

## Bedeutung der antibakteriellen Eigenaktivität von Sulbactam und Tazobactam für die Empfindlichkeitsprüfung von Inhibitor-geschützten Penicillinen

Heinz Grimm und Guido Funke, Weingarten

Es wurde die intrinsische antibakterielle Aktivität von Sulbactam und Tazobactam gegen Enterobacteriaceae untersucht und deren Bedeutung für die Konzeption einer sinnvollen In-vitro-Testung von Inhibitor-geschützten Beta-Lactam-Antibiotika dargestellt.

Dabei wurden deutliche Unterschiede von Sulbactam und Tazobactam festgestellt. Der MHK-Modalwert für Sulbactam betrug 32 mg/l, für Tazobactam 128 mg/l. Dieser Befund muss in Zusammenhang mit den derzeitigen in DIN 58940 gegebenen Empfehlungen zur In-vitro-Testung von Inhibitor-geschützten Penicillinen gesehen werden (fixe Konzentration von 8 mg/l Sulbactam bzw. 4 mg/l Tazobactam). Zwischen MHK-Modalwert und empfohlener fixer Inhibitor-Konzentration liegen bei Tazobactam fünf, bei Sulbactam nur zwei Verdünnungstufen. Bei der In-vitro-Testung von Piperacillin-Sulbactam ist durch den geringen Abstand eine Interaktion (Addition oder Synergismus) der beiden Beta-Lactame zu erwarten. Dadurch wird die Aussagekraft des Testergebnisses eingeschränkt. Unsere Untersuchungsergebnisse stützen die Empfehlung, Sulbactam-haltige Kombinationen in vitro mit einer fixen Konzentration von 4 anstelle von 8 mg/l Sulbactam zu testen. Dadurch würde das Testergebnis in erster Linie die Inhibition der Beta-Lactamase erfassen, deren klinische Relevanz gesichert ist und einen möglichen In-vitro-Synergismus von Piperacillin plus Sulbactam, dessen klinische Bedeutung nicht gesichert ist, weitgehend ausschließen.

**Schlüsselwörter:** Sulbactam, Tazobactam, Beta-Lactam-Antibiotika, Empfindlichkeitsprüfung, Methodik  
*Chemother J 2004;13:238-41.*

Die bisher für die Therapie verfügbaren Beta-Lactamase-Hemmer Clavulansäure, Sulbactam und Tazobactam sind selbst Beta-Lactam-Antibiotika, die mit unterschiedlichen Beta-Lactam-Antibiotika fix- oder frei-kombiniert gegen Beta-Lactamase-bildende Infektionserreger eingesetzt werden. Sie wirken jedoch keineswegs nur als Beta-Lactamase-Hemmer, sondern zeigen alle eine mehr oder weniger ausgeprägte intrinsische antibakterielle Aktivität. Diese kann für bestimmte Bakterienarten, wie *Acinetobacter* spp., *Neisseria gonorrhoeae*, *Helicobacter pylori*, *Capnocytophaga* spp. [4, 11, 12, 13, 22, 28, 29] möglicherweise eine klinische Relevanz besitzen. Für andere Spezies, insbesondere für Enterobacteriaceae, liegen die MHK-Werte der drei genannten Beta-Lactamase-Hemmer in sehr unterschiedlichem Ausmaß oberhalb der mit üblicher Dosierung erreichbaren Serum-

spiegel [8, 17, 19, 21, 25, 30]. Bei In-vitro-Untersuchungen wie der Resistenzprüfung können dabei jedoch Interaktionen auftreten, die über die Beta-Lactamase-Hemmung hinausgehen und als „zusätzlicher“ Synergismus interpretiert werden müssten [19]. Die klinische Relevanz derartiger In-vitro-Phänomene ist bisher unbekannt. Als Beispiel sei der In-vitro-Antagonismus einer Doppel-Beta-Lactam-Kombination, Cefoxitin plus Azlocillin angeführt [9], obwohl sich diese Kombination klinisch bewährt hat [26]. Labormethoden zur Testung von Antibiotika-Kombinationen zur Erkennung von Synergismus oder Antagonismus (z. B. Checkerboard-Titration) sind schlecht reproduzierbar und bisher nicht standardisiert.

Ziel unserer Untersuchung ist es, die für die Testung nach DIN 58940 [6, 7] mit fixen Inhibitor-Konzentrationen bislang empfohlenen Konzentrationen von Sul-

bactam und Tazobactam kritisch zu analysieren. Grundlage der Überlegungen sind Daten zur intrinsischen antibakteriellen Aktivität von Sulbactam und Tazobactam, die im Rahmen einer vorangegangenen Untersuchung [10] von uns erhoben wurden.

### Material und Methoden

Untersucht wurden 215 konsekutive Isolate unterschiedlicher Spezies der Familie Enterobacteriaceae, die im Agardifusionstest als „nicht-sensibel“ gegen Piperacillin diagnostiziert wurden. Das Stammkollektiv umfasste 149 *Escherichia coli*- und 66 sonstige Enterobacteriaceae-Stämme (25 *Klebsiella* spp., 19 *Enterobacter* spp., 16 *Salmonella* spp., 3 *Serratia* spp., 2 *Citrobacter* spp., 1 *Morganella morganii*). Die isolierten Spezies waren keine „copy strains“ und auch sonst nicht epidemiologisch in Zusammenhang zu bringen. Die Isolate wurden im Institut Prof. Blessing in Singen zwischen den Jahren 2000 und 2001 gesammelt und bis zur weiteren Untersuchung bei  $-20\text{ °C}$  im Microbank™-System (Mast Diagnostica) gehalten. Nach Subkultur auf Columbia-Blutagar erfolgten MHK-Bestimmungen im Agardilutions-test auf Mueller-Hinton Medium (Oxoid CM 337) nach DIN 58940 [6] für Piperacillin, Sulbactam, Tazobactam sowie den Kombinationen von Piperacillin mit Tazobactam (4 mg/l fixe Konzentration) und Piperacillin mit Sulbactam (4 sowie 8 mg/l fixe Konzentrationen).

#### Anschriften der Verfasser:

Dr. Heinz Grimm, Dr. Guido Funke, Institut für Medizinische Mikrobiologie (Labor Dr.Gärtner), 88250 Weingarten

Tab. 1. In derzeitiger DIN 58940 empfohlene fixe Beta-Lactamase-Inhibitor-Konzentrationen bei der Testung von Inhibitor-geschützten Penicillinen (grau unterlegt) im Verhältnis zur intrinsischen Aktivität des jeweiligen Inhibitors allein (Modalwert in Fettdruck)

| Antibiotikum      | Spezies                     | n   | Anzahl der Isolate mit einer MHK [mg/l] von |   |    |            |           |            |     |           |
|-------------------|-----------------------------|-----|---|---|----|------------|-----------|------------|-----|-----------|
|                   |                             |     | 4   | 8 | 16 | 32         | 64        | 128        | 256 | ≥ 512     |
| Sulbactam allein  | Escherichia coli            | 149 | 0   | 0 | 1  | <b>104</b> | 39        | 5          | 0   | 0         |
| Tazobactam allein | Escherichia coli            | 149 | 0   | 0 | 0  | 0          | 1         | <b>94</b>  | 49  | 5         |
| Sulbactam allein  | Sonstige Enterobacteriaceae | 66  | 0   | 0 | 0  | 13         | <b>39</b> | 14         | 0   | 0         |
| Tazobactam allein | Sonstige Enterobacteriaceae | 66  | 0   | 0 | 0  | 0          | 0         | 22         | 21  | <b>23</b> |
| Sulbactam allein  | Alle Enterobacteriaceae     | 215 | 0   | 0 | 1  | <b>117</b> | 78        | 19         | 0   | 0         |
| Tazobactam allein | Alle Enterobacteriaceae     | 215 | 0   | 0 | 0  | 0          | 1         | <b>116</b> | 70  | 28        |

## Ergebnisse und Diskussion

### a) Intrinsische In-vitro-Aktivität von Sulbactam und Tazobactam

Deutliche Unterschiede wurden bei der intrinsischen antibakteriellen Wirkung von Sulbactam und Tazobactam gegen Enterobacteriaceae festgestellt (Tab. 1). Der MHK-Modalwert für Sulbactam betrug 32 mg/l, für Tazobactam dagegen 128 mg/l. Dieser Befund steht im Einklang mit der Literatur [8, 17, 19, 25, 30].

Die klinisch nicht relevante intrinsische Aktivität muss in Zusammenhang mit den derzeitigen in DIN 58940 [7] gegebenen Empfehlungen zur In-vitro-Testung von Inhibitor-geschützten Penicillinen gesehen werden, die festlegen, dass fixe Konzentrationen von 8 mg/l Sulbactam bzw. 4 mg/l Tazobactam in jeder getesteten Penicillin-Verdünnungsstufe eingesetzt werden. Damit beträgt für Tazobactam-haltige Kombinationen der Abstand zwischen fixer Test-Konzentration und dem MHK-Modalwert der intrinsischen Aktivität des Tazobactam fünf Verdünnungsstufen. Für Sulbactam-haltige Kombinationen beträgt dieser Abstand jedoch nur zwei Verdünnungsstufen (Tab. 1). Da Sulbactam und Piperacillin Beta-Lactam-Antibiotika sind, sind bei kombinierter In-vitro-Testung neben der gewünschten Beta-Lactamase-Hemmung auch Interaktionen (Addition oder Synergismus) zu erwarten, deren therapeutische Bedeutung jedoch unklar ist. Derartige Interaktionen sind im Falle von Sulbactam sehr wahrscheinlich, weil es bei Enterobacteriaceae an PBP1a und 3 bindet und weil bereits durch Konzentrationen von 0,25 x MHK Filamentbildungen an Enterobacteriaceae zu beobachten sind [16]. Das Testergebnis für Piperacillin-Sulbactam kann dadurch zum Schaden des Patienten verfälscht werden. Wegen

Tab. 2. In-vitro-Aktivität von Piperacillin plus Beta-Lactamase-Inhibitor bei Piperacillin-resistenten Escherichia coli (n = 76) in Abhängigkeit von der intrinsischen Aktivität des jeweiligen Beta-Lactamase-Inhibitors

| Antibiotikum                                | Eigenschaft der Erreger    | n  | Isolate [%] |             |           |
|---|----------------------------|----|-------------|-------------|-----------|
|   |                            |    | Sensibel    | Intermediär | Resistent |
| Piperacillin und Tazobactam MHK 64-128 mg/l | Tazobactam MHK 64-128 mg/l | 48 | 89,6        | 6,2         | 4,2       |
| Tazobactam 4 mg/l                           | Tazobactam MHK ≥256 mg/l   | 28 | 85,7        | 7,1         | 7,2       |
| Piperacillin und Sulbactam MHK 16-32 mg/l   | Sulbactam MHK 16-32 mg/l   | 35 | 22,9        | 62,8        | 14,3      |
| Sulbactam 8 mg/l                            | Sulbactam MHK ≥64 mg/l     | 41 | 0,0         | 9,8         | 90,2      |
| Piperacillin und Sulbactam MHK 16-32 mg/l   | Sulbactam MHK 16-32 mg/l   | 35 | 0,0         | 51,4        | 48,6      |
| Sulbactam 4 mg/l                            | Sulbactam MHK ≥64 mg/l     | 41 | 0,0         | 4,9         | 95,1      |

des deutlich größeren Abstands zwischen der fixen Test-Konzentration (4 mg/l) und dem MHK-Modalwert der intrinsischen Tazobactam-Aktivität (128 mg/l) sind Interaktionen, die das In-vitro-Testergebnis verfälschen können, in Falle von Piperacillin-Tazobactam unwahrscheinlich.

Die differenzierte Auswertung unserer Piperacillin-Tazobactam- und Piperacillin-Sulbactam-Daten [10] auf der Basis der jeweiligen Tazobactam- bzw. Sulbactam-MHK-Werte unterstützen diese Hypothese.

Hierzu wurden die Piperacillin-resistenten E. coli in vier Kollektive aufgeteilt:

- Sulbactam-MHK niedrig (16-32 mg/l)
- Sulbactam-MHK hoch (≥ 64 mg/l)
- Tazobactam-MHK niedrig (64-128 mg/l)
- Tazobactam-MHK hoch (≥ 256 mg/l)

Es konnte gezeigt werden, dass durch Piperacillin-Sulbactam (8 mg/l fix) Isolate mit niedriger Sulbactam-MHK zu 22,9 % und solche mit hoher Sulbactam-MHK zu 0,0 % in den sensiblen Bereich gelangen. Wird im Testansatz die fixe Sulbactam-Konzentration auf 4 mg/l gesenkt, d.h. der Abstand zwischen fixer Test-Konzentration und dem MHK-Modalwert der intrinsischen Sulbactam-Aktivität auf drei Verdünnungsstufen erhöht, dann gelangen auch im

Sub-Kollektiv mit Sulbactam-MHK-Werten von 16-32 mg/l keine Isolate in den sensiblen, sondern 51,4 % in den intermediären Bereich. Eine additive oder synergistische In-vitro-Interaktion ist also sehr wahrscheinlich.

Bei Tazobactam MHK-Werten von 64-128 mg/l bzw. von ≥ 256 mg/l kommen mit Piperacillin/Tazobactam (4 mg/l fix) 89,6 % bzw. 85,7 % der Piperacillin-resistenten E.coli in den sensiblen Bereich. Eine von der Beta-Lactamase-Inhibition abweichende, das Testergebnis verfälschende Interaktion ist nicht erkennbar (Tab. 2).

Den gleichen Schluss lassen In-vitro-Studien zu, die die Korrelation zwischen Beta-Lactamase-Bildung und Effektivität der Inhibitor-geschützten Penicilline oder Cephalosporine bei Beta-Lactamase-negativen Enterobacteriaceae untersuchten. Obwohl keine entsprechenden Daten zu Piperacillin-Sulbactam verfügbar sind, wurde schon 1978 berichtet, dass Sulbactam plus Ampicillin auch bei einigen Beta-Lactamase-negativen Enterobacteriaceae synergistische Interaktionen zeigt [3]. Auch bei Beta-Lactamase-negativen Bacteroides spp. führt Sulbactam zur Potenzierung der Cefoperazon-Wirkung [5]. Mit der Checkerboard-Technik wurde bei 10 bis 55 % der Beta-Lactamase-negativen Enterobacteriaceae mit Sulbactam-Beta-Lactam-Kombinationen

ein Synergismus beobachtet [17]. Mit einer Ceftriaxon-Tazobactam-Kombination konnten nur bei Beta-Lactamase-positiven, nicht jedoch bei Beta-Lactamase-negativen *Bacteroides* spp. synergistische Interaktionen nachgewiesen werden [2]. In einem pharmakodynamischen In-vitro-Modell ergaben Piperacillin und Piperacillin/Tazobactam mit einem Piperacillin-sensiblen *E. coli* identische Abtötungskurven. Mit einem isogenen TEM-3-enthaltenden Transkonjuganten dieses Stamms führte Piperacillin allein nach 12 h zum Regrowth und Piperacillin/Tazobactam zur Bakterizidie [27].

### b) Derzeitiger Stand der Methodik zu Testung Inhibitor-geschützter Beta-Lactam-Antibiotika und Empfehlungen zur Korrektur der DIN 58940 zur Testung von Beta-Lactam-Beta-Lactamase-Hemmer-Kombinationen

Wegen fehlender klinischer Erfahrungen existieren bisher für die In-vitro-Testung von Antibiotika-Kombinationen keine allgemein anerkannten Interpretationsstandards. Eine Ausnahme bildet die fixe Kombination von Sulfamethoxazol und Trimethoprim (Co-trimoxazol), wobei beide Substanzen eine klinisch relevante antibakterielle Wirkung besitzen. Bei den klinisch angewandten Kombinationen von Beta-Lactam-Antibiotikum und Beta-Lactamase-Inhibitor sollte man besser von Inhibitor-geschützten Beta-Lactam-Antibiotika sprechen, denn die klinische Wirkung ist einzig auf das eingesetzte Beta-Lactam-Antibiotikum (z. B. Aminopenicillin oder Ureidopenicillin) zurückzuführen. Die NCCLS- [20] und DIN-Standards [7] tragen dem auch Rechnung, indem sie für derartige „Kombinationen“ die gleichen Interpretationskriterien der MHK angeben wie für die zugrundeliegenden Beta-Lactam-Antibiotika.

Allerdings besteht über die Methodik zur In-vitro-Testung von Inhibitor-geschützten Penicillinen weltweit keine Einigkeit.

Nach den amerikanischen NCCLS-Standards [20] und einigen europäischen Standards werden für Amoxicillin plus Clavulansäure sowie für Ampicillin plus Sulbactam fixe Relationen von 2 : 1 vorgegeben, für Piperacillin plus Tazobactam jedoch eine fixe Tazobactam-Konzentration von 4 mg/l. In der deutschen DIN 58940 [7] wird generell für

alle derartigen Kombinationen eine fixe Konzentration des Beta-Lactamase-Inhibitors empfohlen: für Clavulansäure 2, für Tazobactam 4 und für Sulbactam 8 mg/l. Die Ergebnisse von Testungen nach NCCLS und DIN sind aus diesem Grunde nicht vergleichbar. Seit etwa 10 Jahren wird nun auch von amerikanischen Autoren eine fixe Inhibitor-Konzentration für die Testung von Inhibitor-geschützten Penicillinen diskutiert und favorisiert [23, 24]. Dabei werden für Sulbactam sowie für Tazobactam gleichermaßen fixe Konzentrationen von 4 mg/l empfohlen [14, 15].

Im Gegensatz zu DIN 58940 [7] sind in keinem anderen nationalen Standard Empfehlungen zur Testung und Interpretation von freien Sulbactam-haltigen Kombinationen definiert worden. Ursache dafür dürfte das Fehlen von publizierten mikrobiologischen, pharmakologischen und klinischen Studien sein. Einziges Ziel der Testung Inhibitor-geschützter Beta-Lactam-Antibiotika ist es, nachzuweisen, dass Beta-Lactam-resistente Erreger durch einen Beta-Lactamase-Hemmer in den entsprechenden intermediären bzw. sensiblen Bereich verschoben werden können, indem der spezielle Resistenzmechanismus umgangen wird. Die dabei eingesetzte Inhibitor-Konzentration ist einerseits so hoch zu wählen, dass die gewünschte Beta-Lactamase-Hemmung gewährleistet ist, andererseits so niedrig, dass eine eventuell vorhandene intrinsische antibakterielle Aktivität des Inhibitors nicht zum Tragen kommt. Jones und Barry [15] fassen den Stand dieser Problematik wie folgt zusammen: „*The non-beta-lactamase inhibitor actions of these drugs require further investigation so that we may better understand their clinical meaning and to determine their impact on routine clinical laboratory testing. Until a unified philosophy of testing is established by beta-lactamase inhibitor combinations, comparisons of test results (MICs, etc.) cannot be made*“.

Freie Sulbactam-haltige Kombinationen sind außer in DIN 58940 [7] in keiner anderen nationalen Standardisierung aufgeführt. In dieser deutschen Norm wurde für die In-vitro-Empfindlichkeitsprüfung lediglich aufgrund von pharmakokinetischen Daten eine fixe Sulbactam-Konzentration von 8 mg/l empfohlen. Unter Berücksichtigung der hier vorgestellten mikrobiologischen Daten sollte für Empfindlichkeitsprüfungen

mit Sulbactam-haltigen „Kombinationen“ die fixe Sulbactam-Konzentration jedoch nicht wie bisher 8 mg/l, sondern 4 mg/l betragen. Durch diese Änderung würde das Testergebnis in erster Linie die Beta-Lactamase-Inhibition erfassen, deren klinische Bedeutung gesichert ist [1, 18] und einen möglichen In-vitro-Synergismus der beiden Beta-Lactame, dessen klinische Bedeutung nicht gesichert ist, weitgehend ausschließen. Weitere Daten dazu sollten diese Aussagen stützen.

## Schlussfolgerung

Das Ergebnis der Empfindlichkeitsprüfung von Piperacillin-Tazobactam darf nicht auf Piperacillin-Sulbactam übertragen werden [10]. Die vorgestellten Daten sprechen dafür, dass für die separat erforderliche Prüfung von Piperacillin plus Sulbactam die in DIN 58940 [7] empfohlene fixe Sulbactam-Konzentration von 8 mg/l nicht sinnvoll, sondern eine Konzentration von 4 mg/l zu empfehlen ist. Dies würde „falsch-sensibel“ Ergebnisse bei Empfindlichkeitsprüfungen gegen Piperacillin-Sulbactam minimieren und damit der Therapiesicherheit dienen.

## Summary

The intrinsic antimicrobial activity of sulbactam and tazobactam against members of the family enterobacteriaceae is quite different. The mode MIC of sulbactam is 32 mg/l and that of tazobactam is 128 mg/l. This fact is important for the planning of methods for susceptibility testing of beta-lactamaseinhibitor-protected beta-lactam-antibiotics. Until now, the DIN 58940 methods recommend fixed concentrations of 4 mg/l tazobactam and 8 mg/l sulbactam, respectively. The difference between these concentrations and the mode MIC values of the inhibitors are five dilution steps if testing sulbactam-, but only two dilution steps if testing tazobactam-combinations. Due to the minor difference in the case of sulbactam in-vitro interactions other than beta-lactamaseinhibition (addition or synergism) are possible, but not in the case of tazobactam. In that way the results of susceptibility testing of piperacillin-sulbactam become dubious. On the basis of our results we recommend to test the beta-lactamase inhibiting effect of sulbactam by the addition of 4 mg/l instead of previously 8 mg/l sulbactam. In that way the test results show mainly the clinical relevant beta-lactamaseinhibition and exclude eventual in-vitro interactions other than the beta-lactamaseinhibition whose clinical relevance is not yet known.

**Keywords:** Sulbactam, Tazobactam, beta-lactamantibiotics, susceptibility testing, methods

## Literatur

- Adam D. Klinische Studien mit Tazobactam/Piperacillin – Eine Übersicht. In: Adam D, Stille W (editors). Tazobactam/Piperacillin. FAC 11-4. Fortschr Antimikrob Antineoplast Chemother. München: Futuramed Verlag, 1992:467–73.
- Aldridge KE, Morice N, Schiro DD. Increased in vitro activity of ceftriaxone by addition of tazobactam against clinical isolates of anaerobes. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1994;19:227–34.
- Aswapokee N, Neu HC. A sulfone beta-lactam compound which acts as a beta-lactamase inhibitor. *J Antibiot* 1978;31:1238–44.
- Caine VA, Foulds G, Handsfield HH. Therapeutic trial and pharmacokinetics of sulbactam for uncomplicated gonorrhoea in men. *Antimicrob Agents Chemother* 1984;26:683–5.
- Crosby MA, Gump DW. Activity of cefoperazone and two beta-lactamase inhibitors, sulbactam and clavulanic acid, against *Bacteroides* spp. Correlated with beta-lactamase production. *Antimicrob Agents Chemother* 1982;22:398–405.
- Deutsches Institut für Normung e.V. Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern (außer Mykobakterien) gegen Chemotherapeutika. Teil 6: Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration nach der Agar-Dilutionsmethode. DIN 58940-6. Berlin: Beuth Verlag, 1989.
- Deutsches Institut für Normung e.V. Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika. Teil 4: Bewertungsstufen der minimalen Hemmkonzentration – MHK-Grenzwerte von antibakteriellen Wirkstoffen. DIN 58940-4, Beiblatt 1. Berlin: Beuth Verlag, 2000.
- Duez JM, Cordin X, Pechinot A, Siebor E, et al. Activité synergique in vitro de l'association piperacilline-tazobactam vis-à-vis d'enterobactéries résistantes aux betalactamines. *Pathol Biol* 1991; 39: 374-378.
- Grimm H. Bakteriologische In-vitro-Untersuchungen zur Kombination von Betalaktam-Antibiotika. In: Stille W, Elsser R (Hrsg.). Kombinationen von Betalaktam-Antibiotika: Arbeitstagung der Sekt. Antimikrobielle Chemotherapie der Paul-Ehrlich-Ges., Frankfurt, 13. März 1981. München: Zuckschwerdt, 1981:26–34.
- Grimm H, Blessing J, Funke G. In-vitro-Aktivität von Piperacillin in Kombination mit Tazobactam sowie mit Sulbactam gegen Piperacillin-nicht-sensible Enterobacteriaceae. *Chemother J* 2003;12:174–7.
- Horii T, Kimura T, Sato-Kawamura K, Nada T, et al. Beta-lactamase inhibitors have antibacterial activities against *Helicobacter pylori*. *J Infect Chemother* 1999;5:206–7.
- Jolivet-Gougeon A, Buffet A, Dupuy C, Sixou JL, et al. In vitro susceptibilities of *Capnocytophaga* isolates to beta-lactam antibiotics and beta-lactamase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:3186–8.
- Joly-Guillou ML, Decre D, Herrman JL, Bourdelier E, et al. Bactericidal in-vitro activity of beta-lactams and beta-lactamase inhibitors, alone or associated, against clinical strains of *Acinetobacter baumannii*: effect of combination with aminoglycosides. *J Antimicrob Chemother* 1995;36:619–29.
- Jones RN, Barry AL. Optimal dilution susceptibility testing conditions, recommendations for MIC interpretation, and quality control guidelines for the ampicillin-sulbactam combination. *J Clin Microbiol* 1987;25:1920–5.
- Jones RN, Barry AL. Studies to optimize the in vitro testing of piperacillin combined with tazobactam (YTR 830). *Diagn Microbiol Infect Dis* 1989;12:495–510.
- Kazmierczak A, Pechinot A, Siebor E, Cordin X, et al. Sulbactam: secondary mechanisms of action. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1989;12: 139S–46S.
- Klastersky J, Van der Auwera P. In vitro activity of sulbactam in combination with various beta-lactam antibiotics. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1989;12:165S–9S.
- Lees L, Milson JA, Knirsch AK, Greenhalgh K. Sulbactam plus ampicillin: interim review of efficacy and safety for therapeutic and prophylactic use. *Rev Infect Dis* 1986;8(Suppl. 5): S644–50.
- Moosdeen F, Williams JD, Yamabe S. Antibacterial characteristics of YTR 830, a sulfone beta-lactamase inhibitor, compared with those of clavulanic acid and sulbactam. *Antimicrob Agents Chemother* 1988;32:925–7.
- NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twelfth informational supplement. NCCLS document M100-S12. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania USA, 2002.
- Nord CE, Dornbusch K, Olsson B. Studies on beta-lactamase in *Bacteroides fragilis*. *Infection* 1980;8(Suppl. 2):S167–70.
- Obana Y, Nishino T. In-vitro and in-vivo activities of sulbactam and YTR830H against *Acinetobacter calcoaceticus*. *J Antimicrob Chemother* 1990;26:677–82.
- Pfaller MA, Barry AL, Fuchs PC, Gerlach EH, et al. Comparison of fixed concentration and fixed ratio options for testing susceptibility of gram-negative bacilli to piperacillin and piperacillin/tazobactam. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992;11:728–32.
- Pfaller MA, Barry AL, Fuchs PC, Gerlach EH, et al. Comparison of fixed concentration and fixed ratio options for dilution susceptibility testing of gram-negative bacilli to ampicillin and ampicillin/sulbactam. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993;12:356–62.
- Retsema JA, English AR, Girard AE, Anderson M, et al. Sulbactam and ampicillin: synergistic antibacterial activity against hospital isolates of Enterobacteriaceae, methicillin-resistant *Staphylococcus*, and anaerobes. Presented at the 13th International Congress of Chemotherapy, Vienna, 28 Aug – 2 Sept 1983 (WO 59, part 23).
- Shah PM. Therapie mit Betalaktam-Kombinationen. In: Stille W, Elsser R (Hrsg.). Kombinationen von Betalaktam-Antibiotika: Arbeitstagung der Sekt. Antimikrobielle Chemotherapie der Paul-Ehrlich-Ges., Frankfurt, 13. März 1981. München: Zuckschwerdt, 1981:86–90.
- Strayer AH, Gilbert DH, Pivarnik P, Medeiros AA, et al. Pharmacodynamics of piperacillin alone and in combination with tazobactam against piperacillin-resistant and – susceptible organisms in an in vitro model of infection. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:2351–6.
- Suh B, Shapiro T, Jones R, Satishchandra V, et al. In vitro activity of beta-lactamase inhibitors against clinical isolates of *Acinetobacter* species. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1995;21: 111–4.
- Traub WH, Spohr M. Antimicrobial drug susceptibility of clinical isolates of *Acinetobacter* species (*A. baumannii*, *A. haemolyticus*, Genospecies 3, and Genospecies 6). *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:1617–9.
- Wise R, Andrews JM, Bedford KA. Clavulanic acid and CP-45,899: a comparison of their in vitro activity in combination with penicillins. *J Antimicrob Chemother* 1980;6:197–206.

**Die PEG im Internet:**

<http://www.p-e-g.org/>

**Das Chemotherapie Journal im Internet:**

<http://www.wissenschaftliche-verlagsgesellschaft.de/CTJ>