

Tazobactam/Piperacillinの*in vitro*および*in vivo*抗菌作用

西野武志・西田幸一・香本晃良・大槻雅子

京都薬科大学微生物学教室\*

Tazobactam (TAZ) と piperacillin (PIPC) を 1:4 の割合で配合した製剤である TAZ/PIPC の  $\beta$ -lactamase 産生菌に対する *in vitro* および *in vivo* 抗菌力を PIPC, clavulanic acid/ticarcillin (CVA/TIPC), sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ), cefoperazone, cefmetazole (CMZ) および aspoxicillin (ASPC) を比較薬として検討し、以下の結果を得た。

TAZ/PIPC は腸球菌を含むグラム陽性菌、緑膿菌を含むグラム陰性菌および嫌気性菌に対して幅広い抗菌スペクトルを示した。 $\beta$ -lactamase 産生の各種臨床分離株に対する抗菌力はすべての菌種において PIPC, ASPC および CVA/TIPC より優れ、*Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii* および *Moraxella catarrhalis* に対しては cephem 剤より優れていた。TAZ/PIPC の抗菌力に及ぼす諸因子の影響について検討したところ、培地、馬血清添加および接種菌量により影響をほとんど受けなかった。

Checkerboard 法による併用効果、殺菌作用および形態に及ぼす影響の検討より TAZ と PIPC の配合で著しい相乗効果が認められ、またマウス実験的感染症に対する治療効果の検討では *in vivo* においても TAZ の  $\beta$ -lactamase 阻害効果が確認され、*in vitro* 抗菌力を反映した *in vivo* 効果が認められた。

**Key words** : tazobactam/piperacillin, tazobactam (TAZ),  $\beta$ -lactamase 阻害剤, 併用効果

一般に、R 因子によるグラム陰性桿菌、*Staphylococcus aureus* および染色体に由来する *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* の  $\beta$ -lactamase は penicillinase (PCase) とされている。染色体によるグラム陰性桿菌の産生する  $\beta$ -lactamase は cephalosporinase (CEPase) とされ、*Proteus vulgaris*, *Pseudomonas cepacia* および *Bacteroides fragilis* の産生する  $\beta$ -lactamase は oxyiminocephalosporinase (CXase) と呼ばれている<sup>1)</sup>。これらの  $\beta$ -lactamase に対し tazobactam (TAZ) は一部の CEPase を除くほとんどの  $\beta$ -lactamase に対し阻害活性を有することが報告されている<sup>2-4)</sup>。また、ampicillin 等の penicillin 系抗生物質と配合することにより優れた相乗効果を示すことも報告されている<sup>5-8)</sup>。

一方、piperacillin (PIPC) はグラム陽性菌から緑膿菌を含むグラム陰性菌にわたる幅広い抗菌スペクトルを有する<sup>9)</sup>が、PCase, CXase および一部の CEPase に分解されやすい<sup>10)</sup>という弱点があり、この弱点を克服するために TAZ を PIPC に 1:4 の割合で配合した TAZ/PIPC が注射用製剤として開発された。そこで今回我々は、各種  $\beta$ -lactamase 産生菌に対する TAZ/PIPC の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力を他剤と比較検討した。

## I. 実験材料および実験方法

## 1. 使用菌株

教室保存の標準株及び臨床より分離された  $\beta$ -lactamase 産生の methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* 36 株, methicillin-resistant *S. aureus* 37 株, *Staphylococcus epidermidis* 35 株, *Escherichia coli* 44 株, *Klebsiella pneumoniae* 44 株, *Citrobacter freundii* 33 株, *Enterobacter cloacae* 44 株, *Enterobacter aerogenes* 44 株, *Proteus vulgaris* 21 株, *Morganella morganii* 24 株, *Providencia rettgeri* 25 株, *Serratia marcescens* 43 株, *Pseudomonas aeruginosa* 36 株, *Acinetobacter calcoaceticus* 44 株, *Haemophilus influenzae* 25 株, *Moraxella catarrhalis* 10 株 および  $\beta$ -lactamase 非産生の *Enterococcus faecalis* 35 株, *Enterococcus faecium* 30 株, *Enterococcus avium* 12 株を使用した。

## 2. 使用薬剤

TAZ (大鵬薬品工業), PIPC (富山化学工業), clavulanic acid/ticarcillin (CVA/TIPC; 明治製薬), cefoperazone (CPZ; 富山化学工業), cefmetazole (CMZ; 三共), aspoxicillin (ASPC; 田辺製薬), clavulanic acid (CVA; スミスクライン・ビーチャム製薬), sulbactam (SBT; ファイザー製薬) のいずれも力価の明らかなものを使

\*〒607 京都市山科区御陵中内町5

用した。なお、TAZ/PIPCはTAZとPIPCを1:4に、sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ)はSBTとCPZを1:1に混合したものを用いた。

### 3. $\beta$ -lactamase産生の確認

$\beta$ -チェック(ファイザー製薬)に寒天上で一夜培養したコロニーを白金耳塗抹し、30分後に $\beta$ -チェックが黄色に変化した菌株を $\beta$ -lactamase産生株とした。

### 4. 薬剤感受性測定法

前培養にTryptosoya broth (TSB, ニッスイ), 感受性測定培地にHeart infusion agar (HIA, ニッスイ)を用い、日本化学療法学会最小発育阻止濃度(MIC)測定法<sup>11)</sup>に従って実施した。なお、*Streptococcus*属、*Corynebacterium diphtheriae*には10%馬脱繊維血液(大阪大学微生物研究所)を添加したHIAを、*H. influenzae*には5%の割合にFildes enrichment (Difco)を添加したHIAを測定用培地とし、37°Cで20時間培養後のMIC( $\mu\text{g/ml}$ )を求めた。嫌気性菌は、GAM寒天培地(ニッスイ)を用い、37°Cで20時間培養後のMICを求め、また*Neisseria*属は10%馬脱繊維血液を添加したチョコレート寒天培地を測定用培地とし37°Cで48時間ローソク培養後のMICを求めた。

### 5. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

#### 1) 培地の影響

寒天平板希釈法によりHIA, Nutrient agar (NA, ニッスイ), Tryptosoya agar (TSA, ニッスイ), Mueller-Hinton agar (MHA, Difco)およびSensitivity test agar (STA, 栄研)を用いて、MICを測定することにより検討した。

#### 2) 培地pHの影響

HIA中のpHを5.5, 7.0, 8.5に調整した条件下で寒天平板希釈法により薬剤感受性測定を実施した。

#### 3) 馬血清添加の影響

HIA中の非働化馬血清(大阪大学微生物研究所)の添加量を0, 10, 25, 50%としたMICの変動を寒天平板希釈法により求めた。

#### 4) 接種菌量の影響

抗菌力に及ぼす接種菌量の影響をHIAを用い、寒天平板希釈法により検討した。

### 6. Checkerboard dilution法による併用効果の検討

PIPCとTAZについて、種々の濃度を組合せたHIA平板を作製しMICを測定した。MIC値よりFractional inhibitory concentration (FIC) indexを常法<sup>12)</sup>により求めた。

### 7. $\beta$ -lactamaseに対するTAZの阻害効果の検討

対数増殖期の細胞を超音波で破碎し、未破碎細胞を遠心除去したものを粗酵素液とした。50mMリン酸緩

衝液(pH 7.0)中で粗酵素液、TAZおよび基質としてPIPC 100 $\mu\text{g/ml}$ を添加し37°Cで反応させた。経時的にサンプリングし、タングステン酸溶液により反応を停止させた後、1M MOPS緩衝液(pH 7.0)でpHを調整した。このサンプル中のPIPC残存量を、*Micrococcus luteus* ATCC 9341を用いたbioassayにより測定し、TAZの阻害効果とした。

### 8. 増殖曲線に及ぼす影響

各菌株を一夜培養後、HIB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、経時的に4時間目までの生菌数を測定した。

### 9. Penicillin binding proteins (PBPs)に対する親和性の測定

*E. coli* K-12および*A. calcoaceticus* No. 17の対数増殖期の細胞を超音波で破碎し未破碎細胞を遠心除去後、上清を100,000 $\times g$  30分遠心して膜画分を集め、 $\text{MgCl}_2$ 添加リン酸緩衝液(pH 7.0)に懸濁し10mg protein/mlの濃度とした。

PBPsに対する親和性はSpratt<sup>13)</sup>の方法を改良して行った。すなわち、30 $\mu\text{l}$ の膜画分懸濁液に3 $\mu\text{l}$ の各濃度の薬液を加え30°Cで10分間反応させた後、 $[^{14}\text{C}]$  benzylpenicillin (PCG: 50 $\mu\text{Ci/ml}$ )を3 $\mu\text{l}$ 添加しさらに30°Cで10分間反応させた。20% sarkosylおよび非放射性的PCGを加え反応を停止し、可溶画分をポリアクリルアミドゲル電気泳動により分離した。電気泳動終了後タンパクを固定し増感剤である2, 5-diphenyloxazole (DPO)をdimethylsulfoxide (DMSO)中でゲルに浸み込ませ減圧下で乾燥させた。乾燥したゲルをX-rayフィルムに密着後-80°Cで4週間露光し、現像してオートラジオグラフィーを行った。さらにX-rayフィルムをLaser Densitometer (ULTRASCAN XL, LKB)を用い各バンドのピーク面積を求めた。この面積比から $[^{14}\text{C}]$  PCGの結合の50%阻害濃度(ID<sub>50</sub>)を求めた。

### 10. 位相差顕微鏡による形態観察

スライドガラス上に各濃度の薬剤を含んだHIAをのせ、この上に対数増殖期の菌液を塗抹したカバーガラスをのせパラフィンで封入した。このようにして作製した標本を37°Cの恒温装置付の位相差顕微鏡で観察した。

### 11. マウス全身感染治療実験

ddY系雄マウス(18 $\pm$ 1g)1群8匹を用い、10% gastric mucin(和光純薬)と等量混合した菌液をマウス腹腔内に接種し、接種1, 3時間後に皮下治療を行った。5日後の生存率からProbit法によりED<sub>50</sub>(mg/mouse)およびその95%信頼限界値を算出し、治療効果として示した。

## II. 実験結果

### 1. 抗菌スペクトル

教室保存のグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対する抗菌力について検討した結果をTable 1~4に示した。Table 1, 2は $10^6$ cells/ml, Table 3, 4は $10^8$ cells/ml接種時の成績である。グラム陽性菌に対してTAZ/PIPCはPIPCと同様Viridans group *Streptococcus*に対する抗菌力は若干弱かったが、その他の菌種に対してはPIPCと同様に比較薬の中で最も強い抗菌力を示した。また、PIPC, ASPC耐性の*S. aureus* No. 80に対してもTAZ/PIPCは $\beta$ -lactamase非産生の*S. aureus*と同等の抗菌力を示した。グラム陰性菌に対しては*Enterobacter*属に対して抗菌力が若干弱かったが、その他の菌種に対してはCVA/TIPC, ASPCより強い抗菌力を示し、CMZより広い抗菌スペクトルを示した。TAZは、*Neisseria*属と*A. calcoaceticus*に対して $10^6$ cells/ml接種時のMICが0.39, 0.78 $\mu$ g/mlと強い抗菌力を示した。

嫌気性菌について $10^6$ および $10^8$ cells/ml接種時の抗菌力について検討した結果をTable 5, 6に示した。TAZ/PIPCはグラム陽性菌および陰性菌ともにcephem

剤より優れた抗菌力を示し、特に*B. fragilis*に対してはPIPCよりも強い抗菌力を示した。

### 2. 臨床分離株に対する感受性分布

$\beta$ -lactamase産生の臨床分離株に対する薬剤感受性について $10^6$ cells/ml接種時のデータをTable 7に、 $10^8$ cells/ml接種時のデータをTable 8に示した。

$10^6$ cells/ml接種時においてTAZ/PIPCはmethicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) に対し、MIC<sub>90</sub>は3.13 $\mu$ g/mlとPIPCより8倍低い値を示しCMZのつぎに良好な抗菌力を示した。Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) に対してはMIC<sub>90</sub>が100 $\mu$ g/mlとMSSAと同様にCMZのつぎに低い値を示しPIPCと比較するとある程度の抗菌力の改善が認められるものの、その値は耐性領域にあった。 $\beta$ -lactamase非産生の*E. faecalis*, *E. faecium*および*E. avium*に対するMIC<sub>90</sub>はそれぞれ6.25, 25, 12.5,  $\mu$ g/mlで、PIPCと同等の抗菌力であり比較薬の中で最も強いものであった。*E. coli*, *K. pneumoniae*に対してはMIC<sub>90</sub>が12.5 $\mu$ g/mlでありcephem剤には2~8倍劣るもののpenicillin剤の中では最も強い抗菌力であった。*C. freundii*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*においては

Table 1. Antibacterial spectrum of tazobactam/piperacillin against gram-positive bacteria ( $10^6$  cells/ml)

Organism	MIC ( $\mu$ g/ml)							
	TAZ/PIPC	PIPC	CVA/TIPC	SBT/CPZ	CPZ	CMZ	ASPC	TAZ
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0.78	0.78	1.56	3.13	1.56	0.78	1.56	25
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	1.56	0.78	1.56	3.13	1.56	1.56	3.13	50
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	1.56	1.56	3.13	3.13	3.13	1.56	6.25	50
<i>Staphylococcus aureus</i> Neumann	1.56	1.56	3.13	3.13	1.56	1.56	6.25	50
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	0.78	0.78	1.56	3.13	1.56	1.56	3.13	50
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 80	1.56	12.5	3.13	3.13	1.56	0.78	12.5	25
<i>Staphylococcus epidermidis</i> KC-1	3.13	3.13	6.25	6.25	3.13	1.56	6.25	400
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23*	0.10	$\leq 0.05$	0.39	0.20	0.10	0.78	$\leq 0.05$	50
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook*	0.20	0.10	0.78	0.39	0.20	0.78	0.39	100
<i>Streptococcus pyogenes</i> C-203*	0.20	0.10	0.78	0.20	0.10	0.78	0.20	100
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212*	3.13	3.13	50	50	25	400	6.25	>400
<i>Enterococcus faecalis</i> IFO 12968*	3.13	3.13	50	50	25	400	6.25	>400
Viridans group <i>streptococcus</i> *	12.5	12.5	50	25	12.5	50	12.5	>400
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type I*	0.10	$\leq 0.05$	1.56	0.20	0.10	0.78	0.20	25
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type II*	0.10	$\leq 0.05$	1.56	0.20	0.10	0.78	0.39	25
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type III*	0.10	$\leq 0.05$	0.78	0.39	0.20	0.78	0.20	25
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> KC-1	6.25	6.25	12.5	6.25	3.13	0.78	6.25	25
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	0.10	0.20	0.20	0.39	0.10	25
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.20	0.20	0.10	0.78	0.39	0.78	0.39	12.5
<i>Bacillus anthracis</i> KC-1	0.78	0.78	0.20	3.13	3.13	3.13	0.78	12.5

Medium: Heart infusion agar (Nissui)

\* : Supplemented with 10% horse blood

TAZ/PIPC: tazobactam/piperacillin, PIPC: piperacillin, CVA/TIPC: clavulanic acid/ticarcillin,  
SBT/CPZ: sulbactam/cefoperazone, CPZ: cefoperazone, CMZ: cefmetazole, ASPC: aspicillin,  
TAZ: tazobactam

MIC<sub>90</sub>が各々50, 100, 50 $\mu$ g/mlと高い値を示したが、比較薬の中ではSBT/CPZにつぐ値であった。*S. marcescens*においてTAZ/PIPCのMIC<sub>50</sub>およびMIC<sub>90</sub>は12.5, 200 $\mu$ g/mlであり耐性株の存在が認められるものの、これらの値は比較薬の中では最も小さな値であった。*P. vulgaris*ではTAZ/PIPCのMIC<sub>90</sub>は1.56 $\mu$ g/mlと小さな値を示し、また*M. morgani*, *P. rettgeri*ではMIC<sub>90</sub>が12.5 $\mu$ g/mlでありいずれも比較薬の中で最も小さな値であった。*P. aeruginosa*に対してTAZ/PIPCはMIC<sub>50</sub>が6.25, MIC<sub>90</sub>が25 $\mu$ g/mlでありMIC<sub>90</sub>の値はPIPC, SBT/CPZおよびCPZよりも小さかった。*H. influenzae*においてはMIC<sub>90</sub>が0.39 $\mu$ g/mlとPIPCより32倍低い値を、*M. catarrhalis*に対してはMIC<sub>90</sub>が0.10 $\mu$ g/ml

とPIPCよりも8倍低い値を示し、いずれもpenicillin剤の中では最も強い抗菌力を示した。

10<sup>8</sup>cells/ml接種時においてTAZ/PIPCのMSSAに対するMIC<sub>90</sub>は25 $\mu$ g/ml, MRSAに対するMIC<sub>90</sub>は200 $\mu$ g/mlであり、この値はCMZのつぎに低い値であった。 $\beta$ -lactamase非産生の*Enterococcus*属に対してはPIPCと同様最も強い抗菌力を示した。*E. coli*, *K. pneumoniae*に対してはMIC<sub>90</sub>が25, 12.5 $\mu$ g/mlであり、CMZに2倍劣るもののSBT/CPZと同等、PIPC, CVA/TIPCおよびCPZ等よりも優れた抗菌力を示した。*C. freundii*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*に対するTAZ/PIPCのMIC<sub>90</sub>は50, 200, 100 $\mu$ g/mlでありSBT/CPZと同等かまたは2倍高かったがその他の比較薬よりは低い値であった。*P.*

Table 2. Antibacterial spectrum of tazobactam/piperacillin against gram-negative bacteria (10<sup>6</sup> cells/ml)

Organism	MIC ( $\mu$ g/ml)							
	TAZ/PIPC	PIPC	CVA/TIPC	SBT/CPZ	CPZ	CMZ	ASPC	TAZ
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> *	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	0.20	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	0.39	0.10	0.39
<i>Neisseria meningitidis</i> *	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	0.10	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	0.39	0.10	0.39
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	3.13	3.13	3.13	0.39	0.20	0.78	6.25	100
<i>Escherichia coli</i> NIH	0.20	0.20	1.56	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	0.39	1.56	50
<i>Escherichia coli</i> K-12	0.10	0.10	1.56	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	0.39	1.56	100
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	0.78	0.78	3.13	0.20	0.10	12.5	25	100
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.39	0.78	0.78	0.39	0.20	0.20	0.39	50
<i>Salmonella typhi</i> O-901	0.39	0.39	0.78	0.39	0.20	0.39	0.39	100
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.78	0.39	1.56	0.39	0.20	0.39	0.39	100
<i>Salmonella paratyphi</i> B	1.56	1.56	0.78	0.39	0.20	0.39	0.78	100
<i>Salmonella enteritidis</i> KC-1	1.56	0.78	0.78	0.39	0.20	0.39	0.39	100
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	1.56	1.56	3.13	0.20	0.10	0.78	3.13	100
<i>Shigella flexneri</i> EW-10	1.56	1.56	3.13	0.20	0.10	0.78	1.56	100
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.39	0.39	0.78	0.10	$\leq 0.05$	0.39	1.56	100
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.39	0.39	0.78	0.10	$\leq 0.05$	0.39	1.56	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	1.56	1.56	3.13	0.20	0.10	0.78	0.78	200
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	1.56	3.13	6.25	0.39	0.20	1.56	50	200
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	12.5	12.5	100	1.56	1.56	>400	200	400
<i>Enterobacter aerogenes</i> KC-1	3.13	3.13	3.13	0.78	0.39	>400	3.13	400
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	6.25	6.25	6.25	0.78	0.78	>400	25	400
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	3.13	3.13	3.13	12.5	1.56	3.13	25	100
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	0.78	0.78	1.56	0.78	0.39	3.13	3.13	400
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	1.56	0.20	0.39	3.13	12.5	200
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.10	$\leq 0.05$	0.78	0.20	0.20	1.56	0.39	200
<i>Morganella morgani</i> Kono	1.56	1.56	6.25	6.25	3.13	6.25	400	400
<i>Providencia rettgeri</i> NIH 96	0.78	0.78	1.56	3.13	1.56	3.13	0.78	400
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	6.25	6.25	25	12.5	6.25	>400	25	>400
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Nc-5	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	>400	12.5	>400
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	3.13	3.13	25	6.25	3.13	>400	25	>400
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> Ac-54	1.56	3.13	1.56	1.56	12.5	12.5	12.5	0.78
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211**	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	0.20	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	1.56	0.10	100

Medium: Heart infusion agar (Nissui)

\* : Supplemented with 10% horse blood (Chocolate agar)

\*\* : Supplemented with 5% Fildes enrichment

*vulgaris*, *M. morgani*, *P. rettgeri*に対するMIC<sub>90</sub>は各々3.13, 25, 25 $\mu$ g/mlであり, *S. marcescens*, *P. aeruginosa*に対しては200, 100 $\mu$ g/mlとやや高い値を示したがSBT/CPZと同等または4倍低い値であり比較薬の中で最も強い抗菌力を示した。*H. influenzae*, *M. catarrhalis*に対するMIC<sub>90</sub>は1.56, 0.20 $\mu$ g/mlと最も強い抗菌力を示した。

### 3. 抗菌力に対する諸因子の影響

#### 1) 培地の影響

培地としてHIA, NA, TSA, MHAおよびSTAを用いて検討した結果をTable 9に示した。いずれの菌株, 薬剤においてもTAZ/PIPCのMICの変動は4倍以内であった。

#### 2) 培地のpHの影響

Table 10に示したように*S. aureus*では各薬剤ともpH 5.5の酸性側で抗菌力が増強した。逆に*E. coli*および*K. pneumoniae*ではpH 8.5のアルカリ側で抗菌力が増強される傾向が認められ, この傾向はTAZ/PIPCとPIPCにおいて顕著であった。*P. aeruginosa* E-2株ではTAZ/PIPC, PIPC, SBT/CPZおよびCPZでは中性付近で最も強い抗菌力を示した。

#### 3) 馬血清添加の影響

Table 11に示したように, 培地中の馬血清濃度が増加しても各薬剤ともに抗菌力に対する顕著な影響は認

められなかった。

#### 4) 接種菌量の影響

接種菌量を10<sup>4</sup>から10<sup>8</sup>cells/mlまで変動させた時の抗菌力をTable 12に示した。接種菌量の増加にともないPIPC, CPZおよびASPCの抗菌力は著しく低下した。*S. aureus* No. 80, *E. coli* No. 10および*K. pneumoniae* No. 40に対するTAZ/PIPCの抗菌力の低下は4倍以下であった。

#### 4. $\beta$ -lactamaseに対するTAZの阻害効果

Fig. 1~3にPIPCを基質とした時の各種 $\beta$ -lactamaseに対する $\beta$ -lactamase阻害剤の阻害効果を示した。*S. aureus* No. 80の産生する $\beta$ -lactamaseに対してTAZはCVAとほぼ同等の効果を示したがSBTの阻害効果はTAZ, CVAに比べると弱いものであった。*E. coli* No. 10の場合はTAZの阻害活性が最も強く, 以下CVA, SBTの順であった。*P. vulgaris* No. 35の産生する $\beta$ -lactamaseに対してはTAZが最も強い効果を示し, CVAの効果は最も弱いものであった。また, いずれの $\beta$ -lactamaseに対してもTAZは2.5 $\mu$ g/ml作用により80%以上のPIPCが残存していた。

#### 5. Checkerboard dilution法によるTAZとPIPCの併用効果

Table 13に10<sup>6</sup>cells/ml接種時のFIC indexを示した。 $\beta$ -lactamase非産生の*S. aureus* 209-P JCおよび*K. pneu-*

Table 3. Antibacterial spectrum of tazobactam/piperacillin against gram-positive bacteria (10<sup>8</sup> cells/ml)

Organism	MIC ( $\mu$ g/ml)							
	TAZ/PIPC	PIPC	CVA/TIPC	SBT/CPZ	CPZ	CMZ	ASPC	TAZ
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0.78	0.78	1.56	3.13	1.56	1.56	3.13	50
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	1.56	1.56	1.56	3.13	3.13	1.56	6.25	50
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	1.56	1.56	6.25	6.25	3.13	1.56	6.25	50
<i>Staphylococcus aureus</i> Neumann	1.56	1.56	3.13	6.25	3.13	1.56	6.25	50
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	1.56	1.56	3.13	3.13	1.56	1.56	6.25	50
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 80	6.25	>400	6.25	6.25	12.5	1.56	>400	50
<i>Staphylococcus epidermidis</i> KC-1	3.13	3.13	6.25	6.25	6.25	1.56	12.5	>400
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23*	0.20	0.10	0.78	0.39	0.20	0.78	0.20	100
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook*	0.20	0.20	1.56	0.39	0.39	0.78	0.39	200
<i>Streptococcus pyogenes</i> C-203*	0.20	0.10	0.78	0.20	0.10	0.78	0.20	100
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212*	3.13	3.13	50	50	25	>400	6.25	>400
<i>Enterococcus faecalis</i> IFO 12968*	3.13	3.13	100	100	50	>400	12.5	>400
Viridans group streptococcus*	50	50	200	100	200	50	50	>400
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type I*	0.10	0.10	1.56	0.39	0.10	0.78	0.20	25
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type II*	0.10	0.10	1.56	0.20	0.10	0.78	0.39	25
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type III*	0.10	$\leq$ 0.05	1.56	0.39	0.39	0.78	0.39	25
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> KC-1	12.5	6.25	12.5	6.25	3.13	1.56	12.5	25
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.10	0.10	1.56	0.39	0.20	0.39	0.39	50
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	3.13	12.5	6.25	1.56	1.56	1.56	25	50
<i>Bacillus anthracis</i> KC-1	1.56	1.56	0.78	6.25	3.13	3.13	3.13	25

Medium: Heart infusion agar (Nissui)

\* : Supplemented with 10% horse blood

Table 4. Antibacterial spectrum of tazobactam/piperacillin against gram-negative bacteria ( $10^8$  cells/ml)

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )							
	TAZ/PIPC	PIPC	CVA/TIPC	SBT/CPZ	CPZ	CMZ	ASPC	TAZ
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> *	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	0.20	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	0.78	0.20	0.78
<i>Neisseria meningitidis</i> *	0.10	$\leq 0.05$	0.10	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	0.39	0.10	0.39
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	6.25	3.13	6.25	0.78	0.39	1.56	6.25	200
<i>Escherichia coli</i> NIH	0.39	0.78	3.13	0.39	0.10	1.56	6.25	100
<i>Escherichia coli</i> K-12	0.39	0.39	1.56	0.20	0.20	0.78	6.25	100
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	6.25	50	25	3.13	6.25	25	400	200
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.39	0.39	0.78	0.39	0.20	0.39	1.56	100
<i>Salmonella typhi</i> O-901	0.39	0.78	1.56	0.39	0.20	0.39	3.13	100
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.78	0.39	1.56	0.39	0.20	0.39	0.78	100
<i>Salmonella paratyphi</i> B	1.56	1.56	1.56	0.39	0.39	0.39	0.78	100
<i>Salmonella enteritidis</i> KC-1	3.13	3.13	3.13	0.78	0.39	0.78	1.56	100
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	1.56	1.56	1.56	0.20	0.39	1.56	3.13	100
<i>Shigella flexneri</i> EW-10	1.56	1.56	6.25	0.20	0.20	1.56	3.13	100
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.39	0.78	1.56	0.10	0.10	0.78	3.13	100
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.78	0.39	1.56	0.10	0.10	0.78	3.13	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	3.13	1.56	6.25	0.39	0.20	1.56	1.56	200
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	1.56	50	12.5	0.78	0.39	400	400	400
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	50	100	200	12.5	50	>400	>400	>400
<i>Enterobacter aerogenes</i> KC-1	6.25	6.25	25	3.13	1.56	>400	25	>400
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	25	25	100	1.56	1.56	>400	>400	>400
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	50	25	12.5	50	12.5	400	400	200
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	1.56	1.56	1.56	0.78	0.39	100	3.13	400
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	3.13	400	3.13	12.5	200	6.25	>400	200
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	3.13	1.56	1.56	3.13	1.56	6.25	6.25	>400
<i>Morganella morganii</i> Kono	6.25	50	25	25	25	25	>400	>400
<i>Providencia rettgeri</i> NIH 96	0.78	3.13	12.5	25	12.5	100	6.25	400
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	12.5	25	25	25	50	>400	400	>400
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Nc-5	1.56	3.13	1.56	1.56	1.56	>400	50	>400
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	12.5	25	100	25	12.5	>400	400	>400
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> Ac-54	25	200	25	25	100	25	50	25
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211**	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	0.20	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	3.13	0.20	100

Medium: Heart infusion agar (Nissui)

\* : Supplemented with 10% horse blood (Chocolate agar)

\*\* : Supplemented with 5% Fildes enrichment

Table 5. Antibacterial spectrum of tazobactam/piperacillin against anaerobic bacteria ( $10^6$  cells/ml)

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )							
	TAZ/PIPC	PIPC	CVA/TIPC	SBT/CPZ	CPZ	CMZ	ASPC	TAZ
<i>Peptostreptococcus magnus</i> ATCC 14952	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	0.20	0.10	0.10	0.20	0.39	6.25
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> ATCC 14953	0.10	0.20	0.10	0.39	0.20	0.39	0.39	6.25
<i>Clostridium tetani</i>	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.39	6.25
<i>Clostridium perfringens</i>	6.25	6.25	0.78	12.5	6.25	6.25	3.13	12.5
<i>Clostridium sporogenes</i>	0.20	0.20	0.78	1.56	1.56	0.39	0.78	12.5
<i>Bacteroides fragilis</i> GM 7000	0.78	1.56	1.56	3.13	6.25	6.25	12.5	6.25
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	0.78	3.13	1.56	6.25	100	6.25	12.5	6.25
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> 5600	12.5	50	12.5	12.5	400	50	200	25
<i>Bacteroides distasonis</i> clin-99-3	12.5	100	25	25	100	25	>400	12.5
<i>Bacteroides vulgatus</i> ES-14	6.25	6.25	0.78	12.5	25	12.5	12.5	12.5
<i>Bacteroides ovatus</i> Ju-6-1	6.25	12.5	3.13	12.5	50	100	25	25

Medium: GAM agar (Nissui)

*moniae* KC-1に対してはFIC indexが0.75の部分的相乗効果を示し、*P. aeruginosa* E-2、*A. calcoaceticus* Ac-54を除くβ-lactamase産生株に対しては著しい相乗効果を示した。Table 14には10<sup>8</sup>cells/ml接種時の結果を示した。10<sup>6</sup>cells/ml接種時とほぼ同様の結果であったがFIC indexの値は10<sup>6</sup>cells/ml接種時よりもさらに小さな値を示し、併用効果がより強く認められた。

#### 6. 増殖曲線に及ぼす影響

TAZ/PIPC、PIPCおよびTAZのβ-lactamase産生*S. aureus*、*E. coli*、*P. vulgaris*、*S. marcescens*、*P. aeruginosa*および*A. calcoaceticus*の増殖曲線に及ぼす影響を検討した結果をFig. 4~9に示した。

*S. aureus* No. 80の場合、本菌株の寒天平板法によるTAZ/PIPCのMIC値は1.56μg/mlであり、TAZ/PIPCは3.13μg/ml以上の濃度で1時間目から殺菌作用が観察され、濃度依存的な殺菌効果が認められた。また、TAZ/PIPCでは顕著な殺菌効果が認められる6.25μg/ml作用でもPIPCは1時間目以降に菌の増殖が観察され、TAZではcontrolとほぼ同様の増殖が認められた。

*E. coli* No. 10の寒天平板法によるTAZ/PIPCのMIC値は6.25μg/mlであり、TAZ/PIPCは6.25μg/ml作用では2時間目まで殺菌的に作用したがそれ以降は再増殖が観察され、12.5μg/ml以上の作用では1時間目から顕著な殺菌効果が認められた。TAZ/PIPCでは顕著な殺菌効果が認められる25μg/ml作用においてPIPCは2時間目から菌の増殖が観察され、またTAZではcontrolと同様の増殖を示した。

*P. vulgaris* No. 35においては寒天平板法によるTAZ/PIPCのMIC値は1.56μg/mlであり、TAZ/PIPCは

0.78μg/ml作用では静菌的に、1.56μg/ml作用では殺菌的に作用し、濃度依存的な殺菌効果が認められた。PIPCでは3.13μg/ml、TAZでは25μg/ml以下の濃度ではcontrolと同様の増殖が観察された。

*S. marcescens* No. 2の場合、寒天平板法によるTAZ/PIPCのMIC値は25μg/mlであり、TAZ/PIPCは12.5μg/ml作用でほぼ静菌的に、25μg/ml作用では殺菌的に作用し、濃度依存的な殺菌効果が認められた。また、TAZ/PIPCでは顕著な殺菌効果が認められる25μg/ml作用でもPIPCでは1時間目から菌の増殖が観察され、TAZでは100μg/ml作用でもcontrolとほぼ同様の増殖が認められた。

*P. aeruginosa* E-2では、本菌株の寒天平板法によるTAZ/PIPCおよびPIPCのMIC値は3.13μg/mlであり、TAZ/PIPC、PIPCともに3.13μg/ml作用ではほぼ静菌的に、6.25μg/ml作用では殺菌的に作用し、濃度依存的な殺菌効果が認められた。一方、TAZは25μg/ml以下の濃度ではcontrolとほぼ同様の増殖が認められた。

*A. calcoaceticus* Ac-54の場合においては、寒天平板法によるTAZ/PIPC、PIPCおよびTAZのMIC値はそれぞれ、1.56、3.13および0.78μg/mlであり、それぞれ1MIC濃度でやや殺菌的に、それ以上の濃度では殺菌的作用を示し、濃度依存的な殺菌効果が観察された。

#### 7. 形態変化の観察

Fig. 10~13に*E. coli* K-12、*E. coli* No. 10、*P. vulgaris* No. 35および*A. calcoaceticus* Ac-54にTAZ/PIPC、PIPCおよびTAZを3または4時間作用させた時の形態に及ぼす影響を示した。

Fig. 10は*E. coli* K-12の形態に及ぼす影響を示した

Table 6. Antibacterial spectrum of tazobactam/piperacillin against anaerobic bacteria (10<sup>8</sup> cells/ml)

Organism	MIC (μg/ml)							
	TAZ/PIPC	PIPC	CVA/TIPC	SBT/CPZ	CPZ	CMZ	ASPC	TAZ
<i>Peptostreptococcus magnus</i> ATCC 14952	0.20	0.20	0.78	0.39	0.20	0.39	1.56	12.5
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> ATCC 14953	0.20	0.20	0.20	0.78	0.39	0.78	0.39	25
<i>Clostridium tetani</i>	0.39	0.39	0.78	0.10	0.10	0.20	0.78	6.25
<i>Clostridium perfringens</i>	12.5	12.5	12.5	25	12.5	12.5	25	400
<i>Clostridium sporogenes</i>	0.39	0.39	0.78	1.56	1.56	0.39	0.78	12.5
<i>Bacteroides fragilis</i> GM 7000	1.56	3.13	3.13	50	50	12.5	12.5	400
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	6.25	12.5	3.13	100	100	12.5	25	200
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> 5600	50	200	12.5	50	>400	200	200	50
<i>Bacteroides distasonis</i> clin-99-3	12.5	400	25	25	400	50	>400	12.5
<i>Bacteroides vulgatus</i> ES-14	12.5	25	0.78	50	50	25	12.5	25
<i>Bacteroides ovatus</i> Ju-6-1	12.5	25	3.13	25	50	100	25	25

Medium: GAM agar (Nissui)

Table 7-1. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinically isolated  $\beta$ -lactamase producing strains

Organism (no. of strains)	Antibiotics	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		range	50%	90%
Methicillin-susceptible <i>Staphylococcus aureus</i> (n = 36)	TAZ/PIPC	0.78 ~ 25	3.13	3.13
	PIPC	0.78 ~ 100	3.13	25
	CVA/TIPC	1.56 ~ 25	6.25	6.25
	SBT/CPZ	1.56 ~ 25	3.13	6.25
	CPZ	0.78 ~ 12.5	3.13	3.13
	CMZ	0.78 ~ 6.25	1.56	1.56
	ASPC	3.13 ~ 100	12.5	25
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (n = 37)	TAZ/PIPC	12.5 ~ 200	25	100
	PIPC	50 ~ 400	200	400
	CVA/TIPC	25 ~ 400	50	200
	SBT/CPZ	12.5 ~ 400	50	200
	CPZ	12.5 ~ > 400	200	> 400
	CMZ	6.25 ~ 100	12.5	50
	ASPC	100 ~ > 400	200	400
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (n = 35)	TAZ/PIPC	0.39 ~ 50	3.13	12.5
	PIPC	0.78 ~ 400	6.25	100
	CVA/TIPC	1.56 ~ > 400	12.5	400
	SBT/CPZ	1.56 ~ 12.5	6.25	12.5
	CPZ	0.78 ~ 12.5	3.13	6.25
	CMZ	0.78 ~ 50	12.5	25
	ASPC	1.56 ~ 400	25	200
<i>Enterococcus faecalis</i> * (n = 35)	TAZ/PIPC	3.13 ~ 6.25	3.13	6.25
	PIPC	3.13 ~ 6.25	3.13	6.25
	CVA/TIPC	50 ~ 200	100	100
	SBT/CPZ	25 ~ 200	50	100
	CPZ	12.5 ~ 100	25	50
	CMZ	400 ~ > 400	400	> 400
	ASPC	3.13 ~ 6.25	6.25	6.25
<i>Enterococcus faecium</i> * (n = 30)	TAZ/PIPC	1.56 ~ 25	12.5	25
	PIPC	1.56 ~ 25	12.5	25
	CVA/TIPC	6.25 ~ 400	100	400
	SBT/CPZ	6.25 ~ 400	50	100
	CPZ	3.13 ~ 200	25	200
	CMZ	25 ~ > 400	50	200
	ASPC	3.13 ~ 50	12.5	50
<i>Enterococcus avium</i> * (n = 12)	TAZ/PIPC	12.5	12.5	12.5
	PIPC	12.5	12.5	12.5
	CVA/TIPC	50 ~ 200	100	200
	SBT/CPZ	50	50	50
	CPZ	25	25	25
	CMZ	25 ~ 50	25	50
	ASPC	25 ~ 50	25	25

Inoculum size:  $10^6$  cells/ml\* :  $\beta$ -lactamase non-producing strain

Table 7-2. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinically isolated  $\beta$ -lactamase producing strains

Organism (no. of strains)	Antibiotics	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		range	50%	90%
<i>Escherichia coli</i> (n=44)	TAZ/PIPC	0.78 ~ 50	3.13	12.5
	PIPC	0.78 ~ >400	3.13	>400
	CVA/TIPC	1.56 ~ 400	3.13	200
	SBT/CPZ	0.10 ~ 100	0.39	12.5
	CPZ	$\leq$ 0.05 ~ 100	0.20	12.5
	CMZ	0.39 ~ 25	0.78	3.13
	ASPC	0.78 ~ >400	3.13	>400
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=44)	TAZ/PIPC	0.78 ~ 50	6.25	12.5
	PIPC	0.78 ~ >400	6.25	50
	CVA/TIPC	3.13 ~ 400	12.5	50
	SBT/CPZ	0.10 ~ 50	0.78	3.13
	CPZ	$\leq$ 0.05 ~ 50	0.78	6.25
	CMZ	0.39 ~ 100	1.56	1.56
	ASPC	12.5 ~ >400	200	>400
<i>Citrobacter freundii</i> (n=33)	TAZ/PIPC	1.56 ~ 50	12.5	50
	PIPC	3.13 ~ 400	50	200
	CVA/TIPC	1.56 ~ >400	100	>400
	SBT/CPZ	0.39 ~ 100	6.25	50
	CPZ	0.20 ~ 200	6.25	100
	CMZ	25 ~ 400	100	200
	ASPC	6.25 ~ >400	>400	>400
<i>Enterobacter cloacae</i> (n=44)	TAZ/PIPC	1.56 ~ 100	3.13	100
	PIPC	0.78 ~ >400	3.13	400
	CVA/TIPC	1.56 ~ >400	6.25	>400
	SBT/CPZ	0.10 ~ 100	0.78	50
	CPZ	0.10 ~ >400	0.78	100
	CMZ	50 ~ >400	400	>400
	ASPC	1.56 ~ >400	12.5	>400
<i>Enterobacter aerogenes</i> (n=44)	TAZ/PIPC	1.56 ~ 100	3.13	50
	PIPC	1.56 ~ >400	3.13	100
	CVA/TIPC	1.56 ~ >400	6.25	200
	SBT/CPZ	0.39 ~ 100	0.78	12.5
	CPZ	0.20 ~ 50	0.39	25
	CMZ	50 ~ >400	400	>400
	ASPC	3.13 ~ >400	50	>400
<i>Serratia marcescens</i> (n=43)	TAZ/PIPC	1.56 ~ 400	12.5	200
	PIPC	1.56 ~ >400	25	>400
	CVA/TIPC	3.13 ~ >400	100	>400
	SBT/CPZ	1.56 ~ >400	50	400
	CPZ	0.78 ~ >400	25	>400
	CMZ	6.25 ~ >400	400	>400
	ASPC	6.25 ~ >400	>400	>400
<i>Proteus vulgaris</i> (n=21)	TAZ/PIPC	0.20 ~ 25	0.78	1.56
	PIPC	0.39 ~ >400	3.13	50
	CVA/TIPC	1.56 ~ 100	6.25	25
	SBT/CPZ	0.78 ~ 25	3.13	6.25
	CPZ	0.78 ~ 200	6.25	50
	CMZ	1.56 ~ 12.5	3.13	6.25
	ASPC	12.5 ~ >400	>400	>400

Inoculum size:  $10^6$  cells/ml

Table 7-3. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinically isolated  $\beta$ -lactamase producing strains

Organism (no. of strains)	Antibiotics	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		range	50%	90%
<i>Morganella morganii</i> (n = 24)	TAZ/PIPC	0.20 ~ 25	3.13	12.5
	PIPC	0.39 ~ >400	12.5	100
	CVA/TIPC	0.78 ~ >400	25	200
	SBT/CPZ	1.56 ~ 25	3.13	12.5
	CPZ	0.78 ~ 50	6.25	50
	CMZ	3.13 ~ 400	6.25	200
	ASPC	50 ~ >400	>400	>400
<i>Providencia rettgeri</i> (n = 25)	TAZ/PIPC	0.39 ~ 25	6.25	12.5
	PIPC	0.39 ~ 200	50	100
	CVA/TIPC	1.56 ~ 400	50	200
	SBT/CPZ	0.78 ~ 50	12.5	50
	CPZ	0.78 ~ 100	12.5	50
	CMZ	0.39 ~ 400	3.13	200
	ASPC	25 ~ >400	>400	>400
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n = 36)	TAZ/PIPC	3.13 ~ 50	6.25	25
	PIPC	3.13 ~ 100	6.25	50
	CVA/TIPC	12.5 ~ 100	50	100
	SBT/CPZ	3.13 ~ 50	12.5	50
	CPZ	3.13 ~ 100	12.5	50
	CMZ	>400	>400	>400
	ASPC	50 ~ >400	200	>400
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (n = 44)	TAZ/PIPC	0.39 ~ 200	12.5	100
	PIPC	0.39 ~ >400	25	400
	CVA/TIPC	0.78 ~ 200	12.5	50
	SBT/CPZ	0.39 ~ 25	6.25	12.5
	CPZ	0.78 ~ >400	100	>400
	CMZ	0.39 ~ >400	200	400
	ASPC	0.78 ~ >400	100	200
<i>Haemophilus influenzae</i> (n = 25)	TAZ/PIPC	$\leq 0.05$ ~ 0.39	0.20	0.39
	PIPC	$\leq 0.05$ ~ 25	3.13	12.5
	CVA/TIPC	0.39 ~ 3.13	0.78	1.56
	SBT/CPZ	$\leq 0.05$ ~ 0.39	0.10	0.20
	CPZ	$\leq 0.05$ ~ 0.39	0.10	0.20
	CMZ	1.56 ~ 25	6.25	6.25
	ASPC	0.20 ~ 100	12.5	50
<i>Moraxella catarrhalis</i> (n = 10)	TAZ/PIPC	$\leq 0.05$ ~ 0.10	0.10	0.10
	PIPC	0.20 ~ 0.78	0.39	0.78
	CVA/TIPC	0.20 ~ 0.78	0.78	0.78
	SBT/CPZ	0.20 ~ 1.56	0.78	0.78
	CPZ	0.39 ~ 3.13	1.56	3.13
	CMZ	0.20 ~ 3.13	1.56	1.56
	ASPC	1.56 ~ 3.13	3.13	3.13

Inoculum size:  $10^6$  cells/ml

Table 8-1. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinically isolated  $\beta$ -lactamase producing strains

Organism (no. of strains)	Antibiotics	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		range	50%	90%
Methicillin-susceptible <i>Staphylococcus aureus</i> (n=36)	TAZ/PIPC	1.56 ~ 25	6.25	25
	PIPC	1.56 ~ >400	400	>400
	CVA/TIPC	3.13 ~ 50	6.25	25
	SBT/CPZ	3.13 ~ 25	6.25	25
	CPZ	1.56 ~ 100	6.25	25
	CMZ	1.56 ~ 12.5	1.56	6.25
	ASPC	6.25 ~ >400	100	>400
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (n=37)	TAZ/PIPC	50 ~ 200	100	200
	PIPC	200 ~ >400	>400	>400
	CVA/TIPC	50 ~ >400	200	>400
	SBT/CPZ	25 ~ >400	100	400
	CPZ	50 ~ >400	>400	>400
	CMZ	6.25 ~ 200	25	100
	ASPC	400 ~ >400	>400	>400
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (n=37)	TAZ/PIPC	0.78 ~ 100	6.25	100
	PIPC	1.56 ~ >400	200	>400
	CVA/TIPC	1.56 ~ >400	200	>400
	SBT/CPZ	1.56 ~ 50	12.5	25
	CPZ	1.56 ~ 100	6.25	25
	CMZ	0.78 ~ 200	25	100
	ASPC	1.56 ~ >400	400	>400
<i>Enterococcus faecalis</i> * (n=35)	TAZ/PIPC	3.13 ~ 12.5	6.25	6.25
	PIPC	3.13 ~ 12.5	6.25	6.25
	CVA/TIPC	50 ~ 200	100	200
	SBT/CPZ	50 ~ 200	100	100
	CPZ	25 ~ 200	50	100
	CMZ	400 ~ >400	>400	>400
	ASPC	6.25 ~ 25	6.25	12.5
<i>Enterococcus faecium</i> * (n=30)	TAZ/PIPC	6.25 ~ 400	25	50
	PIPC	6.25 ~ >400	12.5	50
	CVA/TIPC	25 ~ >400	200	>400
	SBT/CPZ	12.5 ~ >400	100	200
	CPZ	12.5 ~ >400	100	400
	CMZ	25 ~ >400	100	200
	ASPC	6.25 ~ >400	25	50
<i>Enterococcus avium</i> * (n=12)	TAZ/PIPC	25 ~ 50	25	50
	PIPC	25 ~ 50	25	50
	CVA/TIPC	50 ~ 200	100	200
	SBT/CPZ	50 ~ 100	50	100
	CPZ	25 ~ 50	25	50
	CMZ	25 ~ 50	50	50
	ASPC	25 ~ 50	25	50

Inoculum size:  $10^8$  cells/ml\* :  $\beta$ -lactamase non-producing strain

Table 8-2. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinically isolated  $\beta$ -lactamase producing strains

Organism (no. of strains)	Antibiotics	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		range	50%	90%
<i>Escherichia coli</i> (n = 44)	TAZ/PIPC	1.56 ~ 50	3.13	25
	PIPC	0.78 ~ >400	3.13	>400
	CVA/TIPC	1.56 ~ >400	6.25	400
	SBT/CPZ	0.20 ~ 200	0.78	25
	CPZ	0.10 ~ >400	0.39	>400
	CMZ	0.78 ~ 50	1.56	12.5
	ASPC	1.56 ~ >400	6.25	>400
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n = 44)	TAZ/PIPC	1.56 ~ 200	6.25	12.5
	PIPC	25 ~ >400	>400	>400
	CVA/TIPC	12.5 ~ 400	25	100
	SBT/CPZ	0.39 ~ 200	1.56	12.5
	CPZ	0.20 ~ >400	12.5	>400
	CMZ	0.78 ~ 200	3.13	6.25
	ASPC	200 ~ >400	>400	>400
<i>Citrobacter freundii</i> (n = 33)	TAZ/PIPC	3.13 ~ 100	25	50
	PIPC	6.25 ~ >400	200	400
	CVA/TIPC	3.13 ~ >400	200	>400
	SBT/CPZ	0.78 ~ 100	12.5	50
	CPZ	1.56 ~ >400	100	400
	CMZ	50 ~ 400	100	400
	ASPC	25 ~ >400	>400	>400
<i>Enterobacter cloacae</i> (n = 44)	TAZ/PIPC	3.13 ~ 200	6.25	200
	PIPC	1.56 ~ >400	12.5	>400
	CVA/TIPC	1.56 ~ >400	100	>400
	SBT/CPZ	0.39 ~ 100	1.56	100
	CPZ	0.39 ~ >400	3.13	>400
	CMZ	100 ~ >400	>400	>400
	ASPC	6.25 ~ >400	400	>400
<i>Enterobacter aerogenes</i> (n = 44)	TAZ/PIPC	3.13 ~ 100	12.5	100
	PIPC	3.13 ~ >400	12.5	>400
	CVA/TIPC	6.25 ~ >400	50	400
	SBT/CPZ	0.39 ~ 100	3.13	50
	CPZ	0.20 ~ >400	12.5	>400
	CMZ	100 ~ >400	>400	>400
	ASPC	12.5 ~ >400	>400	>400
<i>Serratia marcescens</i> (n = 43)	TAZ/PIPC	3.13 ~ >400	50	200
	PIPC	3.13 ~ >400	>400	>400
	CVA/TIPC	6.25 ~ >400	400	>400
	SBT/CPZ	3.13 ~ >400	50	>400
	CPZ	3.13 ~ >400	>400	>400
	CMZ	25 ~ >400	400	>400
	ASPC	50 ~ >400	>400	>400
<i>Proteus vulgaris</i> (n = 21)	TAZ/PIPC	0.39 ~ 25	1.56	3.13
	PIPC	0.78 ~ >400	200	>400
	CVA/TIPC	1.56 ~ 200	12.5	100
	SBT/CPZ	0.78 ~ 50	6.25	12.5
	CPZ	1.56 ~ >400	200	>400
	CMZ	3.13 ~ >400	3.13	>400
	ASPC	400 ~ >400	>400	>400

Inoculum size:  $10^8$  cells/ml

Table 8-3. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin against clinically isolated  $\beta$ -lactamase producing strains

Organism (no. of strains)	Antibiotics	MIC ( $\mu$ g/ml)		
		range	50%	90%
<i>Morganella morganii</i> (n = 24)	TAZ/PIPC	0.39 ~ 50	6.25	25
	PIPC	1.56 ~ >400	100	>400
	CVA/TIPC	1.56 ~ >400	50	>400
	SBT/CPZ	1.56 ~ 25	6.25	25
	CPZ	0.78 ~ >400	25	>400
	CMZ	6.25 ~ >400	25	200
	ASPC	200 ~ >400	>400	>400
<i>Providencia rettgeri</i> (n = 25)	TAZ/PIPC	0.78 ~ 50	12.5	25
	PIPC	0.78 ~ >400	>400	>400
	CVA/TIPC	3.13 ~ 400	100	400
	SBT/CPZ	0.78 ~ 100	25	100
	CPZ	0.78 ~ >400	100	>400
	CMZ	1.56 ~ 400	25	400
	ASPC	50 ~ >400	>400	>400
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n = 36)	TAZ/PIPC	6.25 ~ 100	25	100
	PIPC	6.25 ~ >400	50	>400
	CVA/TIPC	12.5 ~ >400	200	400
	SBT/CPZ	12.5 ~ 200	25	100
	CPZ	6.25 ~ >400	50	>400
	CMZ	>400	>400	>400
	ASPC	200 ~ >400	>400	>400
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (n = 44)	TAZ/PIPC	1.56 ~ >400	25	400
	PIPC	1.56 ~ >400	>400	>400
	CVA/TIPC	0.78 ~ >400	25	200
	SBT/CPZ	1.56 ~ 50	12.5	50
	CPZ	6.25 ~ >400	400	>400
	CMZ	25 ~ >400	200	>400
	ASPC	1.56 ~ >400	400	>400
<i>Haemophilus influenzae</i> (n = 25)	TAZ/PIPC	$\leq$ 0.05 ~ >400	0.39	1.56
	PIPC	$\leq$ 0.05 ~ >400	400	>400
	CVA/TIPC	0.39 ~ 400	3.13	6.25
	SBT/CPZ	$\leq$ 0.05 ~ 25	0.78	3.13
	CPZ	$\leq$ 0.05 ~ 50	12.5	50
	CMZ	1.56 ~ >400	6.25	100
	ASPC	0.20 ~ >400	>400	>400
<i>Moraxella catarrhalis</i> (n = 10)	TAZ/PIPC	0.10 ~ 0.20	0.20	0.20
	PIPC	0.20 ~ 25	1.56	6.25
	CVA/TIPC	0.39 ~ 0.78	0.78	0.78
	SBT/CPZ	0.20 ~ 1.56	0.78	1.56
	CPZ	0.78 ~ 6.25	3.13	3.13
	CMZ	0.20 ~ 3.13	1.56	1.56
	ASPC	1.56 ~ 100	6.25	50

Inoculum size:  $10^8$  cells/ml

ものである。TAZ/PIPC, PIPCとも0.003 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の濃度で菌体の伸長化が観察され, 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の濃度では溶菌像が観察された。一方, TAZでは12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の濃度では形態変化は観察されず, 25~200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 作用でbulge状の細胞が, 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上で溶菌像が観察された。

*E. coli* No. 10の形態に及ぼすTAZ/PIPCの効果を検討した結果を示したものがFig. 11である。TAZ/PIPCの場合, 0.006~200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 作用で菌体の伸長化が, 0.78 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の濃度で溶菌像が観察された。PIPCにおいては12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の濃度で菌体の伸長化が観察されたが400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 作用でも溶菌像は観察されなかつ

Table 9. Influence of medium on the antibacterial activity

Organism	Medium	MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )							
		TAZ/PIPC	PIPC	CVA/TIPC	SBT/CPZ	CPZ	CMZ	ASPC	TAZ
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	HIA	1.56	0.78	1.56	3.13	1.56	0.78	3.13	25
	NA	0.78	0.78	1.56	3.13	1.56	0.78	3.13	50
	TSA	0.78	0.78	1.56	1.56	1.56	0.78	1.56	50
	MHA	0.78	0.78	1.56	3.13	1.56	0.78	3.13	25
	STA	1.56	0.78	0.78	1.56	0.78	0.78	1.56	25
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 80	HIA	1.56	3.13	6.25	3.13	3.13	1.56	12.5	25
	NA	1.56	3.13	3.13	3.13	1.56	1.56	6.25	50
	TSA	1.56	3.13	3.13	3.13	3.13	1.56	12.5	100
	MHA	1.56	3.13	3.13	3.13	3.13	1.56	12.5	100
	STA	3.13	3.13	3.13	3.13	1.56	1.56	12.5	50
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	HIA	3.13	3.13	6.25	0.78	0.39	1.56	6.25	200
	NA	3.13	3.13	6.25	0.78	0.39	1.56	6.25	200
	TSA	1.56	3.13	3.13	0.78	0.39	1.56	6.25	200
	MHA	3.13	3.13	3.13	0.78	0.39	1.56	0.78	200
	STA	3.13	3.13	3.13	0.78	0.39	1.56	12.5	200
<i>Escherichia coli</i> No. 10	HIA	12.5	100	200	6.25	3.13	0.78	>400	400
	NA	6.25	100	200	12.5	6.25	0.78	>400	200
	TSA	12.5	100	200	12.5	6.25	1.56	>400	400
	MHA	12.5	100	200	6.25	6.25	0.78	>400	200
	STA	25	400	200	12.5	6.25	1.56	>400	200
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	HIA	1.56	1.56	3.13	0.20	0.10	0.78	1.56	200
	NA	1.56	1.56	3.13	0.20	0.10	0.78	0.78	200
	TSA	1.56	3.13	1.56	0.20	0.10	0.78	0.78	200
	MHA	0.78	1.56	1.56	0.39	0.10	0.78	3.13	200
	STA	1.56	1.56	1.56	0.20	0.10	0.78	0.78	200
<i>Klebsiella pneumoniae</i> No. 40	HIA	6.25	100	100	3.13	1.56	1.56	>400	400
	NA	6.25	200	200	3.13	3.13	1.56	>400	200
	TSA	6.25	100	200	3.13	3.13	1.56	>400	200
	MHA	6.25	100	100	3.13	1.56	1.56	>400	200
	STA	6.25	100	100	3.13	3.13	1.56	>400	200
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	HIA	12.5	50	100	12.5	12.5	>400	400	>400
	NA	6.25	12.5	50	12.5	6.25	>400	200	>400
	TSA	6.25	12.5	50	12.5	6.25	>400	200	>400
	MHA	12.5	12.5	50	25	12.5	>400	200	>400
	STA	6.25	12.5	25	12.5	6.25	>400	100	>400

Inoculum size:  $10^6$  cells/ml

HIA: Heart infusion agar (Nissui), NA: Nutrient agar (Nissui), TSA: Tryptosoya agar (Nissui), MHA: Mueller-Hinton agar (Difco), STA: Sensitivity test agar (Eiken)

た。一方、TAZでは50~200 $\mu\text{g/ml}$ 作用でbulge状の細胞が<sup>5</sup>, 200 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で溶菌像が観察された。

*P. vulgaris* No. 35に各薬剤を4時間作用させた時の形態変化をFig. 12に示した。TAZ/PIPC作用では0.20 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で伸長化が<sup>5</sup>, 1.56 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で溶菌像が観察された。PIPC作用では3.13 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で伸長化が<sup>5</sup>, 50 $\mu\text{g/ml}$ 以上で溶菌像が観察された。TAZ作用では200 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で溶菌像が観察された。

Fig. 13は*A. calcoaceticus* Ac-54の形態に及ぼす影響を示したものである。TAZ/PIPCは0.39~50 $\mu\text{g/ml}$ 作用で菌体の伸長化が<sup>5</sup>, 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で溶菌像が観察された。PIPCにおいては0.78 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で伸長化が<sup>5</sup>, 50 $\mu\text{g/ml}$ で溶菌像が観察された。一方、TAZでは0.20~50 $\mu\text{g/ml}$ 作用で菌体の伸長化が3.13 $\mu\text{g/ml}$ 以上で溶菌像が観察された。

Fig. 14~16には*E. coli* No. 10, *P. vulgaris* No. 35お

よび*S. marcescens* No. 2の位相差顕微鏡像を示した。Fig. 14の*E. coli* No. 10においてはPIPCおよびTAZ作用ではcontrolと同様の形態を示す12.5 $\mu\text{g/ml}$ 作用においてTAZ/PIPCでは著しい菌体の伸長化が観察された。同様に、Fig. 15の*P. vulgaris* No. 35においてもPIPCおよびTAZ作用ではcontrolと同様の形態を示す1.56 $\mu\text{g/ml}$ 作用においてTAZ/PIPCでは菌体の伸長化とともにspheroplast様構造も観察された。Fig. 16に示した*S. marcescens* No. 2に対してはTAZ/PIPC 25 $\mu\text{g/ml}$ 作用で菌体の著しい伸長化が観察されたがPIPCおよびTAZ作用では形態変化はほとんど観察されなかった。

#### 8. PBPsに対する親和性の検討

Table 15に*E. coli* K-12のPBPsに対するTAZ/PIPCの親和性を示した。TAZ/PIPCはPBP 3に対して最も強い親和性を有し、以下PBP 2, 1A, 1Bs, 4, 5/6の順に親和性を示した。PIPCもTAZ/PIPCと同様の親和性が

Table 10. Influence of medium pH on the antibacterial activity

Organism	Medium pH	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )							
		TAZ/PIPC	PIPC	CVA/TIPC	SBT/CPZ	CPZ	CMZ	ASPC	TAZ
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	5.5	$\leq 0.05$	0.10	0.39	0.20	0.10	0.39	0.78	25
	7.0	0.78	0.39	1.56	3.13	0.78	0.78	1.56	25
	8.5	0.78	0.78	1.56	3.13	1.56	0.78	1.56	25
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 80	5.5	0.78	1.56	1.56	0.78	0.39	0.78	3.13	25
	7.0	1.56	3.13	3.13	3.13	1.56	1.56	12.5	50
	8.5	1.56	3.13	3.13	6.25	3.13	1.56	12.5	50
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	5.5	6.25	6.25	6.25	0.78	0.39	1.56	12.5	200
	7.0	3.13	1.56	3.13	0.39	0.20	1.56	6.25	200
	8.5	1.56	1.56	3.13	0.39	0.20	1.56	12.5	200
<i>Escherichia coli</i> No. 10	5.5	25	>400	200	12.5	6.25	1.56	>400	200
	7.0	6.25	100	200	3.13	3.13	0.78	>400	200
	8.5	1.56	25	200	1.56	0.78	0.78	>400	200
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	5.5	1.56	1.56	6.25	0.39	0.10	1.56	3.13	200
	7.0	0.78	0.78	3.13	0.20	0.10	0.78	0.78	200
	8.5	0.39	0.39	6.25	0.20	0.10	0.78	1.56	200
<i>Klebsiella pneumoniae</i> No. 40	5.5	25	>400	200	6.25	6.25	3.13	>400	400
	7.0	6.25	100	200	3.13	1.56	1.56	>400	400
	8.5	3.13	50	200	1.56	1.56	1.56	>400	400
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	5.5	6.25	12.5	50	25	25	>400	400	>400
	7.0	6.25	6.25	50	12.5	12.5	>400	400	>400
	8.5	12.5	25	50	25	12.5	>400	400	>400

Inoculum size:  $10^6$  cells/ml

Medium: Heart infusion agar (Nissui)

ターンを示し、その親和性の強さもTAZ/PIPCと同じ程度であった。TAZはPBP 2に対し強い親和性を示し、以下PBP 1A, 4, 3, 1Bs, 5/6の順に親和性を示したが、その親和性の強さはPIPCと比較するとPBP 1Aに対しては約1/7倍、PBP 1Bs, 2に対しては約1/50倍、PBP 3に対しては1/2000倍であった。

*A. calcoaceticus* No. 17のPBPに対するTAZ/PIPCの親和性をTable 16に示した。TAZ/PIPCはPBP 3に対して最も強い親和性を有し、以下PBP 4, 2, 1の順に親和性を示した。PIPCにおいてもTAZ/PIPCと同様の親和性パターンを示し、その親和性の強さもTAZ/PIPCとほぼ同じ程度であった。さらに、TAZもPBP 3

に対し強い親和性を示し、TAZ/PIPC, PIPCと同じ親和性のパターンを示したが、その親和性の強さはPIPCと比較するとPBP 1に対しては約1/5倍、PBP 2に対しては約1/20倍、PBP 3に対しては1/100倍以下、PBP 4に対しては約1/9倍であった。

#### 9. マウス実験的感染症に対する治療効果

##### 1) $\beta$ -lactamase産生および非産生株での治療効果の検討

$\beta$ -lactamase非産生の*E. coli* KC-14および*E. coli* KC-14にPCase Type I(PCase I)産生plasmidを導入した*E. coli* SB-277, 同じくPCase Type III(PCase III)産生plasmidを導入した*E. coli* SB-279を用いてTAZ/PIPC

Table 11. Influence of horse serum on the antibacterial activity

Organism	house serum (%)	MIC ( $\mu$ g/ml)							
		TAZ/PIPC	PIPC	CVA/TIPC	SBT/CPZ	CPZ	CMZ	ASPC	TAZ
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0	0.78	0.78	1.56	3.13	1.56	0.78	1.56	25
	10	0.78	0.78	1.56	3.13	1.56	0.78	1.56	25
	25	0.78	0.78	1.56	3.13	1.56	0.78	1.56	25
	50	0.78	0.78	1.56	3.13	1.56	0.78	1.56	25
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 80	0	1.56	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	12.5	50
	10	3.13	12.5	6.25	3.13	3.13	1.56	12.5	50
	25	3.13	12.5	6.25	6.25	3.13	1.56	12.5	50
	50	3.13	12.5	6.25	6.25	3.13	1.56	12.5	50
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	0	3.13	3.13	6.25	0.78	0.39	1.56	6.25	100
	10	3.13	3.13	6.25	0.78	0.39	1.56	12.5	200
	25	3.13	3.13	6.25	0.78	0.39	1.56	12.5	200
	50	3.13	3.13	6.25	0.78	0.39	1.56	12.5	200
<i>Escherichia coli</i> No. 10	0	6.25	200	200	6.25	3.13	0.78	>400	200
	10	6.25	200	200	6.25	3.13	0.78	>400	200
	25	6.25	200	200	6.25	3.13	0.78	>400	200
	50	6.25	200	200	6.25	3.13	1.56	>400	200
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	0	1.56	1.56	3.13	0.39	0.10	0.78	1.56	200
	10	1.56	1.56	3.13	0.39	0.20	0.78	1.56	200
	25	1.56	1.56	3.13	0.39	0.20	1.56	1.56	200
	50	1.56	1.56	6.25	0.39	0.20	1.56	1.56	200
<i>Klebsiella pneumoniae</i> No. 40	0	6.25	100	100	3.13	3.13	1.56	>400	100
	10	6.25	100	100	3.13	3.13	1.56	>400	400
	25	6.25	100	100	3.13	3.13	1.56	>400	400
	50	6.25	100	100	3.13	3.13	1.56	>400	400
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	0	6.25	12.5	50	12.5	6.25	>400	50	>400
	10	6.25	12.5	50	12.5	12.5	>400	>400	>400
	25	6.25	12.5	50	12.5	12.5	>400	>400	>400
	50	6.25	25	50	12.5	12.5	>400	>400	>400

Inoculum size:  $10^6$  cells/ml

Medium: Heart infusion agar (Nissui)

のマウス実験的感染症に対する治療効果を検討し、Table 17にその結果を示した。 $\beta$ -lactamase非産生の *E. coli* KC-14に対するMICはTAZ/PIPCでは0.78 $\mu$ g/ml, PIPCでは0.39 $\mu$ g/mlであったのを反映してED<sub>50</sub>値はTAZ/PIPCでは0.0577mg/mouse, PIPCでは0.0652 mg/mouseとほぼ同等であった。PCase I産生のSB-277においてはTAZ/PIPC, PIPCのMICは各々3.13,

>400 $\mu$ g/mlであり, TAZ/PIPC, PIPCのED<sub>50</sub>値はそれぞれ0.583, 3.14mg/mouseであった。さらにPCase III産生のSB-279ではTAZ/PIPC, PIPCのMICは25, 100 $\mu$ g/mlであり, TAZ/PIPC, PIPCのED<sub>50</sub>値はそれぞれ6.31, >16.0mg/mouseといずれもMICを反映した治療効果であった。

Table 12. Influence of inoculum size on the antibacterial activity

Organism	Inoculum size (cells/ml)	MIC ( $\mu$ g/ml)								
		TAZ/PIPC	PIPC	CVA/TIPC	SBT/CPZ	CPZ	CMZ	ASPC	TAZ	
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	10 <sup>8</sup>	1.56	0.78	3.13	6.25	3.13	3.13	3.13	3.13	100
	10 <sup>7</sup>	0.78	0.78	1.56	3.13	1.56	1.56	1.56	3.13	50
	10 <sup>6</sup>	0.78	0.39	1.56	3.13	0.78	0.78	0.78	1.56	25
	10 <sup>5</sup>	0.39	0.39	0.78	1.56	0.78	0.78	0.78	1.56	25
	10 <sup>4</sup>	0.39	0.39	0.78	1.56	0.78	0.78	0.78	1.56	25
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 80	10 <sup>8</sup>	6.25	>400	12.5	6.25	25	1.56	>400		50
	10 <sup>7</sup>	3.13	200	6.25	3.13	3.13	1.56	50		50
	10 <sup>6</sup>	1.56	3.13	3.13	3.13	1.56	1.56	12.5		50
	10 <sup>5</sup>	1.56	1.56	3.13	3.13	1.56	1.56	12.5		50
	10 <sup>4</sup>	1.56	1.56	3.13	3.13	1.56	1.56	12.5		50
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	10 <sup>8</sup>	3.13	3.13	6.25	1.56	0.39	1.56	12.5		200
	10 <sup>7</sup>	3.13	3.13	6.25	0.78	0.39	1.56	12.5		200
	10 <sup>6</sup>	3.13	1.56	3.13	0.39	0.20	1.56	6.25		200
	10 <sup>5</sup>	1.56	1.56	3.13	0.39	0.20	1.56	6.25		200
	10 <sup>4</sup>	1.56	1.56	3.13	0.39	0.20	1.56	6.25		200
<i>Escherichia coli</i> No. 10	10 <sup>8</sup>	6.25	>400	200	6.25	25	1.56	>400		400
	10 <sup>7</sup>	6.25	>400	200	6.25	25	1.56	>400		400
	10 <sup>6</sup>	6.25	100	200	3.13	3.13	0.78	>400		200
	10 <sup>5</sup>	3.13	50	100	3.13	1.56	0.78	>400		200
	10 <sup>4</sup>	3.13	25	100	1.56	1.56	0.78	>400		200
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	10 <sup>8</sup>	1.56	0.78	6.25	0.39	0.20	1.56	1.56		400
	10 <sup>7</sup>	1.56	0.78	3.13	0.39	0.20	0.78	0.78		200
	10 <sup>6</sup>	0.78	0.78	3.13	0.20	0.10	0.78	0.78		200
	10 <sup>5</sup>	0.39	0.39	0.78	0.10	$\leq 0.05$	0.39	0.39		100
	10 <sup>4</sup>	0.10	0.20	0.39	$\leq 0.05$	$\leq 0.05$	0.20	0.39		100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> No. 40	10 <sup>8</sup>	12.5	>400	400	6.25	>400	3.13	>400		400
	10 <sup>7</sup>	6.25	>400	200	3.13	25	1.56	>400		400
	10 <sup>6</sup>	6.25	100	200	3.13	1.56	1.56	>400		400
	10 <sup>5</sup>	3.13	50	200	3.13	1.56	1.56	>400		200
	10 <sup>4</sup>	3.13	50	100	1.56	1.56	1.56	>400		200
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	10 <sup>8</sup>	12.5	25	50	25	25	>400	>400		>400
	10 <sup>7</sup>	6.25	6.25	50	25	12.5	>400	400		>400
	10 <sup>6</sup>	6.25	6.25	50	12.5	12.5	>400	400		>400
	10 <sup>5</sup>	6.25	6.25	25	12.5	6.25	>400	100		>400
	10 <sup>4</sup>	6.25	6.25	25	12.5	6.25	>400	100		>400

Medium: Heart infusion agar (Nissui)

2) 各種β-lactamase産生菌に対する治療効果

Table 18にβ-lactamase産生菌6株に対するTAZ/PIPCの治療効果を示した。

*S. aureus* No. 9に対してはMIC値を反映して比較薬

の中で最も良い治療効果を示し、*E. coli* No. 4においてもMIC値を反映してpenicillinの中では最も良い治療効果を示した。*S. marcescens* No. 2に対しては $10^6$  cells/ml接種時のMICが $25\mu\text{g/ml}$ と比較的高いこともあ

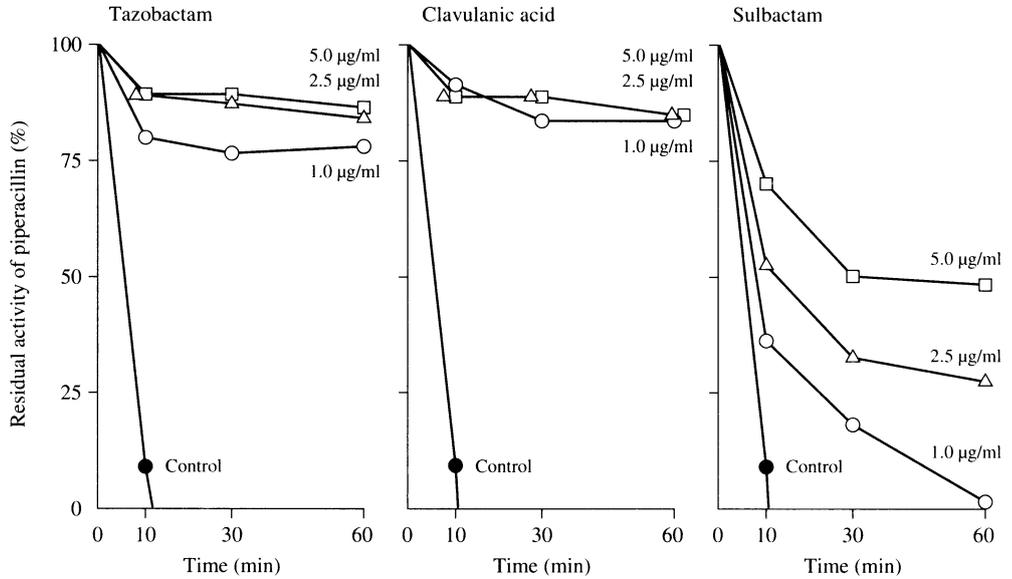


Fig. 1. Inhibitory activity of tazobactam against β-lactamase from *Staphylococcus aureus* No. 80.

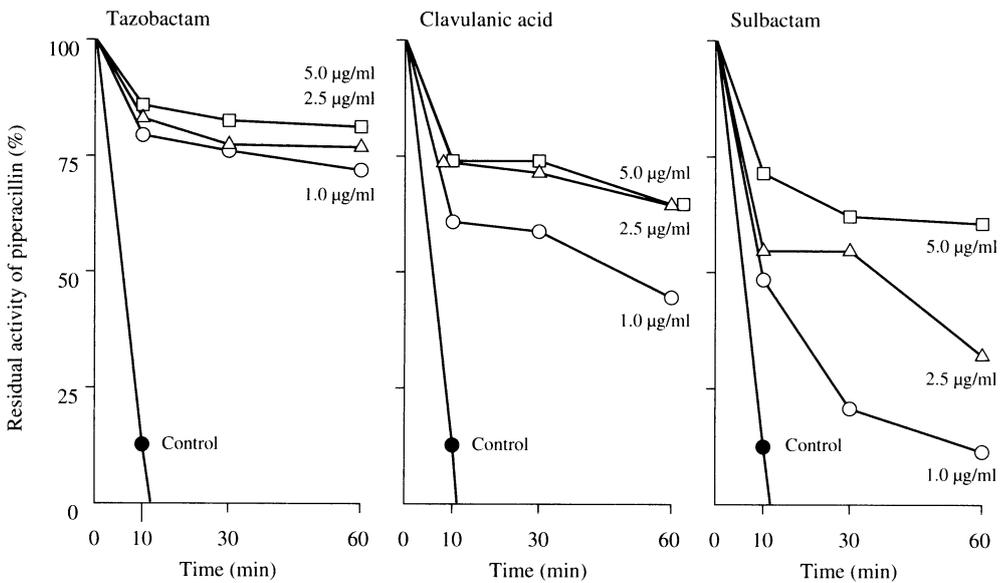


Fig. 2. Inhibitory activity of tazobactam against β-lactamase from *Escherichia coli* No. 10.

り同じ値を示すSBT/CPZおよびCPZよりは治療効果は弱かったがMICの高いPIPCよりは小さな値を示した。

*P. aeruginosa* E-2においてはPIPC, CVA/TIPCとほぼ同程度の治療効果を示し, SBT/CPZと比べると優れていたが同じMIC値を示したCPZには若干劣っていた。

*P. vulgaris* No. 123-1に対する治療効果はMIC値を反映し, 比較薬の中で最も強い治療効果を示した。*A. calcoaceticus* Ac-54に対しては同じMICである $\beta$ -lactamase inhibitor配合剤のCVA/TIPC, SBT/CPZに治療効果はやや劣ったがPIPC, CPZよりは強い治療効果を示した。

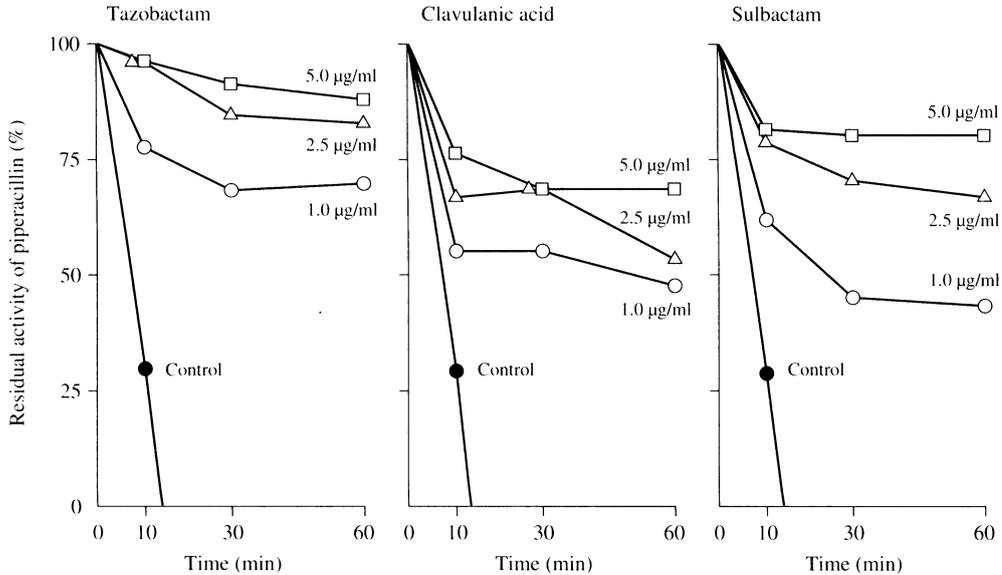


Fig. 3. Inhibitory activity of tazobactam against  $\beta$ -lactamase from *Proteus vulgaris* No. 35.

Table 13. Synergistic effect of tazobactam and piperacillin against various bacterial strains

Organism	$\beta$ -lactamase	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )			FIC index ( $a/a_0 + b/b_0$ )
		PIPC ( $a_0$ )	TAZ ( $b_0$ )	TAZ-PIPC ( $a/b$ )	
<i>S. aureus</i> 209-P JC	-	0.39	25	0.10/12.5	0.756
<i>S. aureus</i> No. 80	+	12.5	50	0.78/0.20	0.0664
<i>S. aureus</i> No. 55 (MRSA)	+	200	200	6.25/1.56	0.0391
<i>S. epidermidis</i> No. 3	+	6.25	400	0.78/3.13	0.133
<i>E. coli</i> NIH JC-2	+	3.13	200	1.56/0.10	0.499
<i>E. coli</i> No. 4	+	100	>400	3.13/6.25	<0.0469
<i>E. coli</i> No. 10	+	100	200	0.78/1.56	0.0156
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	-	0.78	200	0.39/50	0.750
<i>K. pneumoniae</i> No. 40	+	100	200	3.13/0.39	0.0333
<i>C. freundii</i> No. 31	+	50	400	6.25/12.5	0.156
<i>E. cloacae</i> No. 29	+	200	>400	12.5/25	<0.125
<i>S. marcescens</i> No. 2	+	400	400	3.13/6.25	0.0235
<i>P. vulgaris</i> No. 35	+	100	400	0.78/0.78	0.00975
<i>M. morgani</i> No. 35	+	25	200	0.39/1.56	0.0234
<i>P. aeruginosa</i> E-2	+	6.25	>400	6.25/0.05	<1.00
<i>A. calcoaceticus</i> Ac-54	+	6.25	1.56	0.05/0.78	0.508

Inoculum size:  $10^6$  cells/ml

Ⅲ. 考 察

$\beta$ -lactam系抗生物質の耐性機構としては、i)  $\beta$ -lactamaseによる薬剤の不活化、ii) 細菌外膜の薬剤透過性の低下、iii) 薬剤の標的部位であるPBPsに対する親和性の低下、の3つの因子が考えられる。これらのうち、

臨床分離株の耐性は主に $\beta$ -lactamaseによる薬剤の不活化であることが知られている。そのため、耐性菌対策の1つの方向として $\beta$ -lactamase inhibitorと既存の $\beta$ -lactam剤とを配合して $\beta$ -lactamaseを産生する耐性菌にも抗菌力を示すようにする試みが行われている<sup>14,15)</sup>。

Table 14. Synergistic effect of tazobactam and piperacillin against various bacterial strains

Organism	$\beta$ -lactamase	MIC ( $\mu$ g/ml)			FIC index (a/a <sub>0</sub> + b/b <sub>0</sub> )
		PIPC (a <sub>0</sub> )	TAZ (b <sub>0</sub> )	TAZ-PIPC (a/b)	
<i>S. aureus</i> 209-P JC	-	0.78	50	0.39/3.13	0.563
<i>S. aureus</i> No. 80	+	>400	50	3.13/0.39	<0.0156
<i>S. aureus</i> No. 55 (MRSA)	+	>400	400	25/6.25	<0.0781
<i>S. epidermidis</i> No. 3	+	200	>400	3.13/3.13	<0.0235
<i>E. coli</i> NIH JC-2	+	3.13	200	1.56/100	1.00
<i>E. coli</i> No. 4	+	>400	>400	3.13/1.56	<0.0117
<i>E. coli</i> No. 10	+	>400	200	1.56/1.56	<0.0117
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	-	1.56	200	0.78/0.05	0.500
<i>K. pneumoniae</i> No. 40	+	>400	200	3.13/1.56	<0.0156
<i>C. freundii</i> No. 31	+	400	400	12.5/12.5	0.0625
<i>E. cloacae</i> No. 29	+	400	>400	25/25	<0.125
<i>S. marcescens</i> No. 2	+	>400	>400	12.5/12.5	<0.0625
<i>P. vulgaris</i> No. 35	+	>400	400	1.56/0.39	<0.00488
<i>M. morgani</i> No. 35	+	200	400	25/1.56	0.129
<i>P. aeruginosa</i> E-2	+	25	>400	12.5/0.05	<0.500
<i>A. calcoaceticus</i> Ac-54	+	400	6.25	200/0.05	0.508

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

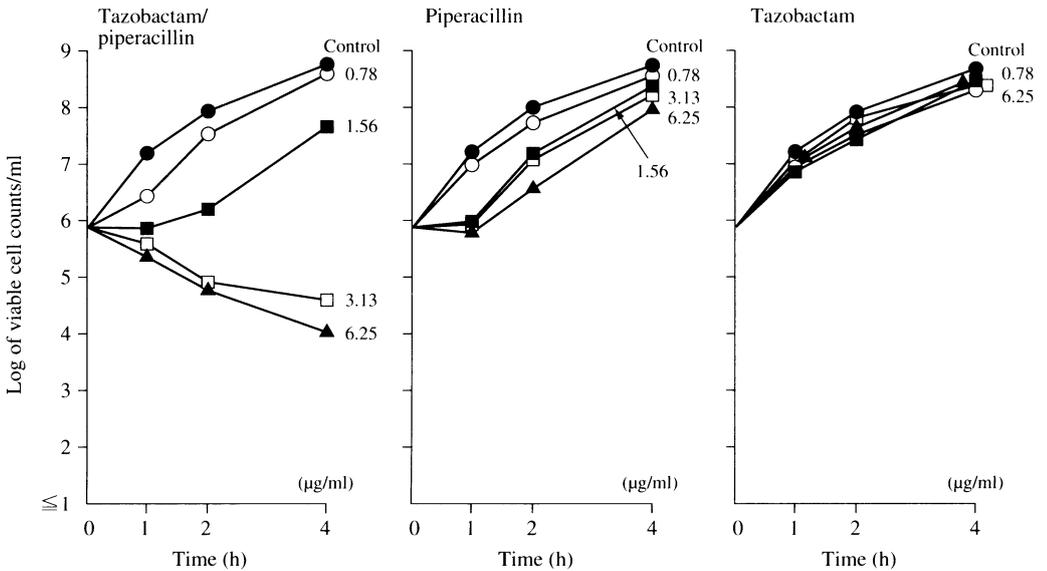


Fig. 4. Effect of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam on the viability of *Staphylococcus aureus* No. 80.

この考えに基づき新しく開発されたTAZ/PIPCは、*Enterococcus*属を含むグラム陽性菌から*P. aeruginosa*を含むグラム陰性菌および*B. fragilis*、*Peptostreptococcus*属等の嫌気性菌にまでおよぶ幅広い抗菌スペクトルを有した。

TAZはPCase、CEPaseおよびCXaseをそれぞれ産生すると考えられる*S. aureus*、*E. coli*および*P. vulgaris*由来の $\beta$ -lactamaseに対しても強い阻害効果を示し、これらの菌種に対しPIPCとの配合で顕著な相乗効果を示した。このTAZの配合によりTAZ/PIPCは $\beta$ -lacta-

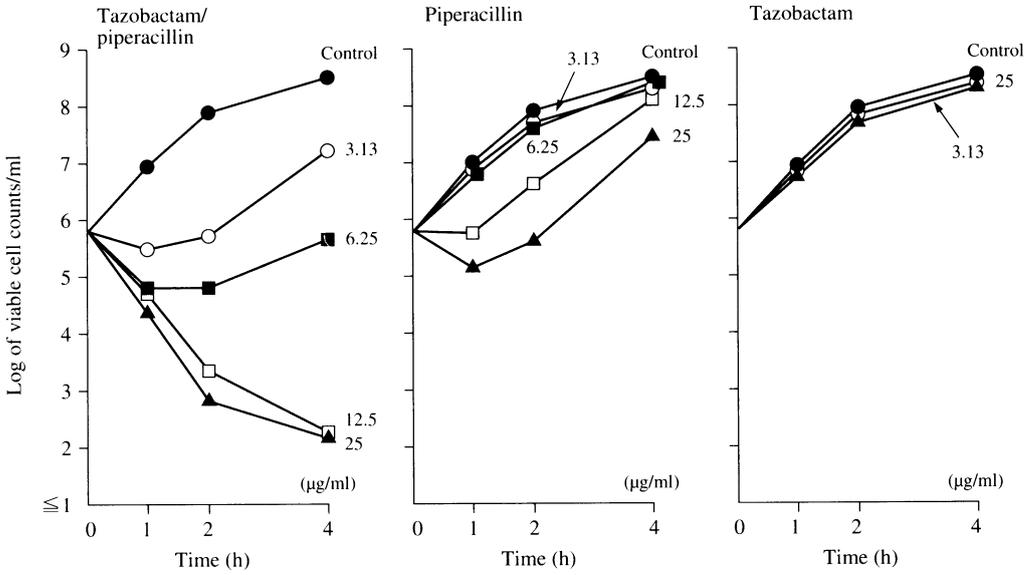


Fig. 5. Effect of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam on the viability of *Escherichia coli* No. 10.

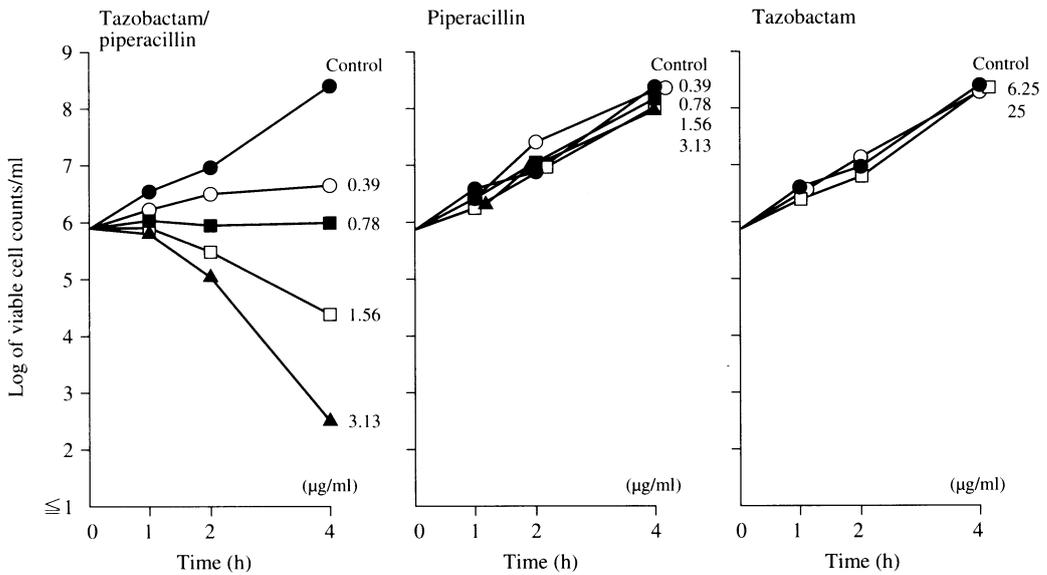


Fig. 6. Effect of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam on the viability of *Proteus vulgaris* No. 35.

mase産生の各種臨床分離株に対し、すべての菌種においてPIPC, ASPCおよびCVA/TIPCと同等以上の抗菌力を示し、*S. marcescens*, *P. vulgaris*, *M. morgani*, *P. aeruginosa*および*M. catarrhalis*に対してはcephem剤より優れた抗菌力を獲得した。さらに、 $\beta$ -lactamase産

生菌に対し、PIPCより遙かに低い薬剤濃度で殺菌的に作用し、また形態的にも菌体の伸長化、溶菌像が観察されたことはTAZ/PIPCの $\beta$ -lactamase産生菌に対する有効性を裏づけるものであると考えられた。

*E. coli* KC-14およびそれにPCase産生plasmidを導入

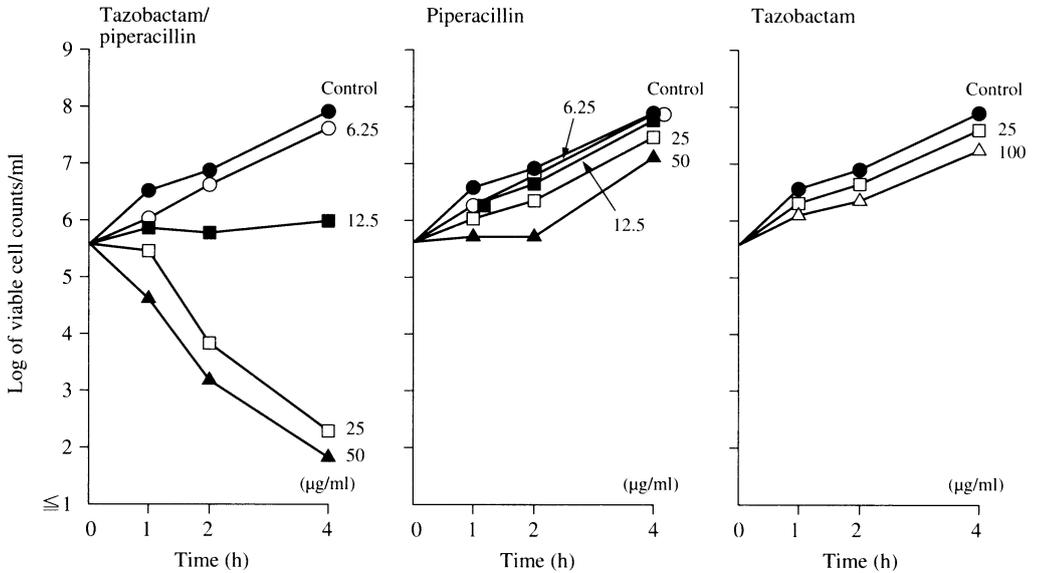


Fig. 7. Effect of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam on the viability of *Serratia marcescens* No. 2.

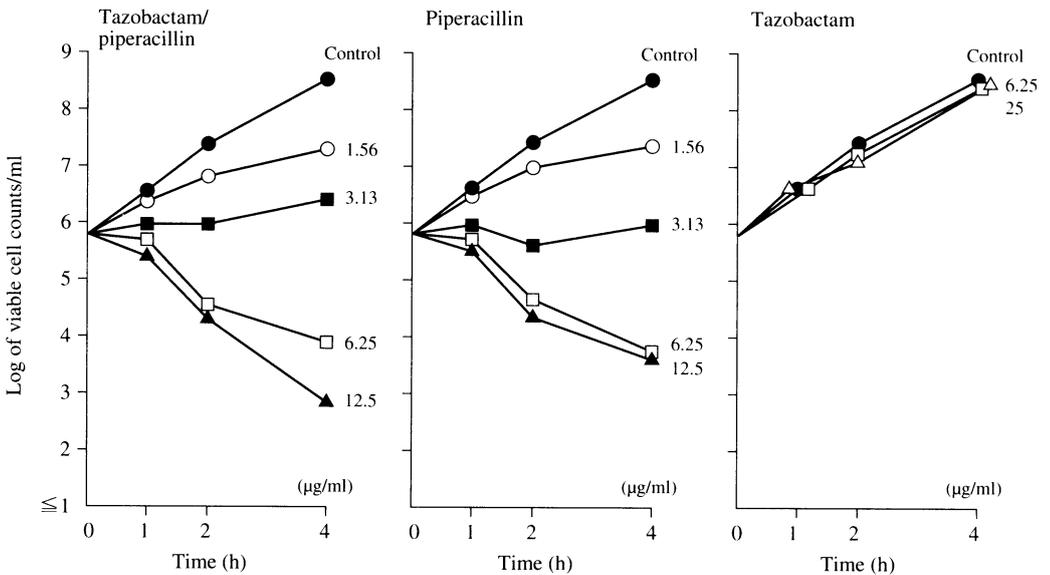


Fig. 8. Effect of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam on the viability of *Pseudomonas aeruginosa* E-2.

した菌株を用いたマウス実験的感染症に対する治療効果よりTAZ/PIPCはPIPCよりもED<sub>50</sub>値の上昇が軽度であることから*in vivo*においてもTAZはβ-lactamaseに対し有効であることが示唆された。さらに、各種β-lactamase産生菌の実験的感染症に対してもTAZ/PIPCは

MIC値を反映した治療効果を示した。しかし、*S. marcescens*No. 2においてMIC値が同じSBT/CPZおよびCPZより治療効果が劣っていた。これは、PIPC、TAZのマウスにおける血中半減期が約5分<sup>16)</sup>と非常に短いためMIC値である25μg/ml以上の濃度を必要時間維持でき

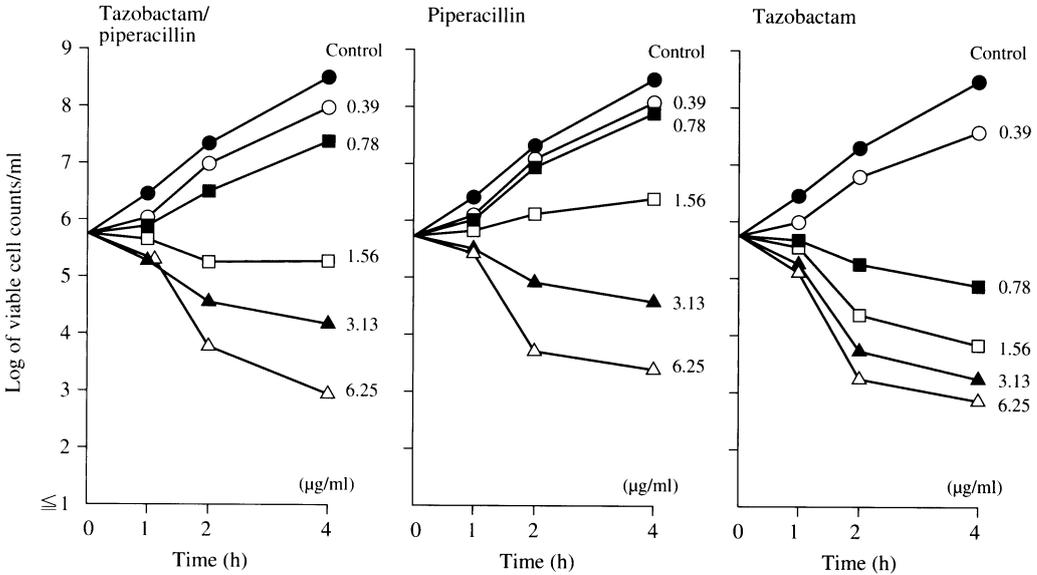


Fig. 9. Effect of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam on the viability of *Acinetobacter calcoaceticus* Ac-54.

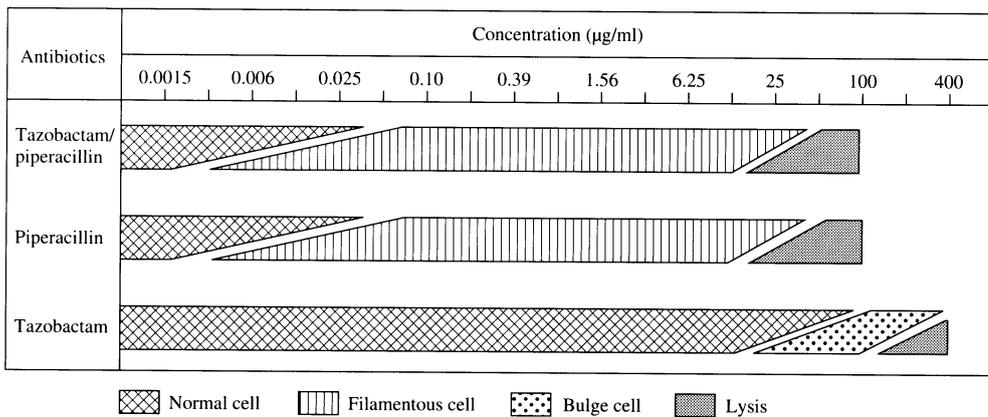


Fig.10. Morphological effect of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam on *Escherichia coli* K-12 after 3 hours' exposure.

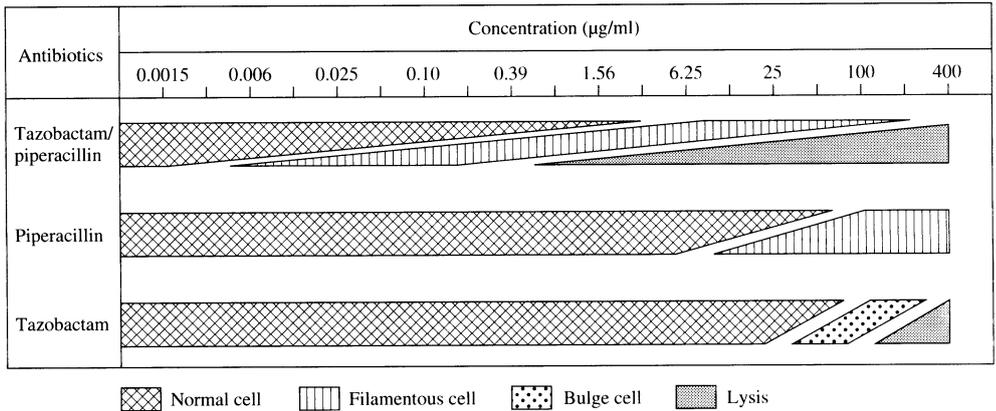


Fig. 11. Morphological effect of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam on *Escherichia coli* No. 10 after 3 hours' exposure.

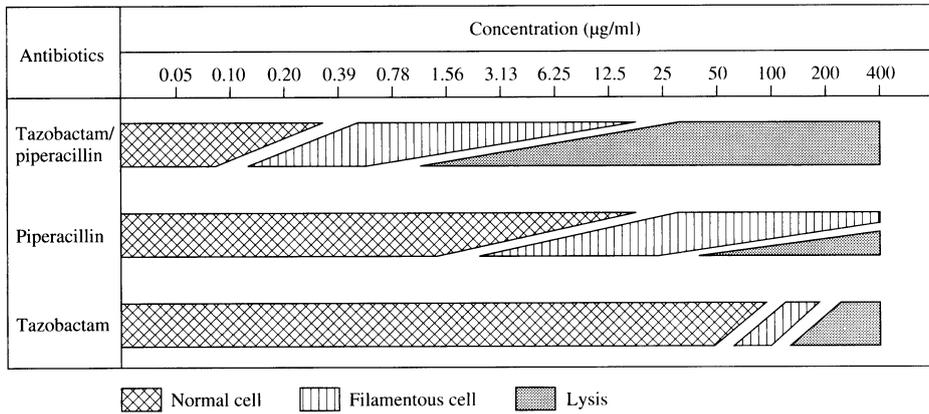


Fig. 12. Morphological effect of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam on *Proterus vulgaris* No. 35 after 4 hours' exposure.

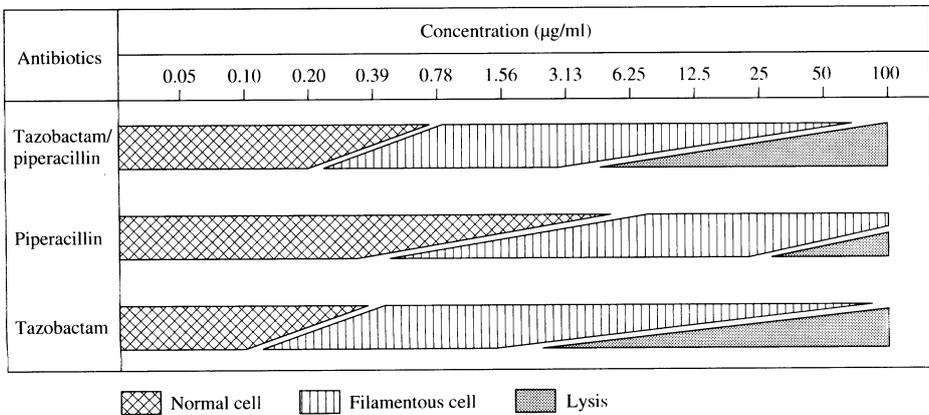


Fig. 13. Morphological effect of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam on *Acinetobacter calcoaceticus* Ac-54 after 3 hours' exposure.

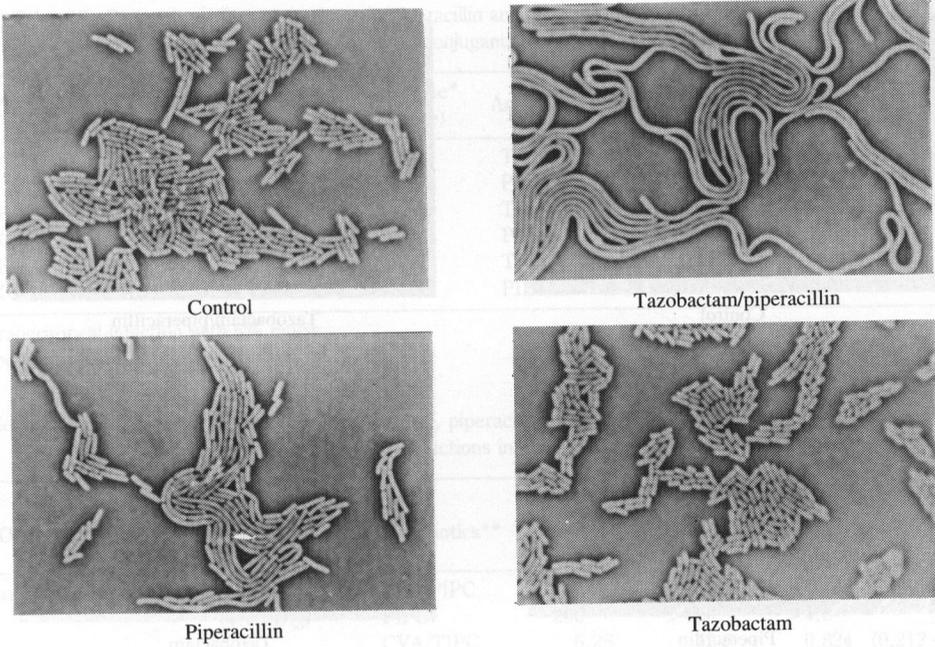


Fig. 14. Phase-contrast micrographs of *Escherichia coli* No. 10 exposed to 12.5  $\mu\text{g/ml}$  of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam for 3 hours.

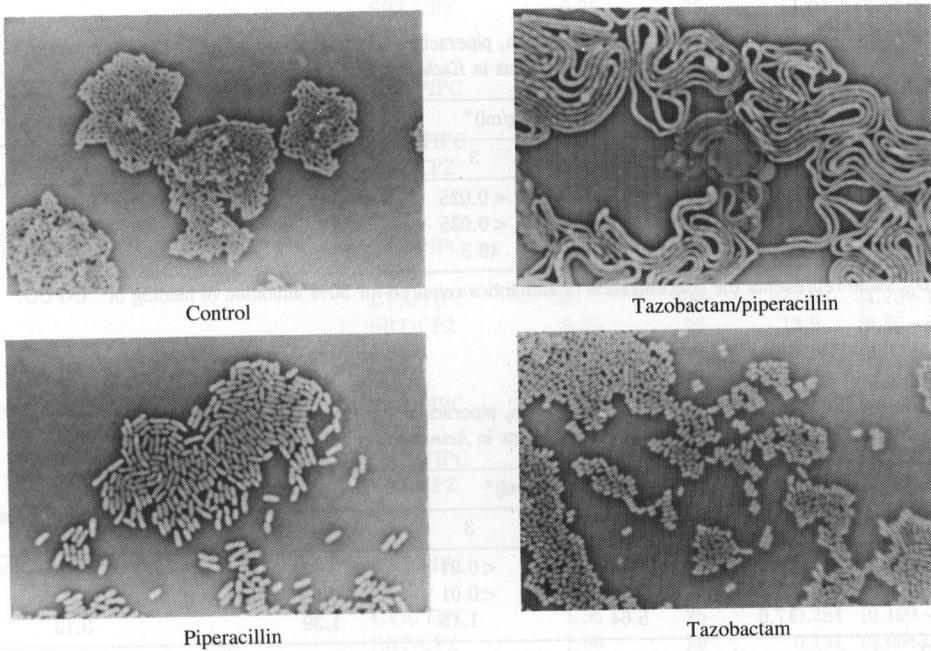


Fig. 15. Phase-contrast micrographs of *Proteus vulgaris* No. 35 exposed to 1.56  $\mu\text{g/ml}$  of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam for 4 hours.

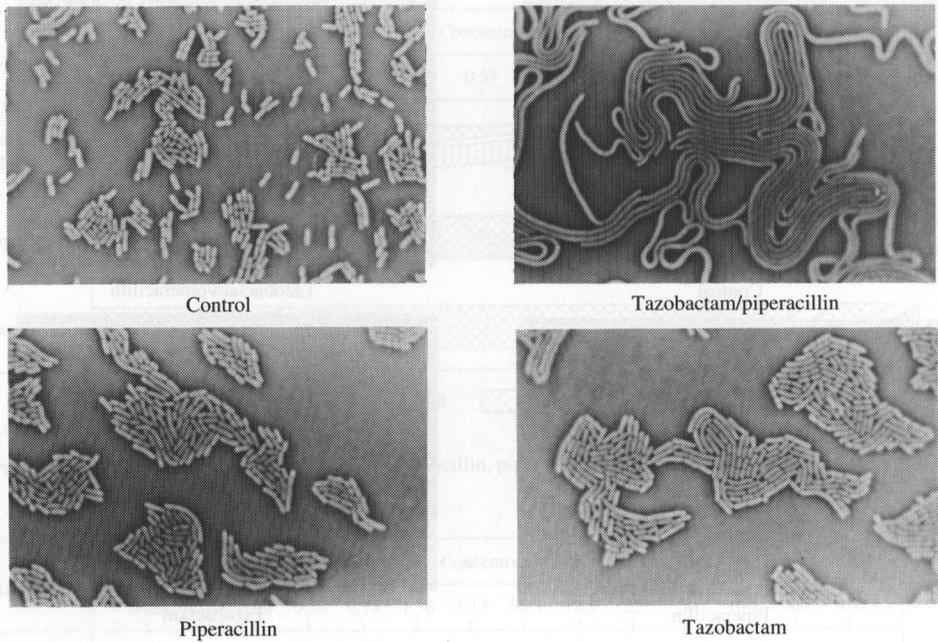


Fig. 16. Phase-contrast micrographs of *Serratia marcescense* No. 2 exposed to 25 µg/ml of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam for 3 hours.

Table 15. Competition of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam with <sup>14</sup>C-labeled penicillin G for binding to penicillin binding proteins in *Escherichia coli* K-12

Antibiotics	ID <sub>50</sub> (µg/ml)*						MIC (µg/ml)	
	1A	1Bs	2	3	4	5/6	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>
TAZ/PIPC	0.837	2.46	0.108	<0.025	6.15	>6.25	0.10	0.39
PIPC	2.40	2.62	0.161	<0.025	5.30	>6.25	0.10	0.39
TAZ	15.8	143	6.68	49.3	22.1	>400	100	100

\* : The ID<sub>50</sub> value represents the concentration of antibiotics required for 50% inhibition of binding of <sup>14</sup>C-PCG.

Table 16. Competition of tazobactam/piperacillin, piperacillin and tazobactam with <sup>14</sup>C-labeled penicillin G for binding to penicillin binding proteins in *Acinetobacter calcoaceticus* No. 17

Antibiotics	ID <sub>50</sub> (µg/ml)*				MIC (µg/ml: 10 <sup>6</sup> cells/ml)
	1	2	3	4	
TAZ/PIPC	1.44	0.534	<0.01	0.171	12.5
PIPC	3.26	0.251	<0.01	0.158	12.5
TAZ	17.0	5.64	1.15	1.39	3.13

\* : The ID<sub>50</sub> value represents the concentration of antibiotics required for 50% inhibition of binding of <sup>14</sup>C-PCG.

Table 17. Protective effect of tazobactam/piperacillin and piperacillin against experimental infection with *Escherichia coli* KC-14 and its transconjugants in mice

Organism	$\beta$ -lactamase	Challenge dose* (cells/mouse)	Antibiotics**	MIC ( $\mu$ g/ml)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)
<i>E. coli</i> KC-14		$5.3 \times 10^4$	TAZ/PIPC	0.78	0.0577 (0.0262 ~ 0.105)
			PIPC	0.39	0.0652 (0.0341 ~ 0.113)
SB-277	PCase I	$4.0 \times 10^4$	TAZ/PIPC	3.13	0.583 (0.283 ~ 4.59)
( <i>E. coli</i> KC-14/RGN823)			PIPC	>400	3.14 (2.01 ~ 10.2)
SB-279	PCase III	$3.8 \times 10^4$	TAZ/PIPC	25	6.31 (4.24 ~ 10.0)
( <i>E. coli</i> KC-14/RGN238)			PIPC	100	>16.0

\*: Intraperitoneal infection with 5% mucin

\*\*: Subcutaneous injection 1 and 3 hours after infection

Table 18. Protective effect of tazobactam/piperacillin, piperacillin, clavulanic acid/ticarcillin, sulbactam/cefoperazone and cefoperazone against experimental infections in mice

Organism	Challenge dose* (cells/mouse)	Antibiotics**	MIC ( $\mu$ g/ml)		ED <sub>50</sub> (mg/mouse)
			10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	
<i>S. aureus</i> No. 9	$4.5 \times 10^7$ (4.7 LD <sub>50</sub> )	TAZ/PIPC	3.13	6.25	0.281 (0.00174 ~ 0.753)
		PIPC	200	>400	>4.0
		CVA/TIPC	6.25	12.5	0.824 (0.212 ~ 5.02)
		SBT/CPZ	3.13	6.25	0.362 (0.107 ~ 0.714)
		CPZ	3.13	12.5	0.336 (0.0612 ~ 0.725)
<i>E. coli</i> No. 4	$1.6 \times 10^4$ (>10000LD <sub>50</sub> )	TAZ/PIPC	12.5	25	4.49 (2.97 ~ 7.00)
		PIPC	200	>400	13.8 (9.64 ~ 34.8)
		CVA/TIPC	200	200	>16.0
		SBT/CPZ	6.25	25	1.01 (0.647 ~ 1.63)
		CPZ	3.13	400	1.25 (0.698 ~ 2.63)
<i>S. marcescens</i> No. 2	$1.4 \times 10^4$ (200LD <sub>50</sub> )	TAZ/PIPC	25	50	0.782 (0.350 ~ 1.37)
		PIPC	400	>400	1.26 (0.457 ~ 3.03)
		CVA/TIPC	400	400	0.956 (0.471 ~ 2.42)
		SBT/CPZ	25	25	0.349 (0.215 ~ 0.529)
		CPZ	25	>400	0.244 (0.126 ~ 0.377)
<i>P. aeruginosa</i> E-2	$3.3 \times 10^5$ (42LD <sub>50</sub> )	TAZ/PIPC	3.13	12.5	6.42 (4.02 ~ 12.3)
		PIPC	3.13	25	7.75 (3.52 ~ 79.8)
		CVA/TIPC	25	100	7.63 (4.75 ~ 16.1)
		SBT/CPZ	6.25	25	13.9 (8.85 ~ 61.8)
		CPZ	3.13	12.5	4.04 (2.32 ~ 7.85)
<i>P. vulgaris</i> No. 123-1	$1.8 \times 10^6$ (21LD <sub>50</sub> )	TAZ/PIPC	0.78	1.56	0.141 (0.0884 ~ 0.218)
		PIPC	6.25	200	0.321 (0.151 ~ 1.33)
		CVA/TIPC	3.13	12.5	1.75 (1.11 ~ 3.38)
		SBT/CPZ	3.13	6.25	0.236 (0.122 ~ 0.545)
		CPZ	6.25	25	0.176 (0.123 ~ 0.250)
<i>A. calcoaceticus</i> AC-54	$1.7 \times 10^5$ (31LD <sub>50</sub> )	TAZ/PIPC	1.56	25	0.511 (0.228 ~ 0.961)
		PIPC	3.13	200	0.639 (0.361 ~ 1.10)
		CVA/TIPC	1.56	25	0.284 (0.109 ~ 0.491)
		SBT/CPZ	1.56	25	0.131 (0.0643 ~ 0.234)
		CPZ	12.5	100	1.02 (0.602 ~ 1.89)

\*: Intraperitoneal infection with 5% mucin

\*\*: Subcutaneous injection 1 and 3 hours after infection

なかったためだと推測される。

一方, *A. calcoaceticus* に対して, TAZはPIPCよりも強い抗菌力を有することが明らかとなった。このTAZの抗菌力がPIPCよりも強い結果, TAZ/PIPCは*A. calcoaceticus* においてのみ $\beta$ -lactamase inhibitorとpenicillinの配合剤という関係でなく, 抗菌活性のある2つの薬剤の配合剤として作用し, FIC indexその他で相加効果を示したと考えられる。また, TAZと同じ $\beta$ -lactamase inhibitorであるSBTでも*A. calcoaceticus* に対しPIPCや第3世代cephem剤より強い抗菌力を示すことが報告されており<sup>17,18)</sup>, これは分子量の小さな $\beta$ -lactamase inhibitorの特徴かもしれないと考えられた。

以上のことから, TAZ/PIPCはTAZを配合することにより従来からのPIPCの抗菌力を維持しつつ, さらに $\beta$ -lactamase産生菌に対しても優れた抗菌力を獲得した。この結果cephem剤に匹敵する抗菌スペクトルを有し, 各種 $\beta$ -lactamase産生菌による感染症に対しても有用性が期待できる薬剤となったと考えられた。

#### 文 献

- 1) 三橋 進, 井上松久: 化学療法と感染症(三橋進・松本慶三編), p. 1, 学会出版センター, 1986
- 2) Williams J D, *et al.*: First European congress of clinical microbiology, 1983
- 3) Chin Nai-Xun and Neu H C: 6th Mediterranean Congress of Chemotherapy, May 22~27, 1988
- 4) Mitsuhashi S, *et al.*: 15th International congress of chemotherapy, 1987
- 5) Jacobs M R, Aronoff S C, Johanning S and Yamabe S: Comparative activities of the  $\beta$ -lactamase inhibitors YTR830, clavulanate and sulbactam combined with extend-spectrum penicillins against ticarcillin-resistant Enterobacteriaceae and pseudomonads. *J Antimicrob Chemother* 18: 177~184, 1986
- 6) 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* 20: 955~957, 1986
- 7) Appelbaum P C, Jacobs M R, Spanglar S K and Yamabe S: Comparative activity of  $\beta$ -lactamase inhibitors YTR830, clavulanate and sulbactam combined with  $\beta$ -lactams against  $\beta$ -lactamase-producing anaerobes. *Antimicrob Agents Chemother* 30: 789~791, 1986
- 8) Aronoff S C, Jacobs M R, Labrozzi P H. and Yamabe S: Synergy of amoxycillin combined with YTR830 in experimental infections in mice. *J Antimicrob Chemother* 18: 271~276, 1986
- 9) 西野武志, 大槻雅子, 渡辺泰雄, 戸田正人, 中沢昭三: T-1220に関する細菌学的研究。 *Chemotherapy* 25: 731~746, 1977
- 10) 植尾健次, 田井 賢, 林 敏雄, 福岡義和, 三橋 進: T-1220の*in vitro*および*in vivo*抗菌作用について。 *Chemotherapy* 25: 700~709, 1977
- 11) 日本化学療法学会MIC測定委員会: 最小発育阻止濃度(MIC)測定法改訂について。 *Chemotherapy* 27: 559~560, 1979
- 12) Elion G B, Singer S and Hitchings G H: Antagonists of nucleic acid derivatives VIII. Synergism in combinations of biochemically related antimetabolites. *J Biol Chem* 208: 477~488, 1954
- 13) Spratt B G: Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation, and shape of *Escherichia coli* K-12. *Proc Natl Acad Sci USA* 72: 2999~3003, 1975
- 14) 西野武志, 笠井隆夫, 大槻雅子, 森下睦子, 藤本千代子, 谷野輝雄: BRL 28500 (Clavulanic acid-ticarcillin) の*in vitro*および*in vivo*抗菌作用について。 *Chemotherapy* 34: 51~68, 1986
- 15) 西野武志, 中沢季美, 大槻雅子, 谷野輝雄: SulbactamとCefoperazoneの併用による*in vitro*抗菌作用について。 *Chemotherapy* 32: 51~65, 1984
- 16) 前田利松, 小室昌仁, 松下 仁: Tazobactam/Piperacillinの各種動物における体内動態。 *Chemotherapy* 42(S-2): 206~216, 1994
- 17) Kitzis M D, Goldstein F W, Labia R and Acar J F: Synergic activity between sulbactam and clavulanic acid on *Acinetobacter calcoaceticus*. *Ann Microbiol (Inst Pasteur)* 134: 163~168, 1983
- 18) Obana Y, Nishino T: In-vitro and in-vivo activities of sulbactam and YTR830H against *Acinetobacter calcoaceticus*. *J Antimicrob Chemother* 26: 677~682, 1990

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

Takeshi Nishino, Kouichi Nishida, Akira Komoto and Masako Otsuki

Department of Microbiology, Kyoto Pharmaceutical University

5 Nakauchi-cho, Misasagi, Yamashina-ku, Kyoto 607, Japan

The *in vitro* and *in vivo* activities of tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC), a combination drug consisting of TAZ and PIPC at a ratio of 1:4, were compared with those of PIPC, clavulanic acid/ticarcillin (CVA/TIPC), sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ), cefoperazone (CPZ), cefmetazole (CMZ) and aspoxicillin (ASPC). TAZ/PIPC showed a broad antibacterial spectrum against gram-positive and gram-negative bacteria. MIC<sub>90</sub> values ( $\mu\text{g/ml}$ ) of TAZ/PIPC against  $\beta$ -lactamase-producing strains were as follows: 3.13 for methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA), 12.5 for *Escherichia coli*, 50 for *Citrobacter freundii*, 200 for *Serratia marcescens*, 1.56 for *Proteus vulgaris*, 25 for *Pseudomonas aeruginosa*, 0.39 for *Haemophilus influenzae* and 0.10 for *Moraxella catarrhalis*. TAZ/PIPC was the most active of the drugs tested against *S. marcescens*, *P. vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *P. aeruginosa* and *M. catarrhalis*.

TAZ/PIPC showed dose-dependent bactericidal activity against  $\beta$ -lactamase-producing strains of *S. aureus*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *S. marcescens*, and *P. aeruginosa*, and its activity was stronger than that of PIPC. In *E. coli* No. 10 and *P. vulgaris* No. 35, treatment with TAZ/PIPC induced the formation of filamentous cells, spheroplast-like structures and lysis at lower concentrations than those of PIPC or TAZ alone.

Therapeutic effect of TAZ/PIPC on systemic infection in mice was more potent than that of PIPC against *E. coli* KC-14 and its transconjugants harbouring penicillinase-producing plasmid, and more active than those of other  $\beta$ -lactams tested against *S. aureus* No. 9 and *P. vulgaris* No. 123-1.