beta$ -lactamase-producing clinical isolates of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. vulgaris* and *M. morganii* at or above the MIC.

The therapeutic efficacy of TAZ/PIPC was 2-to 10-fold stronger than those of CVA/TIPC and PIPC against systemic infection with  $\beta$ -lactamase-producing *E. coli*, *K. pneumoniae* and *P. vulgaris* in the mouse model.