

Tazobactam/Piperacillinの*in vitro*抗菌力

櫛田千恵子・西田幸一・東谷房広・兵頭昭夫・石田直文・采見憲男
大鵬薬品工業株式会社化学療法剤研究所*

大鵬薬品工業株式会社において新しく開発された β -lactamase阻害剤であるtazobactam (TAZ)とpenicillin系抗生物質のうち最も汎用されている富山化学工業株式会社のpiperacillin (PIPC)とを1:4に配合したtazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC)について*in vitro*抗菌力を既存の抗生物質PIPC, clavulanic acid/ticarcillin (CVA/TIPC), sulbactam/ampicillin (SBT/ABPC), cefoperazone (CPZ), sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ), cefotiam (CTM), ceftazidime (CAZ)と比較検討した。

Plasmid型 β -lactamase産生株のうち、最も分離率の高いTEM1産生株に対してTAZ/PIPCの抗菌力はPIPCに比べ16~64倍の増強が見られ優れた抗菌力を示し、CVA/TIPC, SBT/ABPCよりも優れ、SBT/CPZとほぼ同等であった。 β -lactamaseを高度産生している*Bacteroides*属に対してはPIPCの抗菌力は弱かったが、TAZの添加により8~16倍抗菌力が増強した。臨床分離株に対するTAZ/PIPCの 10^6 CFU/ml接種時のMIC₉₀ (μ g/ml)を小さい順に示した。*Streptococcus pyogenes* (0.10), *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis* (0.10), *Proteus mirabilis* (0.78), *Proteus vulgaris* (1.56), *Enterococcus faecalis* (3.13), *Staphylococcus epidermidis* (6.25), *Klebsiella pneumoniae* (6.25), *Morganella morganii* (6.25), *Escherichia coli* (12.5), *Providencia rettgeri* (12.5), *Pseudomonas aeruginosa* (25), *Staphylococcus aureus* (50), *Enterobacter aerogenes* (50), *Enterobacter cloacae* (50), *Serratia marcescens* (50), *Acinetobacter calcoaceticus* (50), *Citrobacter freundii* (100), *M. morganii*, *P. vulgaris*, *P. rettgeri*に対して、PIPCとTAZの配合剤が使用した薬剤のうち最も優れていた。TAZ/PIPCの抗菌力は培地の種類、培地pH, ウマ血清添加, 接種菌量の影響はほとんど受けなかった。*S. aureus* 55, *E. coli* TEM1の増殖曲線に及ぼすTAZ/PIPCの影響はMIC以上の濃度で優れた殺菌効果を示した。しかしPIPCでは β -lactamase産生の*E. coli* TEM1によりPIPCが分解され、殺菌効果が認められなかった。*S. aureus* 209P JCおよび*E. coli* NIHJ JC-2のPBPsに対するTAZ/PIPCの親和性はPIPCと同様に*S. aureus* 209P JCではPBP2, 3, 1の順に、*E. coli* NIHJ JC-2ではPBP3, 1A, 2の順に強い親和性を示した。TAZはPIPCが分解を受けるPCaseおよび*Bacteroides*属, *P. vulgaris*の産生するCXaseおよびCEPaseに対し、阻害活性を有し、その結果TAZ/PIPCはPIPCより優れた抗菌力を示した。これらのことからTAZ/PIPCは β -lactamase産生耐性菌に対し治療上有用な薬剤となり、セフェム剤に匹敵するスペクトルを持つ配合剤となり得るものと考えられた。

Key words : tazobactam/piperacillin, *in vitro*抗菌力, β -lactamase阻害剤

Tazobactam (TAZ)のpenicillinaseに対する阻害活性はclavulanic acid (CVA)と同等で、cephalosporinase (CEPase)に対しては、CVA, sulbactam (SBT)よりも優れた阻害活性を有し、種々の β -lactam剤と相乗効果を示すことが報告されている^{1~3)}。Tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC)は、このTAZとpenicillin系抗生物質のうち最も汎用されているpiperacillin (PIPC)とを1:4に配合した注射用抗生物質である。そこでTAZ/

PIPCの*in vitro*抗菌力について既知抗生物質であるPIPC, clavulanic acid/ticarcillin (CVA/TIPC), sulbactam/ampicillin (SBT/ABPC), cefoperazone (CPZ), sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ), cefotiam (CTM)と比較検討した。

I. 実験材料および実験方法

1. 使用薬剤

TAZは当研究所で合成され、TAZ/PIPCはTAZと

PIPCの力価が1:4になるよう配合して用い、PIPC + 2.5 μ g/ml TAZはPIPCの濃度に関係なくTAZを2.5 μ g/ml添加して使用した。その他の薬剤は市販品を使用した。内訳は次のとおりである。PIPC: American Cyanamid (米国), CVA/TIPC: Beecham (英国), SBT/ABPC: Pfizer (米国), SBT/CPZ: ファイザー製薬, CPZ: 富士化学, CTM: 武田薬品, ceftazidime (CAZ): 田辺製薬。

2. 使用菌株

使用した菌株は当研究所保存の臨床分離株、嫌気性菌標準株およびLondon病院大学Dr. Williamsより分与を受けた β -lactamase産生株を用いた。なお、臨床分離株の菌種および菌株数は、*Staphylococcus aureus* 54株, *Staphylococcus epidermidis* 54株, *Streptococcus pyogenes* 51株, *Enterococcus faecalis* 48株, *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis* 19株, *Escherichia coli* 54株, *Klebsiella pneumoniae* 54株, *Serratia marcescens* 54株, *Enterobacter cloacae* 54株, *Enterobacter aerogenes* 54株, *Citrobacter freundii* 54株, *Proteus mirabilis* 54株, *Morganella morganii* 54株, *Proteus vulgaris* 54株, *Providencia rettgeri* 54株, *Pseudomonas aeruginosa* 54株, *Acinetobacter calcoaceticus* 54株である。

3. 最小発育阻止濃度(MIC)の測定

前培養にMueller-Hinton broth (MHB: Difco) を、感受性測定用培地としてMueller-Hinton Agar (MHA: Difco)を用い日本化学療法学会の定める方法³⁾に準じて、寒天平板希釈法により行った。但し、*M. (B.) catarrhalis*, *S. pyogenes*についてはHeart infusion broth (HIB: Difco)に10%ウマ血清(日本バイオテスト)を添加、37℃で一夜培養した菌液を前培養液とし、5%ウマ脱繊維血液(日本バイオテスト)添加Heart infusion agar (HIA: Difco)を用いて行い、37℃で20時間培養後のMICを判定した。嫌気性菌については前培養にGAMブイヨン(GAMB: 日水)を用い、測定にはGAM寒天培地(GAM: 日水)を用い、嫌気性菌のMIC測定法⁵⁾に準じた。菌液の接種は 10^6 および 10^8 cfu/mlに調製した菌液をいずれもミクロプランター(佐久間製作所)にて行った。

4. β -lactamase産生株の確認

β -lactamaseの有無についてはMHAで一夜培養した菌体をnitrocefinディスク(cefinaise: BBL)およびPCGディスク, CERディスク(セロテック: セロテック)に塗抹しディスクが赤色または黄色に変化したものを陽性とし、 β -lactamase産生株とした。

5. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

1) 培地の種類, 培地のpHおよび血清添加の影響

培地はMHA, Nutrient agar (NA: Difco), HIA, Brain heart infusion agar (BHIA: Difco), Trypticase soy agar (TSA: BBL)を使用した。培地pHの影響にはMHA (pH7.2)をHClまたはNaOHを用い、pH 6, 7, 8になるよう調製した。血清添加の影響についてウマ血清の濃度が10, 25, 50%となるよう添加したHIAを用いた。接種菌量は 10^6 , 10^8 cfu/mlで行った。

2) 接種菌量の影響

培地としてMHAを用い、 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 cfu/mlの菌液をミクロプランターで接種した。

6. 増殖曲線に及ぼす影響

各菌株を一夜培養後、MHBで増殖させた対数増殖期の菌に種々の濃度の薬剤を作用させ、以後経時的に4時間目までの生菌数を測定した。また培養液中のPIPCの残存濃度は*Micrococcus luteus* ATCC9341を検定菌としたBioassay法により測定した。

7. Penicillin binding proteins (PBPs) に対する親和性

Sprattの方法^{6,7)}に準じた。即ち*S. aureus* 209P JCおよび*E. coli* NIH JC-2をHIB, 37℃で振盪培養し、対数増殖期に遠心分離にて集菌した。これを0.1Mリン酸緩衝液に懸濁後、超音波破碎し、100,000 $\times$ g 45min 4℃にて膜画分を分離した。その後、20mg protein/mlに調製し、この膜画分とTAZ/PIPC, PIPC, TAZを加え30℃, 10min反応させた後、^[14C]Penicillin G (^{14C}-PCG)を加え、さらに10min反応を行った。その後、直ちに過剰のPCGとsarkocylを加え、反応を停止させるとともに細胞質膜を可溶化した。これにSDS溶液とメルカプトエタノールを加え、2min煮沸後、SDSポリアクリルアミドスラブラゲル電気泳動法により分離し、フルオログラフィーにて検出した。

II. 実験結果

1. 抗菌スペクトル

1) β -lactamase産生株に対する抗菌力

β -lactamase産生標準株に対するTAZ/PIPCの抗菌力をTable 1, 2に示した。TAZ/PIPCはPIPCに比べplasmid型 β -lactamaseのうち最も分離率の高いTEM1産生株に対し 10^6 , 10^8 cfu/ml接種においてPIPCに比べ8~128倍の抗菌力の増強が見られ優れた相乗効果を示し、その値はCVA/TIPC, SBT/ABPCよりも優れ、SBT/CPZとはほぼ同等であった。TEM2, OXA, SHV産生株に対してはTAZ/PIPCはSBT/CPZおよびCPZに比べて劣るがPIPC, CVA/TIPC, SBT/ABPCより優れていた。*P. aeruginosa*のうちpenicillinase (PCase)のPSE3, 4に対してTAZ/PIPCはSBT/CPZと同等であり、PIPCよりも抗菌力が強かった。

β -lactamase産生臨床分離株に対するTAZ/PIPCの抗菌力をTable 3, 4に示した。TAZ/PIPCおよびPIPC+TAZ 2.5 μ g/mlは、PCase産生株に対しPIPC, CVA/TIPCより強く、SBT/CPZ, CTMとほぼ同等の抗菌力を示した。一方、腸内細菌科のCEPase産生株に対しても、TAZ/PIPCは、SBT/CPZと同等の抗菌力を示した。

CAZ耐性菌(MIC $\geq$ 12.5 μ g/ml)に対するTAZ/PIPCの抗菌力を、Table 5, 6に示した。これらの株に対するTAZ/PIPCの抗菌力はSBT/CPZと同等であり、CAZより低いMIC値を示した。

2) 嫌気性菌に対する抗菌力

嫌気性菌に対するPIPCの抗菌力は優れていたが、 β -lactamaseを高度産生している*Bacteroides*属に対しMIC値が高く、PIPC耐性株(MIC: $\geq$ 50 μ g/ml)も存在した。TAZ/PIPCはこのような菌株に対しても比較的小さなMICを示した(Table 7, 8)。

2. 臨床分離株に対する抗菌力

17菌種 874株に対するTAZ/PIPCおよび対照薬の抗菌力を測定しMIC₅₀, MIC₉₀をTable 9, 10に示した。

*S. aureus*に対してTAZ/PIPCはSBT/ABPCより若干劣り、他の対照薬より優れていたが、10⁶ cfu/ml接種でのMIC₉₀は50 μ g/mlを示した。*S. epidermidis*に対しては、10⁶cfu/ml接種においてTAZ/PIPCのMIC₉₀は6.25 μ g/mlを示し、PIPC, CVA/TIPCより優れ、SBT/ABPC, CPZ, CTMとほぼ同等の抗菌力を示した。*S. pyogenes*および*E. faecalis*では β -lactamaseを産生している株がなかったことより10⁶, 10⁸cfu/mlではTAZ/PIPCの抗菌力はPIPCと同等であり、PIPCの優れた抗菌力を保持していた。 β -lactamase産生率の高いことが報告されている*M. (B.) catarrhalis*⁹⁾に対するTAZ/PIPCの抗菌力は10⁶cfu/ml接種において最も優れた抗菌力を示し、10⁸cfu/ml接種においてSBT/ABPCと同等、PIPC, CPZ, CTMより16~512倍以上優れていた。

Table 1. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against β -lactamase producing bacteria

Organism	β -lactamase type	MIC (μ g/ml)							
		PIPC	TAZ/PIPC	PIPC+2.5TAZ	CVA/TIPC	SBT/ABPC	SBT/CPZ	CPZ	CTM
<i>S. aureus</i> 54K		12.5	1.56	0.39	3.13	1.56	3.13	3.13	1.56
<i>S. aureus</i> 80K		12.5	1.56	0.39	3.13	1.56	3.13	1.56	0.78
<i>E. coli</i> TEM1	TEM1	200	6.25	0.78	50	50	1.56	0.78	0.10
<i>E. coli</i> 60L	TEM1	400	6.25	1.56	50	50	3.13	6.25	0.20
<i>E. coli</i> 541L	TEM1	25	1.56	0.39	25	12.5	0.78	0.39	0.10
<i>E. coli</i> TEM2	TEM2	>400	50	100	100	400	12.5	100	0.78
<i>E. coli</i> 963L	TEM2	0.78	0.78	0.39	1.56	3.13	0.10	0.10	0.10
<i>E. coli</i> OXA1	OXA1	25	12.5	6.25	100	50	0.39	0.20	0.20
<i>E. coli</i> 1573E	OXA2	6.25	1.56	0.78	12.5	6.25	0.20	0.39	0.39
<i>E. coli</i> OXA3	OXA3	6.25	1.56	0.78	25	6.25	0.20	0.39	0.39
<i>K. pneumoniae</i> 366L	SHV1	200	12.5	3.13	50	50	6.25	12.5	0.39
<i>K. pneumoniae</i> 101L	TEM2	400	3.13	0.78	50	25	1.56	1.56	0.20
<i>Enterobacter</i> 212L	TEM1	>400	50	100	100	400	12.5	100	6.25
<i>Enterobacter</i> P99	CEPase	100	50	50	200	200	50	100	>400
<i>Citrobacter</i> 2046E	CEPase	12.5	0.78	0.39	50	50	6.25	6.25	1.56
<i>Citrobacter</i> 648L	TEM1	100	3.13	3.13	25	12.5	0.20	0.20	0.20
<i>Citrobacter</i> 962L	TEM2	100	6.25	3.13	25	12.5	0.20	0.20	0.20
<i>Serratia</i> 200L	TEM1+CEPase	50	3.13	0.39	50	100	3.13	3.13	100
<i>Serratia</i> 832L	TEM1+CEPase	6.25	3.13	1.56	25	100	3.13	1.56	6.25
<i>P. aeruginosa</i> PSE1	PSE1	6.25	6.25	6.25	25	400	12.5	6.25	>400
<i>P. aeruginosa</i> PSE2	PSE2	100	50	50	100	>400	100	100	>400
<i>P. aeruginosa</i> PSE3	PSE3	100	25	25	50	400	25	25	>400
<i>P. aeruginosa</i> PSE4	PSE4	200	50	50	100	400	25	50	>400
<i>Acinetobacter</i> 553L	TEM1	>400	25	12.5	100	50	50	200	200
<i>Acinetobacter</i> 450L	TEM1+CEPase	>400	25	25	100	50	50	400	200
<i>Acinetobacter</i> 578L	TEM1+CEPase	400	25	25	50	50	50	200	200

Medium: Mueller-Hinton agar (Difco), Inoculum size: 10⁶ cfu/ml
PIPC: piperacillin, TAZ/PIPC: tazobactam/piperacillin, 2.5TAZ: 2.5 μ g/ml tazobactam,
CVA/TIPC: clavulanic acid/ticarcillin, SBT/ABPC: sulbactam/ampicillin, SBT/CPZ: sulbactam/cefoperazone,
CPZ: cefoperazone, CTM: cefotiam

Table 2. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against β -lactamase producing bacteria

Organism	β -lactamase type	MIC (μ g/ml)							
		PIPC	TAZ/PIPC	PIPC + 2.5TAZ	CVA/TIPC	SBT/ABPC	SBT/CPZ	CPZ	CTM
<i>S. aureus</i> 54K		>400	6.25	1.56	12.5	6.25	6.25	12.5	3.13
<i>S. aureus</i> 80K		>400	6.25	1.56	6.25	6.25	6.25	6.25	1.56
<i>E. coli</i> TEM1	TEM1	>400	12.5	3.13	50	100	6.25	400	1.56
<i>E. coli</i> 60L	TEM1	>400	12.5	12.5	100	100	12.5	>400	12.5
<i>E. coli</i> 541L	TEM1	>400	3.13	1.56	25	25	1.56	200	1.56
<i>E. coli</i> TEM2	TEM2	>400	100	>400	200	400	50	>400	100
<i>E. coli</i> 963L	TEM2	3.13	1.56	1.56	3.13	6.25	0.39	0.10	0.39
<i>E. coli</i> OXA1	OXA1	200	25	50	200	100	1.56	1.56	6.25
<i>E. coli</i> 1573E	OXA2	200	3.13	1.56	25	12.5	0.78	25	12.5
<i>E. coli</i> OXA3	OXA3	100	3.13	1.56	50	12.5	0.78	3.13	6.25
<i>K. pneumoniae</i> 366L	SHV1	>400	100	>400	100	400	50	>400	6.25
<i>K. pneumoniae</i> 101L	TEM2	>400	6.25	3.13	100	100	6.25	>400	6.25
<i>Enterobacter</i> 212L	TEM1	>400	100	>400	200	>400	50	>400	>400
<i>Enterobacter</i> P99	CEPase	400	100	200	400	400	100	>400	>400
<i>Citrobacter</i> 2046E	CEPase	200	1.56	0.78	100	100	25	200	400
<i>Citrobacter</i> 648L	TEM1	>400	12.5	6.25	25	12.5	0.78	0.78	0.78
<i>Citrobacter</i> 962L	TEM2	>400	6.25	12.5	100	25	0.78	1.56	0.78
<i>Serratia</i> 200L	TEM1 + CEPase	>400	6.25	12.5	100	200	12.5	>400	>400
<i>Serratia</i> 832L	TEM1 + CEPase	100	6.25	6.25	50	>400	25	400	>400
<i>P. aeruginosa</i> PSE1	PSE1	200	12.5	12.5	50	>400	25	100	>400
<i>P. aeruginosa</i> PSE2	PSE2	>400	400	>400	>400	>400	400	>400	>400
<i>P. aeruginosa</i> PSE3	PSE3	200	50	50	200	>400	25	100	>400
<i>P. aeruginosa</i> PSE4	PSE4	>400	100	400	200	>400	50	400	>400
<i>Acinetobacter</i> 553L	TEM1	>400	100	400	200	50	50	>400	>400
<i>Acinetobacter</i> 450L	TEM1 + CEPase	>400	100	200	200	100	50	>400	>400
<i>Acinetobacter</i> 578L	TEM1 + CEPase	>400	25	25	100	50	50	>400	>400

Medium: Mueller-Hinton agar (Difco) Inoculum size: 10⁸ cfu/ml

Table 3. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against β -lactamase producing clinical isolates

Organism	β -lactamase type	MIC (μ g/ml)							
		PIPC	TAZ/PIPC	PIPC + 2.5TAZ	CVA/TIPC	SBT/ABPC	SBT/CPZ	CPZ	CTM
<i>S. aureus</i> 1053	PCase	3.13	1.56	1.56	6.25	1.56	6.25	3.13	1.56
<i>S. epidermidis</i> 2046	PCase	6.25	1.56	0.39	6.25	1.56	3.13	3.13	1.56
<i>M.(B.) catarrhalis</i> No. 2	PCase	0.39	0.10	$\leq$ 0.05	0.39	0.20	0.20	0.39	3.13
<i>E. coli</i> 31028	PCase	25	3.13	1.56	25	25	1.56	0.78	0.39
<i>E. coli</i> 31034	CEPase	3.13	3.13	1.56	6.25	25	0.39	0.20	0.78
<i>E. coli</i> 31048	PCase + CEPase	50	1.56	1.56	25	25	1.56	0.78	0.20
<i>K. pneumoniae</i> 32014	PCase	6.25	6.25	6.25	12.5	12.5	1.56	0.78	0.78
<i>P. mirabilis</i> 34002	PCase	3.13	0.39	0.20	6.25	12.5	1.56	6.25	0.39
<i>P. vulgaris</i> 35057	CXase	12.5	1.56	1.56	12.5	100	12.5	50	>400
<i>M. morgani</i> 36011	PCase	6.25	1.56	0.20	12.5	50	1.56	3.13	12.5
<i>P. rettgeri</i> 37036	CEPase	100	6.25	3.13	25	100	25	12.5	25
<i>E. cloacae</i> 40032	CEPase	50	12.5	12.5	100	100	25	25	>400
<i>S. marcescens</i> 42028	PCase + CEPase	50	12.5	6.25	200	400	50	50	>400
<i>C. freundii</i> 44022	CEPase	3.13	6.25	3.13	25	100	12.5	6.25	100
<i>P. aeruginosa</i> 46043	CEPase	6.25	6.25	6.25	50	>400	12.5	6.25	>400
<i>A. calcoaceticus</i> 53003	CEPase	1.56	0.78	$\leq$ 0.05	0.78	0.78	0.78	3.13	6.25

Medium: Mueller-Hinton agar (Difco), Inoculum size: 10⁶ cfu/ml

Table 4. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against β -lactamase producing bacteria

Organism	β -lactamase type	MIC (μ g/ml)							
		PIPC	TAZ/PIPC	PIPC + 2.5TAZ	CVA/TIPC	SBT/ABPC	SBT/CPZ	CPZ	CTM
<i>S. aureus</i> 1053	PCase	50	3.13	1.56	6.25	6.25	6.25	6.25	3.13
<i>S. epidermidis</i> 2046	PCase	400	3.13	1.56	25	6.25	6.25	6.25	3.13
<i>M.(B.) catarrhalis</i> No. 2	PCase	200	0.39	$\leq$ 0.05	0.78	0.39	0.39	12.5	6.25
<i>E. coli</i> 31028	PCase	>400	3.13	1.56	50	25	3.13	100	0.78
<i>E. coli</i> 31034	CEPase	25	6.25	3.13	25	25	1.56	1.56	25
<i>E. coli</i> 31048	PCase + CEPase	>400	3.13	1.56	50	25	3.13	400	3.13
<i>K. pneumoniae</i> 32014	PCase	400	6.25	6.25	12.5	25	1.56	3.13	1.56
<i>P. mirabilis</i> 34002	PCase	>400	0.78	0.39	12.5	25	3.13	>400	3.13
<i>P. vulgaris</i> 35057	CXase	400	3.13	1.56	25	100	25	400	>400
<i>M. Morganii</i> 36011	CEPase	>400	1.56	0.39	25	100	6.25	200	400
<i>P. rettgeri</i> 37036	CEPase	>400	12.5	12.5	50	200	200	>400	>400
<i>E. cloacae</i> 40032	CEPase	>400	25	50	200	200	100	400	>400
<i>S. marcescens</i> 42028	PCase + CEPase	>400	25	50	400	400	100	>400	>400
<i>C. freundii</i> 44022	CEPase	50	12.5	12.5	200	200	25	100	>400
<i>P. aeruginosa</i> 46043	CEPase	200	12.5	25	100	>400	50	100	>400
<i>A. calcoaceticus</i> 53003	CEPase	100	6.25	3.13	25	12.5	25	100	50

Medium: Mueller-Hinton agar (Difco), Inoculum size: 10⁸ cfu/ml

Table 5. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against ceftazidime resistant bacteria

Organism	β -lactamase type	MIC (μ g/ml)							
		PIPC	TAZ/PIPC	CAZ	CVA/TIPC	SBT/ABPC	SBT/CPZ	CPZ	CTM
<i>E. cloacae</i> E40002	CEPase	200	100	>400	400	400	50	50	>400
<i>E. cloacae</i> E40005	CEPase	100	50	100	100	100	25	100	>400
<i>E. cloacae</i> E40009	CEPase	100	50	100	100	100	25	100	>400
<i>M. Morganii</i> L36006	CEPase	200	12.5	50	25	50	6.25	100	200
<i>C. freundii</i> L44009	CEPase	100	25	100	400	200	25	100	200
<i>C. freundii</i> L44011	CEPase	12.5	6.25	25	400	100	6.25	12.5	100
<i>P. aeruginosa</i> L46024	CEPase	50	12.5	50	100	200	25	50	>400
<i>F. indologenes</i> L58003		6.25	3.13	200	100	50	12.5	50	200

Medium: Mueller-Hinton agar (Difco) Inoculum size: 10⁶ cfu/ml

Table 6. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against ceftazidime resistant bacteria

Organism	β -lactamase type	MIC (μ g/ml)							
		PIPC	TAZ/PIPC	CAZ	CVA/TIPC	SBT/ABPC	SBT/CPZ	CPZ	CTM
<i>E. cloacae</i> E40002	CEPase	>400	200	>400	400	>400	200	>400	>400
<i>E. cloacae</i> E40005	CEPase	400	50	200	200	200	50	400	>400
<i>E. cloacae</i> E40009	CEPase	400	100	200	200	200	100	>400	>400
<i>M. Morganii</i> L36006	CEPase	>400	25	100	25	100	6.25	400	>400
<i>C. freundii</i> L44009	CEPase	400	50	400	400	200	50	>400	>400
<i>C. freundii</i> L44011	CEPase	200	25	200	400	200	25	200	>400
<i>P. aeruginosa</i> L46024	CEPase	>400	50	400	200	200	100	>400	>400
<i>F. indologenes</i> L58003		6.25	6.25	200	100	50	12.5	50	200

Medium: Mueller-Hinton agar (Difco), Inoculum size: 10⁸ cfu/ml

Table 7. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against anaerobic bacteria

Organism	MIC (μg/ml)					
	TAZ/PIPC	PIPC	CVA/TIPC	SBT/CPZ	CTM	TAZ
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ATCC 15703	0.20	0.10	0.39	0.39	1.56	6.25
<i>Clostridium perfringens</i> GAI 0084	0.39	0.20	0.78	≤0.05	3.13	100
<i>Clostridium perfringens</i> GAI 0668	≤0.05	≤0.05	0.39	≤0.05	0.39	100
<i>Clostridium innocum</i> GAI 5472	0.78	0.78	6.25	6.25	50	100
<i>Clostridium difficile</i> GAI 0858	6.25	6.25	12.5	50	200	>400
<i>Streptococcus constellatus</i> ATCC 27823	0.39	0.39	3.13	1.56	3.13	100
<i>Bacteroides fragilis</i> GM7000	0.39	0.20	0.39	1.56	6.25	6.25
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	0.39	0.78	0.39	1.56	25	6.25
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI 5524	0.39	0.78	0.39	1.56	25	6.25
<i>Bacteroides fragilis</i> R-1-2	0.78	1.56	0.78	3.13	200	6.25
<i>Bacteroides fragilis</i> R-1-23	0.78	1.56	0.78	3.13	200	12.5
<i>Bacteroides fragilis</i> V-240-2 (R)	1.56	6.25	1.56	3.13	200	3.13
<i>Bacteroides fragilis</i> V-288 (R)	1.56	6.25	0.39	1.56	200	6.25
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> WAL 3304	6.25	6.25	1.56	12.5	200	25
<i>Bacteroides ovatus</i> GAI 5630	3.13	3.13	1.56	6.25	100	12.5
<i>Fusobacterium nucleatum</i> FN-1	≤0.05	≤0.05	≤0.05	0.10	0.10	6.25
<i>Fusobacterium varium</i> GAI 5566	6.25	6.25	1.56	12.5	25	400
<i>Fusobacterium varium</i> ATCC 8501	6.25	6.25	1.56	12.5	6.25	400
<i>Veillonella parvula</i> GAI 5602	0.78	1.56	0.78	1.56	0.39	12.5

Inoculum size: 10⁶ cfu/ml

Table 8. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against anaerobic bacteria

Organism	MIC (μg/ml)					
	TAZ/PIPC	PIPC	CVA/TIPC	SBT/CPZ	CTM	TAZ
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ATCC 15703	0.20	0.20	0.78	0.20	1.56	6.25
<i>Clostridium perfringens</i> GAI 0084	6.25	6.25	6.25	0.39	25	200
<i>Clostridium perfringens</i> GAI 0668	1.56	1.56	0.78	1.56	6.25	100
<i>Clostridium innocum</i> GAI 5472	0.78	0.78	6.25	6.25	50	100
<i>Clostridium difficile</i> GAI 0858	6.25	6.25	6.25	25	400	>400
<i>Streptococcus constellatus</i> ATCC 27823	0.39	0.78	3.13	0.78	3.13	100
<i>Bacteroides fragilis</i> GM7000	3.13	3.13	1.56	25	100	25
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	3.13	3.13	1.56	25	100	25
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI 5524	6.25	3.13	1.56	25	100	25
<i>Bacteroides fragilis</i> R-1-2	6.25	12.5	3.13	25	400	25
<i>Bacteroides fragilis</i> R-1-23	6.25	12.5	3.13	50	400	100
<i>Bacteroides fragilis</i> V-240-2 (R)	25	400	25	100	>400	400
<i>Bacteroides fragilis</i> V-288 (R)	12.5	100	12.5	50	>400	100
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> WAL 3304	25	25	3.13	25	400	50
<i>Bacteroides ovatus</i> GAI 5630	3.13	12.5	1.56	12.5	400	25
<i>Fusobacterium nucleatum</i> FN-1	≤0.05	≤0.05	0.39	0.10	0.20	6.25
<i>Fusobacterium varium</i> GAI 5566	6.25	6.25	6.25	100	>400	>400
<i>Fusobacterium varium</i> ATCC 8501	6.25	6.25	3.13	100	>400	>400
<i>Veillonella parvula</i> GAI 5602	1.56	1.56	0.78	1.56	0.39	12.5

Inoculum size: 10⁸ cfu/ml

Table 9-1. Antibacterial activity of β -lactams against gram-positive and gram-negative clinical isolates
(10⁶ cfu/ml)

Organism (No. of strains)	Drug	MIC ₅₀	MIC ₉₀	Range
<i>S. aureus</i> (54)	TAZ/PIPC	3.13	50	0.78 ~ 100
	PIPC	6.25	200	0.78 ~ 400
	PIPC + 2.5TAZ	0.78	50	0.20 ~ 100
	CVA/TIPC	6.25	100	1.56 ~ 400
	SBT/ABPC	1.56	12.5	0.39 ~ 25
	SBT/CPZ	6.25	200	1.56 ~ >400
	CPZ	3.13	>400	0.78 ~ >400
	CTM	1.56	200	0.39 ~ >400
<i>S. epidermidis</i> (54)	TAZ/PIPC	0.78	6.25	0.20 ~ 100
	PIPC	0.78	50	0.20 ~ 200
	PIPC + 2.5TAZ	0.39	3.13	0.10 ~ 100
	CVA/TIPC	3.13	25	0.78 ~ 400
	SBT/ABPC	0.39	6.25	≦0.05 ~ 25
	SBT/CPZ	1.56	6.25	0.78 ~ 50
	CPZ	1.56	3.13	0.39 ~ 50
	CTM	0.78	3.13	0.39 ~ 12.5
<i>S. pyogenes</i> (51)	TAZ/PIPC	≦0.05	0.10	≦0.05 ~ 0.10
	PIPC	≦0.05	≦0.05	≦0.05 ~ 0.10
	PIPC + 2.5TAZ	≦0.05	≦0.05	≦0.05 ~ 0.10
	CVA/TIPC	0.39	0.39	0.20 ~ 0.39
	SBT/ABPC	≦0.05	≦0.05	≦0.05
	SBT/CPZ	0.20	0.20	0.10 ~ 0.20
	CPZ	0.10	0.10	≦0.05 ~ 0.10
	CTM	≦0.05	≦0.05	≦0.05
<i>E. faecalis</i> (48)	TAZ	50	100	12.5 ~ 100
	TAZ/PIPC	3.13	3.13	1.56 ~ 6.25
	PIPC	1.56	3.13	0.78 ~ 6.25
	PIPC + 2.5TAZ	1.56	3.13	0.78 ~ 6.25
	CVA/TIPC	50	100	25 ~ 100
	SBT/ABPC	1.56	1.56	0.78 ~ 3.13
	SBT/CPZ	50	50	12.5 ~ 100
	CPZ	25	50	6.25 ~ 50
<i>M.(B.) catarrhalis</i> (19)	CTM	100	200	25 ~ 400
	TAZ/PIPC	≦0.05	0.10	≦0.05 ~ 0.10
	PIPC	0.39	3.13	≦0.05 ~ 3.13
	PIPC + 2.5TAZ	≦0.05	≦0.05	≦0.05
	CVA/TIPC	0.20	0.39	≦0.05 ~ 0.78
	SBT/ABPC	0.20	0.20	≦0.05 ~ 0.20
	SBT/CPZ	0.39	0.78	0.20 ~ 0.78
	CPZ	1.56	1.56	0.20 ~ 3.13
<i>E. coli</i> (54)	CTM	3.13	3.13	0.39 ~ 3.13
	TAZ	6.25	6.25	0.78 ~ 6.25
	TAZ/PIPC	1.56	12.5	0.39 ~ 12.5
	PIPC	1.56	100	0.39 ~ >400
	PIPC + 2.5TAZ	1.56	3.13	0.39 ~ 6.25
	CVA/TIPC	3.13	50	0.78 ~ 100
	SBT/ABPC	6.25	50	1.56 ~ 100
	SBT/CPZ	0.78	6.25	0.10 ~ 12.5
	CPZ	0.20	6.25	≦0.05 ~ 12.5
	CTM	0.20	0.78	0.10 ~ 1.56

Table 9-2. Antibacterial activity of β -lactams against gram-positive and gram-negative clinical isolates
(10^6 cfu/ml)

Organism (No. of strains)	Drug	MIC ₅₀	MIC ₉₀	Range
<i>K. pneumoniae</i> (54)	TAZ/PIPC	3.13	6.25	1.56 ~ 100
	PIPC	3.13	6.25	1.56 ~ 400
	PIPC + 2.5TAZ	1.56	3.13	0.78 ~ 200
	CVA/TIPC	6.25	12.5	6.25 ~ 100
	SBT/ABPC	6.25	12.5	6.25 ~ 400
	SBT/CPZ	0.39	1.56	0.20 ~ 25
	CPZ	0.20	0.78	0.10 ~ 12.5
	CTM	0.20	0.78	0.20 ~ 3.13
<i>S. marcescens</i> (54)	TAZ/PIPC	25	50	0.39 ~ 100
	PIPC	200	> 400	0.78 ~ > 400
	PIPC + 2.5TAZ	50	400	0.20 ~ > 400
	CVA/TIPC	200	400	3.13 ~ > 400
	SBT/ABPC	400	> 400	3.13 ~ > 400
	SBT/CPZ	50	100	0.78 ~ 400
	CPZ	50	200	0.39 ~ > 400
	CTM	> 400	> 400	0.78 ~ > 400
<i>E. cloacae</i> (54)	TAZ/PIPC	3.13	50	0.78 ~ 100
	PIPC	3.13	100	0.78 ~ > 400
	PIPC + 2.5TAZ	1.56	50	0.78 ~ > 400
	CVA/TIPC	6.25	400	0.78 ~ 400
	SBT/ABPC	25	200	6.25 ~ > 400
	SBT/CPZ	1.56	50	0.20 ~ 100
	CPZ	0.78	100	0.10 ~ 400
	CTM	12.5	> 400	0.39 ~ > 400
<i>E. aerogenes</i> (54)	TAZ/PIPC	25	50	1.56 ~ 100
	PIPC	25	100	1.56 ~ > 400
	PIPC + 2.5TAZ	25	50	1.56 ~ 100
	CVA/TIPC	100	200	1.56 ~ 200
	SBT/ABPC	50	100	25 ~ 400
	SBT/CPZ	6.25	25	0.10 ~ 50
	CPZ	6.25	50	0.10 ~ 200
	CTM	400	> 400	0.39 ~ > 400
<i>C. freundii</i> (54)	TAZ/PIPC	12.5	100	0.78 ~ 100
	PIPC	12.5	> 400	1.56 ~ > 400
	PIPC + 2.5TAZ	6.25	400	0.20 ~ > 400
	CVA/TIPC	100	400	1.56 ~ 400
	SBT/ABPC	100	400	6.25 ~ > 400
	SBT/CPZ	12.5	100	0.39 ~ 200
	CPZ	25	100	0.20 ~ 400
	CTM	100	400	0.39 ~ > 400
<i>P. mirabilis</i> (53)	TAZ/PIPC	0.39	0.78	0.10 ~ 0.78
	PIPC	0.39	0.78	0.10 ~ 3.13
	PIPC + 2.5TAZ	0.39	0.78	0.10 ~ 0.78
	CVA/TIPC	0.78	0.78	0.39 ~ 6.25
	SBT/ABPC	1.56	3.13	0.78 ~ 12.5
	SBT/CPZ	1.56	3.13	0.78 ~ 6.25
	CPZ	0.78	1.56	0.39 ~ 6.25
	CTM	0.39	0.39	0.10 ~ 0.78

Table 9-3. Antibacterial activity of β -lactams against gram-positive and gram-negative clinical isolates
(10⁶ cfu/ml)

Organism (No. of strains)	Drug	MIC ₅₀	MIC ₉₀	Range
<i>M. morgani</i> (54)	TAZ/PIPC	0.78	6.25	0.20 ~ 50
	PIPC	1.56	50	0.20 ~ 400
	PIPC + 2.5TAZ	0.39	0.78	0.10 ~ 100
	CVA/TIPC	3.13	200	0.39 ~ > 400
	SBT/ABPC	25	100	3.13 ~ 400
	SBT/CPZ	3.13	12.5	0.78 ~ 100
	CPZ	1.56	25	0.39 ~ 100
	CTM	1.56	100	0.20 ~ > 400
<i>P. vulgaris</i> (54)	TAZ/PIPC	0.78	1.56	≤ 0.05 ~ 12.5
	PIPC	0.78	25	≤ 0.05 ~ 400
	PIPC + 2.5TAZ	0.78	1.56	≤ 0.05 ~ 12.5
	CVA/TIPC	1.56	12.5	0.39 ~ 50
	SBT/ABPC	12.5	50	0.78 ~ 100
	SBT/CPZ	1.56	6.25	0.10 ~ 12.5
	CPZ	1.56	50	≤ 0.05 ~ 200
	CTM	50	400	0.39 ~ > 400
<i>P. rettgeri</i> (54)	TAZ/PIPC	1.56	12.5	0.20 ~ 50
	PIPC	3.13	200	0.20 ~ 400
	PIPC + 2.5TAZ	0.78	12.5	0.10 ~ 100
	CVA/TIPC	12.5	50	0.39 ~ 100
	SBT/ABPC	50	200	0.78 ~ 200
	SBT/CPZ	3.13	25	0.20 ~ 50
	CPZ	3.13	25	0.20 ~ 50
	CTM	0.78	50	0.10 ~ 200
<i>P. aeruginosa</i> (54)	TAZ/PIPC	3.13	25	0.78 ~ 100
	PIPC	6.25	12.5	0.78 ~ 400
	PIPC + 2.5TAZ	3.13	12.5	0.39 ~ 400
	CVA/TIPC	25	100	3.13 ~ 200
	SBT/ABPC	400	> 400	100 ~ > 400
	SBT/CPZ	6.25	50	0.78 ~ 50
	CPZ	6.25	25	0.39 ~ 200
	CTM	> 400	> 400	400 ~ > 400
<i>A. calcoaceticus</i> (54)	TAZ/PIPC	12.5	50	0.78 ~ 100
	PIPC	12.5	50	0.78 ~ > 400
	PIPC + 2.5TAZ	3.13	50	≤ 0.05 ~ > 400
	CVA/TIPC	12.5	25	0.39 ~ 50
	SBT/ABPC	3.13	12.5	0.39 ~ 25
	SBT/CPZ	3.13	12.5	0.39 ~ 50
	CPZ	50	200	3.13 ~ > 400
	CTM	100	200	6.25 ~ > 400
	TAZ	6.25	25	0.20 ~ 50

Table 10-1. Antibacterial activity of β -lactams against gram-positive and gram-negative clinical isolates
(10^8 cfu/ml)

Organism (No. of strains)	Drug	MIC ₅₀	MIC ₉₀	Range
<i>S. aureus</i> (54)	TAZ/PIPC	6.25	100	1.56 ~ 200
	PIPC	200	>400	6.25 ~ >400
	PIPC + 2.5TAZ	3.13	100	0.78 ~ 400
	CVA/TIPC	6.25	200	3.13 ~ >400
	SBT/ABPC	6.25	50	0.78 ~ 50
	SBT/CPZ	6.25	400	3.13 ~ >400
	CPZ	6.25	>400	1.56 ~ >400
	CTM	3.13	>400	0.78 ~ >400
<i>S. epidermidis</i> (54)	TAZ/PIPC	3.13	25	0.20 ~ 200
	PIPC	12.5	400	0.20 ~ >400
	PIPC + 2.5TAZ	0.78	12.5	0.20 ~ 400
	CVA/TIPC	6.25	100	0.78 ~ >400
	SBT/ABPC	3.13	12.5	0.10 ~ 50
	SBT/CPZ	3.13	12.5	1.56 ~ 400
	CPZ	3.13	12.5	0.78 ~ 400
	CTM	0.78	6.25	0.39 ~ 50
<i>S. pyogenes</i> (51)	TAZ/PIPC	≤ 0.05	0.10	≤ 0.05 ~ 0.10
	PIPC	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05 ~ 0.10
	PIPC + 2.5TAZ	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05
	CVA/TIPC	0.39	0.39	0.20 ~ 0.39
	SBT/ABPC	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05
	SBT/CPZ	0.20	0.20	0.10 ~ 0.20
	CPZ	0.10	0.10	≤ 0.05 ~ 0.10
	CTM	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05 ~ 0.10
<i>E. faecalis</i> (48)	TAZ	50	100	50 ~ 100
	TAZ/PIPC	1.56	6.25	1.56 ~ 12.5
	PIPC	3.13	3.13	1.56 ~ 6.25
	PIPC + 2.5TAZ	1.56	3.13	1.56 ~ 6.25
	CVA/TIPC	50	100	25 ~ 100
	SBT/ABPC	1.56	1.56	0.78 ~ 3.13
	SBT/CPZ	50	100	12.5 ~ 100
	CPZ	25	50	12.5 ~ 50
<i>M.(B.) catarrhalis</i> (19)	CTM	100	200	50 ~ 400
	TAZ/PIPC	0.39	0.78	0.20 ~ 6.25
	PIPC	400	>400	0.39 ~ >400
	PIPC + 2.5TAZ	≤ 0.05	≤ 0.05	≤ 0.05
	CVA/TIPC	0.78	1.56	0.39 ~ 1.56
	SBT/ABPC	0.39	0.78	0.20 ~ 0.78
	SBT/CPZ	0.78	0.78	0.20 ~ 0.78
	CPZ	25	25	3.13 ~ 50
<i>E. coli</i> (54)	CTM	6.25	25	1.56 ~ 25
	TAZ	6.25	6.25	0.78 ~ 12.5
	TAZ/PIPC	1.56	25	0.78 ~ 25
	PIPC	3.13	>400	0.78 ~ >400
	PIPC + 2.5TAZ	1.56	12.5	0.78 ~ 100
	CVA/TIPC	6.25	100	1.56 ~ 200
	SBT/ABPC	6.25	100	1.56 ~ 400
	SBT/CPZ	0.78	12.5	0.10 ~ 25
	CPZ	0.39	>400	0.10 ~ >400
	CTM	0.78	6.25	0.10 ~ 25

Table 10-2. Antibacterial activity of β -lactams against gram-positive and gram-negative clinical isolates
(10⁸ cfu/ml)

Organism (No. of strains)	Drug	MIC ₅₀	MIC ₉₀	Range
<i>K. pneumoniae</i> (54)	TAZ/PIPC	3.13	6.25	1.56 ~ 200
	PIPC	200	>400	6.25 ~ >400
	PIPC + 2.5TAZ	3.13	6.25	1.56 ~ >400
	CVA/TIPC	12.5	12.5	6.25 ~ 200
	SBT/ABPC	12.5	25	6.25 ~ >400
	SBT/CPZ	0.78	1.56	0.39 ~ 100
	CPZ	0.78	3.13	0.20 ~ >400
	CTM	0.39	1.56	0.20 ~ 6.25
<i>S. marcescens</i> (54)	TAZ/PIPC	100	200	1.56 ~ >400
	PIPC	>400	>400	3.13 ~ >400
	PIPC + 2.5TAZ	200	>400	0.78 ~ >400
	CVA/TIPC	400	>400	3.13 ~ >400
	SBT/ABPC	>400	>400	6.25 ~ >400
	SBT/CPZ	100	400	1.56 ~ >400
	CPZ	>400	>400	6.25 ~ >400
	CTM	>400	>400	100 ~ >400
<i>E. cloacae</i> (54)	TAZ/PIPC	12.5	100	1.56 ~ 200
	PIPC	25	>400	1.56 ~ >400
	PIPC + 2.5TAZ	12.5	400	1.56 ~ >400
	CVA/TIPC	50	400	1.56 ~ 400
	SBT/ABPC	100	200	12.5 ~ >400
	SBT/CPZ	6.25	100	0.39 ~ 200
	CPZ	12.5	>400	0.20 ~ >400
	CTM	>400	>400	25 ~ >400
<i>E. aerogenes</i> (54)	TAZ/PIPC	50	100	3.13 ~ 200
	PIPC	200	>400	3.13 ~ >400
	PIPC + 2.5TAZ	200	>400	3.13 ~ >400
	CVA/TIPC	100	200	3.13 ~ 400
	SBT/ABPC	100	200	25 ~ >400
	SBT/CPZ	25	50	0.39 ~ 400
	CPZ	400	>400	0.39 ~ >400
	CTM	>400	>400	200 ~ >400
<i>C. freundii</i> (54)	TAZ/PIPC	25	100	0.78 ~ 200
	PIPC	200	>400	1.56 ~ >400
	PIPC + 2.5TAZ	50	>400	0.39 ~ >400
	CVA/TIPC	400	400	3.13 ~ 400
	SBT/ABPC	200	>400	12.5 ~ >400
	SBT/CPZ	25	200	0.78 ~ 400
	CPZ	200	>400	0.78 ~ >400
	CTM	>400	>400	25 ~ >400
<i>P. mirabilis</i> (54)	TAZ/PIPC	0.78	0.78	0.20 ~ 1.56
	PIPC	0.78	1.56	0.20 ~ >400
	PIPC + 2.5TAZ	0.78	1.56	0.20 ~ 1.56
	CVA/TIPC	1.56	1.56	0.78 ~ 50
	SBT/ABPC	3.13	12.5	1.56 ~ >400
	SBT/CPZ	3.13	6.25	0.78 ~ 6.25
	CPZ	1.56	12.5	0.78 ~ >400
	CTM	0.39	1.56	0.39 ~ 6.25

Table 10-3. Antibacterial activity of β -lactams against gram-positive and gram-negative clinical isolates

(10^8 cfu/ml)

Organism (No. of strains)	Drug	MIC ₅₀	MIC ₉₀	Range
<i>M. morgani</i> (54)	TAZ/PIPC	0.78	25	0.20 ~ 100
	PIPC	3.13	>400	0.39 ~ >400
	PIPC + 2.5TAZ	0.78	12.5	0.20 ~ >400
	CVA/TIPC	25	200	0.78 ~ >400
	SBT/ABPC	100	100	12.5 ~ >400
	SBT/CPZ	6.25	25	1.56 ~ 200
	CPZ	12.5	400	0.78 ~ >400
	CTM	>400	>400	50 ~ >400
<i>P. vulgaris</i> (54)	TAZ/PIPC	0.78	3.13	0.20 ~ 25
	PIPC	6.25	>400	0.39 ~ >400
	PIPC + 2.5TAZ	0.78	1.56	≤ 0.05 ~ 100
	CVA/TIPC	6.25	25	0.78 ~ 100
	SBT/ABPC	25	50	1.56 ~ 200
	SBT/CPZ	3.13	12.5	0.10 ~ 25
	CPZ	6.25	>400	0.39 ~ >400
	CTM	>400	>400	0.78 ~ >400
<i>P. rettgeri</i> (54)	TAZ/PIPC	3.13	25	0.20 ~ 50
	PIPC	12.5	>400	0.20 ~ >400
	PIPC + 2.5TAZ	0.78	50	0.20 ~ 400
	CVA/TIPC	25	100	0.78 ~ 200
	SBT/ABPC	50	200	0.78 ~ 200
	SBT/CPZ	12.5	100	0.39 ~ 200
	CPZ	12.5	>400	0.20 ~ >400
	CTM	400	>400	0.10 ~ >400
<i>P. aeruginosa</i> (54)	TAZ/PIPC	6.25	50	1.56 ~ 200
	PIPC	6.25	50	3.13 ~ >400
	PIPC + 2.5TAZ	6.25	25	0.39 ~ >400
	CVA/TIPC	25	200	12.5 ~ 400
	SBT/ABPC	400	>400	100 ~ >400
	SBT/CPZ	12.5	50	1.56 ~ 100
	CPZ	12.5	50	3.13 ~ >400
	CTM	>400	>400	>400
<i>A. calcoaceticus</i> (54)	TAZ/PIPC	12.5	200	0.78 ~ >400
	PIPC	100	>400	3.13 ~ >400
	PIPC + 2.5TAZ	12.5	>400	≤ 0.05 ~ >400
	CVA/TIPC	25	100	0.78 ~ 200
	SBT/ABPC	6.25	50	1.56 ~ 200
	SBT/CPZ	6.25	50	0.78 ~ >400
	CPZ	200	>400	12.5 ~ >400
	CTM	400	>400	25 ~ >400
	TAZ	12.5	50	0.39 ~ >400

E. coli に対する TAZ/ PIPC の 抗 菌 力 は PIPC, SBT/ ABPC, CVA/ TIPC より MIC₉₀ で 4 倍 優 れ, SBT/ CPZ, CPZ より 若 干 劣 っ て い た。 *K. pneumoniae* 対 し て は 10⁶cfu/ml 接 種 で は PIPC, CPZ の 抗 菌 力 は 強 か っ た が β-lactamase の 影 響 を 受 け る 10⁸cfu/ml で は 4 ～ 64 倍 の 抗 菌 力 の 減 弱 が 見 ら れ た。 し か し TAZ/ PIPC で は 10⁶, 10⁸cfu/ml 接 種 で MIC に ほ と ん ど 変 動 が 認 め ら れ ず 優 れ た 抗 菌 力 を 示 し た。 *S. marcescens* 対 し て は 10⁶, 10⁸cfu/ml 接 種 と も に TAZ/ PIPC の MIC₉₀ が 50, 200μg/ml と 高 い 値 を 示 し た が, MIC₅₀, MIC₉₀, MIC range に

Table 11. Influence of medium on antibacterial activity

Organism	Inoculum size cfu/ml	Medium	MIC (μg/ml)		
			PIPC	TAZ/PIPC	TAZ
<i>S. aureus</i> 209P JC	1.7 × 10 ⁶	MHA	0.78	0.78	50
		NA	1.56	1.56	100
		HIA	1.56	1.56	50
		BHIA	1.56	1.56	100
		TSA	0.78	0.78	50
	1.7 × 10 ⁸	MHA	1.56	1.56	100
		NA	1.56	1.56	100
		HIA	1.56	1.56	100
		BHIA	1.56	1.56	100
		TSA	1.56	1.56	100
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	1.3 × 10 ⁶	MHA	1.56	3.13	>100
		NA	6.25	6.25	>100
		HIA	1.56	3.13	>100
		BHIA	3.13	3.13	>100
		TSA	3.13	3.13	>100
	1.3 × 10 ⁸	MHA	3.13	3.13	>100
		NA	6.25	12.5	>100
		HIA	3.13	3.13	>100
		BHIA	6.25	3.13	>100
		TSA	3.13	3.13	>100
<i>K. pneumoniae</i> PCI602	1.5 × 10 ⁶	MHA	0.78	0.20	50
		NA	3.13	0.78	100
		HIA	1.56	0.39	100
		BHIA	1.56	0.39	100
		TSA	1.56	0.39	100
	1.5 × 10 ⁸	MHA	25	0.39	100
		NA	12.5	1.56	100
		HIA	12.5	0.78	100
		BHIA	25	0.78	100
		TSA	25	0.78	100
<i>P. aeruginosa</i> PA01	1.9 × 10 ⁶	MHA	3.13	6.25	>100
		NA	3.13	3.13	>100
		HIA	6.25	6.25	>100
		BHIA	3.13	6.25	>100
		TSA	3.13	3.13	>100
	1.9 × 10 ⁸	MHA	6.25	6.25	>100
		NA	12.5	12.5	>100
		HIA	6.25	12.5	>100
		BHIA	6.25	6.25	>100
		TSA	6.25	6.25	>100

MHA: Mueller-Hinton medium, NA: Nutrient agar, HIA: Heart infusion agar,
BHIA: Brain heart infusion agar, TSA: Trypticase soy agar

において使用した薬剤のうち最も小さい値を示した。*E. cloacae*および*E. aerogenes*に対してはMIC₉₀は50μg/mlであり、CTM, CVA/TIPC, SBT/ABPCより小さかった。*C. freundii*に対してはCPZ, SBT/CPZと同じMIC₉₀(100μg/ml)を示し、CTM, CVA/TIPC, SBT/ABPCの1/4~1/8の値を示した。*Proteus mirabilis*に対してはTAZ/PIPCは他剤と同様に優れた抗菌力を示し、10⁸cfu/ml接種でも、1.56μg/ml以下で全ての菌株の発育を阻止した。*M. morgani*, *P. vulgaris*および*P. rettgeri*に対してTAZ/PIPCおよびPIPC+ TAZ 2.5μg/mlのMIC₉₀は最も小さく、TAZ/PIPCの場合は各々6.25, 1.56, 12.5μg/mlであり、PIPC+TAZ 2.5μg/mlの場合は各々0.78, 1.56, 12.5μg/mlを示し、PIPCのMIC₉₀の1/8~1/64の小さい値であった。*P. aeruginosa*に対して、TAZ/PIPCはPIPC, CPZ, SBT/CPZと同等の優れた抗菌力を示し、PIPCにTAZを添加することによる拮抗現象は認められなかった。*A. calcoaceticus*に対して10⁶cfu/ml接種時のTAZ/PIPCのMIC₉₀(50μg/ml)

はSBT/ABPC, SBT/CPZより4倍大きく、CPZ, CTMの1/4倍の値を示した。またTAZ単独でも抗菌力(MIC₉₀:25μg/ml)を示し、これはSBT, CVAで報告されているのと同じ現象と考えられた^{7,8)}。

3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

1) 培地の種類による影響

使用した4菌株に対しTAZ/PIPC, PIPC, TAZの抗菌力は培地間においてほとんど変動は認められなかった。(Table 11)。

2) 培地のpHの影響

TAZ/PIPCおよびPIPCは*S. aureus*に対し、酸性側においてMICが小さくなる傾向があり、β-lactam剤で一般に見られる現象¹⁰⁾が確認された。他の菌株についてはTAZ/PIPC, PIPC, TAZいずれもMICの変動はほとんどなかった(Table 12)。

3) ウマ血清添加の影響

培地に馬血清を添加してもTAZ/PIPCのMIC変動は4倍以内であり、ほとんど影響はなかった(Table 13)。

Table 12. Influence of medium pH on antibacterial activity

Organism	Inoculum size cfu/ml	pH of medium	PIPC	MIC (μg/ml) TAZ/PIPC	TAZ
<i>S. aureus</i> 209P JC	1.7 × 10 ⁶	6	0.39	0.39	50
		7	0.78	0.78	50
		8	1.56	1.56	50
	1.7 × 10 ⁸	6	0.78	0.78	50
		7	1.56	1.56	100
		8	1.56	1.56	100
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	1.3 × 10 ⁶	6	3.13	3.13	>100
		7	1.56	3.13	>100
		8	1.56	1.56	>100
	1.3 × 10 ⁸	6	3.13	6.25	>100
		7	3.13	3.13	>100
		8	1.56	1.56	>100
<i>K. pneumoniae</i> PCI602	1.5 × 10 ⁶	6	1.56	0.39	50
		7	0.78	0.20	50
		8	1.56	0.20	100
	1.5 × 10 ⁸	6	50	1.56	100
		7	25	0.39	100
		8	25	0.20	100
<i>P. aeruginosa</i> PA01	1.9 × 10 ⁶	6	1.56	3.13	>100
		7	3.13	6.25	>100
		8	3.13	6.25	>100
	1.9 × 10 ⁸	6	6.25	12.5	>100
		7	6.25	6.25	>100
		8	6.25	12.5	>100

Medium: Mueller-Hinton medium

4) 接種菌量の影響

*K. pneumoniae*においてPIPCは接種菌量の増加とともにMICの上昇が認められ、菌量の影響を受けやすい薬剤であったが、TAZ/PIPCはほとんどMICに変化がなく、TAZ配合により接種菌量の影響を受けにくい薬剤となった。他の菌株に対しては3剤ともほとんどMICの上昇は認められなかった(Table 14)。

4. 増殖曲線に及ぼす影響

1) *S. aureus* 55に対する殺菌力

PCase産生の*S. aureus* 55を用い、TAZ/PIPCとPIPCの殺菌力を検討したところ、Fig. 1に示すようにTAZを添加することによりPIPCの殺菌力が増強された。

2) *E. coli* TEM1に対する殺菌力

臨床において分離率の最も高いTEM1型PCase産生株の*E. coli* TEM1に対し、TAZ/PIPCは12.5μg/ml (2MIC)以上の濃度でFig. 2に示すように優れた殺菌効果を示した。一方、PIPCはMICが高く、200μg/ml以上の濃度で4時間後まで菌の増殖を抑制したものの100μg/ml以下では2時間目より再増殖が認められた。また、PIPCの同じ濃度にTAZを添加した時の殺菌効果をPIPCと比較したところ、PIPC単独では菌数の減少が認められないのに対し、TAZを2.5～5.0μg/ml添加することにより速やかな菌数の減少が認められた。しかもこの時の培養液中のPIPC残存濃度をBioassay法

Table 13. Influence of serum concentration on antibacterial activity

Organism	Inoculum size cfu/ml	Concentration of horse serum (%)	PIPC	MIC (μg/ml) TAZ/PIPC	TAZ
<i>S. aureus</i> 209P JC	2.9 × 10 ⁶	0	0.78	1.56	50
		10	0.78	1.56	50
		25	1.56	1.56	50
		50	1.56	1.56	50
	2.9 × 10 ⁸	0	0.78	1.56	50
		10	1.56	1.56	50
		25	1.56	3.13	50
		50	1.56	3.13	50
	6.8 × 10 ⁵	0	1.56	1.56	>100
		10	1.56	1.56	>100
		25	1.56	1.56	>100
		50	0.78	0.78	>100
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	6.8 × 10 ⁷	0	3.13	3.13	>100
		10	3.13	3.13	>100
		25	1.56	3.13	>100
		50	1.56	1.56	>100
	1.2 × 10 ⁶	0	0.78	0.39	50
		10	0.78	0.20	100
		25	0.78	0.20	100
		50	0.78	0.10	100
<i>K. pneumoniae</i> PCI602	1.2 × 10 ⁸	0	100	0.39	100
		10	100	0.39	100
		25	50	0.20	100
		50	12.5	0.10	100
	1.7 × 10 ⁶	0	3.13	6.25	>100
		10	3.13	3.13	>100
		25	3.13	3.13	>100
		50	6.25	6.25	>100
<i>P. aeruginosa</i> PA01	1.7 × 10 ⁸	0	6.25	6.25	>100
		10	6.25	6.25	>100
		25	6.25	6.25	>100
		50	12.5	12.5	>100

Medium: Heart infusion agar (Difco)

で測定したところPIPC単独では2時間後にPIPCが消失していたのに対し、TAZを5μg/ml添加した場合、4時間培養後においてもPIPCが約90%残存していた (Fig. 3)。このことから*E. coli* TEM1が産生するPCaseによってPIPCが2時間程度で分解されたため、PIPCは殺菌

力を示すことができなくなったと考えられる。

5. PBP_sに対する親和性

S. aureus 209P JCおよび*E. coli* NIHJ JC-2のPBP_sに対するTAZ/PIPC、PIPC、TAZの親和性を測定したところ、TAZ/PIPCはPIPCと同様*S. aureus* 209P JCでは

Table 14. Influence of inoculum size on antibacterial activity

Organism	Inoculum size cfu/ml	PIPC	MIC (μg/ml) TAZ/PIPC	TAZ
<i>S. aureus</i> 209P JC	1.7 × 10 ⁸	1.56	1.56	100
	1.7 × 10 ⁷	0.78	1.56	50
	1.7 × 10 ⁶	0.78	0.78	50
	1.7 × 10 ⁵	0.78	0.78	50
	1.7 × 10 ⁴	0.78	0.78	50
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	1.3 × 10 ⁸	3.13	3.13	>100
	1.3 × 10 ⁷	1.56	3.13	>100
	1.3 × 10 ⁶	1.56	3.13	>100
	1.3 × 10 ⁵	1.56	1.56	>100
	1.3 × 10 ⁴	1.56	1.56	100
<i>K. pneumoniae</i> PCI602	1.5 × 10 ⁸	25	0.39	100
	1.5 × 10 ⁷	1.56	0.20	50
	1.5 × 10 ⁶	0.78	0.20	50
	1.5 × 10 ⁵	0.39	0.20	50
	1.5 × 10 ⁴	0.39	0.20	25
<i>P. aeruginosa</i> PA01	1.9 × 10 ⁸	6.25	6.25	>100
	1.9 × 10 ⁷	3.13	6.25	>100
	1.9 × 10 ⁶	3.13	6.25	>100
	1.9 × 10 ⁵	3.13	3.13	>100
	1.9 × 10 ⁴	3.13	3.13	>100

Medium: Mueller-Hinton medium (Difco)

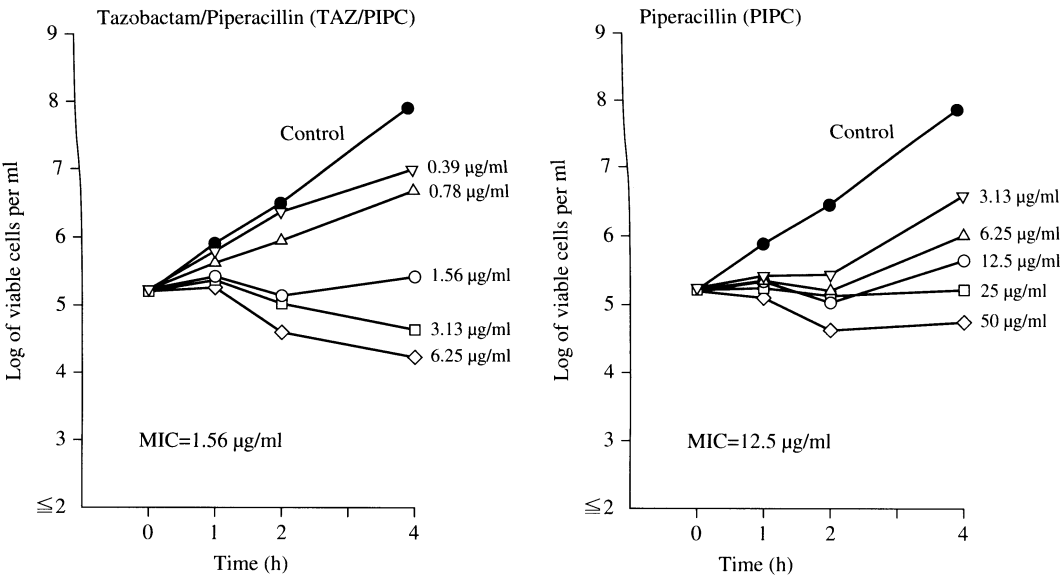


Fig. 1. Effect of tazobactam/piperacillin and piperacillin on viability of *Staphylococcus aureus* 55.

PBP2, 3, 1の順に, *E. coli* NIHJ JC-2ではPBP3, 1A, 2の順に強い親和性を示した(Fig. 4, 5)。TAZは*S. aureus* 209P JCのPBP4, 2に, *E. coli* NIHJ JC-2のPBP2に親和性を示すもののTAZ/PIPCおよびPIPCに比べ弱かった。

Ⅲ. 考 察

TAZはPIPCが分解を受けるPCaseおよび*Bacteroides* 属, *P. vulgaris*の産生するoxyiminocephalosporinaseおよびCEPase産生株に対し, 優れた阻害活性を示し, これらの β -lactamase産生株に対してPIPCとの間で優

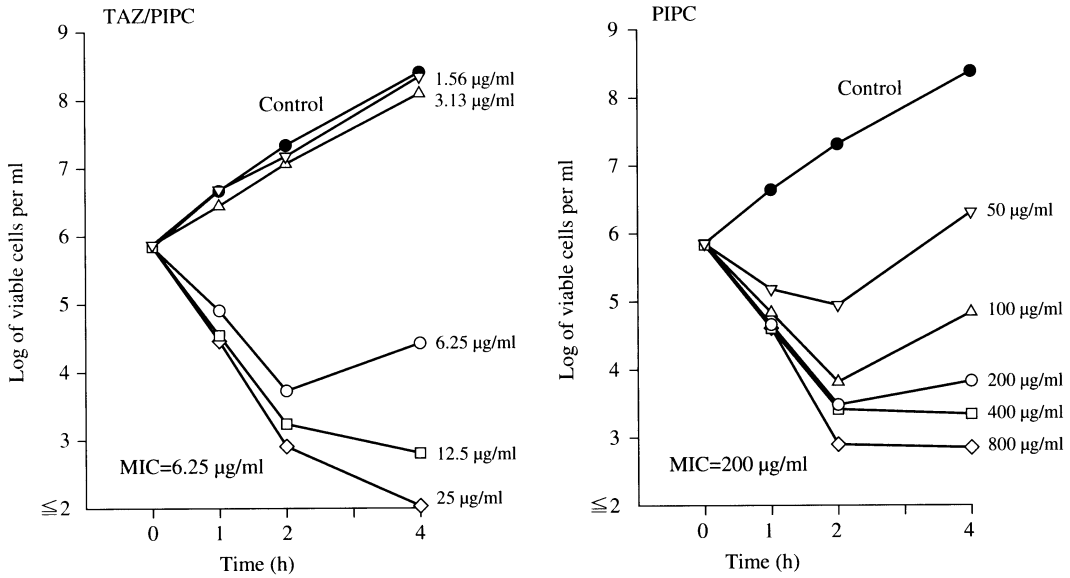


Fig. 2. Effect of tazobactam/piperacillin and piperacillin on viability of *Escherichia coli* TEM1.

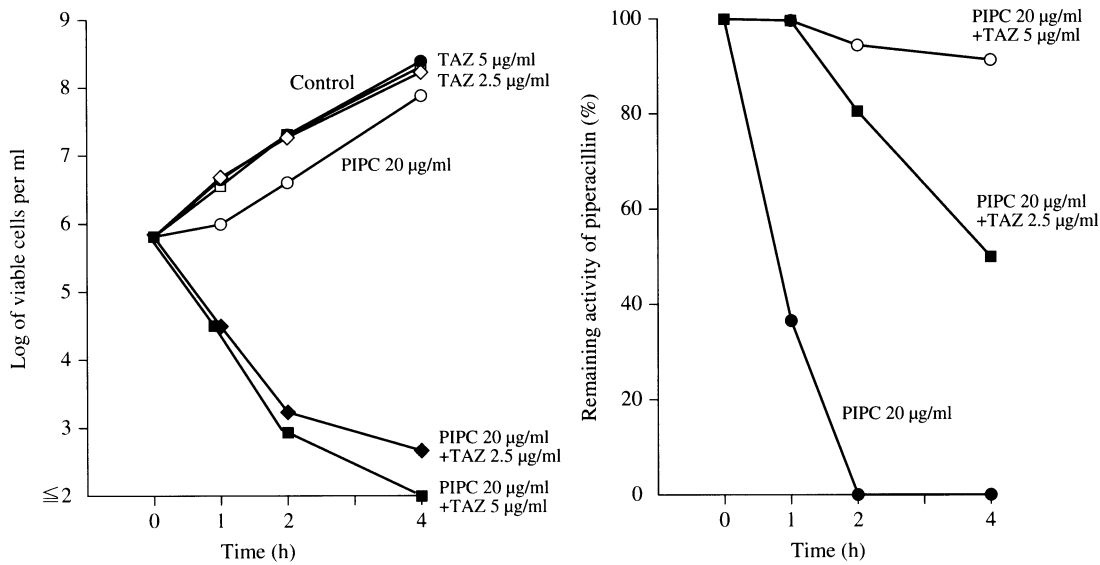


Fig. 3. Bactericidal activity and stability of piperacillin with/without tazobactam against *Escherichia coli* TEM1.

れた相乗効果を発揮した。Higashitani²⁾, Kitzis³⁾らは TAZがPCaseに対してCVAと同等の阻害活性を示し、CVAが阻害できないCEPaseに対してはSBTと同等以上の阻害作用を示したと報告している。PIPCは10年来臨床で使用された優れた抗生物質であるが、近年数多く開発された第3セフェム剤に比べ、*S. aureus*から*P. aeruginosa*までの幅広い抗菌スペクトルを有するもののPCase産生の*E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*に対しては十分な抗菌力を示すことができない株が多かった。一方、*E. cloacae*, *S. marcescens*, *C. freundii*などは染色体上にCEPase遺伝子を持つため第3世代セフェム剤に対して耐性を示す株が多く、TAZ/PIPCの抗菌力

も十分でない株が比較的多かった。TAZ/PIPCはTAZが強いPCase, CEPase阻害活性を有するため、PIPCの抗菌力が不十分な β -lactamase産生*E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis*に対し、優れた相乗効果を示した。また第3世代セフェム剤であるCPZが十分な抗菌力を示さない*M. morganii*, *P. vulgaris*に対しTAZ/PIPCは使用した対照薬の中で最も強い抗菌力を示した。また、TAZ/PIPCが優れた抗菌力を示す菌種に対してはPIPC + TAZ 2.5 μ g/mlがTAZ/PIPCより強い抗菌力を示し、TAZ 2.5 μ g/mlで十分なPIPCとの相乗効果が認められた。しかし、TAZ/PIPCの抗菌力が不十分な菌種に対してはPIPC + TAZ 2.5 μ g/mlの抗菌力は弱く多量の

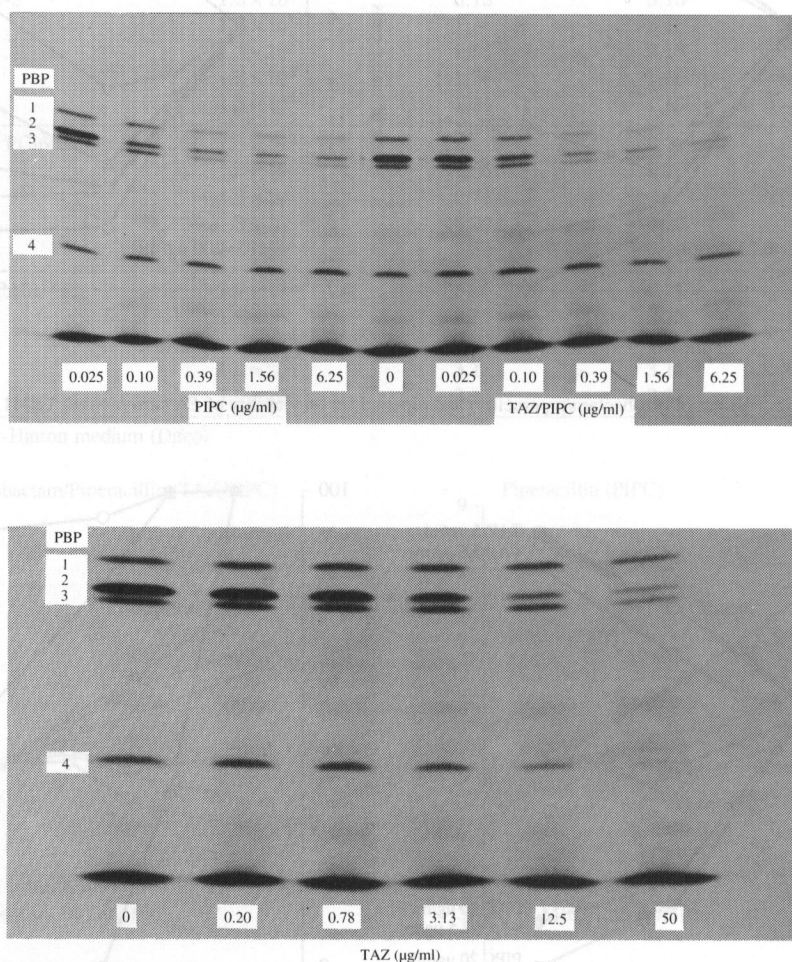


Fig. 4. Competition of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam for penicillin binding proteins (PBPs) of *Staphylococcus aureus* 209P JC.

TAZが必要と考えられる。東谷¹¹⁾、三宅¹²⁾、西野¹³⁾らはTAZ/PIPCがPCase, CEPase産生株に対し*in vivo*で優れた感染治療効果を示したと報告¹¹⁻¹³⁾しており、TAZ/PIPCの*in vitro*抗菌力は*in vivo*に反映されていると考えられた。また、TAZ/PIPCの殺菌力はPIPCに比べて強く、 β -lactamase産生菌を用いた実験からPIPCが殺菌効果を示すことができなかったのは薬剤作用2時間後にPIPCが培養液中で分解・消失することよりPIPC本来の殺菌力を示さなかったことが明らかになった。以上のことからTAZ/PIPCはPIPC本来の抗菌力をTAZを添加することにより復活させ、第3世代セフ

エム剤なみの幅広い抗菌スペクトルを獲得させたと考えられる。以上よりTAZ/PIPCは β -lactamase産生菌による感染症の治療に有用な薬剤と考えられた。

文 献

1) Gutmann L, Kitzis M D, Yamabe D, Acar J F: Comparative evaluation of a new β -lactamase inhibitor, YTR-830, combined with different β -lactam antibiotics against bacteria harboring known β -lactamase. Antimicrob Agents Chemother 29: 966~567, 1986

2) Higashitani F, Hyodo A, Ishida N, Inoue M, Mit-

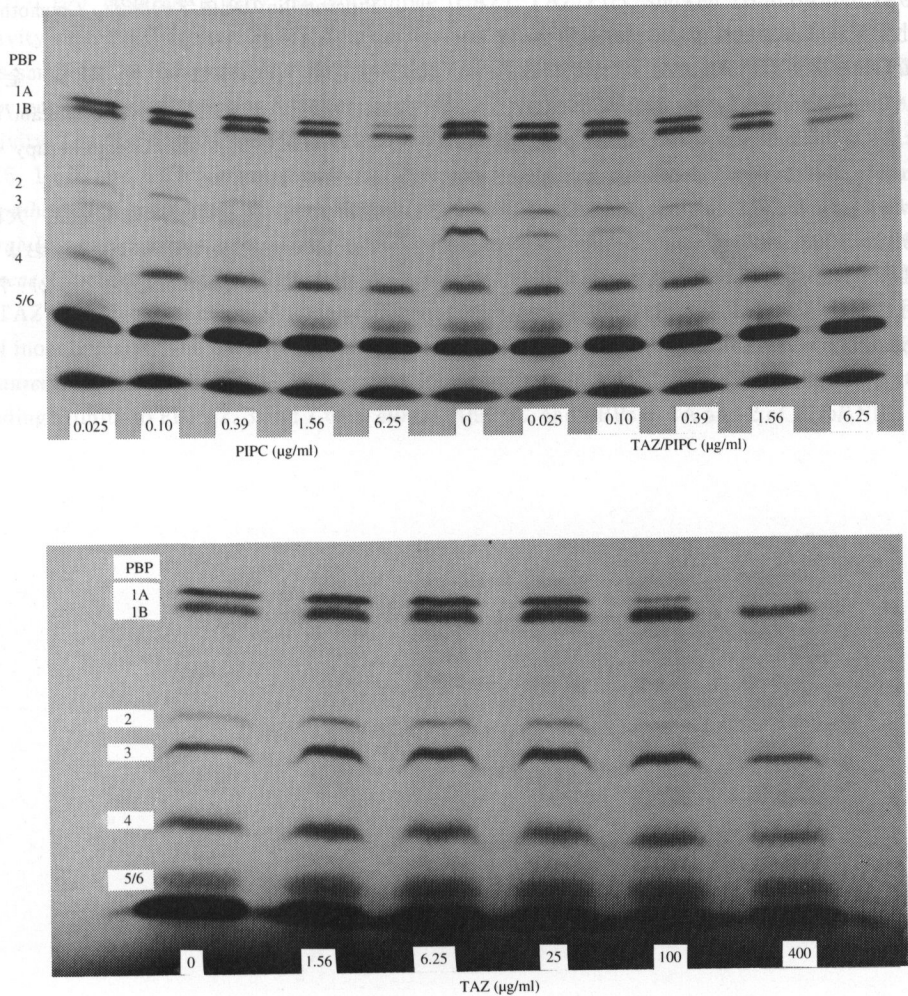


Fig. 5. Competition of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam for penicillin binding proteins (PBPs) of *Escherichia coli* NIHJ JC-2.

- suhashi S: Inhibition of β -lactamases by tazobactam and *in vitro* antibacterial activity of tazobactam combination with piperacillin. J Antimicrob Chemother 25: 567~574, 1990
- 3) Kitzis M D, Billot-Klein D, Goldstein F W, Williams R, Tran van Nhieu G, Carlet J, Acar J F, Gutmann L: Dissemination of the novel plasmid-mediated β -lactamase CTX-1, which confers resistance to broad-spectrum cephalosporins, and its inhibitors. Antimicrob Agent Chemother 32: 9~14, 1988
- 4) 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
- 5) 日本化学療法学会嫌気性菌MIC測定委員会: 嫌気性菌の最小発育阻止濃度(MIC)測定法再改訂について。Chemotherapy 27: 559~560, 1979
- 6) Spratt B G: Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation and shape of *Escherichia coli* K-12, Pro Nat Acad Sci USA 72: 2999~3003, 1975
- 7) 五島瑳智子, 小川正俊, 金子康子, 宮崎修一, 辻 明良, 桑原章吾: BRL28500 (Clavulanic acid-Ticarcillin)の抗菌作用。Chemotherapy 34 (S-4): 30~43, 1986
- 8) 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
- 9) 永武 毅, 力富直人, Mbaki Nsiala, 渡辺貴和雄, 松本慶蔵: プランハメラ・カタラーリス呼吸器感染症における症例の急増を中心に。化学療法の領域 2: 243~249, 1986
- 10) 西野武志, 羽原千恵子, 大槻雅子, 谷野輝雄: Cefodizimeの*in vitro*および*in vivo*抗菌作用。Chemotherapy 36 (S-5): 95~116, 1988
- 11) 東谷房広, 三橋 進, 井上松久: Tazobactam/Piperacillinの細菌学的評価。Chemotherapy 42 (S-2): 1~25, 1994
- 12) 三宅美行, 宮崎修一, 辻 明良, 金子康子, 山口恵三, 五島瑳智子: Tazobactam/Piperacillinの細菌学的評価。Chemotherapy 42 (S-2): 34~50, 1994
- 13) 西野武志, 西田幸一, 香本見良, 大槻雅子: Tazobactam/Piperacillinの*in vitro*および*in vivo*抗菌作用。Chemotherapy 42 (S-2): 73~101, 1994

In vitro activity of tazobactam/piperacillin, a new β -lactamase inhibitor combined with a penicillin

Chieko Kunugita, Kouichi Nishida, Fusahiro Higashitani, Akio Hyodo, Naobumi Ishida and Norio Unemi

Anticancer & Antimicrobial Research Lab., Taiho Pharmaceutical Co. Ltd.

224-2 Ebisuno, Hiraishi, Kawauchi-cho, Tokushima 771-01, Japan

Tazobactam (TAZ) is a novel β -lactamase inhibitor. Tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC) was evaluated for its antimicrobial activity in comparison with clavulanic acid/ticarcillin (CVA/TIPC), sulbactam/ampicillin (SBT/ABPC), cefoperazone (CPZ), sulbacatam/cefoperazone (SBT/CPZ), cefotiam (CTM) and ceftazidime (CAZ). TAZ/PIPC showed 16-to 64-fold stronger activity than PIPC against TEM1 β -lactamase-producing organisms, and the MIC of TAZ/PIPC was smaller than those of CVA/TIPC and SBT/ABPC, and similar to that of SBT/CPZ. PIPC had poor activity against highly β -lactamase-producing *Bacteroides* spp., but TAZ/PIPC had potent activity. The MIC₉₀s of TAZ/PIPC were 50, 6.25, 0.10, 12.5, 6.25, 50, 0.78, 25, 50, 50, 50, 100, 6.25, 1.56, and 12.5 μ g/ml against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, and *Providencia rettgeri*. The MIC of TAZ/PIPC was not changed under different conditions of the medium, pH, serum concentration and inoculum size. The bactericidal activity of TAZ/PIPC was stronger than that of PIPC against *S. aureus* 55 and *E. coli* TEM1 at concentrations higher than 1 MIC. TAZ/PIPC showed a strong binding affinity to PBPs 2, 3 and 1 of *S. aureus* 209P JC, and PBPs 3, 1A and 2 of *E. coli* NIHJ JC-2.