CTD 第 2 部
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.1 緒言

MSD 株式会社

目次

頁

図一覧 2
2.6.1　緒言 3
2.6.1.1　抗菌薬クラス及び構造 3
2.6.1.2　推奨用法・用量 4
2.6.1.3　参考文献 5

Confidential

図一覧

頁

図 2.6.1-1　セフトロザン硫酸塩の構造式 3
図 2.6.1-2　タゾバクタムナトリウムの構造式 4

Confidential

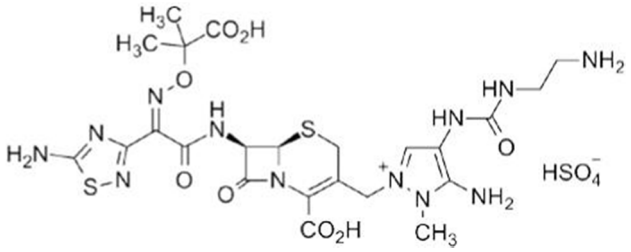
2.6.1　緒言

2.6.1.1　抗菌薬クラス及び構造

タゾバクタムナトリウム／セフトロザン硫酸塩注射剤は、新規のセファロスポリン系抗菌薬であるセフトロザンと、現在市販されている注射用タゾバクタム・ピペラシリンの組成成分として十分な使用経験のあるβ-ラクタマーゼ阻害薬であるタゾバクタムを組み合わせた新規の抗菌薬である。

セファロスポリン系抗菌薬は、広範な抗菌活性スペクトル、強力な抗菌活性及び優れた安全性プロファイルを有することから、臨床現場で広く使用されている。セファロスポリン系抗菌薬であるセフトロザンは、他のセファロスポリン系抗菌薬と同様、細菌に必須のペニシリン結合蛋白（PBP）に結合して、細胞壁合成を阻害することにより速やかな殺菌作用を示す。セフトロザンは強力な PBP3阻害剤であり、*Pseudomonas aeruginosa* の生存に必須とされるすべての PBP（1b、1c、2及び3）に対する親和性は、同じセファロスポリン系の抗菌薬であるセフタジジムより少なくとも2倍高いことが報告されている[資料4.3: 001]。セフトロザン硫酸塩の構造式を[図 2.6.1-1]に示す。

図 2.6.1-1　セフトロザン硫酸塩の構造式

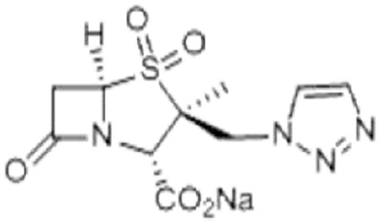


セフトロザンはセファロスポリン系抗菌薬で、半合成の注射用抗菌薬である。
分子量：764.77 Da
化学名：
(6*R*,7*R*)-3-[(5-Amino-4-{[(2-aminoethyl)carbamoyl]amino}-1-methyl-1*H*-pyrazol-2-ium-2-yl)methyl]-7-[(2*Z*)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-{[(2-carboxypropan-2-yl)oxy]imino}acetamido]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate monosulfate
分子式：$C_{23}H_{30}N_{12}O_8S_2 \cdot H_2SO_4$

タゾバクタムは強力なβ-ラクタマーゼ（クラス A 及びクラス C）阻害薬であり、β-ラクタマーゼの活性部位に結合してセフトロザンが加水分解されるのを防ぎ、多くの基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ（ESBL）産生 *Escherichia coli* 及びその他の腸内細菌科細菌、並びに一部の重要な嫌気性病原菌（*Bacteroides fragilis*）を含む広範な菌に対するセフトロザンの作用を拡張させる。タゾバクタムナトリウムの構造式を[図 2.6.1-2]に示す。

Confidential

図 2.6.1-2　　タゾバクタムナトリウムの構造式



タゾバクタムはペニシリン骨格を有するペニシラン酸スルホン誘導体である。
分子量：322.27 Da
化学名：Monosodium (2*S*,3*S*,5*R*)-3-methyl-7-oxo-3-(1*H*-1,2,3-triazol-1-ylmethyl)-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylate 4,4-dioxide
分子式：$C_{10}H_{11}N_4NaO_5S$

セフトロザンとタゾバクタムの併用（セフトロザン／タゾバクタム）により、腸内細菌科細菌（ESBL 産生 *E. coli* を含む）、*P. aeruginosa*、Streptococci、*Haemophilus influenzae* 及び *Moraxella catarrhalis* など、深刻な院内感染に関わる病原菌を含む一般的なグラム陰性病原菌及び一部のグラム陽性病原菌に対して、時間依存的に強力な抗菌活性を示す。セフトロザン／タゾバクタムは、カルバペネム系、セファロスポリン系、フルオロキノロン系及びアミノグリコシド系薬剤に耐性を有する *P. aeruginosa*、並びに大部分の多剤耐性分離株に対して抗菌活性を示した。

2.6.1.2　　推奨用法・用量

タゾバクタムナトリウム／セフトロザン硫酸塩注射剤は、複雑性尿路感染症（cUTI）及び複雑性腹腔内感染症（cIAI）の治療薬として開発された。臨床推奨用法・用量は、通常1回1.5 g（タゾバクタムとして0.5 g／セフトロザンとして1 g）を1日3回60分かけて点滴静注し、投与期間は最長で14日間である。

尿路感染症（UTI）は、社会的な経済負担が大きく最もよくみられる感染症の1つである。UTI はすべての院内感染症のうち少なくとも40%を占めている[資料4.3: 002]。cUTI 及び院内感染 UTI の原因菌としては、グラム陰性菌が約60%～80%を占めている。cUTI に関連する最も一般的な病原菌は、*E. coli*、*Klebsiella* spp.、*Pseudomonas* spp.、*Proteus* spp.、*Enterobacter* spp.及び *Citrobacter* spp. である[資料4.3: 003]。一般的に使用される抗菌薬（特にセファロスポリン系、カルバペネム系及びフルオロキノロン系）に対する耐性菌が分離されるケースが増加しているため[資料4.3: 004]、これらの感染症を治療するための新たな抗菌薬の開発が重要である。

腹腔内感染症（IAI）には、通常は複数菌（グラム陽性及び陰性の好気性菌や嫌気性菌を含む）による様々な重篤な感染症が含まれ、病原菌によっては死亡率が高い。腸内細菌科細菌は cIAI の病原菌として検出され、そのうち *E. coli* が最もよくみられ、*P. aeruginosa* 及び *B. fragilis* もよく認められている[資料4.3: 005]。一方、一般的に処方される抗菌薬に対する耐性菌の増加が世界で

Confidential

も深刻な問題となっており[資料4.3: 006] [資料4.3: 007]、耐性化した *E. coli*、*K. pneumoniae* 及び *P. aeruginosa* などの治療が困難な病原菌に対して活性を有する新しい抗菌薬が強く求められている。

セフトロザン単独及びタゾバクタムと併用したときの薬理、薬物動態及び毒性は、in vitro 及び in vivo での広範な非臨床試験を実施して適切に評価した。収集したデータから、セフトロザン／タゾバクタムの優れた抗菌活性と許容可能な安全性プロファイルが示され、cUTI 及び cIAI の治療薬としての使用が支持される。

2.6.1.3　参考文献

[資料4.3: 001] Moya B, Zamorano L, Juan C, et al. Affinity of the new cephalosporin CXA-101 to penicillin-binding proteins of *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 2010; 54: 3933-7.

[資料4.3: 002] Wagenlehner FM, Naber KG. Treatment of bacterial urinary tract infections: presence and future. Eur Urol. 2006; 49: 235-44.

[資料4.3: 003] Wagenlehner FM, Pilatz A, Naber KG, et al. Anti-infective treatment of bacterial urinary tract infections. Curr Med Chem. 2008; 15: 1412-27.

[資料4.3: 004] Mathai D, Jones RN, Pfaller MA, et al. Epidemiology and frequency of resistance among pathogens causing urinary tract infections in 1,510 hospitalized patients: a report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (North America). Diagn Microbiol Infect Dis. 2001; 40: 129-36.

[資料4.3: 005] Tellado J, Woods GL, Gesser R, et al. Ertapenem versus piperacillin-tazobactam for treatment of mixed anaerobic complicated intra-abdominal, complicated skin and skin structure, and acute pelvic infections. Surg Infect (Larchmt). 2002; 3: 303-14.

[資料4.3: 006] Hawser SP, Bouchillon SK, Hoban DJ, et al. In vitro susceptibilities of aerobic and facultative anaerobic Gram-negative bacilli from patients with intra-abdominal infections worldwide from 2005-2007: results from the SMART study. Int J Antimicrob Agents. 2009; 34: 585-8.

[資料4.3: 007] Hawser SP, Bouchillon SK, Hoban DJ, et al. Epidemiologic trends, occurrence of extended-spectrum β-lactamase production, and performance of ertapenem and comparators in patients with intra-abdominal infections: analysis of global trend data from 2002-2007 from the SMART study. Surg Infect (Larchmt). 2010; 11: 371-8.

C Confidential

CTD 第 2 部
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.2 薬理試験の概要文

MSD 株式会社

目次

頁

表一覧 4
図一覧 7
略号及び用語の定義 8
2.6.2　薬理試験の概要文 10
2.6.2.1　まとめ 10
2.6.2.2　効力を裏付ける試験 14
2.6.2.2.1　作用機序 14
2.6.2.2.1.1　セフトロザンの作用機序 14
2.6.2.2.1.2　タゾバクタムの作用機序 16
2.6.2.2.1.3　タゾバクタムの β-ラクタマーゼ阻害反応 16
2.6.2.2.2　耐性発現及び耐性機構 17
2.6.2.2.2.1　In vitro における耐性の要約 17
2.6.2.2.2.2　*Pseudomonas aeruginosa* の β-ラクタマーゼに対するセフトロザンの安定性 21
2.6.2.2.2.3　外膜蛋白質ポーリン（OprD）欠損の *Pseudomonas aeruginosa* 分離株に対するセフトロザン／タゾバクタムの活性 22
2.6.2.2.2.4　排出ポンプを過剰発現した *Pseudomonas aeruginosa* 分離株に対するセフトロザンの活性 23
2.6.2.2.3　抗菌活性スペクトルの要約 23
2.6.2.2.3.1　セフトロザン／タゾバクタムの in vitro 感受性試験における適切なタゾバクタムの濃度の選択 26
2.6.2.2.3.2　腸内細菌科細菌（野生型及び耐性）に対する活性 27
2.6.2.2.3.3　Fastidious グラム陰性桿菌に対する活性の要約 30
2.6.2.2.3.4　ブドウ糖非発酵性グラム陰性桿菌（野生型及び耐性）に対する活性の要約 30
2.6.2.2.3.5　好気性グラム陽性菌に対する活性の要約 31
2.6.2.2.3.6　嫌気性グラム陽性及び陰性菌に対する活性の要約 32
2.6.2.2.4　日本の臨床分離株に対する抗菌活性スペクトラム 32
2.6.2.2.4.1　国内臨床分離株感受性試験（Ⅰ） 32
2.6.2.2.4.2　国内臨床分離株感受性試験（Ⅱ） 34
2.6.2.2.5　In vitro 活性測定へ及ぼす種々のパラメータの影響 41
2.6.2.2.5.1　培地、温度及び保存による影響 41
2.6.2.2.5.2　水溶液における安定性 41
2.6.2.2.5.3　液体培地における安定性 42

Confidential

2.6.2.2.5.4　液体及び寒天培地における in vitro 活性 43
2.6.2.2.5.5　その他の因子の in vitro 活性に及ぼす影響 43
2.6.2.2.6　殺菌活性 45
2.6.2.2.6.1　最小殺菌濃度 46
2.6.2.2.6.2　Time-Kill 試験 46
2.6.2.2.6.3　抗菌作用持続効果 49
2.6.2.2.6.4　β-ラクタマーゼ阻害作用持続効果 49
2.6.2.2.6.5　バイオフィルムにおける抗菌活性 49
2.6.2.2.7　In vitro 薬物相互作用試験 50
2.6.2.2.8　PK/PD 試験による評価 50
2.6.2.2.8.1　PD の要約 50
2.6.2.2.8.2　In vitro PD モデル：セフトロザン／タゾバクタム 51
2.6.2.2.8.3　In vitro PD モデル：タゾバクタム 52
2.6.2.2.8.4　In vivo PD モデル：セフトロザン 55
2.6.2.2.8.5　In vivo PD モデル：セフトロザン／タゾバクタム 58
2.6.2.2.8.6　結論 58
2.6.2.2.9　In vivo 感染防御試験 59
2.6.2.2.9.1　マウス敗血症モデル 60
2.6.2.2.9.2　マウス尿路感染症モデル 62
2.6.2.2.9.3　マウス肺炎モデル 63
2.6.2.2.9.4　マウス熱傷感染モデル 65
2.6.2.2.9.5　好中球減少症マウス大腿部感染モデル 65
2.6.2.3　副次的薬理試験 70
2.6.2.3.1　受容体／酵素スクリーニング試験 70
2.6.2.4　安全性薬理試験 71
2.6.2.4.1　心血管系 73
2.6.2.4.1.1　hERG カリウムチャネルに対するセフトロザンの影響（080125.DMK） 73
2.6.2.4.1.2　ラットの心血管系への影響（PH[redacted]0247） 73
2.6.2.4.1.3　イヌの心血管系への影響（CXA101-T-001） 73
2.6.2.4.2　呼吸系 74
2.6.2.4.2.1　ラットの呼吸系への影響（CXA101-T-003） 74
2.6.2.4.3　中枢神経系 75
2.6.2.4.3.1　マウス及びラットの脳室内投与による痙攣誘発作用（PH[redacted]1444） 75
2.6.2.4.3.2　ラットの中枢神経系への影響（CXA101-T-002） 75
2.6.2.4.4　腎臓系 75
2.6.2.4.5　免疫系 76

C Confidential

2.6.2.4.5.1　ヒスタミン遊離作用（PH[redacted]1574）.....76
2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験.....76
2.6.2.6　考察及び結論.....76
2.6.2.7　参考文献.....80

Confidential

表一覧

頁

表 2.6.2-1　*Pseudomonas aeruginosa* PAO1株のペニシリン結合蛋白（PBP）に対するセフトロザン、セフタジジム及びイミペネムの阻害濃度（IC_{50}）及び MIC 値 15
表 2.6.2-2　*Escherichia coli* のペニシリン結合蛋白（PBP）に対するセフトロザン、セフタジジム及びイミペネムの阻害濃度（IC_{50}）及び MIC 値 15
表 2.6.2-3　*Pseudomonas aeruginosa* PAO1株でのセフトロザンの耐性菌出現頻度（2試験の合算） 17
表 2.6.2-4　セフトロザン、セフェピム及びセフタジジム耐性の *Pseudomonas aeruginosa* 分離株における AmpC β-ラクタマーゼ誘導 18
表 2.6.2-5　継代培養試験終了時（16日）における *Pseudomonas aeruginosa* 株に対する MIC 18
表 2.6.2-6　AmpC β-ラクタマーゼの産生量が異なる遺伝子改変 *Pseudomonas aeruginosa* PA01株に対するセフトロザン及び対照薬の抗菌活性 21
表 2.6.2-7　*Pseudomonas aeruginosa* の精製 AmpC β-ラクタマーゼの反応速度パラメータ（セフトロザン及びセフタジジムを基質とした場合） 22
表 2.6.2-8　外膜蛋白質ポーリン（OprD）に変異がある *Pseudomonas aeruginosa* 変異株に対するセフトロザン及び対照薬の抗菌活性 22
表 2.6.2-9　MexAB-OprM、MexEF-OprN 及び MexCD-OprJ 排出ポンプがセフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の最小発育阻止濃度に及ぼす影響 23
表 2.6.2-10　米国、EU、英国及びカナダにおける臨床分離株（2008~2012年）に対するセフトロザン／タゾバクタムの in vitro 活性 25
表 2.6.2-11　ESBL 産生 *Escherichia coli* 分離株に対するセフトロザンの MIC 分布に及ぼすタゾバクタム濃度の影響（2008年に米国で実施した調査） 27
表 2.6.2-12　*Escherichia coli* 及び ESBL 表現型を有する *Escherichia coli* に対するセフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の活性の要約（2012年の米国調査） 28
表 2.6.2-13　多剤耐性（MDR）*Escherichia coli* に対するセフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の活性の要約 28
表 2.6.2-14　*Klebsiella pneumoniae* 及び ESBL 表現型を有する *Klebsiella pneumoniae* に対するセフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の活性の要約（2012年の米国調査） 29
表 2.6.2-15　分子的に特定された耐性遺伝子を有する腸内細菌科細菌に対するセフトロザン／タゾバクタムの活性の要約 29
表 2.6.2-16　多剤耐性（MDR）*Pseudomonas aeruginosa* に対するセフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の活性の要約 30
表 2.6.2-17　国内臨床分離株に対するセフトロザン／タゾバクタムの in vitro 活性（Ⅰ） 33

Confidential

表 2.6.2-18　国内臨床分離株に対するセフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の MIC 値（Ⅰ）……34
表 2.6.2-19　国内臨床分離株に対するセフトロザン／タゾバクタムの in vitro 活性（Ⅱ）……35
表 2.6.2-20　国内臨床分離株に対するセフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の MIC 値（Ⅱ）……38
表 2.6.2-21　セフトロザン／タゾバクタム及び対照薬に対する *Pseudomonas aeruginosa* 感受性株の割合……41
表 2.6.2-22　セフトロザン／タゾバクタムの水溶液及び生理食塩水溶液中での保存温度と時間における安定性……42
表 2.6.2-23　ミュラーヒントン液体培地におけるセフトロザン及びセフトロザン／タゾバクタムの安定性（%）……43
表 2.6.2-24　3%ウマ溶血血液添加ミュラーヒントン液体培地におけるセフトロザン及びセフトロザン／タゾバクタムの安定性（%）……43
表 2.6.2-25　*Haemophilus* 試験培地におけるセフトロザン及びセフトロザン／タゾバクタムの安定性（%）……43
表 2.6.2-26　グラム陰性菌に対するセフトロザン／タゾバクタムの最小殺菌濃度……46
表 2.6.2-27　Time-Kill 試験におけるセフトロザンの殺菌活性の要約……47
表 2.6.2-28　*Escherichia coli* の同一遺伝子系統の分離株、遺伝的特性解析済みの *Escherichia coli* 及び *Klebsiella pneumoniae* 臨床分離株におけるタゾバクタムの%T>threshold の要約……54
表 2.6.2-29　腸内細菌科細菌及び *Pseudomonas aeruginosa* に対する静菌及び殺菌活性に必要な%T>MIC……56
表 2.6.2-30　MIC 値が高い *Pseudomonas aeruginosa* 及び *Streptococcus pneumoniae* に対する静菌及び殺菌活性に必要な%T>MIC……57
表 2.6.2-31　タゾバクタムの用量が β-ラクタマーゼ産生株に対するセフトロザンの有効性に及ぼす影響……58
表 2.6.2-32　*Pseudomonas aeruginosa*、腸内細菌科細菌及び *Streptococcus pneumoniae* により誘発されたマウス敗血症に対するセフトロザンの有効性の要約……60
表 2.6.2-33　*Escherichia coli* 及び *Klebsiella pneumoniae* の ESBL 陰性及び陽性臨床分離株を接種したマウス敗血症モデルに対するセフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の有効性……61
表 2.6.2-34　*Pseudomonas aeruginosa* によるマウス尿路感染症に対するセフトロザン及び対照薬の有効性……62
表 2.6.2-35　免疫能正常マウス肺感染症モデルのセフトロザン、セフタジジム及びピペラシリン／タゾバクタム投与48時間後の肺及び脾臓の細菌数……63
表 2.6.2-36　好中球減少症マウス肺感染症モデルにおけるセフトロザン及び対照薬の *Pseudomonas aeruginosa* 及び *Klebsiella pneumoniae* に対する有効性……64

C Confidential

表 2.6.2-37　好中球減少マウス肺感染症モデルにおける *Pseudomonas aeruginosa* 及び *Klebsiella pneumoniae* 同時感染に対するセフトロザン及び対照薬の有効性.....65
表 2.6.2-38　ESBL 産生菌に対するセフトロザン単剤及びβ-ラクタマーゼ阻害剤と併用した場合の MIC 値.....67
表 2.6.2-39　実施した安全性薬理試験の一覧.....72

C Confidential

図一覧

頁

図 2.6.2-1　Ceftolozane(0.25 μg/mL)に2時間曝露後の *Pseudomonas aeruginosa* の形態変化 ...16
図 2.6.2-2　セフトロザン／タゾバクタムの曝露量と薬剤耐性（MIC の3倍）となった *Escherichia coli* のコロニー数の変化量（10日目） ...20
図 2.6.2-3　セフトロザン／タゾバクタム（TOL／TAZ）の曝露量と薬剤耐性（MIC の1.5倍）となった *Pseudomonas aeruginosa* のコロニー数の変化量（10日目） ...20
図 2.6.2-4　感受性及び多剤耐性 *Psedomonas aeruginosa* に対するセフトロザン／タゾバクタムの Time-Kill 試験 ...48
図 2.6.2-5　PK/PD in vitro 感染モデルにおける投与24時間後のタゾバクタム曝露量の3つの評価項目 AUC、C_{max} 及び%T>threshold と同一遺伝系統の CTX-M-15産生 *Escherichia coli* の $\log_{10}$ CFU の変化との関係 ...53
図 2.6.2-6　PK/PD in vitro 感染モデルにおけるタゾバクタムの%T>threshold とベースラインから投与後24時間までの $\log_{10}$CFU の変化との関係（*Escherichia coli* 及び *Klebsiella pneumoniae*） ...54
図 2.6.2-7　PK/PD 指標と好中球減少症マウスの大腿部に感染した *Escherichia coli*（ATCC 25922株）に対するセフトロザンの抗菌活性との関係 ...55
図 2.6.2-8　*Pseudomonas aeruginosa*（ATCC 27853、PO2）に対するセフトロザン及びセフタジジムの殺菌活性の経時的変化 ...66
図 2.6.2-9　好中球減少症マウス大腿部感染モデルにセフトロザン 400 mg/kg/6h を単剤投与した場合とクラブラン酸又はタゾバクタムを併用した場合の有効性 ...68
図 2.6.2-10　好中球減少症マウス大腿部感染モデルにセフトロザン 800 mg/kg/6h を単剤投与した場合とクラブラン酸又はタゾバクタムを併用した場合の有効性 ...68
図 2.6.2-11　好中球減少症マウスの肺又は大腿部にセフトロザン 400 mg/kg/6h を単剤投与した場合とクラブラン酸又はタゾバクタムを併用した場合の有効性 ...69
図 2.6.2-12　好中球減少症マウス大腿部感染モデルにセフトロザン 800 mg/kg/6h を単剤投与した場合とクラブラン酸又はタゾバクタムを併用した場合の ESBL 産生腸内細菌科細菌2株に対する有効性 ...69

Confidential

略号及び用語の定義

略号	定義	
ATCC	American type culture collection	米国培養細胞系統保存機関
$AUC_{0\text{-}8\ hr}$	Area under the concentration-time curve from time zero to 8 hours	0時間から8時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}\infty}$	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinity	0時間から無限大までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BBC	Biofilm bactericidal concentration	バイオフィルム殺菌活性濃度
BLI	β-lactamase inhibitor	β-ラクタマーゼ阻害剤
BLNAR	β-lactamase-negative ampicillin resistant	β-ラクタマーゼ非産生アンピシリン耐性
CAMHB	Cation adjusted mueller-hinton broth	カチオン調整ミュラーヒントン液体培地
CFU	Colony forming unit	コロニー形成単位
cIAI	Complicated intra-abdominal infections	複雑性腹腔内感染症
CLSI	Clinical and laboratory standards institute	臨床検査標準協会
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	Central nervous system	中枢神経系
cUTI	Complicated urinary tract infections	複雑性尿路感染症
ECG	Electrocardiogram	心電図
ED_{50}	Median effective dose at 50%	50%の動物を生存させた作用量
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
ESBL	Extended spectrum β-lactamase	基質特異性拡張型 β-ラクタマーゼ
EU	European Union	欧州連合
FIC	fractional inhibitory concentration	-
fT>MIC	-	非結合型薬物血中濃度を用いた T>MIC
GLP	Good laboratory practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HEK293	Human embryonic kidney cells, line 293	ヒト胚腎293細胞株
hERG	Human ether-à-go-go related gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
HTM	*Haemophilus* test medium	*Haemophilus* 試験培地
ICH	International conference on harmonisation	医薬品規制調和国際会議
ICV	Intracerebroventricular	脳室内
Ig	Immunoglobulin	免疫グロブリン
IV	Intravenous	静脈内
LHB	Lysed horse blood	ウマ溶血血液
MBC	Minimum bactericidal concentration	最小殺菌濃度
MBL	Metallo β-lactamase	メタロ β-ラクタマーゼ
MDR	Multiple drug resistance	多剤耐性
MICx	Minimum inhibitory concentration that inhibits x% of the microbial strains	分離株の x%を阻害する最小発育阻止濃度
OprD	Outer membrane protein porin D	外膜蛋白質ポーリン
PAE	Post antibiotic effect	抗菌作用持続効果
PBLIE	Post β-lactamase inhibitor effect	β-ラクタマーゼ阻害作用持続効果
PBP	Penicillin binding protein	ペニシリン結合蛋白質
PD	Pharmacodynamics	薬力学
PIPC	Piperacillin	ピペラシリン
PIPC/TAZ	Piperacillin/tazobactam	ピペラシリン／タゾバクタム
RND	Resistance-nodulation-division	-
SD	Sprague Dawley	-

C Confidential

略号	定義	
T>MIC	Time above the minimum inhibitory concentration	薬物濃度が MIC を超えて維持される時間
%T>MIC	% of time above the minimum inhibitory concentration	薬物濃度が MIC を超えて維持される時間の割合

Confidential

2.6.2　薬理試験の概要文

2.6.2.1　まとめ

新規の抗菌薬であるタゾバクタムナトリウム／セフトロザン硫酸塩注射剤（セフトロザンとして1,000 mg、タゾバクタムとして500 mg）は、セフトロザン（CXA-101、CB-500,101又は FR264205）と β-ラクタマーゼ阻害薬（BLI）であるタゾバクタムとの配合剤（セフトロザン／タゾバクタム、MK-7625A 又は CXA-201）であり、多剤耐性（MDR）株を含む *Pseudomonas aeruginosa* や多くの基質特異性拡張型 β-ラクタマーゼ（ESBL）産生腸内細菌科細菌を含む他の一般的なグラム陰性菌に対して抗菌活性を有している。また、セフトロザン／タゾバクタムは耐性が発現する可能性が低いことが示されている。非臨床試験で用いたいずれの動物種においても、セフトロザンは臨床用量での曝露量で心血管系、呼吸系及び中枢神経系に影響を及ぼす可能性はないことが示された。タゾバクタムはその特徴が十分に確立されている BLI であり、現在市販されている注射用タゾバクタム・ピペラシリン（以下、PIPC/TAZ）の組成成分の1つである。

収集したセフトロザン、タゾバクタム及びセフトロザン／タゾバクタムの非臨床薬理データと入手可能なタゾバクタムの臨床安全性データベースを併せると、グラム陰性菌による複雑性尿路感染症（cUTI）及び複雑性腹腔内感染症（cIAI）の治療において、セフトロザン／タゾバクタムを1回1,000 mg/500 mg の用量で1日3回最長14日間静脈内投与することが支持される。母集団薬物動態解析に基づき、日本人患者（腎機能障害患者を含む）での血漿中セフトロザン及びタゾバクタムの $AUC_{0\text{-}24\ hr}$［1日当たりの AUC として、承認申請用量（セフトロザン1 g＋タゾバクタム0.5 g、クレアチニンクリアランスが50 mL/min 以下の患者ではセフトロザン500 mg＋タゾバクタム250 mg）を8時間ごとに反復投与した時の $AUC_{tau,ss}$ を3倍して算出］及び C_{max} は、セフトロザンではそれぞれ591 μg·hr/mL 及び67.8 μg/mL、タゾバクタムではそれぞれ95.7 μg·hr/mL 及び18.3 μg/mL であった（013/014試験）［資料5.3.4.2: 04SQ2L］。また、タゾバクタムの主要代謝物である M1の日本人患者での曝露量は算出していないが、日本人健康被験者での C_{max} は0.61 μg/mL、1日3回投与のため1日当たりの曝露量の概算値として $AUC_{0\text{-}last}$ を3倍した値は13.2 μg·hr/mL であった（13-05試験）［2.7.2 項］。

作用機序と耐性機構

セフトロザンはペニシリン結合蛋白質（PBP）に結合して、細胞壁の合成を阻害して細胞死を引き起こすことにより、迅速な殺菌作用を示す［2.6.2.2.1.1 項］。セフトロザンは、*P. aeruginosa* の細胞壁合成、細胞複製及び細胞の生存に必須である PBP3を強力に阻害する。タゾバクタムは一般的なクラス A の β-ラクタマーゼの大部分及びクラス C の β-ラクタマーゼの一部に対し、その活性部位に結合することにより強力な阻害作用を有し、セフトロザンが加水分解されるのを防ぐ。このタゾバクタムの β-ラクタマーゼ阻害作用によりセフトロザンの抗菌スペクトルが広がり、セフトロザン／タゾバクタムは多くの ESBL 産生腸内細菌科細菌を阻害することができる［2.6.2.2.3 項］。

In vitro における一段階及び多段階継代培養による耐性菌選択試験及び10日間の中空糸モデルにおいて、*P. aeruginosa* 及び ESBL 産生 *Escherichia coli* のセフトロザン／タゾバクタム耐性菌が

C Confidential

出現する可能性は低いことが示された[2.6.2.2.2.1項]。セフトロザンは *P. aeruginosa* の AmpC 酵素に対する親和性が低いため、AmpC による加水分解を受けず安定であった。さらに、セフトロザンは菌体外膜蛋白質ポーリン（OprD）の欠損による影響を受けず、また、排出ポンプの基質でもなかった[2.6.2.2.2.3項] [2.6.2.2.2.4項]。

抗菌活性スペクトル

海外の33,000以上（2008～2012年）の臨床分離株について、固定濃度のタゾバクタム（4 μg/mL）を用いてセフトロザン／タゾバクタムの感受性試験を実施した[2.6.2.2.3項]。これらの試験では、米国で2008年に分離・同定した4,000以上の株、2011～2012年に分離・同定した10,000以上の株、欧州で2011～2012年に分離・同定した11,000以上の株を対象とした。その結果、セフトロザン／タゾバクタムは、*E. coli* 及び *Klebsiella pneumoniae* 等の腸内細菌科細菌や *P. aeruginosa* 等のブドウ糖非発酵菌を含む臨床的に重要な多くのグラム陰性菌、*Streptococcus pneumoniae* や *Streptococcus pyogenes* 等のグラム陽性菌、及び *Bacteroides fragilis* 等の嫌気性菌を含む広範な抗菌スペクトルを示した。また、カルバペネム系、セファロスポリン系、フルオロキノロン系及びアミノグリコシド系抗菌薬に耐性の *P. aeruginosa* 株（多くの多剤耐性分離株を含む）に対する活性を示した。一連の *P. aeruginosa* 株に対するセフトロザン／タゾバクタムの $MIC_{50/90}$値（0.5/4 μg/mL）は、全身投与されるすべての抗 *P. aeruginosa* 薬剤の中で、コリスチンを除いて最も低かった。セフトロザン／タゾバクタムは大半の腸内細菌科細菌に対して活性を示し、*E. coli* に対する $MIC_{50/90}$は0.25/0.5 μg/mL、ESBL 産生 *E. coli* に対する $MIC_{50/90}$は0.5/4 μg/mL であった[表 2.6.2-10]。

日本国内の臨床分離株に対しても、海外と同様に、固定濃度のタゾバクタム（4 μg/mL）を用いてセフトロザン／タゾバクタムの感受性試験を2回実施した。これらの試験では、主に2012年から2013年に日本国内で分離・同定した約630の臨床分離株、さらに2016年1月から9月に分離・同定した約2,050の臨床分離株を用いた。セフトロザン／タゾバクタムは、*E. coli* 及び *K. pneumoniae* 等の腸内細菌科細菌や *P. aeruginosa* 等のブドウ糖非発酵菌を含む臨床的に重要な多くのグラム陰性菌に対する活性を示した。また、*S. pneumoniae* や *S. pyogenes* 等のグラム陽性菌ならびに *B. fragilis* 等の嫌気性菌に対して活性を示した。特にイミペネム（IPM）非感性及び AmpC 産生菌を含む *P. aeruginosa* に対して強い活性を示した。国内臨床分離株を用いた2回の感受性試験からは同様の結果が得られ、両試験間に差異はみられなかった。また、海外臨床分離株を用いた感受性試験と概ね同様の結果であった。

セフトロザンの活性スペクトルは、全般的にセフタジジムと類似しているが、セフトロザンの抗 *P. aeruginosa* 活性は、現在市販されているセファロスポリン系及びカルバペネム系を含むすべての β-ラクタム系抗菌薬の中で最も強力である。特にカルバペネム系、セファロスポリン系、フルオロキノロン系又はアミノグリコシド系抗菌薬に耐性の *P. aeruginosa*（多くの多剤耐性分離株を含む）に対して、セフトロザンが活性を示していることは重要である。セフトロザンは、*P. aeruginosa* の AmpC 酵素による加水分解に比較的安定であり、排出ポンプの過剰発現や外膜蛋白質（OprD）の欠損といった *P. aeruginosa*is の耐性機構による影響もほとんど受けないため、薬剤耐性 *P. aeruginosa* に対し強力な活性を有する。タゾバクタムは、ESBL 産生グラム陰性桿菌の大

C Confidential

部分及び *B. fragilis* 等の重要な嫌気性病原菌に対するセフトロザンの in vitro 抗菌活性を増強させる[資料4.3: 101]。他のセファロスポリン系抗菌薬と同様に、セフトロザン／タゾバクタムの腸球菌及びブドウ球菌に対する活性は限定的であった。

PK/PD 試験による評価

他のセファロスポリン系抗菌薬と同じく、セフトロザンの in vivo での有効性と最も関連する PK 指標は、血漿中薬物濃度が最小発育阻止濃度（MIC）を超えている時間の割合（%T>MIC）であることが示された[2.6.2.2.8項]。有効性に関する%T>MIC の値は、セフトロザンの方が他の β ラクタム系薬剤よりも低かった。In vivo 試験に基づき、静菌及び1 log 殺菌に必要な平均%T>MIC（中間値）は、それぞれ25.2%（24.8%）及び31.5%（32.2%）であった[資料4.3: 135]。セフトロザンの蛋白結合率は低く、また MIC に対する血清の影響はないことから、セフトロザンの PK/PD パラメータのターゲット値は約30%の T>MIC であることが支持された。

In vitro 及び in vivo の試験から、セフトロザン存在下でのタゾバクタムの効果は%T>threshold に関連していることが示された。In vivo 試験からは、タゾバクタムの PK/PD ターゲットとしては、閾値濃度1 μg/mL に対して約20%T>threshold であった。

In vivo 感染防御試験

セフトロザン及びセフトロザン／タゾバクタムの in vivo での有効性を、敗血症、肺炎、尿路感染症、熱傷及び大腿部感染等、マウスを用いた様々な感染症モデルにより評価した[2.6.2.2.9項]。その結果、セフトロザン及びセフトロザン／タゾバクタムは、多剤耐性株を含めた *P. aeruginosa* 及び ESBL 産生株を含めた腸内細菌科細菌（*E. coli*、*K. pneumoniae* 等）を接種させた様々な感染症モデルにおいて優れた有効性を示した。また、試験対象としたすべての病原菌に対して、セフトロザン及びセフトロザン／タゾバクタムは、全般的に対照薬と同程度又はそれ以上の有効性を示した。

副次的薬理試験

128～130種類の標的外の分子（受容体及び酵素）パネルに対して、セフトロザン（766 μg/mL）、タゾバクタム（448 μg/mL）及びタゾバクタム M1代謝物（30 μg/mL）の in vitro 結合阻害活性（無血清下）を検討した。セフトロザン、タゾバクタム及びタゾバクタム M1代謝物は、それぞれ合計16種類、1種類及び2種類の分子に対する結合を50%超で阻害した。この無血清アッセイで用いたセフトロザン及びタゾバクタムの濃度は、日本人患者における平均臨床 C_{max} のそれぞれ約11倍及び24倍、タゾバクタム M1代謝物は日本人健康被験者の C_{max} の49倍であった [2.7.2項]。認められた阻害が比較的軽微であったこと（大半は60%未満）、また、これらの影響が平均臨床 C_{max} 値の11～49倍の濃度で認められていることから、上記の受容体及び酵素に対する IC_{50}値を求めるための追加試験は実施しなかった。さらに、ラット又はイヌを用いて実施したセフトロザン（タゾバクタム存在又は非存在下）の in vivo 安全性薬理試験及び一般毒性試験で、これらの分子に関連する可能性のある明らかな影響は認められなかった。

C Confidential

安全性薬理試験

心血管系及び呼吸系に対する影響を評価した in vivo 安全性薬理試験では、セフトロザンの C_{max} を直接測定していないが、ラット及びイヌを用いて GLP 適用下で実施した重要な毒性試験で得られた投与初日の C_{max} より間接的に推定した[2.6.7.7.1A 項]（TX[redacted]3006）、[2.6.7.7.1D 項]（TX[redacted]3013）。

心血管系に対する影響（セフトロザン）[2.6.2.4.1 項]

セフトロザンは臨床用量での曝露量で、心血管系に対して有害な影響を及ぼさなかった。セフトロザンは、検討した最高濃度の667 μg/mL（日本人 cUTI 及び cIAI 患者における平均 C_{max} の約9.8倍）まで、ヒトの ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）チャネルに影響を及ぼさなかった。ラット又はイヌにセフトロザンを100 mg/kg の用量（推定 C_{max} は日本人 cUTI 及び cIAI 患者における平均 C_{max} の約3.2～3.6倍）で静脈内投与したところ、心血管機能に有意な影響は認められなかった。ラット（雄）にセフトロザンを320 mg/kg の用量で急速静脈内投与したところ、心拍数が投与前値と比較してわずかではあるが統計学的に有意に減少（11%）した。1,000 mg/kg では、投与前値と比較して統計学的に有意な心拍数の減少（22%）及び平均血圧の低下（27%）がみられた。イヌ（雄）では、セフトロザンを静脈内投与すると、300 mg/kg 群の1例で一過性の心拍数の増加（37%）が認められたが、心電図（ECG）に変化は認められなかった。これらの変化が認められた用量での推定 C_{max} は、ラット（雄）では728～2,028 μg/mL、イヌ（雄）では793 μg/mL であり、日本人 cUTI 及び cIAI 患者における平均 C_{max} の約11～30倍に相当した。臨床試験で安全性上の問題となる心拍数及び血圧の変化は認められなかった[2.5 項]。

呼吸系[2.6.2.4.2.1 項]及び中枢神経系[2.6.2.4.3 項]に対する影響（セフトロザン）

セフトロザンは、検討した最高用量の689 mg/kg（推定 C_{max} は1,397 μg/mL）まで静脈内投与しても、ラットの呼吸系及び神経系に影響を及ぼさなかった。この C_{max} は、日本人 cUTI 及び cIAI 患者における平均 C_{max} の約21倍に相当した。セフトロザンをマウス（最高600 μg/匹）及びラット（最高1,600 μg/匹）の脳室内に投与したときの痙攣誘発作用の強さは、販売されている広域スペクトル第4世代セファロスポリン系注射剤のセフォセリスと比較すると、それぞれ24分の1及び7.4分の1であった。In vitro において、セフトロザンを3,000 μg/mL（日本人 cUTI 及び cIAI 患者における平均 C_{max} の44倍）までの濃度でヒトの末梢血白血球とインキュベートしても、ヒスタミンの放出は認められなかった。

セフトロザン／タゾバクタム

ICH M3（R2）「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」では、一般的に臨床試験の実施や製造販売承認のための配合剤を用いた安全性薬理試験の実施は推奨されていないことから、セフトロザン／タゾバクタムの併用での安全性薬理試験は実施しなかった。セフトロザン及びタゾバクタムの薬理学的プロファイル並びにタゾバクタム及びタゾバクタム M1代謝物で知られている臨床での安全性プロファイルを考慮すると、

C Confidential

安全性薬理評価において相乗的及び相加的な影響を及ぼすことはないと考えられた。

要約

セフトロザン／タゾバクタムは、様々な多剤耐性菌及び ESBL 産生グラム陰性菌に対して強力な抗菌活性を示した。また耐性が発現する可能性は低かった。セフトロザンは、単独又はタゾバクタムとの併用のいずれにおいても、様々な感染症モデル動物で高い有効性を示し、臨床用量での曝露量で心血管系、呼吸系及び中枢神経系の機能に影響を及ぼす可能性は示されなかった。以上の非臨床薬理データから、cUTI 及び cIAI の治療において、MK-7625A（セフトロザン 1,000 mg、タゾバクタム 500 mg）を1日3回最長14日間静脈内投与することが支持される。

セフトロザン、タゾバクタムあるいはタゾバクタムの M1代謝物を用いて実施した安全性薬理試験の一覧を[表 2.6.2-39]に示す。

2.6.2.2　効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験として、セフトロザン／タゾバクタムの作用機序、耐性機構、抗菌活性スペクトル、殺菌活性及び相乗効果、並びに動物感染症モデルによる in vivo 感染防御試験を実施した。

セフトロザンは細菌の生存にとって必須の PBP に結合することにより殺菌作用を示す、グラム陰性菌及びグラム陽性菌の両者の病原菌を標的とする抗菌薬である。また、タゾバクタムは多くの細菌のクラス A 及び C の β-ラクタマーゼを阻害する。したがって、セフトロザン／タゾバクタムの主要なすべての効果は、動物やヒトの器官や組織ではなく細菌を標的としていることから、海外で実施した試験はすべて CPMP/EWP/558/95 rev 2: Guideline on the evaluation of medicinal products indicated for treatment of bacterial infections（細菌感染の治療に適応される医薬品の評価に関するガイドライン）に従った。なお、本文書内の MIC 値はすべて μg/mL で表示した。

2.6.2.2.1　作用機序

2.6.2.2.1.1　セフトロザンの作用機序

セフトロザンの基本的な化学的及び生物学的性質や作用機序は、他の β-ラクタム系抗菌薬と共通している[資料4.3: 102] [資料4.3: 103] [資料4.2.1.1.1] [資料4.2.1.1.2] [資料4.2.1.1.4]。主な作用機序は、PBP の不活性化であり、これにより細菌のペプチドグリカン生合成過程におけるペプチド転移反応を阻害する。β-ラクタム系抗菌薬は、PBP に結合することによって、これらの酵素の活性部位内にある特異的なセリン残基をアシル化し、トランスペプチダーゼ活性を阻害する。PBP への親和性が β-ラクタム系抗菌薬の抗菌スペクトル及び力価（増殖抑制及び殺菌活性）を決定する主な因子である。セフトロザンは強力な PBP3阻害剤であり、*P. aeruginosa* の細胞壁合成、細胞の複製及び生存に必須なすべての PBP（1b、1c、3）に対してセフタジジムより高い親和性を有する[資料4.2.1.1.2]。イミペネムと比較すると、セフトロザンの PBP3及び PBP1b に対する親和性は高かったが、PBP2及び PBP1c への親和性は低かった[表 2.6.2-1]。再度、*P. aeruginosa* 及び *E. coli* の PBP に対するセフトロザンの結合試験を実施したところ[資料4.2.1.1.5]、*P. aeruginosa* の PBP

C Confidential

に対するセフトロザンの親和性は、PBP2に対する親和性（IC_{50} >50 μg/mL）を除き、最初の試験結果[表 2.6.2-1]と同様であることが確認された。この PBP2に対する親和性の相違は、試験実施施設の相違、用いた膜組織抽出物の相違、あるいは最初の試験での IC_{50}曲線の作成に用いた濃度範囲がより限定されていたためと考えられた。*E. coli* の PBP に対する親和性では、セフトロザンはセフタジジムと比べてやや低い傾向がみられた[表 2.6.2-2]。

表 2.6.2-1　*Pseudomonas aeruginosa* PAO1 株のペニシリン結合蛋白（PBP）に対するセフトロザン、セフタジジム及びイミペネムの阻害濃度（IC_{50}）及び MIC 値

PBP	Ceftolozane (μg/mL)	Ceftazidime (μg/mL)	Imipenem (μg/mL)
1b	0.07±0.01	0.12±0.03	0.13±0.01
1c	0.64±0.17	>2	0.08±0.005
2	1.36±0.56	>2	0.08±0.01
3	0.02±0.007	0.04±0.03	0.12±0.2
4	0.29±0.05	1.23±0.49	0.02±0.03
5/6	>2	>2	0.2±0.09
MIC (μg/mL)	0.5	1	1

n=3,　mean ± SD
Source: [資料4.2.1.1.2]

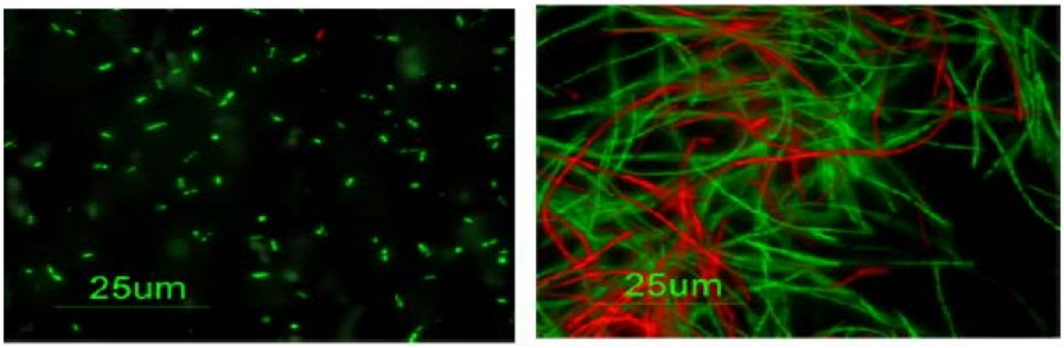
表 2.6.2-2　*Escherichia coli* のペニシリン結合蛋白（PBP）に対するセフトロザン、セフタジジム及びイミペネムの阻害濃度（IC_{50}）及び MIC 値

PBP	Ceftolozane (μg/mL)	Ceftazidime (μg/mL)	Imipenem (μg/mL)
1b	2.22	0.300	0.12
1c	>50	1.72	0.025
2	>50	23.8	<0.005
3	0.026	0.0057	4.1
4	>50	>50	<0.0015
5/6	>50	>50	0.073
MIC (μg/mL)	0.25	0.5	0.25

Source: [資料4.2.1.1.5]

P. aeruginosa PAO1株の細胞を阻害濃度以下（0.5 × MIC、0.25 μg/mL）のセフトロザン存在下で培養して細胞染色したとき、細胞が長いフィラメントを形成することが認められた[図 2.6.2-1]。これは PBP3活性の阻害と関連する細胞の隔壁形成の阻害を示していた[資料4.3: 001] [資料: 4.2.1.1.2] [資料4.2.1.1.1]。

C Confidential



Left panel: T0.　Right panel: after 2 hours of exposure to ceftolozane at 0.25 µg/mL (0.5 × MIC). Green stained cells are live while red stained cells are dead.
Source: [資料4.2.1.1.2]

図 2.6.2-1　　Ceftolozane(0.25 µg/mL)に 2 時間曝露後の *Pseudomonas aeruginosa* の形態変化

2.6.2.2.1.2　　タゾバクタムの作用機序

タゾバクタム等の β-ラクタマーゼ阻害剤は、薬剤感受性の β-ラクタマーゼを産生する菌に対して、セフトロザンやピペラシリン（PIPC）等の β-ラクタム系抗菌薬の抗菌活性を増強、拡張させる。タゾバクタム自体には抗菌活性はない（MIC >16 µg/mL）[資料4.2.1.1.6] [資料4.2.1.1.7]。タゾバクタムは β-ラクタマーゼの不可逆的阻害剤であり、細菌の染色体性又はプラスミド介在性 β-ラクタマーゼに共有結合する。酵素反応速度研究において、タゾバクタムは β-ラクタマーゼ酵素を不可逆的に不活性化させる前に、可逆性の酵素結合反応を示した[資料4.3: 105]。

2.6.2.2.1.3　　タゾバクタムの β-ラクタマーゼ阻害反応

1994年に Payne らは、分離した35種類のプラスミド介在性 β-ラクタマーゼ（20種類は ESBL 及び15種類は従来のスペクトルのプラスミド介在性 β-ラクタマーゼ）を用いて、クラブラン酸、スルバクタム及びタゾバクタムの β-ラクタマーゼ阻害活性を報告している[資料4.3: 106]。全体的には、クラブラン酸とタゾバクタムは、評価した一連の β-ラクタマーゼに対して同程度の阻害活性を示した。しかしながら、各阻害剤のプロファイルには差異が認められた。TEM-2、OXA-2及び OXA-5に対しては、タゾバクタムはクラブラン酸より強い阻害活性を示し、SHV-1、SHV-5及び TEM-5に対しては、クラブラン酸の方がタゾバクタムより強い阻害を示した。

別の試験では、3種類のクラス A の β-ラクタマーゼ酵素（TEM-1、CTX-M-15、CTX-M-14）に対するタゾバクタムの阻害反応機構を検討した[資料4.2.1.1.53]。その結果、タゾバクタムはこれらの酵素に対して、クラブラン酸及びスルバクタムよりも優れた阻害作用を示した。タゾバクタムは、クルブラン酸及びスルバクタムと比べ、最大で110倍強い IC_{50}を示し、酵素による不活性化経路において加水分解され難く、また測定した脱アシル化の程度に基づくと、酵素への結合は同程度以上に維持された。

C Confidential

2.6.2.2.2　　耐性発現及び耐性機構

2.6.2.2.2.1　　In vitro における耐性の要約

セフトロザン及び対照の抗菌薬を *P. aeruginosa* に曝露したとき薬物耐性発現の有無を検討するために、薬物耐性株の一段階及び多段階継代培養選択試験を行った[資料4.2.1.1.8] [資料4.3: 103] [資料4.2.1.1.9] [資料4.2.1.1.10] [資料4.2.1.1.11] [資料4.2.1.1.12] [資料4.2.1.1.13]。さらに、セフトロザン／タゾバクタム投与時の *P. aeruginosa* 及び ESBL 産生 *E. coli* の耐性菌出現率を10日間の中空糸モデルにより評価した。その結果、*P. aeruginosa* 及び *E. coli* のいずれにおいても、セフトロザン／タゾバクタム耐性菌が出現する可能性は低いことが示された[資料4.2.1.1.14] [資料4.2.1.1.15] [資料4.3: 107]。

薬物耐性株の一段階培養選択試験では、MIC の4倍、8倍及び16倍のセフトロザン又は対照薬と *P. aeruginosa* PAO1株を48時間培養した後のコロニー数を評価した[資料4.2.1.1.8] [資料4.2.1.1.12]。耐性菌の出現頻度は、添加した CFU の総量に対する選択培地上のコロニーの割合として算出した。セフトロザンの耐性菌出現頻度は、MIC の4倍濃度においてイミペネムより低く、8倍及び16倍濃度では同程度であった。また、評価したすべての濃度でセフタジジムより低かった [表 2.6.2-3]。

表 2.6.2-3　　*Pseudomonas aeruginosa* PAO1 株でのセフトロザンの耐性菌出現頻度（2 試験の合算）

Multiple of MIC	ceftolozane	ceftazidime	cefepime	imipenem
4 × MIC Exp 1	$< 6.1 \times 10^{-9}$	4.3×10^{-7}	No data	$> 6.1 \times 10^{-6}$
4 × MIC Exp 2	1.10×10^{-8}	7.9×10^{-7}	$< 4.5 \times 10^{-8}$	No data
8 × MIC Exp 1	$< 6.1 \times 10^{-9}$	3.7×10^{-7}	No data	$< 6.1 \times 10^{-9}$
8 × MIC Exp 2	$< 4.5 \times 10^{-9}$	6.2×10^{-7}	$< 4.5 \times 10^{-8}$	No data
16 × MIC Exp 1	$< 6.1 \times 10^{-9}$	1.2×10^{-8}	No data	$< 6.1 \times 10^{-9}$
16 × MIC Exp 2	$< 4.5 \times 10^{-9}$	1.6×10^{-7}	No data	No data

Source:　[資料4.2.1.1.8]
Source:　[資料4.2.1.1.12]
Abbreviations: Exp = experiment; MIC = minimum inhibitory concentration.

耐性菌の出現頻度試験の1試験[資料4.2.1.1.12]で分離されたセフトロザン耐性 *P. aeruginosa*（PAO1）株の特性を、MIC 測定による薬剤感受性試験、染色体性 AmpC β-ラクタマーゼ発現及び全ゲノム配列の解析により検討した。全ゲノム配列より、評価した3株すべてに二成分制御系のセンサー蛋白質をコードしていると推定される遺伝子の変異が認められ、アスパラギン酸デカルボキシラーゼ前駆体をコードしている遺伝子の変異が3株中1株で認められた。これらのセフトロザン耐性分離株では、親株と比較して染色体性 AmpC β-ラクタマーゼ活性の上昇は認められなかった。一方、セフタジジム及びセフェピム耐性株では、親株と比較して AmpC β-ラクタマーゼの活性がそれぞれ約40～50倍及び100～150倍に上昇した[表 2.6.2-4]。

C Confidential

表 2.6.2-4　　セフトロザン、セフェピム及びセフタジジム耐性の *Pseudomonas aeruginosa* 分離株における AmpC β-ラクタマーゼ誘導

Isolate Designation	Antibiotic Selection	V_{max}	Fold increase in activity compared to parent strain	CXA MIC (μg/mL)	CEP MIC (μg/mL)	CAZ MIC (μg/mL)
PAO1	NA	24	1	0.5	2	2
Aa2	ceftolozane	8	0.33	4	8	8
Ab1	ceftolozane	11	0.46	4	8	4
Ab2	ceftolozane	6	0.25	4	4	8
Ab3	ceftolozane	8.5	0.35	8	4	4
Ab4	ceftolozane	7.5	0.31	4	4	4
A3	cefepime	3619	151	4	32	128
B1	cefepime	4028	168	2	32	64
B3	cefepime	2932	122	2	32	64
B4	cefepime	2591	108	2	32	64
Fa2	ceftazidime	1233	51.38	2	32	64
Fb1	ceftazidime	1111.5	46.31	2	32	64
Fa1	ceftazidime	972	40.50	2	32	64
Fb2	ceftazidime	907.5	37.81	2	32	64
Fc1	ceftazidime	1039	43.29	16	32	64

Source: [資料4.2.1.1.12],　Abbreviations: CEP=cefepime, CAZ=ceftazidime; CXA=ceftolozane; MIC = minimum inhibitory concentration; NA = not applicable; Vmax = maximum rate.

さらに、*P. aeruginosa* PAO1株をセフトロザン又は対照薬の MIC の1/4濃度を含む培地にて培養し、連日薬剤を含む新鮮培地に交換して5日間連続継代培養した[資料4.2.1.1.8]。5日間培養後のセフトロザンの MIC は4倍に上昇し、最終的な MIC は2 μg/mL であった。一方、セフタジジム、イミペネム及びシプロフロキサシンの MIC は、それぞれ32倍、16倍及び16倍に上昇した。

別試験として、セフトロザンに対する低 MIC（Pa 44：0.5 μg/mL）、中程度 MIC（Pa 2638：2 μg/mL）及び高 MIC（Pa 2629 : 16 μg/mL）の3種類の *P. aeruginosa* を用いて、セフトロザン又は対照薬（セフタジジム又はメロペネム）存在下で16代連続継代培養した[資料4.2.1.1.10]。各薬剤の MIC の0、0.5、1、2、4倍の濃度を含む培地で3種類の *P. aeruginoca* をそれぞれ培養し、増殖可能な最大薬剤濃度での菌に対して新たに用量を高濃度まで設定して培養し、以下同様にして16日間継代培養した。試験終了時、3株すべてに対して最も高い MIC 値を示したのはセフタジジムであった[表2.6.2-5]。3種類の薬剤のいずれも、薬剤無添加培地での3代継代培養後の MIC 値は安定していた。

表 2.6.2-5　　継代培養試験終了時（16 日）における *Pseudomonas aeruginosa* 株に対する MIC

Strain Designation	Ceftolozane (μg/mL)	Ceftazidime (μg/mL)	Meropenem (μg/mL)
Pa 44 (low MIC; 0.5μg/mL)	256	>2048	256
Pa 44 (low MIC; 0.5μg/mL)	64	>2048	256
Pa 44 (low MIC; 0.5μg/mL)	32	2048	128
Pa 2638 (mid MIC;2 μg/mL)	8	512	32
Pa 2638 (mid MIC;2 μg/mL)	8	1024	32
Pa 2638 (mid MIC;2 μg/mL)	8	1024	32
Pa 2629 (high MIC; 16 μg/mL)	512	2048	256
Pa 2629 (high MIC; 16 μg/mL)	512	>2048	256
Pa 2629 (high MIC; 16 μg/mL)	512	2048	256

Source: [資料4.2.1.1.10],　Abbreviations: MIC = minimum inhibitory concentration.

C Confidential

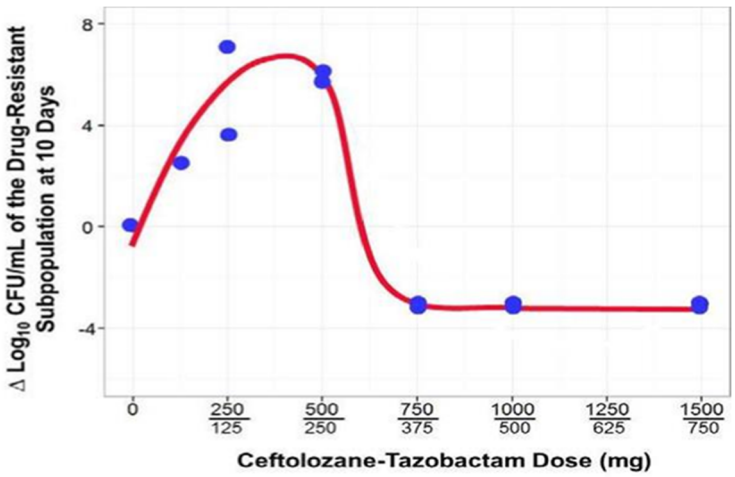
野生型 *P. aeruginosa* PAO1菌株（標準株）及びそのミスマッチ修復欠損変異誘発株（PAOMS）を用いて、セフトロザン／タゾバクタム、セフタジジム、メロペネム及びシプロフロキサシンに対する耐性の発現機構を検討するため、MIC の0.5～64倍の濃度の薬剤存在下で24時間培養し、生育した最高濃度での菌を7日間まで同様にして繰り返し培養した[資料4.2.1.1.13]。7日間の薬剤曝露後、PAO1菌株のセフトロザン／タゾバクタム変異株は中等度の耐性しか示さず（MIC 4～8 μg/mL）、薬剤曝露を14日間に延ばしてもその MIC は64倍の濃度には上昇せず、一方、セフタジジムは4日目までに、シプロフロキサシンとメロペネムは6日目までに MIC は64倍の濃度に上昇した。セフトロザン／タゾバクタムに曝露させた PAO1変異株の解析では2～4個の変異が認められ、変異誘発株 PAOMS 株では48～54個の変異が認められた。すべての変異株で全体的な遺伝子発現プロファイルに大きな変化が認められたが、PAOMS 変異株のみに AmpC の保存残基に多重変異がみられ、主に *dacB* や *ampR* などの *ampC* 調節因子内で認められた。この試験から、セフトロザン／タゾバクタムに対する高レベルの耐性発現は、*P. aeruginosa* 変異誘発株のみに効率的に生じることが示された。

E. coli、*K. pneumonia* 及び *E. cloacae* の変異による耐性発現を評価するため、阻害濃度以上及び阻害濃度以下のセフトロザン／タゾバクタム、セフタジジム、セフェピム、PIPC/TAZ 又はドリペネムの存在下で、薬剤耐性株の一段階及び多段階選択試験を行った[資料4.2.1.1.16]。これらの菌株には、野生型並びに TEM-1、CTX-M-15又は AmpC 産生菌（染色体性の誘導型・脱抑制型及び DHA-1などのプラスミド性の誘導型）が含まれる。その結果、セフトロザン／タゾバクタムは、PIPC/TAZ 及びセフタジジムよりも、変異による耐性発現は明らかに低いと考えられた。また、AmpC 産生分離株のセフトロザン／タゾバクタム耐性率はセフェピムより高く、ESBL 産生分離株のセフトロザン／タゾバクタム耐性率はセフェピムより低かった。

中空糸モデル[資料4.3: 131]を用いて耐性発現の抑制を評価するための試験を実施した。*P. aeruginosa* PA01株及び PA 2638株（臨床分離株）並びに ESBL 産生 *E. coli*（CTX-M-15中程度の産生菌）に対して、10日間の中空糸モデルを用いて、殺菌作用及び耐性発現を阻止するのに最適な薬物曝露量を検討した。セフトロザン／タゾバクタムでは125/62.5 mg～1,500/750 mg を8時間ごとに投与する用量・用法とし、対照薬の PIPC/TAZ では4,500 mg を6時間ごとに投与する用量・用法とした[資料4.2.1.1.14] [資料4.2.1.1.15] [資料4.3: 107]。試験10日目に、増殖対照及びセフトロザン／タゾバクタムの各投与用法から試料を採取して、薬剤を添加した平板培地に接種して耐性菌数の変化を求めた。薬剤耐性菌数の変化は、10日目における各投与用法での最終コロニー数から増殖対照の最終コロニー数を減じることより求めた。ESBL 産生 *E. coli* 株では、耐性菌の選択と薬物曝露量との関係は逆 U 字型を示した[図 2.6.2-2]。セフトロザン／タゾバクタムの高用量（750/375、1,000/500及び1,500/750 mg）では耐性菌の選択は起こらず、低中用量（125/62.5、250/125及び500/250 mg）では耐性が認められた。高用量では耐性発現が抑制されただけではなく殺菌作用を示した。*P. aeruginosa* 分離株では、セフトロザン／タゾバクタムを62.5/31.25 mg～2,000/1,000 mg の用量で評価した。10日間の中空糸モデルでは、*P. aeruginosa* PAO1株（セフトロザン／タゾバクタムの MIC: 0.5 μg/mL）の耐性菌はいずれの用量でも選択されなかった。そこで、セフトロ

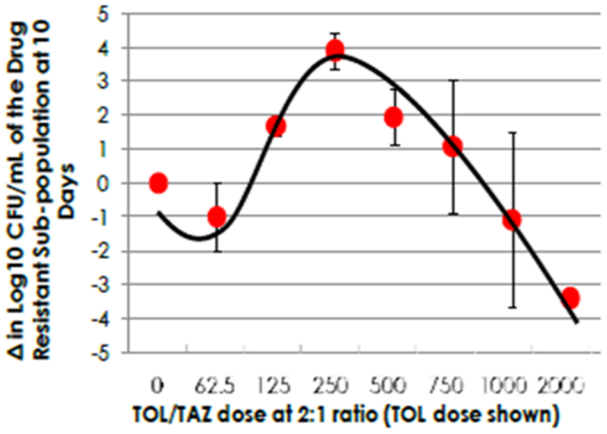
Confidential

ザン／タゾバクタムに対してより高い MIC（4 µg/mL）をもつ *P. aeruginosa* 分離株（PA 2638）を用いて検討した。この菌株においても、耐性菌と薬物曝露量との関係は逆 U 字型を示した[図 2.6.2-3]。セフトロザン／タゾバクタムの低用量（62.5/31.25 mg）及び2高用量（1,000/500 mg、2,000/100 mg）では耐性菌が選択されなかった。耐性菌は、中用量（125/62.5 mg, 250/125 mg 及び 500/250 mg）で最も顕著に認められ、750/375 mg ではごくわずかであった。また、薬剤耐性菌が選択されるまでの時間は、投与用量とともに増加した[資料4.2.1.1.14]。



Source: [資料4.2.1.1.15]

図 2.6.2-2　　セフトロザン／タゾバクタムの曝露量と薬剤耐性（MIC の 3 倍）となった *Escherichia coli* のコロニー数の変化量（10 日目）



TOL = ceftolozane; TAZ = tazobactam.
Source: [資料4.2.1.1.14]

図 2.6.2-3　　セフトロザン／タゾバクタム（TOL／TAZ）の曝露量と薬剤耐性（MIC の 1.5 倍）となった *Pseudomonas aeruginosa* のコロニー数の変化量（10 日目）

C Confidential

2.6.2.2.2.2　*Pseudomonas aeruginosa* の β-ラクタマーゼに対するセフトロザンの安定性

β-ラクタマーゼ産生は、*P. aeruginosa* の β-ラクタム系抗菌薬に対する主要な耐性機構である。*P. aeruginosa* は染色体にコードされる誘導性の AmpC β-ラクタマーゼを産生し、特にイミペネムなどの特定の β-ラクタム系抗菌薬が存在すると、AmpC β-ラクタマーゼの産生量は100～1,000倍に増加する [資料4.3: 108]。臨床分離株における AmpC の過剰発現は *ampD* の変異によるものが最も多く、AmpC の過剰誘導や恒常的な過剰産生をもたらす。セフトロザンの抗 *P. aeruginosa* 活性に及ぼす AmpC β-ラクタマーゼの発現レベルの影響と、*P. aeruginosa* から精製した AmpC β-ラクタマーゼに対するセフトロザンの安定性を検討した[資料4.2.1.1.8] [資料4.2.1.1.17] [資料4.2.1.1.3] [資料4.2.1.1.18]。

P. aeruginosa PAO1株及び AmpC を過剰産生するように遺伝子改変した5種類の PAO1株に対するセフトロザンの活性を評価した[資料4.2.1.1.8] [資料4.2.1.1.17]。セフトロザンの活性は、AmpC の過剰産生を引き起こす単一及び複合変異株のすべてに対して維持されたが、最も高い AmpC 発現率を示した *ampD-dacB*（AmpC 過剰発現-PBP4）欠損変異株のみがセフトロザンの MIC 値を4倍（2 μg/mL）に上昇させた。一方、セフタジジム、セフェピム、PIPC/TAZ 及びアズトレオナムでは、特に複数の変異がある株に対して数倍の MIC 値上昇がみられた[図 2.6.2-6]。

表 2.6.2-6　AmpC β-ラクタマーゼの産生量が異なる遺伝子改変 *Pseudomonas aeruginosa* PA01 株に対するセフトロザン及び対照薬の抗菌活性

P. aeruginosa strain designation	MIC (μg/mL)							Fold increase in *ampC* Expression[a]	
	CXA	CAZ	FEP	PTZ	ATM	IMP	MER	Baseline	Induced
PA01 (parent)	0.5	2	2	2	4	2	0.5	1	50±14
PAΔD (PA01 knockout mutant)	0.5	8	4	16	8	2	2	48±4	134±11
PAΔDDh3 (PA01 ampD-AmpDh3 knockout mutant)	1	32	8	128	32	2	2	191±52	1014±297
PAADDh3Dh2 (PA01ampD-ampDh2-ampDDh3)	1	32	8	128	32	1	1	1020±87	1105±88
PAΔdB (PA01 dacB (PBP4) knockout mutant)	1	32	16	64	32	2	0.5	21±11	232±67
PAΔDdB (PA01 ampD-dacB knockout mutant	2	64	32	256	128	2	2	1770±414	1950±480

a　Data represent ampC expression levels under basal and cefoxitin (50 μg/mL)-induced conditions
Abbreviations: ATM=aztreonam, CAZ=ceftazidime, CXA=ceftolozane, FEP=cefepime, IMP=imipenem, MER=meropenem
MIC = minimum inhibitory concentration, PTZ=piperacillin/tazobactam.
Source:　[資料4.3: 109], [資料4.2.1.1.17]

ampC 遺伝子が部分的又は完全に活性化された12種類の *P. aeruginosa* 臨床分離株を用いて、同様の試験を実施した。全般的に、セフトロザンはセフタジジムと比較すると8～64倍以上、PIPC/TAZ と比較すると16～128倍以上強い抗菌活性を示した[資料4.2.1.1.3]。

精製した *P. aeruginosa* の AmpC 酵素を用いて、セフトロザンを基質とした場合の AmpC の反応速度を解析した。その結果、セフトロザンは AmpC 酵素に対する親和性が低く（高 Km 値）、AmpC による加水分解に対して、セフタジジムよりも安定であることが示唆された[表 2.6.2-7]。

Confidential

表 2.6.2-7　*Pseudomonas aeruginosa* の精製 AmpC β-ラクタマーゼの反応速度パラメータ（セフトロザン及びセフタジジムを基質とした場合）

	Parameter Measurements[a]		
Antibiotic	Catalytic constant (kcat) (s^{-1})	K_m[b] (μM)	Hydrolysis efficiency ($kcat/K_m$)($\mu M^{-1}s^{-1}$)
ceftolozane	(2.0±0.001) x 10^{-3}	120±13[b]	(1.6±0.1) x 10^{-5}
ceftazidime	(2.0±0.002) x 10^{-3}	6±0.1[b]	(3.3±2) x 10^{-4}
nitrocefin	800±45	10±0.9	80±0.1

a　Values are mean ± standard deviation of five independent experiments.
b　Km value determined as the Ki value in competition experiments.
Source:　[資料4.3: 102]
Abbreviations: Km = Michaelis-Menten rate constant; s = seconds; kcat=catalytic constant

2.6.2.2.2.3　外膜蛋白質ポーリン（OprD）欠損の *Pseudomonas aeruginosa* 分離株に対するセフトロザン／タゾバクタムの活性

P. aeruginosa のカルバペネム系抗菌薬に対する最も一般的な耐性機構のひとつとして、外膜蛋白質ポーリン（OprD）の欠損又はその変化が報告されている[資料4.3: 110]。OprD、OprD-AmpC（*ampC*）及び OprD-PBP4（*dacB*）二重変異株の *P. aeruginosa* に対して、セフトロザンは検討した他の β-ラクタム系抗菌薬中では、十分な活性を示す唯一の抗菌薬であった[表 2.6.2-8] [資料4.2.1.1.17] [資料4.3: 109]。

表 2.6.2-8　外膜蛋白質ポーリン（OprD）に変異がある *Pseudomonas aeruginosa* 変異株に対するセフトロザン及び対照薬の抗菌活性

P. aeruginosa strain designation	MIC (μg/mL)						
	CXA	CAZ	FEP	PTZ	ATM	IMP	MER
PA01 (parent)	0.5	2	2	2	4	2	0.5
PAOD1 (*oprD* spontaneous mutant)	0.5	2	2	2	4	16	1
PAOD2 (*oprD* spontaneous mutant)	0.5	2	2	4	4	8	2
PAOD3 (*oprD* spontaneous mutant)	0.5	2	2	4	4	16	2
PAOD1ΔD (*ampD* knockout mutants of the corresponding *oprD* spontaneous mutants)	0.5	16	4	32	8	16	8
PAOD2ΔD (*ampD*knockout mutants of the corresponding *oprD* spontaneous mutants)	0.5	16	8	32	8	16	8
PAOD3ΔD (*ampD* knockout mutants of the corresponding *oprD* spontaneous mutants)	0.5	16	8	32	8	16	8
PAOD1ΔDdB (dacB knockout mutants of the corresponding oprD spontaneous mutants	0.5	32	32	64	32	16	4
PAOD2ΔDdB (dacB knockout mutants of the corresponding oprD spontaneous mutants	0.5	32	32	64	32	16	4
PAOD3ΔDdB (dacB knockout mutants of the corresponding oprD spontaneous mutants	0.5	32	32	64	32	16	4

Abbreviations: ATM=aztreonam, CAZ=ceftazidime ; CXA=ceftolozane, , FEP=cefepime, IMP= imipenem, MER=meropenem, MIC = minimum inhibitory concentration; PTZ=piperacillin/tazobactam
Source:　[資料4.3: 109] [資料4.2.1.1.17]

C Confidential

2.6.2.2.2.4　排出ポンプを過剰発現した *Pseudomonas aeruginosa* 分離株に対するセフトロザンの活性

薬剤の能動的排出機構は、*P. aeruginosa* の β-ラクタム系抗菌薬に対する重要な非酵素的耐性機構であり、resistance-nodulation-division（RND）型に属する遺伝的に異なる3成分からなる排出系（MexAB-OprM、MexCD-OprJ、MexEF-OprN 及び MexXY-OprM）が介在している[資料4.3: 108]。これらの排出ポンプを過剰発現した菌株に対するセフトロザンの MIC は、親株に対する MIC と比較して上昇しなかったことから、セフトロザンはこれらの排出ポンプの基質ではないことが示された[表 2.6.2-9] [資料4.2.1.1.3]。

表 2.6.2-9　MexAB-OprM、MexEF-OprN 及び MexCD-OprJ 排出ポンプがセフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の最小発育阻止濃度に及ぼす影響

Strain Designation	Phenotype	MIC (μg/mL)					
		CXA	CAZ	FEP	IPM	ATM	PTZ
PAO1	Parent	0.5	2	1	1	4	4
PA01-1455	*mexAB-oprM* overexpression	0.5	8	8	1	>16	32
PA01-Takai 1	*mexEF-oprN* overexpresson and decreased oprD	0.25	1	0.5	4	2	2
PS244	Parent	0.5	4	2	16	4	4
PS244-911C	*mexCD-oprJ* overexpression	0.5	2	8	1	2	8

Abbreviations: CXA=ceftolozane; CAZ=ceftazidime; FEP=cefepime; IPM=imipenem; ATM=aztreonam; PTZ=piperacillin/tazobactam
Source: [資料4.2.1.1.3]

2.6.2.2.3　抗菌活性スペクトルの要約

セフトロザン／タゾバクタムは強力な抗菌薬であり、その活性スペクトルは *E. coli* 及び *K. pneumoniae* 等の腸内細菌科細菌や *P. aeruginosa* 等のブドウ糖非発酵菌を含む臨床的に重要な多くのグラム陰性菌、*S. pneumoniae* や *S. pyogenes* 等のグラム陽性菌、並びに *B. fragilis* 等の嫌気性菌を含んでいる。セフトロザン及びセフトロザン／タゾバクタムに関する大規模調査が米国[資料4.2.1.1.19] [資料4.2.1.1.7] [資料4.2.1.1.20]、カナダ[資料4.2.1.1.21] [資料4.2.1.1.22]、英国／アイルランド[資料4.2.1.1.60]及び欧州[資料4.2.1.1.6] [資料4.2.1.1.23]の各検査機関で実施された。EU ガイドライン（EMEA/CHMP/SWP/258498/2005）の勧告に従い、33,000以上の臨床分離株（2008～2012年）について、固定濃度のタゾバクタム（4 μg/mL）を用いてセフトロザン／タゾバクタムの感受性試験を実施した。また、適切なタゾバクタムの濃度を選択するための試験を実施した[2.6.2.2.3.1項]。

これらの調査では、米国で2008年に採取した4,000以上の分離株、2011～2012年に分離・同定した10,000以上の分離株、欧州で2011～2012年に分離・同定した11,000以上の分離株を対象とした。血流感染症、急性皮膚・皮膚組織感染症及び気道感染症などの重篤な感染症を有する入院患者から非重複株を収集した。2011～2012年の米国及び欧州の調査データについては、Clinical and Laboratory Standards Institutes（CLSI）のガイドライン M7-A8 [資料4.3: 111]及び CLSI M7-A9 [資料4.3: 112]に従って、標準的な微量液体希釈法又は寒天希釈法を用いて MIC を測定した。英国の試

C Confidential

験では、JM. Andrews により報告された寒天希釈法が用いられている[資料4.3: 113]。これらの調査のうちの1つでは、既製の凍結 Trek sensititre パネル（Trek Diagnostics division of Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA）が用いられ[資料4.2.1.1.19]、4つの調査では既製のドライパネルを用いた[資料4.2.1.1.6] [資料4.2.1.1.7] [資料4.2.1.1.20] [資料4.2.1.1.23]。嫌気性菌の抗菌薬耐性試験では、CLSI ガイドラインに従って寒天希釈法を用いた[資料4.3: 112]　[資料4.3: 114]。

対照薬における感受性及び耐性のブレイクポイントは、2011年よりも前の試験では M100-S17[資料4.3: 115]、2011年の米国と欧州における調査では M100-S22[資料4.3: 116]、2012年に米国及び欧州で実施された調査では M100-S23[資料4.3: 117]の CLSI 基準に基づいている。嫌気性菌分離株の感受性及び耐性のブレイクポイントは、CLSI ガイドライン M11-A7に従った[資料4.3: 112]。2008年（米国のみ）[資料4.2.1.1.19]及び2011～2012年（米国、カナダ、英国及び EU）[資料4.2.1.1.6] [資料4.2.1.1.21] [資料4.2.1.1.7] [資料4.2.1.1.20] [資料4.2.1.1.23] [資料4.2.1.1.22]に分離・同定された33,000以上の分離株に対するセフトロザン／タゾバクタムの活性スペクトルを要約した表を下記に示す[表 2.6.2-10]。

[資料4.2.1.1.29]は、欧州と米国の調査及び臨床試験[資料4.2.1.1.19] [資料4.2.1.1.6] [資料4.2.1.1.21] [資料4.2.1.1.7] [資料4.2.1.1.20] [資料4.2.1.1.23] [資料4.2.1.1.22]で最も多く分離された菌株に対するセフトロザン／タゾバクタムと対照薬の活性を要約した表を含む包括的な報告書である。この報告書は[表 2.6.2-10]を含んでおり、大規模調査データのサブセットデータとして作成した多剤耐性 *E. coli*、*K. pneumoniae* 及び *P. aeruginosa* に対するセフトロザン／タゾバクタムのデータを含み、また、嫌気性菌、グラム陽性菌、セフタジジム耐性及び感受性菌、ブドウ糖非発酵性グラム陰性桿菌に対する抗菌活性、並びに2008、2011及び2012年の併合調査データから最も多く認められた病原菌に対するセフトロザン／タゾバクタムの MIC 値の分布が含まれている。

さらに、耐性の遺伝子型と表現型が明らかになっている分離株に対するセフトロザン／タゾバクタムの活性を評価した小規模な試験が終了している[資料4.2.1.1.24] [資料4.2.1.1.25] [資料4.2.1.1.26]。

C Confidential

表 2.6.2-10　米国、EU、英国及びカナダにおける臨床分離株（2008~2012 年）に対するセフトロザン／タゾバクタムの in vitro 活性

Genus/ Species	Number of Isolates (n)	MIC (μg/mL)		
		Range	MIC_{50}	MIC_{90}
Achromobacter xylosoxidans	22	0.5->32	32	>32
Acinetobacter calcoaceticus/baumannii complex	1260	≤0.015->64	16	>32
Acinetobacter lwoffii	44	≤0.015->32	0.12	32
Acinetobacter spp.	53	≤0.015->32	1	32
Burkholderia cepacia	21	0.25-8	1	4
Citrobacter braakii	46	0.06-16	0.25	8
Citrobacter freundii	544	≤0.06->32	0.25	8
Citrobacter freundii (CAZ susceptible)	403	≤0.06->32	0.25	0.5
Citrobacter freundii (CAZ non-susceptible)	141	0.25->32	8	32
Citrobacter koseri	325	0.06->32	0.25	0.5
Citrobacter spp.	61	0.06->32	0.25	8
Enterobacter aerogenes	607	≤0.12->32	0.25	4
Enterobacter aerogenes (CAZ susceptible)	445	≤0.12-2	0.25	0.5
Enterobacter aerogenes (CAZ non- susceptible)	162	0.25->32	2	8
Enterobacter asburiae	48	0.03-16	0.25	2
Enterobacter cloacae	2166	0.03->64	0.25	8
Enterobacter cloacae (CAZ susceptible)	1591	0.03->32	0.25	0.5
Enterobacter cloacae (CAZ non-susceptible)	575	0.12->64	4	32
Enterobacter spp.	29	0.12-16	0.25	4
Escherichia coli	9429	0.03->64	0.25	0.5
Escherichia coli (ESBL)	1146	0.06->64	0.5	4
Escherichia coli (CAZ susceptible)	8555	0.03->32	0.25	0.25
Escherichia coli (CAZ non-susceptible)	874	0.06->64	0.5	4
Haemophilus influenzae	1423	≤0.015-32	0.12	0.25
Haemophilus influenzae (β-lactamase positive)	243	≤0.015-0.25	0.12	0.25
Hafnia alvei	20	0.12-8	1	4
Klebsiella oxytoca	899	0.03->32	0.25	1
Klebsiella oxytoca (ESBL)	109	0.12->32	1	32
Klebsiella oxytoca (CAZ susceptible)	872	0.03-8	0.25	0.5
Klebsiella oxytoca (CAZ non-susceptible)	27	0.12->32	16	>32
Klebsiella pneumoniae	4410	0.03->64	0.25	16
Klebsiella pneumoniae (ESBL)	994	≤0.06->64	4	>32
Klebsiella pneumoniae (CAZ susceptible)	3458	≤0.06-16	0.25	0.5
Klebsiella pneumoniae (CAZ non-susceptible)	952	0.12->64	8	>32
Klebsiella spp.	46	0.12-8	0.25	1
Moraxella catarrhalis	472	≤0.015-1	≤0.015	0.12
Morganella morganii	608	0.06->32	0.25	0.5
Morganella morganii (CAZ susceptible)	518	0.06-4	0.25	0.5
Morganella morganii (CAZ non- susceptible)	90	≤0.12->32	0.5	32
Pantoea agglomerans	16	0.12-0.5	0.25	0.25
Proteus mirabilis	1600	0.03-32	0.5	0.5
Proteus mirabilis (ESBL)	83	0.25-32	1	8
Proteus vulgaris	132	0.25-4	0.5	1
Providencia rettgeri	54	0.03-4	0.12	0.5
Providencia stuartii	68	0.06->32	0.5	2
Pseudomonas aeruginosa	6316	0.03->64	0.5	4
Pseudomonas aeruginosa (CAZ susceptible)	4982	0.03->32	0.5	1

C Confidential

Genus/ Species	Number of Isolates (n)	MIC (μg/mL)		
		Range	MIC_{50}	MIC_{90}
Pseudomonas aeruginosa (CAZ non- susceptible)	1334	0.25->64	4	>32
Pseudomonas aeruginosa (CAR non- susceptible)	1782	0.12->64	1	>32
Pseudomonas aeruginosa (TZP non- susceptible)	1738	0.12->64	2	>32
Pseudomonas putida	20	0.5->32	1	4
Pseudomonas spp.	59	0.25->32	1	4
Salmonella spp.	16	0.25-0.5	0.5	0.5
Serratia liquefaciens	56	0.12-4	0.5	1
Serratia marcescens	1614	0.12->64	0.5	1
Serratia marcescens (CAZ susceptible)	1571	0.12->32	0.5	1
Serratia marcescens (CAZ non- susceptible)	43	0.25->64	4	>32
Stenotrophomonas maltophilia	600	0.5->64	16	>32
Streptococcus pneumoniae	1600	≤0.015->32	≤0.12	2
Streptococcus pneumoniae (PEN-S)	1309	≤0.015-32	0.06	0.12
Streptococcus pneumoniae (PEN-I)	207	0.06-16	2	8
Streptococcus pneumoniae (PEN-R)	84	≤0.06->32	8	16
Streptococcus pyogenes (Group A)	388	≤0.06-2	0.12	0.25
Streptococcus agalactiae (Group B)	234	≤0.12-1	0.5	0.5
Enterococcus faecalis	223	4->64	64	>64
Enterococcus faecium	95	32->64	>64	>64
Staphylococcus aureus (MRSA)	382	32->64	64	>64
Staphylococcus aureus (MSSA)	1540	0.25-64	16	32
Staphylococcus epidermidis	144	0.5->64	16	64

Source: [資料4.2.1.1.7]. 2011 US Surveillance
Source: [資料4.2.1.1.6]. 2011 EU Surveillance
Source: [資料4.2.1.1.19]. 2008 US Surveillance
Source: [資料4.2.1.1.60]. 2011 BSAC Bacteremia Resistance Surveillance, 2010/2011 and 2011/2012 BSAC Respiratory Resistance Surveillance
Source: [資料4.2.1.1.21]. 2011 Canadian Surveillance (CANWARD)
Source: [資料4.2.1.1.20]. 2012 US Surveillance
Source: [資料4.2.1.1.23]. 2012 EU Surveillance
Source: [資料4.2.1.1.22]. 2012 Canadian Surveillance (CANWARD)
Abbreviations: CAR=carbapenem, CAZ=ceftazidime, MIC = minimum inhibitory concentration; PEN-I=penicillin intermediate, PEN-R=penicillin resistant, PEN-S=penicillin susceptible, TZP=piperacillin/tazobactam

2.6.2.2.3.1　セフトロザン／タゾバクタムの in vitro 感受性試験における適切なタゾバクタムの濃度の選択

セフトロザン／タゾバクタムの感受性試験は固定濃度のタゾバクタム（4 μg/mL）を用いて実施しているが、この固定濃度によって、タゾバクタム感受性の ESBL を産生するグラム陰性桿菌を阻害して、タゾバクタム耐性の β-ラクタマーゼ（KPC や IMP 等）を産生する細菌と区別できると思われる。この試験法は、セフトロザン単独及び併用するタゾバクタムの様々な固定濃度又は固定比率を用いて検討された[資料4.2.1.1.27] [資料4.2.1.1.28] [資料4.2.1.1.19] [資料4.2.1.1.1]。全般的に、タゾバクタムの濃度は、ESBL 産生グラム陰性桿菌と一部の AmpC 過剰発現腸内細菌科細菌に対するセフトロザンの活性のみに直接的な影響を及ぼした。

[表 2.6.2-11]に、ESBL 産生 *E. coli* に対してセフトロザン単独の MIC 分布に及ぼすタゾバクタム濃度の影響を検討した結果を示す[資料4.2.1.1.19]。セフトロザンとタゾバクタムを併用（2:1又は4:1の割合）すると、セフトロザン単独と比べて、$MIC_{50/90}$値が少なくとも4分の1に低下し（そ

Confidential

れぞれ16 μg/mL から≤4 μg/mL、>32 μg/mL から8 μg/mL）、タゾバクタム 4 μg/mL 又は8 μg/mL の固定濃度では $MIC_{50/90}$値は少なくとも32分の1に低下した。8 μg/mL 未満の MIC を示した株は、セフトロザン単独では31.3%（15/48株）であり、セフトロザンと固定濃度のタゾバクタム（4又は8 μg/mL）を併用した場合はいずれも97.9%（47/48株）、2:1の割合で89.6%（43/48株）、4:1の割合では68.8%（33/48株）であった。

CLSI で承認されているセフトロザン／タゾバクタム及び PIPC/TAZ の感受性試験法[資料4.3: 118]では、固定濃度（4 μg/mL）のタゾバクタムが用いられている。この試験法は、β-ラクタマーゼ阻害剤の in vitro 試験方法として一般に認められている。

表 2.6.2-11　ESBL 産生 *Escherichia coli* 分離株に対するセフトロザンの MIC 分布に及ぼすタゾバクタム濃度の影響（2008 年に米国で実施した調査）

		Number of Isolates at each MIC (μg/L)[a]								$MIC_{50/90}$ (μg/mL)
Antibiotic	Tazobactam concentration	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	>8	
ceftolozane	0	2		2	2	3	6	3	30	16/>32
ceftolozane	2:1 ratio C to T	2	1	4	9	12	15	4	1	2/8
ceftolozane	4:1 ratio C to T	2	2	2	5	10	12	11	4	4/8
ceftolozane	Fixed 4 μg/mL T	2	14	16	12		3		1	0.5/1
ceftolozane	Fixed 8 μg/mL T	4	15	15	10	2	1		1	0.5/1

a　ESBL phenotype was determined according to CLSI M100-S19 [資料4.3: 119] criteria
Abbreviations: C= ceftolozane; T = tazobactam; MIC = minimum inhibitory concentration
Source: [資料4.2.1.1.19]

2.6.2.2.3.2　腸内細菌科細菌（野生型及び耐性）に対する活性

セフトロザン／タゾバクタムは腸内細菌科細菌に対し強力な活性を示す[表 2.6.2-10]。5つの大規模調査において、腸内細菌科細菌の耐性菌を含む臨床分離株に対するセフトロザン／タゾバクタムの活性が示されている。セフトロザン／タゾバクタムは腸内細菌科細菌に対して、セフタジジム、メロペネム、PIPC/TAZ 及びレボフロキサシンなどの対照薬と同程度又はそれ以上の活性を示した。セフトロザン／タゾバクタムは、99%を超える *E. coli* 株に対して8 μg/mL 以下の MIC を示し、$MIC_{50/90}$は0.25/0.5 μg/mL、ESBL 表現型を有する菌株に対する $MIC_{50/90}$は0.5/4 μg/mL であった[表 2.6.2-12] [資料4.2.1.1.29]。EU 及び米国で実施された2011年と2012年の調査間において、*E. coli* に対する $MIC_{50/90}$に差異はなかった。

C Confidential

表 2.6.2-12　*Escherichia coli* 及び ESBL 表現型を有する *Escherichia coli* に対するセフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の活性の要約（2012 年の米国調査）

Genus/species (N)	Antibiotic	MIC_{50} (μg/mL)	MIC_{90} (μg/mL)	Range (μg/mL)
Escherichia coli (1,447)	ceftolozane/TAZ	0.25	0.5	0.06->32
	PIPC/TAZ	2	8	≤0.5->64
	ceftazidime	0.12	2	≤0.015->32
	meropenem	≤0.06	≤0.06	≤0.06-8
E. coli ESBL phenotype (159)[a]	ceftolozane/TAZ	0.5	4	0.12->32
	PIPC/TAZ	8	>64	1->64
	ceftazidime	16	>32	0.5->32
	meropenem	≤0.06	≤0.06	≤0.06-8

a　ESBL defined using CLSI M100-S23 (2013) [資料4.3: 117] criteria
Abbreviations: ESBL = extended spectrum beta-lactamase; MIC = minimum inhibition concentration; N = number. TAZ = tazobactam; PIPC = piperacillin

多剤耐性（MDR）の *E. coli* 分離株に対するセフトロザン／タゾバクタムの $MIC_{50/90}$は0.5/4 μg/mL、セフタジジムの $MIC_{50/90}$は16/>32 μg/mL を示した[表 2.6.2-13]。

表 2.6.2-13　多剤耐性（MDR）*Escherichia coli* に対するセフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の活性の要約

Genus/species (N)	Antibiotic	MIC_{50} (μg/mL)	MIC_{90} (μg/mL)	Range (μg/mL)
Escherichia coli (974)[a,b]	ceftolozane/TAZ	0.5	4	0.12->32
	PIPC/TAZ	8	>64	<0.5->64
	ceftazidime	16	>32	0.06->32
	meropenem	≤0.06	≤0.06	≤0.06->8

a　Multi-drug resistance is defined as resistance to at least 3 different classes of antibiotics
b　2011 and 2012 Combined US and EU surveillance [資料4.2.1.1.6],[資料4.2.1.1.7], [資料4.2.1.1.20],[資料4.2.1.1.23]
Abbreviations: N = number; MIC = minimum inhibitory concentration, TAZ: tazobactam, PIPC: piperacillin.

セフトロザン／タゾバクタムは、*Citrobacter koseri*、*Morganella morgannii*、*Pantoea agglomerans*、*Proteus mirabilis*、*Proteus vulgaris*、*Providencia rettgeri*、*Salmonella* spp.、*Serratia liquefacians* 及び *Serratia marcescens* に対し同程度の活性を示した[表 2.6.2-10]。これらの菌種に対する MIC_{90}はすべて1 μg/mL 以下であった。

Klebsiella 属及び *Enterobacter* 属に対するセフトロザン／タゾバクタムの活性も評価した。セフトロザン／タゾバクタムのこれら2菌種に対する MIC_{90}は、他のセファロスポリン系抗菌薬と同様、他の腸内細菌科細菌に対する MIC_{90}よりもやや高かった。2011年及び2012年に実施された野生型 *K. pneumoniae* の MIC に関する米国及び EU の調査を併合すると、セフトロザン／タゾバクタムの $MIC_{50/90}$は0.25/32 μg/mL[資料4.2.1.1.29]、ESBL 表現型分離株に対する MIC_{90}は32μg/mL 超であった[表 2.6.2-14]。ESBL 表現型 *K. pneumoniae* に対するセフタジジムの MIC_{90}も32 μg/mL 超であり、メロペネムの MIC_{90}は8 μg/mL 超であることから、KPC 産生 *K. pneumoniae* はこの群の分離株に含まれることが示唆された。

セフトロザン／タゾバクタムの *Enterobacter aerogenes* に対する $MIC_{50/90}$は0.25/4 μg/mL、*E. cloacae* に対する $MIC_{50/90}$は0.25/8 μg/mL であった。ESBL を染色体にコードしている *Klebsiella*

Confidential

oxytoca に対しては異なる傾向を示し、セフトロザン／タゾバクタムの $MIC_{50/90}$は0.25/1 μg/mL であった[表 2.6.2-10]。

表 2.6.2-14　*Klebsiella pneumoniae* 及び ESBL 表現型を有する *Klebsiella pneumoniae* に対するセフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の活性の要約（2012 年の米国調査）

Genus/species (N)	Antibiotic	MIC_{50} (μg/mL)	MIC_{90} (μg/mL)	Range (μg/mL)
Klebsiella pneumoniae (630)	ceftolozane/TAZ	0.25	32	0.06->32
	PIPC/TAZ	4	>64	≤0.5->64
	ceftazidime	0.12	>32	0.03->32
	meropenem	≤0.06	0.25	≤0.06->8
Klebsiella pneumoniae ESBL phenotype (127)[a]	ceftolozane/TAZ	32	>32	0.25->32
	PIPC/TAZ	>64	>64	1->64
	ceftazidime	>32	>32	1->32
	meropenem	0.25	>8	≤0.06->8

a　ESBL defined using CLSI M100-S23 (2013) [資料4.3: 117] criteria
Source: [資料4.2.1.1.20]
Abbreviations: ESBL = extended spectrum beta-lactamase; N = number; MIC_{50} = minimum inhibitory concentration of 50%; MIC_{90} = minimum inhibitory concentration of 90%. TAZ: tazobactam, PIPC: piperacillin.

遺伝子型が解析された耐性分離株に対するセフトロザン／タゾバクタムの活性を評価した[資料4.2.1.1.27] [資料4.2.1.1.28] [資料4.3: 120]。これらの試験では、遺伝子を改変又は分子的に特徴が明らかな多様なβラクタマーゼを有する分離株を用いた。AmpC 過剰発現の分離株や一般的な ESBL（TEM、CTX-M 及び SHV など）を有する分離株を含む大部分の腸内細菌科細菌に対して、セフトロザンの in vitro 活性はタゾバクタムの併用により増強された。遺伝子型が特定された CTX-M-14及び CTX-M-15 β-ラクタマーゼを保有する *E. coli* 及び *K. pneumoniae* に対するセフトロザン／タゾバクタムの活性を[表 2.6.2-15]に示した。

CTX-M-15及び CTX-M-14を保有する *E. coli* 株に対するセフトロザン／タゾバクタムの $MIC_{50/90}$ はそれぞれ<0.25/1 μg/mL 及び0.5/2 μg/mL であり、CTX-M-15を保有する *K. pneumoniae* に対する $MIC_{50/90}$は1/64 μg/mL であった。セフトロザン／タゾバクタムは KPC-2を保有する *K. pneumoniae* に対しては活性を示さず、$MIC_{50/90}$は>16 μg/mL であった。

表 2.6.2-15　分子的に特定された耐性遺伝子を有する腸内細菌科細菌に対するセフトロザン／タゾバクタムの活性の要約

Strain	Enzyme	Number of strains	MIC_{50} (μg/mL)	MIC_{90} (μg/mL)	Range (μg/mL)	Data pooled from referenced studies
E. coli	CTX-M-15	120	0.5	2	<0.25->64	[資料4.3: 120] [資料4.2.1.1.24]
K.pneumoniae	CTX-M-15	12	1	64	0.5->64	[資料4.3: 120]
E. coli	CTX-M-14	60	<0.25	1	<0.25-4	[資料4.3: 120] [資料4.2.1.1.24] [資料4.2.1.1.52]
K.pneumoniae	KPC-2	53	>16	>16	16->16	[資料4.3: 101]

Abbreviations: KPC = *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase; MIC = minimum inhibitory concentration

Confidential

2.6.2.2.3.3　　Fastidious グラム陰性桿菌に対する活性の要約

野生型及びβ-ラクタマーゼ産生*Haemophilus influenzae*に対してセフトロザン／タゾバクタムは活性を示し、$MIC_{50/90}$はいずれに対しても0.12/0.25 μg/mL であった[表 2.6.2-10]。

2.6.2.2.3.4　　ブドウ糖非発酵性グラム陰性桿菌（野生型及び耐性）に対する活性の要約

2008年～2012年にかけて採取されたブドウ糖非発酵性グラム陰性桿菌の臨床分離株に対するセフトロザン／タゾバクタムの活性を検討した[表 2.6.2-10] [資料4.2.1.1.29]。セフトロザン／タゾバクタムは、*P. aeruginosa*（全米医療安全性ネットワークによると6番目の高頻度で発生する病原菌）に対し強力な活性を示した。セフトロザン／タゾバクタムはβ-ラクタム系抗菌薬の中で最も強い活性を示し（$MIC_{50/90}$ = 0.5/4 μg/mL）、セフタジジム及びセフェピムの2～8倍であった[資料4.2.1.1.6] [資料4.2.1.1.7] [資料4.2.1.1.30] [資料4.2.1.1.20] [資料4.2.1.1.23]。

2011年及び2012年に米国及び EU で実施された多剤耐性 *P. aeruginosa* 分離株に関する調査を併合すると、セフトロザン／タゾバクタムの MIC_{50}は4 μg/mL であり、検討した抗菌薬の中で最も低値であった[表 2.6.2-16]。

表 2.6.2-16　多剤耐性（MDR）*Pseudomonas aeruginosa* に対するセフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の活性の要約

Strain (number of strains tested)	Antibiotic	MIC_{50} (μg/mL)	MIC_{90} (μg/mL)	Range (μg/mL)
Pseudomonas aeruginosa (940)[a,b]	ceftolozane/TAZ	4	>32	0.25->32
	PIPC/ TAZ	>64	>64	1->64
	ceftazidime	32	>32	1->32
	meropenem	8	>8	≤0.06->8

a: Combined 2011 and 2012 US and EU surveillance [資料4.2.1.1.6] [資料4.2.1.1.7] [資料4.2.1.1.20] [資料4.2.1.1.23]
b: Multi-drug resistance is defined as resistance to greater than or equal to 3 different classes of antibiotics
Abbreviations: MIC = minimum inhibitory concentration, TAZ: tazobactam, PIPC: piperacillin.

カルバペネム耐性（非多剤耐性）*P. aeruginosa* 分離株に対するセフトロザン／タゾバクタムの $MIC_{50/90}$は1/4 μg/mL であり（イミペネム及びメロペネムの MIC はいずれも8 μg/mL 超）、同じ分離株に対するセフタジジムの $MIC_{50/90}$は8/128 μg/mL、PIPC/TAZ の $MIC_{50/90}$は32/>64 μg/mL であった[資料4.2.1.1.31]。セフトロザン／タゾバクタムは AmpC の発現が部分的又は完全に活性化された *P. aeruginosa* の臨床分離株に対しても良好な活性を認めた[資料4.2.1.1.3]。これらの菌株に対するセフトロザン／タゾバクタムの $MIC_{50/90}$は2/8 μg/mL で、セフタジジムでは>32/>32 μg/mL、PIPC/TAZ では>64/>64 μg/mL、*oprD* 発現が減少している臨床分離株に対する $MIC_{50/90}$は、それぞれ1/2 μg/mL、8/>32 μg/mL、16/>64 μg/mL であった。注目すべきこととして、これらの臨床分離株の大部分は、AmpC の活性化や RND 型多剤排出ポンプの過剰発現など、複数の耐性機構を有していた[資料4.2.1.1.24] [資料4.2.1.1.3]。

野生型 *P. aeruginosa* に対するセフトロザン／タゾバクタムの $MIC_{50/90}$は、2012年に米国で実施された調査では0.5/2 μg/mL[資料4.2.1.1.20]、2012年に欧州で実施された調査では0.5/16 μg/mL[資料4.2.1.1.23]であった。この MIC_{90}の差は、欧州で耐性パターンに地域差があるためであり、コリス

C Confidential

チンを除き、検討したすべての薬剤で認められたが、セフトロザン／タゾバクタムは依然として、コリスチンに次いで2番目に強力な薬剤であった。特にポーランド、ロシア及びウクライナなど一部の国で採取された分離株は、抗 *P. aeruginosa* 活性があるセファロスポリン系及びカルバペネム系抗菌薬に対する耐性率が高かった。一方、欧州のその他の5ヵ国（フランス、ドイツ、イタリア、スペイン、英国）では、平均96%超の分離株がセフトロザン／タゾバクタムの MIC が8 μg/mL 以下の感受性を示し、$MIC_{50/90}$は0.5/2 μg/mL であり、米国での *P. aeruginosa* に対する $MIC_{50/90}$と同程度であった。

2011年に欧州で実施された調査[資料4.2.1.1.6]では、*P. aeruginosa* 分離株991株中175株（17.6%）に対するセフトロザン／タゾバクタムの MIC 値が16 μg/mL 以上であった。これらの分離株にどのような耐性機構が関与しているのかを評価するため更に検討した。セフトロザン／タゾバクタムの MIC が16 μg/mL 以上の菌株サブセット（n=139）を解析したところ、これらの *P. aeruginosa* の約70%がメタロ β-ラクタマーゼをコードする遺伝子を持っていることが明らかとなった。また、これらの分離株の26%が ESBL 又は oxacillinase をコードする遺伝子を有していた。

セフトロザン／タゾバクタムは、IMP、VIM、SPM を含むメタロ β-ラクタマーゼや VEB、PER、GES 等の β-ラクタマーゼを産生する菌株に対しては活性を示さない（MIC 範囲：16～>32 μg/mL）ことが報告されている[資料4.3: 121] [資料4.2.1.1.24] [資料4.2.1.1.6] [資料4.2.1.1.3]。PIPC/TAZ、セフタジジム、セフェピム、イミペネム等の対照薬も、これらの酵素を産生する分離株に対する活性はなかった（MIC 範囲：8～>32 μg/mL）[資料4.2.1.1.3]。

嚢胞性線維症患者50名から採取した *P. aeruginosa* 分離株100株を対象に、セフトロザン単剤の感受性を評価した[資料4.2.1.1.32]。各患者から最初に採取した分離株と最後に採取した分離株の平均間隔期間は、67.6 ± 39.2ヵ月、全体の $MIC_{50/90}$は0.5/2 μg/mL であった。注目すべきこととして、セフトロザンは、検討した抗菌薬の中で、初期に採取した分離株における MIC に基づく感受性率が、後期に採取した分離株と比較して低下しなかった唯一の抗菌薬であった。セフトロザン／タゾバクタムの感受性率は、最初に採取した分離株で95%、最後に採取した分離株で96%であった。これは、感受性分離株の割合が75%から70%に低下したセフタジジムや87%から84%に低下したゾシンとは対照的である。

セフトロザン／タゾバクタムは、種名未特定の *Acinetobacter* spp.、*Acinetobacter calcoaceticus/baumannii* 複合体、*Achromobacter xylosoxidans* 及び *Stenotrophomonas maltophilia* に対する活性は弱く、これらの細菌に対する $MIC_{50/90}$は、それぞれ1/32 μg/mL、16/>32 μg/mL、32/>32 μg/mL 及び16/>32 μg/mL であった。*Acinetobacter lwoffi*（$MIC_{50/90}$ 0.12/32 μg/mL）及び嚢胞性線維症患者に関連する病原菌である *Burkholderia cepacia*（$MIC_{50/90}$ 1/4 μg/mL）に対しては、セフトロザン／タゾバクタムはより良好な活性を示した[表 2.6.2-10] [資料4.3: 122] [資料4.2.1.1.29]。

2.6.2.2.3.5　好気性グラム陽性菌に対する活性の要約

セフトロザン／タゾバクタムの *Streptococcus pneumoniae* に対する活性は、ペニシリン感受性により変化した。ペニシリン感受性菌に対する $MIC_{50/90}$は0.06/0.12 μg/mL、ペニシリン中等度耐性株では2/8 μg/mL、ペニシリン耐性株では8/16 μg/mL であった[表 2.6.2-10]。セフトロザン／タゾバ

C Confidential

クタムは *S. pyogenes* 及び *S. agalactiae* に対して強力な活性を示し、MIC_{90}はいずれも0.5 μg/mL 以下であった。セフトロザン／タゾバクタムは、*S. anginosus* 群（*S. anginosus*、*S. constellatus*、*S. intermedius*）及び *S. salavarius/vestibularis* 群を含む緑色連鎖球菌に対する活性も認められた。$MIC_{50/90}$は、*S.anginosus* 群に対しては1/4 μg/mL、*S. salavarius/vestibularis* 群に対しては0.5/2 μg/mL であった[資料4.2.1.1.29] [資料4.2.1.1.33]。

セフトロザン／タゾバクタムの *Staphylococcus aureus*［MSSA（$MIC_{50/90}$: 16/32 μg/mL）及び MRSA（$MIC_{50/90}$: 64/>64 μg/mL）］に対する活性は限定的であった。また、*Enterococcus faecalis*（バンコマイシン感受性及び耐性腸球菌）及び *Enterococcus faecium*（バンコマイシン感受性及び耐性腸球菌）に対しても不活性であり、MIC_{50}は64 μg/mL 超であった。メチシリン感受性 *Staphylococcus epidermidis* に対する $MIC_{50/90}$は、8/8 μg/mL、メチシリン耐性 *S. epidermidis* に対しては16/32 μg/mL であった[表 2.6.2-10] [資料4.2.1.1.29] [資料4.2.1.1.33]。

2.6.2.2.3.6　嫌気性グラム陽性及び陰性菌に対する活性の要約

嫌気性菌に対しては、セフトロザン及びセフトロザン／タゾバクタムは菌種により様々な活性を示した[資料4.2.1.1.34] [資料4.2.1.1.29]。セフトロザン／タゾバクタムは以下の菌種に対し活性を示した（$MIC_{50/90}$値）: *Bacteroides fragilis*（1/4 μg/mL）、*Clostridium perfringens*（0.25/32 μg/mL）、*Fusobacterium* 属（<0.125/0.25 μg/mL）、*Prevotella* 属（<0.125/1 μg/mL）。セフトロザン／タゾバクタムの *Bacteroides fragilis* 群の他の菌種に対する活性は低く（MIC_{90}値は8～32 μg/mL）、*Clostridium difficile* 及び他の *Clostridium* spp.に対する活性は限定的であった（MIC_{90} >256 μg/mL）[資料4.2.1.1.34]。

2.6.2.2.4　日本の臨床分離株に対する抗菌活性スペクトラム

日本国内で収集された臨床分離株に対する、固定濃度のタゾバクタム（4 μg/mL）を用いたセフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の感受性試験を実施した。好気性菌の MIC 測定は CLSI 標準法に準じた微量液体希釈法にて実施した（CSLI M07-A9）（CSLI M100-S24）（CSLI M100-S25）（CSLI M07-A10）（CSLI M45-A2）。嫌気性菌の MIC 測定は、同じく CLSI 標準法に準じた寒天平板希釈法にて実施した（CLSI M100-S25）（CLSI M11-A8）。

試験は2回実施した。最初に実施した国内臨床分離株感受性試験（Ⅰ）では、主に2012年から2013年にかけて全国の医療機関から各種感染症患者検体より分離、同定した非重複菌株（約630株）を用いて、2014年8～9月に測定した。続く国内臨床分離株感受性試験（Ⅱ）では、2016年1月～9月にかけて同様に分離・同定した非重複菌株（約2,050株）を用いて、2016年10月～2017年1月に測定した。なお、収集した臨床分離株が10株未満の菌種の場合は MIC 値を算出せず、MIC 範囲のみを表示した。

2.6.2.2.4.1　国内臨床分離株感受性試験（Ⅰ）

2012年～2013年に日本国内で収集された臨床分離株（*Streptococcus salivarius* のみ2011年から収集）を用いて、セフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の感受性試験を実施した[資料4.2.1.1.35]。

Confidential

耐性菌の判定基準として、セフタジジム又はセフォタキシム単剤と比較してクラブラン酸併用時の MIC が3管（8倍）以上低下した株を ESBL 産生株とした。また、セフタジジム又はイミペネム単剤と比較してジピコリン酸併用時の MIC が3管（8倍）以上低下した株をメタロ-β-ラクタマーゼ（MBL）産生株とした。

セフトロザン／タゾバクタムの各臨床分離株に対する試験結果を[表 2.6.2-17]に示す。

表 2.6.2-17　国内臨床分離株に対するセフトロザン／タゾバクタムの in vitro 活性（Ⅰ）

Organism	n	MIC (μg/mL)		
		range	MIC_{50}	MIC_{90}
Escherichia coli	100[a]	0.06 − 1	0.12	0.5
ESBL-producing *E. coli*	19	0.25 − 1	0.5	1
Klebsiella pneumoniae	100[a,b]	0.06 − 32	0.12	0.25
ESBL-producing *K. pneumoniae*	2	0.25	-	-
MBL-producing *K. pneumoniae*	1	32	-	-
Klebsiella oxytoca	30	0.12 − 1	0.12	0.25
Proteus mirabilis	80[a]	0.12 − 1	0.25	0.5
ESBL-producing *P. mirabilis*	31	0.12 − 1	0.25	0.5
Enterobacter cloacae	50	0.12 − 16	0.25	2
Pseudomona aeruginosa	100[b]	0.25 − >64	0.5	2
MBL-producing *P. aeruginosa*	4	>64	-	-
Streptococcus anginosus	50	1 − 8	4	4
Streptococcus constellatus	100	0.12 − 8	4	4
Streptococcus salivarius	23	0.12 − 2	0.5	1

a: ESBL 産生株を含む、b: MBL 産生株を含む
MIC：最小発育阻止濃度、ESBL: Extended Spectrum β-Lactamase、MBL: Metallo β-Lactamase
Source: [資料4.2.1.1.35]

セフトロザン／タゾバクタムは、測定したすべての腸内細菌科細菌（*E. coli*、*K. pneumonie*、*K. oxytoca*、*P. mirabilis*、*E. cloacae*）及び *P. aeruginosa* に対して優れた抗菌活性を示した。また、好気性グラム陽性菌である *S. anginosus* 群（*S anginosus*、*S. constellatus*、*S. salivarius*）に対しても良好な活性を示した。さらに、ESBL 産生の腸内細菌科細菌（*K. pneumonie*、*P. mirabilis*）に対しても、測定した菌株数は少ないが（それぞれ2株及び31株）、同様の活性を示した。なお、MBL 産生の細菌（*K. pneumonie*：1株、*P. aeruginosa*：4株）に対しては活性を示さなかった。

セフトロザン／タゾバクタム及び各対照薬の $MIC_{50/90}$を[表 2.6.2-18]に示す。対照薬の中では、全般的にメロペネムが最も強い活性を示した。メロペネム以外の対照薬とセフトロザン／タゾバクタムの活性を比べると、セフトロザン／タゾバクタムは、各腸内細菌科細菌及び *P. aeruginosa* に対して全般的に同程度又はそれ以上の活性を示した。なお、MBL 産生の *P. aeruginosa* に対しては、すべての対照薬に活性は認められなかった。

C Confidential

表 2.6.2-18　国内臨床分離株に対するセフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の MIC 値（Ⅰ）

Organism	n	$MIC_{50/90}$ μg/mL (MIC range)						
		Ceftolozane /TAZ	PIPC /TAZ	CAZ	CFPM	IPM	MEPM	LVFX
Escherichia coli	100[a]	0.12/0.5	2/4	0.25/8	≤0.06/8	0.12/0.25	≤0.06/≤0.06	0.12/32
ESBL-producing *E. coli*	19	0.5/1	4/32	16/128	16/>128	0.12/0.5	≤0.06/≤0.06	16/64
Klebsiella pneumoniae	100[ab]	0.12/0.25	2/4	0.12/0.5	≤0.06/0.12	0.25/0.5	≤0.06/≤0.06	≤0.06/0.25
ESBL-producing *K. pneumoniae*	2	(0.25)	(4)	(0.5-2)	(2-4)	(0.12)	(≤0.06)	(≤0.06-2)
MBL-producing *K. pneumoniae*	1	(32)	(8)	(32)	(128)	(1)	(32)	(1)
Klebsiella oxytoca	30	0.12/0.25	2/2	0.12/0.25	≤0.06/≤0.06	0.25/0.5	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06
Proteus mirabilis	80[a]	0.25/0.5	0.25/0.5	≤0.06/0.25	≤0.06/16	1/2	≤0.06/≤0.06	≤0.06/8
ESBL-producing *P. mirabilis*	31	0.25/0.5	0.25/0.5	0.25/0.25	8/32	1/2	≤0.06/0.12	2/32
Enterobacter cloacae	50	0.25/2	2/64	0.25/64	≤0.06/0.25	0.5/1	≤0.06/≤0.06	≤0.06/0.12
Pseudomona aeruginosa	100[b]	0.5/2	8/64	2/32	2/32	1/16	0.5/8	0.5/32
MBL-producing *P. aeruginosa*	4	(>64)	(2-32)	(>128)	(>128)	(>128)	(>128)	(64->128)
Streptococcus anginosus	50	4/4	0.25/0.25	4/4	0.5/0.5	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06	1/1
Streptococcus constellatus	100	4/4	0.25/0.5	4/8	0.5/1	≤0.06/≤0.06	0.12/0.25	0.5/1
Streptococcus salivarius	23	0.5/1	0.5/2	1/2	≤0.06/0.5	≤0.06/0.12	≤0.06/0.12	1/2

a: ESBL 産生株を含む、b: MBL 産生株を含む
MIC: 最小発育阻止濃度、PIPC/TAZ:Piperacillin/tazobactam、CAZ:Ceftazidime、CFPM:Cefepime、IPM:Imipenem、MEPM:Meropenem、LVFX:Levofloxacin、ESBL:Extended spectrum β-Lactamase、MBL:Metallo β-Lactamase
Source: [資料4.2.1.1.35]

2.6.2.2.4.2　国内臨床分離株感受性試験（Ⅱ）

2016年1月～9月に日本国内で分離・同定された臨床分離株を用いて、セフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の感受性試験を実施した[資料4.2.1.1.36]。なお、*Streptococcus* 属及び *Fusobacterium* 属の一部の菌は、それぞれ2013年1月及び2014年8月以降に分離・同定した菌株を用いた。

耐性菌の判定基準は、ESBL 産生株及び MBL 産生株については国内臨床分離株感受性試験（Ⅰ）[2.6.2.2.4.1項]での定義と同様とし、AmpC 産生株については、セフタジジム又はセフォタキシム単剤と比較して3-aminophenylboronic acid 併用時の MIC 値が3管（8倍）以上低下した株とした。なお、腸内細菌科細菌に対するイミペネム（IPM）の MIC 値が2 μg/mL 以上のものを IPM 非感受性菌（IPM non-susceptible strain）とした。*P. aeruginosa* 及び *Acinetobacter* spp.は、IPM の MIC が4 μg/mL 以上のものを IPM 非感受性菌とした。感受性%の算出においては、CLSI M45-A2又は CLSI M100S, 26th edition に基づいて求めた。なお、*Staphylococcus* spp.、*Enterococcus* spp.、*Streptococcus pneumoniae*、*Streptococcus pyogene* 及び *agalactiae*、*Acinetobacter* spp.、*Burkholderia cepacia*、*Moraxella catarrhalis*、*Haemophilus influenzae* 及び嫌気性菌に対しては、セフトロザン／タゾバク

Confidential

タムのブレイクポイントは設定されていないため感受性率は求められなかった。

セフトロザン／タゾバクタムの各臨床分離株に対する試験結果を[表 2.6.2-19]に示す。

表 2.6.2-19　国内臨床分離株に対するセフトロザン／タゾバクタムの in vitro 活性（Ⅱ）

Organism	n	MIC (μg/mL)			Susceptibility of the strains (%)		
		range	50%	90%	S	I	R
好気性グラム陽性菌							
Staphylococcus spp.							
Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA)	50	16 - 32	16	32	-	-	-
Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA)	50	8 - >64	64	>64	-	-	-
Methicillin-susceptible *Staphylococcus epidermidis* (MSSE)	20	4 - 16	8	8	-	-	-
Methicillin-resistant *S. epidermidis* (MRSE)	50	8 - 64	32	64	-	-	-
Methicillin-susceptible coagulase negative *Staphylococcus* (MSCNS) (other than *S. epidermidis*)	20	4 - 16	8	16	-	-	-
Methicillin- resistant CNS (MRCNS) (other than *S. epidermidis*)	50	8 - >64	32	>64	-	-	-
Enterococcus spp.							
Enterococcus faecalis	50	16 - >64	32	64	-	-	-
Enterococcus faecium	50	>64	>64	>64	-	-	-
Enterococcus avium	25	32 - >64	>64	>64	-	-	-
Streptococcus pneumoniae							
Penicillin-susceptible *S. pneumoniae* (PSSP)	25	≤0.03 - 2	1	2	-	-	-
Penicillin-resistant *S. pneumoniae* (PRSP)	25	2 - >64	4	64	-	-	-
Streptococcus spp. (other than *S. pneumoniae*)							
Streptococcus pyogenes	50	0.06 - 0.25	0.12	0.12	-	-	-
Streptococcus agalactiae	50	0.25 - 2	0.5	0.5	-	-	-
Streptococcus mitis group	20	0.25 - 1	0.5	1	100.0	0.0	0.0
Streptococcus anginosus	20	1 - 4	2	4	100.0	0.0	0.0
Streptococcus constellatus	20	1 - 8	4	4	100.0	0.0	0.0
Streptococcus salivarius	10	0.12 - 2	0.25	1	100.0	0.0	0.0
Streptococcus intermedius	10	2 - 4	4	4	100.0	0.0	0.0
好気性グラム陰性菌							
腸内細菌科細菌							
Escherichia coli	100[a]	0.06 - 1	0.25	0.5	100.0	0.0	0.0
ESBL-producing *E.coli.*	15	0.25 - 1	0.5	0.5	100.0	0.0	0.0
Klebsiella pneumoniae	100[a]	0.06 - 32	0.25	0.5	99.0	0.0	1.0
ESBL-producing *K.pneumoniae*	13	0.12 - 32	0.5	1	92.3	0.0	7.7
Klebsiella oxytoca	100[a]	0.06 - 4	0.12	0.5	96.0	4.0	0.0
ESBL-producing *K.oxytoca*	6	0.5 - 4			66.7	33.3	0.0
Proteus mirabilis	100[a,b]	0.06 - 1	0.25	0.5	100.0	0.0	0.0
IPM non-susceptible *P.mirabilis*	15	0.12 - 0.5	0.25	0.5	100.0	0.0	0.0
ESBL-producing *P.mirabilis*	35	0.25 - 1	0.25	0.5	100.0	0.0	0.0

C Confidential

Organism	n	MIC (μg/mL)			Susceptibility of the strains (%)		
		range	50%	90%	S	I	R
Proteus vulgaris	100[b]	0.12 - 1	0.5	0.5	100.0	0.0	0.0
IPM non-susceptible *P.vulgaris*	31	0.25 - 1	0.5	0.5	100.0	0.0	0.0
Citrobacter spp.	100[c]	0.12 - 1	0.12	0.25	100.0	0.0	0.0
AmpC-producing *Citrobacter* spp.	1	1			100.0	0.0	0.0
Enterobacter cloacae	100[b,c]	0.06 - 8	0.25	1	94.0	1.0	5.0
IPM non-susceptible *E.cloacae*	2	0.06 - 0.25			100.0	0.0	0.0
AmpC-producing *E.cloacae*	15	0.25 - 8	1	8	66.7	6.7	26.7
Enterobacter aerogenes	100[b,c]	0.12 - 4	0.25	2	97.0	3.0	0.0
IPM non-susceptible *E.aerogenes*	33	0.12 - 2	0.25	0.5	100.0	0.0	0.0
AmpC-producing *E.aerogenes*	20	0.5 - 4	2	4	85.0	15.0	0.0
Serratia marcescens	100[bc]	0.12 - >64	0.5	1	96.0	1.0	3.0
IPM non-susceptible *S.marcescens*	2	0.5			100.0	0.0	0.0
AmpC-producing *S.marcesences*	22	0.25 - 4	0.5	1	95.5	4.5	0.0
Morganella morganii	100[b,c]	0.12 - 1	0.25	0.25	100.0	0.0	0.0
IPM non-susceptible *M.morganii*	65	0.12 - 1	0.25	0.25	100.0	0.0	0.0
AmpC-producing *M.morganii*	6	0.12 - 0.5			100.0	0.0	0.0
Providencia spp.	100[b,c]	0.06 - >64	0.25	4	87.0	7.0	6.0
IPM non-susceptible *Providencia* spp.	19	0.06 - >64	1	64	57.9	15.8	26.3
AmpC-producing *Providencia* spp.	23	0.12 - >64	4	16	47.8	26.1	26.1
Pantoea agglomerans	5	0.06 - 0.25			100.0	0.0	0.0
Pseudomonas aeruginosa	100[b,c,d]	0.25 - >64	1	2	93.0	1.0	6.0
IPM non-susceptible *P.aeruginosa*	24	0.5 - >64	1	>64	70.8	4.2	25.0
MBL-producing *P.aeruginosa*	6	64 - >64			0.0	0.0	100.0
AmpC-producing *P.aeruginosa*	15	0.5 - 4	1	2	100.0	0.0	0.0
Acinetobacter spp.	50	≤0.03 - 8	≤0.03	0.5	-	-	-
Burkholderia cepacia	25	0.5 - 64	1	2	-	-	-
Moraxella catarrhalis	25	≤0.03-0.25	0.12	0.25	-	-	-
Haemophilus influenzae							
β-lactamase-negative, ampicillin-resistant *H. influenzae* (BLNAR)	25	0.5 - 4	2	4	-	-	-
H. influenzae (other than BLNAR)	25	0.06 - 16	0.25	4	-	-	-
嫌気性菌							
Peptostreptococcus spp.	25	≤0.03	≤0.03	≤0.03	-	-	-
Bacteroides fragilis	14	≤0.03 - 64	0.06	0.25	-	-	-
Prevotella spp.	25	≤0.03-0.06	≤0.03	≤0.03	-	-	-
Fusobacterium spp.	25	≤0.03 - 8	2	8	-	-	-

-: No interpretive criteria are available in the CLSI M100S, 26th edition
a: ESBL 産生株を含む、b: IPM 非感性株を含む、c: AmpC 産生株を含む、d: MBL 産生株を含む
MIC: 最小発育阻止濃度、S: susceptible、I: intermediate、R: resistant、ESBL: Extended spectrum β-Lactamase、MBL: Metallo β-Lactamase
Source: [資料4.2.1.1.36]

Confidential

好気性グラム陽性菌に対する活性

セフトロザン／タゾバクタム の好気性グラム陽性菌（*Streptococcus* 属の一部を除く）に対するブレイクポイントは設定されていないため感受性率は求められなかった。MIC 値からは、セフトロザン／タゾバクタムの *Staphylococcus* 属に対する活性は限定的であった（MIC_{50}≥8 μg/mL）。また、*Enterococcus* 属に対して不活性（MIC_{50}≥32 μg/mL）であった。*Streptococcus* 属に対しては、ペニシリン感受性 *S. pneumonia* に対する $MIC_{50/90}$は1/2 μg/mL であり、ペニシリン耐性株に対しては4/64 μg/mL であった。セフトロザン／タゾバクタムは *S. pyogene* 及び *S. agalactiae* に対して強力な活性を示し（$MIC_{50/90}$は、それぞれ0.12/0.12 μg/mL、0.5/0.5 μg/mL）、その他の *Streptococcus* 属に対しても活性（いずれの感受性率も100.0%）が認められた。

好気性グラム陰性菌に対する活性

セフトロザン／タゾバクタムは、測定したすべての腸内細菌科細菌（*E. coli*、*Klebsiella* 属、*Proteus* 属、*Citrobacter* 属、*Enterobacter* 属、*Serratia marcescens*、*Morganella morganii*、*Providencia* 属、*Pantoea agglomerans*）に対して強い抗菌活性を示した。腸内細菌科細菌に対する MIC_{50}の大半は1 μg/mL 未満であった。ESBL 産生（*E. coli*、*K. pneumoniae*、*K. oxytoca*、*P. mirabilis*）及び AmpC 産生（*Citrobacter* spp、*E. cloacae*、*E. aerogenes*、*S. marcescence*、*M. morganii*）の細菌並びに IPM 非感性菌に対しても、*Providencia* 属の感受性率がやや低いことを除き、同様の抗菌活性を示した。また、セフトロザン／タゾバクタムは *P. aeruginosa* に対して強力な活性を示し（$MIC_{50/90}$: 1/2 μg/mL）、AmpC 産生 *P. aeruginosa* に対しても同様の活性を示した（$MIC_{50/90}$: 1/2 μg/mL）。一方、MBL 産生の *P. aeruginosa* に対して活性はなかった。*Acinetobacter* 属、*B. cepacia*、*M. catarrhalis* 及び *H. influenza* の他の好気性グラム陰性菌に対しても、セフトロザン／タゾバクタムは良好な活性を示した。

嫌気性菌に対する活性

セフトロザン／タゾバクタムは、測定した嫌気性菌（*Peptostreptococcus* 属、*Bacteroides fragilis*、*Prevotella* 属、*Fusobacterium* 属）に対して、活性が認められた。*B. fragilis* に対する $MIC_{50/90}$は0.06/0.25 μg/mL であった。

セフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の $MIC_{50/90}$を[表 2.6.2-20]に示す。

C Confidential

表 2.6.2-20　国内臨床分離株に対するセフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の MIC 値（Ⅱ）

Organism	n	MIC_{50}/MIC_{90} μg/mL (MIC range)						
		Ceftolozane/ TAZ	PIPC/ TAZ	CAZ	CFPM	IPM	MEPM	LVFX
好気性グラム陽性菌								
Staphylococcus spp.								
Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA)	50	16/32	0.5/1	8/8	2/2	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06	0.25/1
Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA)	50	64/>64	16/64	32/>128	8/>128	≤0.06/32	0.5/16	16/>128
Methicillin-susceptible *Staphylococcus epidermidis* (MSSE)	20	8/8	0.12/0.25	4/8	0.5/1	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06	0.25/4
Methicillin-resistant *S. epidermidis* (MRSE)	50	32/64	1/4	16/64	4/16	0.12/4	1/8	4/128
Methicillin-susceptible coagulase negative *Staphylococcus* (MSCNS) (other than *S. epidermidis*)	20	8/16	0.25/0.5	8/8	1/1	≤0.06/≤0.06	≤0.06/0.12	0.12/4
Methicillin- resistant CNS (MRCNS) (other than *S. epidermidis*)	50	32/>64	2/>128	32/>128	4/>128	0.12/64	1/32	4/128
Enterococcus spp.								
Enterococcus faecalis	50	32/64	2/4	>128/>128	32/64	1/1	2/4	1/2
Enterococcus faecium	50	>64/>64	>128/>128	>128/>128	>128/>128	>128/>128	>128/>128	64/128
Enterococcus avium	25	>64/>64	32/128	>128/>128	64/>128	2/8	8/32	2/2
Streptococcus pneumoniae								
Penicillin-susceptible *S. pneumoniae* (PSSP)	25	1/2	≤0.06/≤0.06	2/4	0.25/1	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06	1/1
Penicillin-resistant *S. pneumoniae* (PRSP)	25	4/64	4/8	16/128	1/4	0.25/0.5	0.5/0.5	1/2
Streptococcus spp. (other than *S. pneumoniae*)								
Streptococcus pyogenes	50	0.12/0.12	≤0.06/≤0.06	0.12/0.12	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06	0.5/2
Streptococcus agalactiae	50	0.5/0.5	0.25/0.25	0.5/1	≤0.06/0.12	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06	1/32
Streptococcus mitis group	20	0.5/1	≤0.06/0.25	1/4	0.12/0.25	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06	1/16
Streptococcus anginosus	20	2/4	0.12/0.12	2/2	0.25/0.25	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06	0.5/1
Streptococcus constellatus	20	4/4	0.12/0.25	4/4	0.5/1	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06	0.5/0.5
Streptococcus salivarius	10	0.25/1	0.25/0.5	0.25/1	≤0.06/0.12	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06	1/1
Streptococcus intermedius	10	4/4	0.12/0.12	2/4	0.25/0.5	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06	1/1
好気性グラム陰性菌								
腸内細菌科細菌								
Escherichia coli	100[a]	0.25/0.5	2/4	0.25/8	≤0.06/8	0.12/0.25	≤0.06/≤0.06	0.12/32
ESBL-producing *E.coli.*	15	0.5/0.5	4/8	8/64	64/>128	0.12/0.5	≤0.06/≤0.06	32/32
Klebsiella pneumoniae	100[a]	0.25/0.5	2/4	0.25/2	≤0.06/2	0.12/0.5	≤0.06/≤0.06	≤0.06/1
ESBL-producing *K.*pneumoniae	13	0.5/1	4/32	4/128	8/>128	0.12/0.5	≤0.06/≤0.06	0.5/2

C Confidential

Organism	n	MIC_{50}/MIC_{90} μg/mL (MIC range)						
		Ceftolozane/ TAZ	PIPC/ TAZ	CAZ	CFPM	IPM	MEPM	LVFX
Klebsiella oxytoca	100[a]	0.12/0.5	1/8	0.12/5	≤0.06/≤0.06	0.12/0.5	≤0.06/≤0.06	≤0.06/0.5
ESBL-producing *K.oxytoca*	6	(0.5-4)	(>128)	(0.5-4)	(4-8)	(0.12-0.25)	(≤0.06)	(≤0.06-16)
Proteus mirabilis	100[a,b]	0.25/0.5	0.25/1	≤0.06/0.5	≤0.06/16	0.5/2	≤0.06/≤0.06	0.12/16
IPM non-susceptible *P.mirabilis*	15	0.25/0.5	0.25/1	≤0.06/0.5	≤0.06/32	2/4	≤0.06/≤0.06	0.12/4
ESBL-producing *P.mirabilis*	35	0.25/0.5	0.5/1	0.25/1	8/32	1/1	≤0.06/≤0.06	4/64
Proteus vulgaris	100[b]	0.5/0.5	0.25/0.5	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06	1/2	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06
IPM non-susceptible *P.vulgaris*	31	0.5/0.5	0.25/0.5	≤0.06/≤0.06	≤0.06/0.12	2/2	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06
Citrobacter spp.	100[c]	0.12/0.25	2/4	0.25/1	≤0.06/0.12	0.25/1	≤0.06/≤0.06	≤0.06/0.25
AmpC-producing *Citrobacter spp.*	1	(1)	(16)	(64)	(0.25)	(0.5)	≤0.06	(1)
Enterobacter cloacae	100[bc]	0.25/1	2/16	0.25/32	≤0.06/0.5	0.5/1	≤0.06/≤0.06	≤0.06/0.25
IPM non-susceptible *E.*cloacae	2	(0.06-0.25)	(0.5-4)	(0.25-0.5)	(≤0.06-0.12)	(2)	(≤0.06)	(≤0.06)
AmpC-producing *E.cloacae*	15	1/8	32/128	64/>128	0.5/2	0.25/0.25	≤0.06/0.12	≤0.06/1
Enterobacter aerogenes	100[bc]	0.25/2	2/32	0.5/32	≤0.06/0.25	1/2	≤0.06/≤0.06	≤0.06/0.12
IPM non-susceptible *E.aerogenes*	33	0.25/0.5	2/16	0.5/2	≤0.06/0.12	2/2	≤0.06/≤0.06	≤0.06/0.12
AmpC-producing *E.aerogenes*	20	2/4	32/64	32/64	0.25/0.5	1/2	≤0.06/≤0.06	≤0.06/0.5
Serratia marcescens	100[bc]	0.5/1	4/16	0.25/1	0.12/0.5	0.5/1	≤0.06/≤0.06	1/2
IPM non-susceptible *S.marcescens*	2	(0.5)	(8-16)	(0.5-8)	(0.12-8)	(2-16)	(≤0.06-2)	(≤0.06-16)
AmpC-*producing S.marcesences*	22	0.5/1	16/64	0.5/1	0.25/1	0.5/1	≤0.06/0.12	1/8
Morganella morganii	100[b,c]	0.25/0.25	0.25/0.5	0.12/1	≤0.06/≤0.06	2/2	≤0.06/≤0.06	≤0.06/0.25
IPM non-susceptible *M.morganii*	65	0.25/0.25	0.25/0.5	0.12/1	≤0.06/≤0.06	2/2	≤0.06/0.12	≤0.06/1
AmpC-producing *M.morganii*	6	(0.12-0.5)	(0.12-1)	(4-64)	(≤0.06)	(1-2)	(≤0.06)	(≤0.06-1)
Providencia spp.	100[b,c]	0.25/4	2/16	1/8	≤0.06/8	1/2	≤0.06/0.12	4/32
IPM non-susceptible *Providencia* spp.	19	1/64	8/64	4/64	4/32	2/4	0.12/0.25	8/32
AmpC-producing *Providencia* spp.	23	4/16	8/64	8/32	2/16	1/2	≤0.06/0.25	4/32
Pantoea agglomerans	5	(0.06-0.25)	(0.5-4)	(0.12-1)	(≤0.06)	(0.12-0.5)	(≤0.06)	(≤0.06)
Pseudomonas aeruginosa	100[b,c,d]	1/2	8/64	4/32	2/16	2/32	0.25/32	0.5/32
IPM non-susceptible *P.aeruginosa*	24	1/>64	32/128	8/>128	8/>128	16/128	32/>128	16/>128
MBL-producing *P.aeruginosa*	6	(64->64)	(16-128)	(128->128)	(128->128)	(16->128)	(64->128)	(32->128)
AmpC-producing *P.aeruginosa*	15	1/2	64/>128	16/64	8/32	2/16	1/32	1/16
Acinetobacter spp.	50	≤0.03/0.5	≤0.06/4	2/8	1/4	0.12/0.25	0.12/0.5	0.12/2

C Confidential

Organism	n	MIC_{50}/MIC_{90} μg/mL (MIC range)						
		Ceftolozane/ TAZ	PIPC/ TAZ	CAZ	CFPM	IPM	MEPM	LVFX
Burkholderia cepacia	25	1/2	16/32	4/8	16/64	4/8	2/4	2/16
Moraxella catarrhalis	25	0.12/0.25	≤0.06/≤0.06	0.12/0.25	1/2	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06
Haemophilus influenza								
β-lactamase-negative, ampicillin-resistant *H. influenza* (BLNAR)	25	2/4	≤0.06/0.12	0.5/1	2/2	1/2	0.12/0.25	≤0.06/≤0.06
H. influenza (other than BLNAR)	25	0.25/4	≤0.06/0.25	0.12/1	0.12/4	0.5/1	≤0.06/0.25	≤0.06/≤0.06
嫌気性菌								
Peptostreptococcus spp.	25	≤0.03/≤0.03	≤0.06/≤0.06	0.5/0.5	0.12/0.25	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06	0.5/0.5
Bacteroides fragilis	14	0.06/0.25	0.25/1	32/>128	32/>128	0.12/2	0.12/2	4/128
Prevotella spp.	25	≤0.03/≤0.03	≤0.06/≤0.06	1/16	2/64	≤0.06/≤0.06	≤0.06/≤0.06	1/2
Fusobacterium spp.	25	2/8	≤0.06/≤0.06	1/4	0.5/2	≤0.06/0.12	≤0.06/≤0.06	1/16

a: ESBL 産生株を含む、b: IPM 非感性株を含む、c: AmpC 産生株を含む、d: MBL 産生株を含む
MIC : 最小発育阻止濃度、PIPC/TAZ:Piperacillin/tazobactam、CAZ:Ceftazidime、CFPM:Cefepime、IPM:Imipenem、MEPM:Meropenem
LVFX:Levofloxacin、ESBL:Extended spectrum β-Lactamase、MBL:Metallo β-Lactamase
Source: [資料4.2.1.1.36]

好気性グラム陽性菌（*Staphylococcus* spp.、*Enterococcus* spp.、*Streptococcus* spp.）に対するセフトロザン／タゾバクタムの活性は、セフタジジムと概ね同程度であった。

腸内細菌科細菌に対しては、セフトロザン／タゾバクタムは全般的に PIPC/TAZ 及びセフタジジムと同程度又はそれ以上の活性を示した。特に ESBL 産生株（*E. coli*、*K. pneumoniae*、*K. oxytoca*、*P. mirabilis*）及び AmpC 産生株（*Citrobacter* spp.、*E. cloacae*、*E. aerogenes*、*S. marcescence*、*M. morganii*）に対しては、より強い活性を示す傾向が認められた。

P. aeruginosa に対して、セフトロザン／タゾバクタムは PIPC/TAZ、セフタジジム及びセフェピムよりも強い活性を示し、IPM 非感性及び AmpC 産生 *P. aeruginosa* に対しても強い抗菌活性を示した。セフトロザン／タゾバクタムに対する *P. aeruginosa* の感受性株の割合は93.0%であり、コリスチン及びアミカシン [資料4.2.1.1.36]を除く対照薬と比べて最も高かった[表 2.6.2-21]。MBL 産生 *P. aeruginosa* に対しては、いずれの薬剤も活性がなかった。

その他の好気性グラム陰性菌（*Acinetobacter* spp.、*Burkholderia cepacia*、*Mraxella catarrhalis*、*Haemophilus influenzae*）及び嫌気性菌（*Peptostreptococcus* spp.、*Bacteroides fragilis*、*Prevotella* spp.、*Fusobacterium* spp.）に対しても、セフトロザン／タゾバクタムは、各対照薬と比べて、概ね同程度又はそれ以上の活性を示した。

C Confidential

表 2.6.2-21　セフトロザン／タゾバクタム及び対照薬に対する *Pseudomonas aeruginosa* 感受性株の割合

Drugs	Suscebtibility of the strains (%)		
	susceptible	intermediate	resistant
Ceftolozane/TAZ	93.0	1.0	6.0
PIPS/TAZ	78.0	15.0	7.0
CAZ	84.0	2.0	14.0
CFPM	83.0	8.0	9.0
IPM	76.0	3.0	21.0
MEPM	77.0	6.0	17.0
LVFX	73.0	2.0	25.0

PIPC/TAZ: Piperacillin/tazobactam、CAZ: Ceftazidime、CFPM: Cefepime、IPM: Imipenem、MEPM: Meropenem、LVFX: Levofloxacin.
Source: [資料4.2.1.1.36]

以上、国内臨床分離株を用いてセフトロザン／タゾバクタムの感受性試験を2回実施したが、いずれも同様の結果が得られ、両試験間に差異はなかった。また、これらの結果は、海外臨床分離株を用いた感受性試験での結果と概ね類似していた[表　2.6.2-10]。海外臨床分離株の *K. pneumoniae* に対するセフトロザン／タゾバクタム の MIC_{90}は、他の腸内細菌科細菌と比べやや高い傾向がみられたが（>8 μg/mL）[2.6.2.2.3.2項]、国内臨床分離株の *K. pneumoniae* に対する MIC_{90}は0.5 μg/mL と低かった。

なお、2016年から2017年に日本人 cUTI 患者及び cIAI 患者を対象に実施した国内第Ⅲ相臨床試験（014試験及び013試験）において分離同定された臨床株に対し薬剤感受性測定を実施した[2.7.3項]。その結果、セフトロザン／タゾバクタムの抗菌活性は、上記の2つの感受性試験[表　2.6.2-17][表　2.6.2-19]の結果とほぼ同様であった。

2.6.2.2.5　In vitro 活性測定へ及ぼす種々のパラメータの影響

抗菌薬の in vitro 活性の測定に影響を及ぼす可能性のある様々なパラメータを検討した。その結果、セフトロザン及びセフトロザン／タゾバクタムの活性は、検討した種々の試験条件下で安定であり、その MIC 値は、寒天希釈法及び微量液体希釈法、血清や肺サーファクタントの添加、pH、接種菌液濃度、カルシウムイオン（Ca^{2+}）濃度、あるいは炭酸ガス分圧などの違いによる影響を受けなかった[資料4.2.1.1.37]。

2.6.2.2.5.1　培地、温度及び保存による影響

セフトロザン及びタゾバクタムの粉末は、微生物学的評価に用いた水溶液及び培地中で安定である。以下に提示しない安定性データについては[3.2.S.7.1項]を参照すること。

2.6.2.2.5.2　水溶液における安定性

MIC 測定用ドライパネルを開発するとともに、セフトロザン 20 mg/mL 水溶液の安定性を検討した。薬剤の安定性は、作成したドライパネルと CLSI の標準法にしたがって作成した凍結パネルを使用した感受性試験により得られた MIC 値の比較により評価した。水溶液は検討した期間中

C Confidential

（常温で7時間、3°C～8°C で7日間、-20°C～-30°C で14日間）安定であった。セフトロザン及びタゾバクタムを使用濃度に希釈した溶液も、常温で7時間安定であった[資料4.2.1.1.38]。

別の試験として、セフトロザン及びタゾバクタムの2 mg/mL 水溶液又は生理食塩水溶液中での安定性を、室温、5°C、-20°C 又は-70°C で、24時間、48時間、7日間、33日間、78日間又は96日間の条件で検討した[資料4.2.1.1.39]。試験溶液と新たに調製した原液とを比較して回収率を算出した。逆相液体クロマトグラフィーを用いてセフトロザン及びタゾバクタムを測定し、安定性を評価した。セフトロザン及びタゾバクタムのいずれも、溶液として-70°C で保存した場合に最も良好な安定性を示した。7日間以上の室温保存の条件下で最も安定性が低かった[表 2.6.2-22]。

表 2.6.2-22　セフトロザン／タゾバクタムの水溶液及び生理食塩水溶液中での保存温度と時間における安定性

	Ceftolozane/TAZ % Recovery (Ceftolozane/TAZ Combined)							
	Water				Saline			
Time	RT	5°C	-20°C	-70°C	RT	5°C	-20°C	-70°C
24 hours	101	91.5	97.0	92.5	93.5	95.0	95.0	101
48 hours	99	99.5	104	96.5	103	106	109	104
7 days	80.0	96.5	100	99.5	80.5	96.5	101	100
33 days	41.9	89.0	101	103	40.6	71.5	102	103
78 days	-	71.5	98.5	103	-	73.5	99.5	97.0
96 days	-	71.0	86.5	101	-	69.5	94.5	100

Source: [資料4.2.1.1.39]
RT: room temperature
-: not tested

2.6.2.2.5.3　液体培地における安定性

感受性試験に用いた様々な微生物試験用液体培地におけるセフトロザンとタゾバクタムの安定性を検討した。セフトロザン（2、8 µg/mL）単独又はセフトロザンとタゾバクタム（4 µg/mL）を共に液体培地［カチオン調整ミュラーヒントン液体培地（CAMHB）、3%ウマ溶血血液（LHB）添加ミュラーヒントン液体培地又は *Haemophilus* 試験培地（HTM）］中にて37°C でインキュベートし、24時間及び48時間後に、標準対照（100%）に対する残存率（%）を液体クロマトグラフィー質量分析法により求めた[資料4.2.1.1.40]。セフトロザン／タゾバクタムの微生物学的活性は評価しなかった。その結果、通常の感受性試験及び培養中に、薬剤の安定性の問題によりセフトロザン／タゾバクタムのMIC値が影響を受けることはないと考えられた[表 2.6.2-23] [表 2.6.2-24] [表 2.6.2-25]。

C Confidential

表 2.6.2-23　ミュラーヒントン液体培地におけるセフトロザン及びセフトロザン／タゾバクタムの安定性（%）

Temperature	Time	Ceftolozane		Ceftolozane/TAZ	
		2 µg/mL	8 µg/mL	2/4 µg/mL	8/4 µg/mL
37°C	24 hours	87.5	90.8	88.5	87.9
37°C	48 hours	78.0	78.7	77.5	82.1

Source:　[資料4.2.1.1.40]

表 2.6.2-24　3%ウマ溶血血液添加ミュラーヒントン液体培地におけるセフトロザン及びセフトロザン／タゾバクタムの安定性（%）

Temperature	Time	Ceftolozane		Ceftolozane/TAZ	
		2 µg/mL	8 µg/mL	2/4 µg/mL	8/4 µg/mL
37°C	24 hours	81.0	83.4	80.0	77.7
37°C	48 hours	64.5	69.0	71.5	68.4

Source: [資料4.2.1.1.40]

表 2.6.2-25　*Haemophilus* 試験培地におけるセフトロザン及びセフトロザン／タゾバクタムの安定性（%）

Temperature	Time	Ceftolozane		Ceftolozane/TAZ	
		2 µg/mL	8 µg/mL	2/4 µg/mL	8/4 µg/mL
37°C	24 hours	84.5	86.6	84.0	83.7
37°C	48 hours	73.5	74.0	72.0	73.4

Source:　[資料4.2.1.1.40]

2.6.2.2.5.4　液体及び寒天培地における in vitro 活性

2006～2007年に採取されたメチシリン感受性 *S. aureus*（MSSA）、*S. pneumoniae*、*P. aeruginosa*、*B. cepacia*、*E. coli* 及び *K. pneumoniae* を含む臨床分離株合計74株を対象に、微量液体希釈法及び寒天希釈法によりセフトロザンの MIC 値を求め、両者の関連性を検討した。全体的に、2つの試験法の間で十分な一致が認められた。検討した分離株の89%で、寒天希釈法におけるセフトロザンの MIC 値は、微量液体希釈法と同値又は1管（2倍）の差であった。

残り11%の分離株に対する MIC 値の差は、2管（4倍）であった。セフェピム、セフタジジム及びイミペネムなどの対照薬においても、2つの試験法の間で同様の一致が認められた[資料4.2.1.1.37]。試験は CLSI M100-S17[資料4.3: 115]、M7-A7[資料4.3: 123]の方法に従って実施し、適切な精度管理（QC）株を含めて測定した。

2.6.2.2.5.5　その他の因子の in vitro 活性に及ぼす影響

2.6.2.2.5.5.1　増殖培地

様々な液体培地で一連の細菌に対するセフトロザンの活性を比較した。LHB 添加 CAMHB 及び HTM 培地を用いた微量液体希釈法において、非 fastidious 細菌（*S. aureus*、*P. aeruginosa*、*E. coli* 及び *K. pneumoniae* の各2株）に対するセフトロザンの MIC 値は、標準 CAMHB 培地における MIC

Confidential

値の1管差以内であった。

S. pneumoniae の2株には差異がみられ、その1株は LHB の非存在下では十分な増殖がみられなかった[資料4.2.1.1.37]。

2.6.2.2.5.5.2　血清の影響

5%及び10%のプールヒト血清の添加がセフトロザン／タゾバクタムの in vitro 活性に及ぼす影響を、標準凍結パネルを用いた CLSI の微量液体希釈法での MIC 測定により評価した（M100-S20）[資料4.3: 124]、（M7-A8）[資料4.3: 111]。*E. coli* American Type Culture Collection（ATCC）25922株及び *P. aeruginosa* ATCC 27853株は CAMHB 培地、*H. influenzae* ATCC 49247株は HTM 培地で試験を実施した。セフトロザン／タゾバクタム及び対照薬（セフタジジム）の MIC 値に対する影響は、試験に用いた血清濃度では認められなかった[資料4.2.1.1.41]。

別の試験では、複数の菌種の臨床分離株に対するセフトロザン単独の活性をヒト血清濃度20%及び50%存在下で検討した。セフトロザン及び対照薬（セフタジジム）のいずれも、血清存在下で MIC 値の上昇はみられなかった。一部の菌株（*P.aeruginosa* 等）では、セフトロザン及びセフタジジムのいずれにおいても、血清存在下の方が低い MIC 値が認められた（>1管）[資料4.2.1.1.37]。

2.6.2.2.5.5.3　蛋白結合

ヒト血漿蛋白に対するセフトロザンの結合率は約20%と低く[資料4.3: 125]、このことは、血清が MIC 値に対し影響を及ぼさなかったことと一致する。タゾバクタムの血漿蛋白結合率は約30%である[資料4.3: 118]。

2.6.2.2.5.5.4　肺サーファクタントの影響

特定の抗菌薬では、肺サーファクタントが結合することにより、肺感染症に対する効果が減弱することが報告されている[資料4.3: 126]。カルシウム及びナトリウム調整ミュラーヒントン液体培地中のウシ肺サーファクタント（Survanta®）0%、1%、5%及び10%（容量%）存在下でのセフトロザン ± タゾバクタム（4 μg/mL）の MIC 値に及ぼす影響を、*S. aureus* ATCC 29213株、*P. aeruginosa* ATCC 27853株及び *K. pneumoniae* 臨床分離株を用いて検討した。セフトロザン ± タゾバクタム及び対照薬（セフタジジム又はセフトリアキソン）の MIC 値に対する肺サーファクタントの影響は認められなかった（1管以下の変化）。一方、陽性対照のダプトマイシンでは、肺サーファクタントの存在下で、*S. aureus* に対して予測どおりの MIC 値上昇が認められた[資料4.2.1.1.42]。

2.6.2.2.5.5.5　培養条件の影響

空気下での培養と比較して、CO_2分圧を5%に上昇させても、*E. coli*、*P. aeruginosa* 及び *H. influenzae* の標準菌株に対するセフトロザン／タゾバクタムの MIC 値に影響はなかった。対照薬のセフタジジムの in vitro 活性に対する影響もほとんど認められなかった（1管差以下）[資料4.2.1.1.41]。

C Confidential

2.6.2.2.5.5.6　　pH の影響

E. coli ATCC 25922株、*P. aeruginosa* ATCC 27853株及び *H. influenzae* ATCC 49247株を用いて、pH 6又は pH 8で培養したときの影響を、生理的 pH である7.2～7.4で培養したときと比較した。*E. coli* を pH 6で2系列培養したうちの1系列の結果を除き、異なる pH 条件でのセフトロザン／タゾバクタムの MIC 値に、1管を超える差は認められなかった。対照薬（セフタジジム）の結果も同様であった。*H. influenzae* は pH 8で増殖しなかった[資料4.2.1.1.41]。

2.6.2.2.5.5.7　　カルシウムイオン濃度の影響

MIC 値を測定するための標準的な Ca^{2+}濃度は20～25 µg/mL であるが、培地中に Ca^{2+}を50 µg/mL 添加しなければ最適な活性を示さない抗菌薬もある。*E. coli*、*P. aeruginosa* 及び *H. influenzae* に対するセフトロザン／タゾバクタム及び対照薬（セフタジジム）の MIC 値は、Ca^{2+}濃度を50 µg/mL に上昇させても影響はみられなかった[資料4.2.1.1.41]。

2.6.2.2.5.5.8　　接種菌量の影響

標準的な微量液体希釈法における接種菌量は5 x 10^5 CFU/mL である。*E. coli*、*P. aeruginosa* 及び *H. influenzae* の標準菌株を用いて、接種菌量が10分の1の場合と10倍の場合に、セフトロザン／タゾバクタムの in vitro 活性に及ぼす影響を検討した[資料4.2.1.1.41]。その結果、*E. coli* 及び *P. aeruginosa* に対するセフトロザン／タゾバクタムの活性に、接種菌量が及ぼす影響は認められなかった。*H. influenzae* 株では、接種菌量が5 x 10^6 CFU/mL でセフトロザン／タゾバクタムの MIC 値に4管の上昇が認められた。対照薬のセフタジジムでも同様の結果が得られた。微量液体希釈法で MIC 値を測定する際の QC 株である *H. influenzae* ATCC 49247株は、β-ラクタマーゼ非産生アンピシリン耐性（BLNAR）である。この菌株では接種菌量による影響は予測されないが、他の一部の BLNAR 株に対して、セフタジジムを含むセファロスポリン系抗菌薬の抗菌活性に、接種菌量の影響が報告されている[資料4.3: 127]。

2.6.2.2.6　　殺菌活性

セフトロザン／タゾバクタムは、多剤耐性菌株を含むグラム陰性病原菌に対して、時間依存的で強力な殺菌活性を示した。最小殺菌濃度（MBC）測定、殺菌効果の経時測定（Time-Kill 試験）及び蛍光染色法での生／死細胞の可視化による顕微鏡観察の手法を用いて[図 2.6.2-1]、セフトロザン及びセフトロザン／タゾバクタムの殺菌活性を評価した。セフトロザン／タゾバクタム及びセフトロザン単剤で処理された細菌の殺菌効果に伴う形態学的変化も、走査型電子顕微鏡を用いて評価した[資料4.2.1.1.1]。さらに、好中球減少症マウス大腿部感染モデルにおいて、*P. aeruginosa* 及び腸内細菌科細菌分離株に対して、セフトロザン／タゾバクタム及びセフトロザン単剤は in vivo で殺菌効果を示すことが認められた[資料4.2.1.1.43]。

Confidential

2.6.2.2.6.1　　最小殺菌濃度

CLSI M26-A に従って MBC 値を測定した[資料4.2.1.1.37]。*E. coli* 9株及び *K. pneumoniae* 10株（いずれもセフタジジム感受性）に対するセフトロザン単剤の MBC 値は0.25～1 μg/mL であり、MIC 値の1～2倍であった。セフタジジム耐性5株を含む *P. aeruginosa* 20株に対するセフトロザンの MBC 値は0.5～8 μg/mL 超の範囲であり、MBC/MIC 比は2～8超の範囲であった。また、MBC/MIC 比は、*B. cepacia* に対して1～8超の範囲、*S. pneumoniae*（ペニシリン耐性分離株1株及びペニシリン中等度耐性分離株6株を含む）に対しては1～8の範囲であった。β-ラクタマーゼ産生 *M. catarrhalis* 5株及び *S. pyogenes* 5株に対する MBC/MIC 比はすべて1であった。

E. coli の臨床分離株（N = 20；すべて ESBL 産生）及び同数の ESBL 産生 *K. pneumoniae* の臨床分離株、並びに *P. aeruginosa* の臨床分離株10株（セフタジジム感受性5株、セフタジジム耐性5株）に対するセフトロザン／タゾバクタム（4 μg/mL の固定濃度）の MBC 値を測定した[資料4.2.1.1.19]。その結果、検討した大部分の分離株に対して強力な殺菌活性が示された[表　2.6.2-26]。*K. pneumoniae* 分離株に対する MBC 値が最も広域かつ高値であり、これらのパラメータは MIC 分布にも反映されていた。MBC/MIC 比は、2株を除き、検討したすべての分離株で4以下であった。

表　2.6.2-26　グラム陰性菌に対するセフトロザン／タゾバクタムの最小殺菌濃度

Organism	N	MBC (μg/mL)		
		Range	50%	90%
E. coli	20[a]	0.25 - 4	0.5	2
K. pneumoniae	20[a]	0.12 - > 32	4	> 32
P. aeruginosa	10[b]	0.5 - 32	2	4

a　All isolates produced extended spectrum β-lactamases
b　Isolates were ceftazidime-susceptible and 5 were ceftazidime-resistant.
Source: [資料4.2.1.1.19]
Abbreviations: MBC = minimum bactericidal concentrations; N = number.

2.6.2.2.6.2　　Time-Kill 試験

Time-Kill 試験は、非曝露対照の増殖と並行して抗菌薬の殺菌活性を経時的に追跡できるため、MBC 測定試験よりも、動的な殺菌力の評価方法である。また、様々な抗菌薬濃度と曝露時間を用いるため、殺菌活性が濃度依存性か又は時間依存性かを判定することが可能である。濃度及び時間依存性は、抗菌薬の in vivo PD に影響を及ぼすと考えられる因子であり、抗菌薬の最適な用法・用量を決定するための一助となる。

セフトロザン

β-ラクタム系抗菌薬で予測されるように、セフトロザンの Time-Kill 試験での動態は時間依存性を示した。微量液体希釈法で測定した MIC 値の1倍、4倍及び8倍に相当する濃度に24時間曝露して、セフトロザンの殺菌活性の経時的変化を測定した。試験は CLSI M26-A に従って実施した。その結果、検討したすべての菌株において、MIC の8倍（又はそれ以下）の濃度のセフトロザン曝露で24時間後までに3 $\log_{10}$ CFU/mL 以上の減少がみられた[表　2.6.2-27]。また、セフトロザンは大部分の評価した菌株に対し、MIC の4倍で殺菌活性を示した。Time-Kill 試験でのこれらの菌株

C Confidential

に対するセフトロザンの殺菌活性の経時的変化は、[資料4.2.1.1.37]に図示した。

表 2.6.2-27　Time-Kill 試験におけるセフトロザンの殺菌活性の要約

Organism	Phenotype	Isolate Number	MIC (μg/mL)	Bactericidal activity at 24 h[a]		
				1X MIC	4X MIC	8X MIC
P. aeruginosa	CTZ-R	1731934	2	-	+	+
	CTZ-R	1731888	2	-	+	+
	CTZ-S	1731923	1	-	+	+
	CTZ-S	1731884	1	-	+	+
E. coli	CTZ-S	1732283	0.25	-	+	+
	CTZ-S	1732281	0.25	-	+	+
K. pneumoniae	CTZ-S	1732269	0.5	-	-	+
	CTZ-S	1732356	0.5	-	-	+
B. cepacia	NA	1732173	2	-	+	+
	NA	1732174	2	-	+	+
M. catarrhalis	NA	1732257	1	+	+	+
S. pneumoniae	Pen-S	1731673	2	-	+	+

a　+, ≥ 3 $\log_{10}$ decrease in viable cells (CFU/mL) as compared with the initial inoculum; -, < 3 $\log_{10}$ decrease in CFU/mL.
Abbreviations: CTZ = ceftazidime; h = hours; MIC = minimum inhibitory concentration; NA = not applicable; Pen = penicillin; R = resistant; S = susceptible;
Source: [資料4.2.1.1.37]

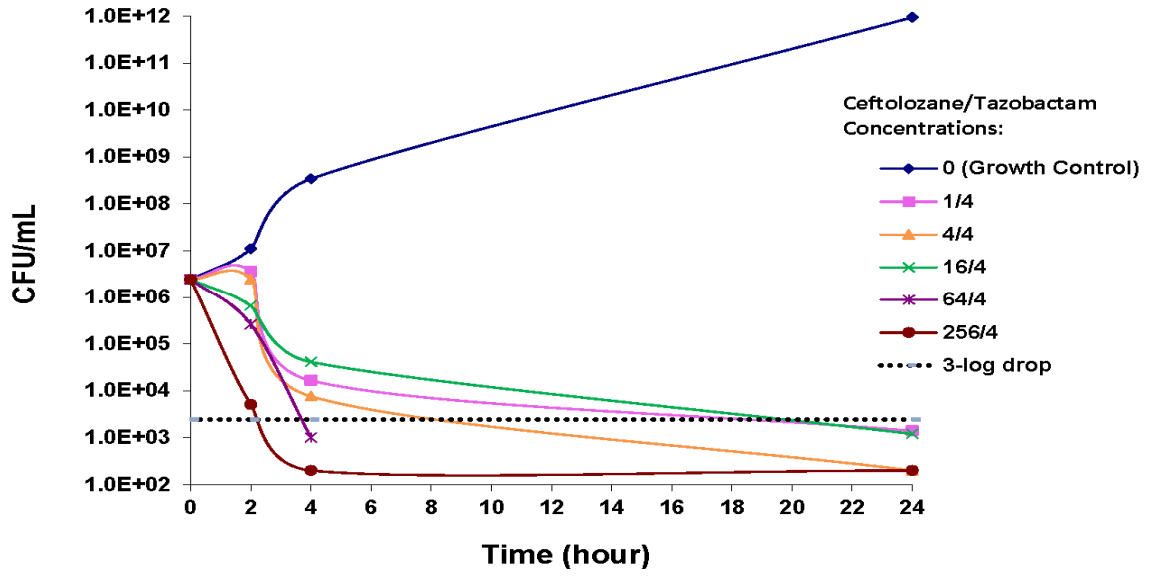
別の試験では、*P. aeruginosa* PAO1株に対して、セフトロザンを MIC 値（0.5 μg/mL）の1倍又は4倍の濃度で24時間曝露すると、*P. aeruginosa* の生菌数は3 $\log_{10}$ CFU/mL を超える減少を示した[資料4.2.1.1.8]。セフタジジム及びイミペネムでは、MIC に対する同じ倍率（1倍、4倍）の濃度で、3 $\log_{10}$ CFU/mL 未満の減少がみられた。開始時の接種菌量を高くして実施した別の試験でも、*P. aeruginosa* PAO1株で同様の結果が示された[資料4.2.1.1.2]。

セフトロザン／タゾバクタム

セフトロザン／タゾバクタムの Time-Kill 試験は、各2株の *P. aeruginosa* 及び *E. coli*（いずれも ATCC 株1株及び多剤耐性株1株をそれぞれ含む）を用いて実施した[資料4.2.1.1.44]。用いた多剤耐性株は、大半の β-ラクタム抗菌薬、ゲンタマイシン及びフルオロキノロン系抗菌薬に対し耐性であった。多剤耐性 *E. coli* 株は、カルバペネム系抗菌薬に対し感受性であった（*P. aeruginosa* 株は非感受性）。セフトロザン／タゾバクタムの MIC は、*P. aeruginosa* ATCC 株及び多剤耐性株に対してはそれぞれ0.5 μg/mL 及び2 μg/mL、*E. coli* ATCC 株及び多剤耐性株に対してはそれぞれ0.25 μg/mL 及び2 μg/mL であった。*E. coli* 及び *P. aeruginosa* の感受性株に対し、検討したすべての濃度のセフトロザン／タゾバクタム（セフトロザン 1 μg/mL + タゾバクタム 4 μg/mL の低濃度まで）は、増殖対照と比べて、24時間以内に3 $\log_{10}$ CFU/mL 以上の生菌数の減少を示した。多剤耐性 *P. aeruginosa* に対し、16 μg/mL 以上の濃度のセフトロザンと4 μg/mL のタゾバクタムは、曝露後4時間以内に約3 $\log_{10}$ CFU/mL の生菌数の減少を示し、その減少は維持された。感受性及び多剤耐性 *P. aeruginosa* に対するセフトロザン／タゾバクタムの Time Kill 試験の結果を[図 2.6.2-4]に示した。

C Confidential

感受性 *P. aeruginosa*（MIC=0.5 μg/mL）



多剤耐性 *P. aeruginosa*（MIC=2 μg/mL）

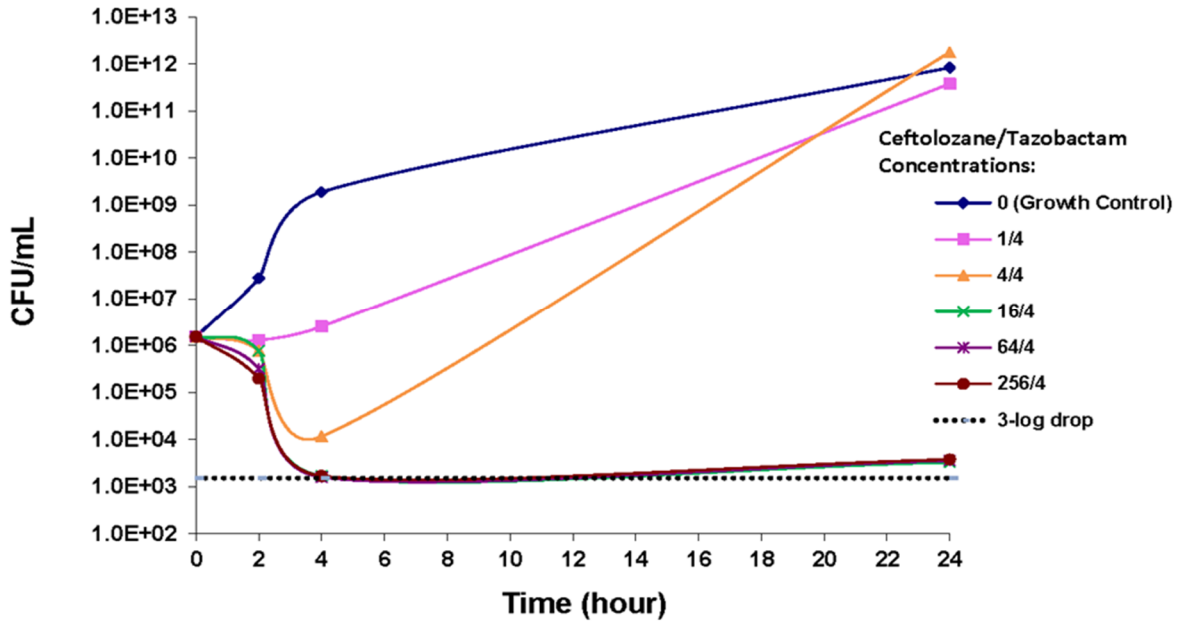


図 2.6.2-4　　感受性及び多剤耐性 *Psedomonas aeruginosa* に対するセフトロザン／タゾバクタムの Time-Kill 試験

Source: [資料4.2.1.1.44]

別の Time-Kill 試験[資料4.2.1.1.1]では、*E. coli* 及び *K. pneumoniaew* を各4株（各菌種の2株は ESBL 陰性及び2株は ESBL 陽性）、並びに *P. aeruginosa* 6株（セフタジジム感受性、セフタジジム耐性及びイミペネム耐性が各2株）に、MIC の2倍、4倍及び8倍のセフトロザン／タゾバクタムを曝露した。すべての *E. coli* 4株及び4株中3株の *K. pneumoniae* で、MIC の8倍を24時間曝露後、3 $\log_{10}$ CFU/mL を超える生菌数の減少がみられた。より低濃度又はより短い曝露時間で殺菌活性が認め

Confidential

られた場合もあった。*P. aeruginosa* に対する生菌数減少は、6株中4株で2.5～3.3 $\log_{10}$ CFU/mL であり、セフタジジム耐性株1株（MIC >128 μg/mL）及びイミペネム耐性株2株が含まれる。

2.6.2.2.6.3　抗菌作用持続効果

抗菌作用持続効果（Post Antibiotic Effect: PAE）は、抗菌薬を短時間（1又は2時間）曝露後における細菌増殖の持続的抑制作用と定義される。セフトロザン／タゾバクタムは、*P. aeruginosa*、*E. coli* 及び *K. pneumoniae* に MIC の4倍の濃度で2時間曝露しても PAE を示さなかった[資料4.2.1.1.1]。下記 [2.6.2.2.6.4 項] に示すように、β-ラクタマーゼ阻害作用の持続効果を検討した際、検討した菌株においては短時間の PAE（0.8時間）が認められた。これらの結果は、他の β-ラクタム系抗菌薬についての所見及び腸内細菌科細菌と *P. aeruginosa* の臨床分離株での所見と一致する。濃度依存性の殺菌活性を有する抗菌薬においては、一般的に PAE が観察されている[資料4.3: 128]。

2.6.2.2.6.4　β-ラクタマーゼ阻害作用持続効果

β-ラクタマーゼ阻害作用持続効果（Post β-lactamase Inhibitor Effect: PBLIE）は、PAE と同様に、培養菌に β-ラクタム系抗菌薬及び β-ラクタマーゼ阻害剤を短時間曝露し、β-ラクタマーゼ阻害剤を除去後、菌が再増殖するまでの時間を測定して求めた[資料4.2.1.1.45]。β-ラクタマーゼ阻害剤単独の効果を求めるため、阻害剤共存下で β-ラクタム系抗菌薬に曝露した培養菌を、β-ラクタム系抗菌薬のみを含む培地と薬剤を全く含まない培地両方に再懸濁した。

はじめに固定濃度（4 μg/mL）のタゾバクタムを用いて、試験菌株に対する MIC 値と MBC 値を微量液体希釈法で測定した。ESBL（CTX-M-15）産生 *E. coli* を PAE 及び PBLIE の測定用の試験菌株とした。これら菌株に対するタゾバクタム（4 μg/mL）存在下でのセフトロザンの MIC 値と MBC 値はいずれも1 μg/mL であった。試験菌株にセフトロザン 4 μg/mL + タゾバクタム 4 μg/mL（MIC 値及び MBC 値の4倍）を2時間曝露後、細胞を遠心分離し、薬剤無添加培地で洗浄した。薬剤無添加培地で1,000倍に希釈して PAE を測定し、セフトロザン単独を添加した培地で1,000倍に希釈して PBLIE を測定した。その結果、PAE は0.8時間、PBLIE は2.1時間であった。

2.6.2.2.6.5　バイオフィルムにおける抗菌活性

P. aeruginosa は、特に嚢胞性線維症などの慢性肺感染症患者においてバイオフィルムを形成して、多数の抗菌薬に対する高い耐性を獲得する傾向を示すことが知られている。したがって、*P. aeruginosa* に対する抗菌力として、抗 *P. aeruginosa* 作用のある抗菌薬がバイオフィルムに入り込み、この基質内で活性を維持する能力は重要であると考えられる。

P. aeruginosa 野生株 PAO1及び以下に示す変異株のバイオフィルムにおけるセフトロザンの殺菌活性を測定した[資料4.2.1.1.9]：高変異 *mutS* ノックアウト（PAOMS）、アルギン酸高生産性ムコイド *mucA* ノックアウト（PAOMA）、*mucA-mutS* 二重変異株（PAOMSA）。セフトロザンは、野生株、ムコイド型及び高変異株に対して、MIC（0.5 μg/mL）と同じ濃度で強力な濃度非依存性バイオフィルム殺菌活性濃度（BBC）を示した。対照薬（セフタジジム、メロペネム、シプロフロキサシン）のバイオフィルム殺菌活性濃度は、すべての菌株で MIC の16倍以上であった。

C Confidential

2.6.2.2.7　　In vitro 薬物相互作用試験

様々な in vitro 試験の結果から、セフトロザン／タゾバクタムは併用投与される可能性のある他の抗菌薬の活性に有害な影響を及ぼさず、また影響を受けないことが示唆されている。セフトロザン／タゾバクタムをグラム陰性菌感染症の治療に用いる可能性のある他の薬剤と併用した際に、グラム陰性菌に対して最も多くみられた相互作用は、相乗作用及び相加作用であった。

セフトロザン／タゾバクタムと他の抗菌薬を併用した場合の影響は、チェッカーボード法を用いて fractional inhibitory concentration（FIC）index を算出することで評価した。*E. coli*（ESBL 陰性2株及び ESBL 陽性2株）、*K. pneumoniae*（ESBL 陰性2株及び ESBL 陽性2株）及び *P. aeruginosa*（セフタジジム感受性、セフタジジム耐性及びイミペネム耐性が各2株）をメロペネム、アミカシン、アズトレオナム、レボフロキサシン又はチゲサイクリン存在下でセフトロザン／タゾバクタムに曝露した。その結果、拮抗作用は認められなかった。相乗作用がみられたのは15株（21%）、相加作用は53株（76%）、不関は2株（3%）であった[資料4.2.1.1.1]。

別の試験では、主にグラム陽性菌に対して活性のある4種類の抗菌薬（リファンピン、リネゾリド、ダプトマイシン及びバンコマイシン）、グラム陽性菌とグラム陰性菌の両方に対し活性のあるゲンタマイシン、グラム陰性菌に対してのみ活性があるコリスチンの存在下でセフトロザン／タゾバクタムとの相互作用を評価した。検討した細菌には、*E. coli*、*P. aeruginosa* 及び *S. aureus* の ATCC 株、並びに ESBL 産生 *E. coli* 及び多剤耐性 *P. aeruginosa* が含まれる。30のチェッカーボードのうちの28株（93%）で不関、2株で相乗作用が認められた[資料4.2.1.1.44]。

E. coli 3株及び *K. pneumoniae* 2株を用いて、メトロニダゾール存在下でのセフトロザン／タゾバクタムとの相互作用についても検討した[資料4.2.1.1.46]。ミュラーヒントン II 液体培地でチェッカーボードを調製し、好気的、嫌気的、微好気的な条件下で培養した。エンドポイントを判定できた際の結果は、すべて不関であった（FIC index > 0.5及び ≤4）。

2.6.2.2.8　　PK/PD 試験による評価

新規抗菌薬の PK/PD プロファイルを明らかにすることは、最適かつ根拠のある用量／用法を設定するために重要である[資料4.3: 134]。セファロスポリン系薬剤を含む β-ラクタム系抗菌薬は時間依存的な殺菌作用を示し、T>MIC の増加により、その細菌学的効果は（プラトーに達するまで）増大する。In vitro 及び in vivo の感染症モデル試験により、T>MIC がセファロスポリン系クラスの薬剤の有効性を最もよく予測する PK/PD 指標であることが示唆されている[資料4.3: 136]。

本項では、セフトロザン及びタゾバクタムの PK/PD ターゲットを求めるために実施した in vitro 及び in vivo の試験について記載した。また、臨床用量の設定根拠を[2.7.2.3.4項]に記載した。

2.6.2.2.8.1　　PD の要約

抗菌薬の血漿中濃度が MIC を超えて維持される時間（T>MIC）は、セファロスポリン系及び他の β-ラクタム系抗菌薬の治療効果と最もよく関連する指標として確立されている[資料4.3: 130]。また、蛋白結合率が低いセファロスポリン系抗菌薬では、T>MIC の割合を示す%T>MIC は、総血

Confidential

漿中薬物濃度又は非結合型血漿中薬物濃度のいずれに基づいても同様であることが報告されている[資料4.3: 132]。これらのデータより、低い蛋白結合率のセファロスポリン系薬剤は、総血漿中薬物濃度又は非結合型血漿中薬物濃度のいずれでも%T>MIC を決定することが可能であることを示している。

2.6.2.2.8.2　In vitro PD モデル：セフトロザン／タゾバクタム

In vitro における PD Time-Kill モデルを用いて、セフトロザン／タゾバクタムの in vitro 殺菌活性の経時的変化を検討した。*E. coli* の野生型1株（2805株）及びβ-ラクタマーゼ産生の腸内細菌科細菌3株（No. 2890 AmpC、No. 2842 CMY-10及び No. 2807 CTX-M-15）からなる全4株に対して、セフトロザン（1～256 μg/mL）及びタゾバクタム（1～64 μg/mL）を併用して、その殺菌活性を評価した[資料4.2.1.1.54]。

タゾバクタム単独では、予想通りいずれの菌株に対しても活性を示さなかった。一方、セフトロザンは検討した濃度で時間依存的な活性を示した。セフトロザンにタゾバクタムを追加したところ、いずれのβ-ラクタマーゼ産生株に対してもセフトロザンの活性が増強した。タゾバクタムと併用するとセフトロザンの50%有効濃度（EC_{50}）が低くなり、タゾバクタムの濃度が高くなるほどセフトロザンの効力が増大することが認められたことから、タゾバクタムは濃度依存的にセフトロザンの活性に影響を及ぼすことが示された。

検討した濃度では、セフトロザンとタゾバクタムとの間に拮抗作用は認められなかった。No.2805株は、β-ラクタマーゼ陰性であるため相互作用は予想どおり不関であった。β-ラクタマーゼ陽性株については、セフトロザン及びタゾバクタムの間に個々の菌株に応じた相乗効果がみられ、この効果には菌株による差が認められた。

このモデル系では、標準接種菌量（10^6 CFU/mL）よりも接種菌量を増やすと（10^8 CFU/mL）、すべての菌株に対して殺菌活性が低下した。他のβ-ラクタム系抗菌薬でも同様の結果が報告されていることから、in vitro の試験系で認められる現象であると考えられる[資料4.3: 133]。セフトロザン及びタゾバクタムのいずれについても、依然、濃度依存的な活性が認められた。

さらに、in vitro における PK 感染モデルを用いて、*E. coli* 及び *P. aeruginosa* に対するセフトロザンとタゾバクタムを併用した場合の作用を評価した[資料4.2.1.1.55]。*E. coli* 5株（臨床分離株3株＋遺伝的に特定された CTX-M-15産生の2株）及び *P. aeruginosa* 5株（OprD 過剰発現及び Amp C β-ラクタマーゼ過剰産生の2株）を検討対象とした。*E. coli* に対する MIC は0.12～0.25 μg/mL であり、*P. aeruginosa* に対する MIC は0.38～8 μg/mL であった。セフトロザン（非結合型薬物血中濃度を用いた T>MIC である fT>MIC 0%～100%）及びタゾバクタム（ヒトの薬物動態を使用）の用量範囲は、投与間隔を8時間（$t_{1/2}$はそれぞれ2.5時間及び1時間）としてシミュレートした。*E. coli* に対する初期接種菌量から静菌、1/10菌数（1 log 殺菌）、1/100菌数（2 log 殺菌）を示す24時間時点のセフトロザン＋タゾバクタムの%fT>MIC（±SD）は、それぞれ27.8%±5.59%、33.0%±5.57%及び39.6%±8.53%であった。CTX-M-15の産生は24時間の fT>MIC に影響を及ぼさなかった。*P. aeruginosa* に対する静菌、1 log 殺菌及び2 log 殺菌に必要な24時間時点のセフトロザン＋タゾバクタムの fT>MIC は、それぞれ24.9%±3.0%、26.6%±3.90%及び31.2%±3.6%であった。MIC 及び

C Confidential

酵素産生のいずれも、静菌、1 log 殺菌及び2 log 殺菌に必要な%fT>MIC 目標値に影響を及ぼさなかった。セフトロザン＋タゾバクタムでは、*E. coli* 及び *P. aeruginosa* に対する静菌作用に必要なfT>MIC が他のセファロスポリン系抗菌薬よりも低く、また、いずれの細菌に対する%fT>MIC も検討した MIC 範囲では同程度となった。

以上より、低接種菌量及び高接種菌量で検討したすべての β-ラクタマーゼ産生株において、セフトロザンの in vitro 活性に対するタゾバクタムの濃度依存的な影響が認められた。

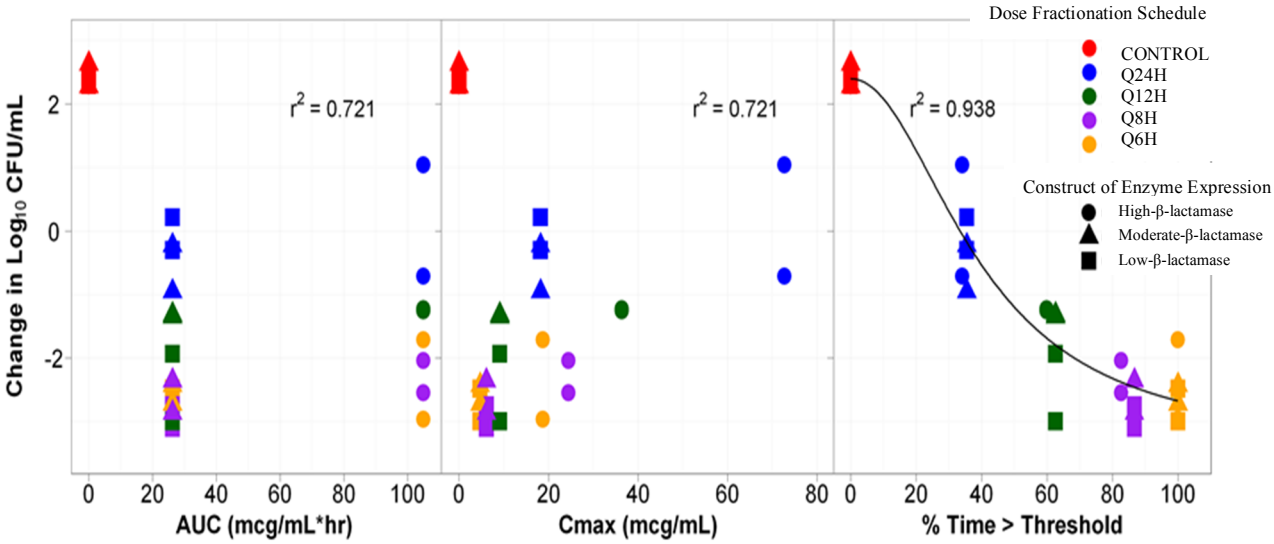
2.6.2.2.8.3　In vitro PD モデル：タゾバクタム

In vitro 1-コンパートメントモデルを用いて、セフトロザンと併用した場合のタゾバクタムの影響を最もよく予測する評価項目の PD パラメータとその程度を検討した[資料4.2.1.1.56] [資料4.2.1.1.57]。

bla$_{CTX-M-15}$の転写が異なるレベルになるように遺伝子改変した遺伝的に同一系統の *E. coli* 3株を用いて、初期接種菌量を10^6 CFU/mL として、24時間 in vitro 1-コンパートメントモデルにより評価した[資料4.2.1.1.56]。リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応（qRT-PCR）及び β-ラクタマーゼ加水分解法により、β-ラクタマーゼの転写レベルを低度、中等度及び高度に相対的に定量化して分類した。セフトロザン単独では加水分解活性が上昇し、*bla*$_{CTX-M-15}$発現の増加に応じてセフトロザンの MIC が上昇した（MIC 範囲：0.25～64 µg/mL）。しかしながら、タゾバクタム 4 µg/mL を併用したところ、いずれの分離株に対しても MIC は0.25 µg/mL であった。

タゾバクタムの用量－反応関係を明らかにするために、各 *E. coli* 株に対する用量を分割投与する試験を実施した。予備的な用量探索試験の結果に基づき、タゾバクタムの1日量を750 mg として、β-ラクタマーゼ低発現株及び中等度発現株を用いて評価した。β-ラクタマーゼ高発現株を評価する際には、タゾバクタムの1日量を3,000 mg とした。タゾバクタムの1日量を分割して、投与間隔を6、8、12及び24時間ごとにした。セフトロザンの投与間隔は8時間ごととし、低発現、中等度発現及び高発現株に対して、セフトロザンをそれぞれ125 mg、500 mg 及び1,000 mg 添加した。また、タゾバクタムの投与スケジュールに関係なく特定の菌株に対する1日量は一定とした。薬物動態プロファイルは、健康被験者で予測されるセフトロザン（$t_{1/2}$：2.5時間）及びタゾバクタム（$t_{1/2}$：1時間）の遊離型の血清中濃度－時間に従ったプロファイルとした。CFU の変化と血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）、C_{max} 及び薬物濃度が閾値を上回っている状態を維持している時間の投与間隔に占める割合（%T>threshold）との関係を[図 2.6.2-5]に示す。その結果、有効性と最もよく相関したタゾバクタム曝露量の評価項目は%T > threshold（r^2 = 0.938）であった。β-ラクタマーゼ低発現及び中等度発現株ではタゾバクタムの閾値濃度は0.05 µg/mL、β-ラクタマーゼ高発現株では0.25 µg/mL であった。24時間での静菌に必要な%T>threshold は、酵素の産生量にかかわらず約35%であった。

C Confidential



・%T>threshold= time as percentage of the dosing interval that the drug concentration remains above the threshold; AUC=area under the plasma concentration-time curve; CFU=colony-forming unit; C_{max}=maximum（peak） plasma drug concentration; PK/PD=pharmacokinetic/pharmacodynamic; r^2=correlation coefficient
・Note:　The symbol colours represent the different dose fractionation schedules while the symbol shapes represent the level of β-lactamase production
・Source: [資料4.2.1.1.56]

図 2.6.2-5　PK/PD in vitro 感染モデルにおける投与 24 時間後のタゾバクタム曝露量の 3 つの評価項目 AUC、C_{max} 及び%T>threshold と同一遺伝系統の CTX-M-15 産生 *Escherichia coli* の log_{10} CFU の変化との関係

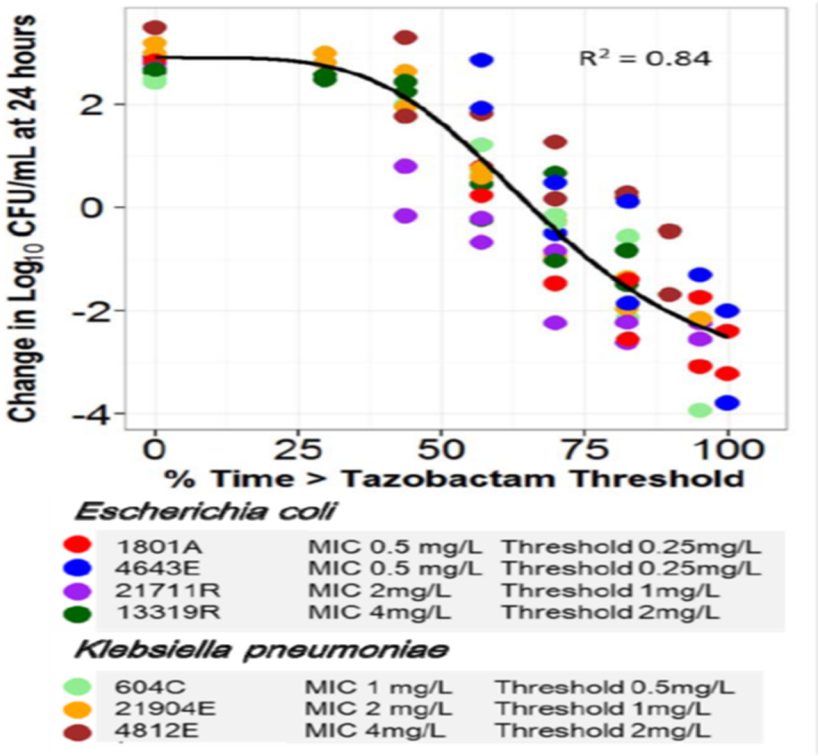
PD に関するこの評価項目とタゾバクタムの閾値の妥当性を確認するために、性質が特定された複数の β-ラクタマーゼを産生する *E. coli* 及び *K. pneumoniae* の臨床分離株を上記と同じ24時間のモデル系を用いて検討・解析した[資料4.2.1.1.57]。臨床分離株の特性は詳細に解析されており、7株全株が CTX-M-15を産生した。さらに、*E. coli* 4株のうち3株及び *K. pneumoniae* 3株のうち2株は、CTX-M-15以外の β-ラクタマーゼ（bla_{TEM-1}、$bla_{OXA-1/30}$）を産生した。また、*E. coli* 分離株2株にその他の耐性因子が確認され、*K. pneumoniae* 分離株3株のいずれにも排出ポンプの発現増加が認められた。

%T>threshold は、*E. coli*（r^2 = 0.90-0.99）及び *K. pneumoniae*（r^2 = 0.83-0.95）の個々のデータによく適合したが、菌株によって必要とされる閾値に大きなばらつきがあった（0.5～4 μg/mL）。しかし、各分離株の MIC（タゾバクタム 4 μg/mL 存在下で測定）を係数0.5で変換すると、各細菌属との関係が一様になることが示された[図 2.6.2-6]。この変換後の関係を用いると、分離株を問わず、曝露量－応答関係の共通モデル化が可能である。さらに、簡潔なモデルであり、各分離株の in vitro 感受性試験の試験結果を直接結び付けることができる。

全試験について、この経験的な関係から変換して得られた閾値と%T>threshold のデータを[表 2.6.2-28]に示す。静菌に必要なタゾバクタムの%T>threshold を算出したところ、いずれの臨床分離株に対してもほぼ同じとなった。しかし、静菌に必要な閾値の予測値は、臨床分離株の方が同一遺伝子系統の分離株よりも高くなった。これは、臨床分離株には複数の β-ラクタマーゼ及び他の耐性因子（排出ポンプの発現増加など）が存在することによると思われる。個々の菌株につい

Confidential

て得られている閾値濃度は、MIC 値、β-ラクタマーゼの発現量や種類又は他の耐性因子にかかわらず、*E. coli*、*K. pneumoniae* とも同程度であり、0.25～2 μg/mL の範囲であった。この経験的な関係の妥当性については、MIC 値がより高く、十分な症例数を有する臨床転帰データを用いて検討する必要がある。



・%T>threshold= time as percentage of the dosing interval that the drug concentration remains above the threshold; CFU=colony-forming units; MIC=minimum inhibitory concentration; PK/PD=pharmacokinetic/pharmacodynamic; R^2=correlation coefficient
・Source:　[資料4.2.1.1.57]

図 2.6.2-6　PK/PD in vitro 感染モデルにおけるタゾバクタムの%T>threshold とベースラインから投与後 24 時間までの log_{10}CFU の変化との関係（*Escherichia coli* 及び *Klebsiella pneumoniae*）

表 2.6.2-28　*Escherichia coli* の同一遺伝子系統の分離株、遺伝的特性解析済みの *Escherichia coli* 及び *Klebsiella pneumoniae* 臨床分離株におけるタゾバクタムの%T>threshold の要約

Organism	N	MIC（μg/mL）	Tazobactam Threshold[c]	R^2	%T>Threshold（Stasis）
Escherichia coli isogenic[a]	3	0.25	0.05 – 0.25	0.94	35.0
Escherichia coli clinical[b]	4	0.5 – 4	0.5 – 2.0	0.90	65.7
Klebsiella pneumoniae clinical[b]	3	1 - 4	0.5 – 2.0	0.76	65.8
All clinical strains	7	0.5 - 4	0.25 – 2.0	0.84	65.9

%T=time as percentage of the dosing interval that the drug concentration remains above the threshold; MIC=minimum inhibitory concentration; R^2=correlation coefficient.　Stasis was used as the target for tazobactam as tazobactam is a β-lactamase inhibitor and has no inherent bactericidal activity.
[a] Source: [資料4.2.1.1.56],　[b] Source: [資料4.2.1.1.57],　[c] Calculated as 0.5 × ceftoloxane/tazobactam MIC value

C Confidential

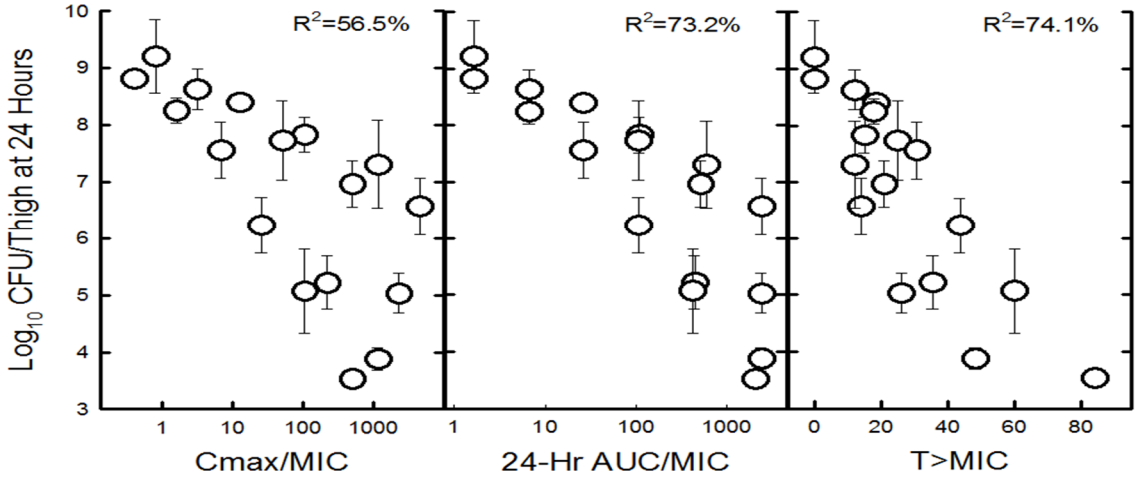
2.6.2.2.8.4　　In vivo PD モデル：セフトロザン

セファロスポリン系抗菌薬の臨床的有効性の予測には、投与した薬剤の血中濃度が MIC より高く推移した時間の投与間隔に占める割合（%T>MIC）が指標になると考えられる[資料4.3: 130]。

セフトロザンの PD は、標準的な好中球減少症マウス大腿部モデルを用いた2試験より評価した[資料4.2.1.1.43] [資料4.2.1.1.51]。感染4日前にマウスにシクロホスファミド150 mg/kg を腹腔内（IP）投与し、感染前日にも100 mg/kg を投与することにより好中球減少症を発症させ、*E. coli*、*K. pneumoniae* 又は *P. aeruginosa* の様々な菌株約10^5～10^6 CFU/mL を大腿部に注入したのち、セフトロザンを腹腔内へ24時間にわたり種々の総用量（1.56～12,800 mg/kg）及び用法（投与間隔3～24時間）で投与した。それぞれの用法・用量についてマウスを3匹/群使用した。試験終了時に大腿部を切除し、ホモジネートして、寒天培地に希釈液適量を平板培養し細菌数を測定した。

CXA101M004試験[資料4.2.1.1.43]では、*E. coli* 及び *K. pneumoniae* の β-ラクタマーゼ陰性株に対するセフトロザンの in vivo での有効性を検討した。投与24時間後の C_{max}/MIC、AUC/MIC 及び%T>MIC と大腿部の細菌数との関係を評価し、相関係数（R^2）を求めた。いずれの細菌も%T>MIC との相関が最も高く（*E. coli* のデータを[図 2.6.2-7]に示す）、次いで24時間-AUC/MIC であった。ただし、無効であったより低い2用量（0.39 mg/kg/6h、0.19 mg/kg/3h）を除外する場合は%T>MIC の相関係数がごくわずかに低くなるが、AUC/MIC 及び C_{max}/MIC ではさらにより大きく低下した。このことは、%T>MIC がセフトロザンの in vivo 活性を決定する PK/PD の主要指標であることと一致していた。

また、投与間隔を短くして24時間から3時間にすると、静菌に必要な用量が顕著に少なくなることが示された。この傾向から%T>MIC がセフトロザンの主要な PD パラメータであることが確認された。この傾向は他の β-ラクタム系抗菌薬と一致していた。



ATCC=American Type Culture Collection; AUC=area under the plasma concentration-time curve; CFU=colony-forming units; Cmax=maximum（peak） plasma drug concentration; MIC=minimum inhibitory concentration; PK/PD=pharmacokinetic/pharmacodynamic; R^2=correlation coefficient; T>MIC=time as percentage of the dosing interval that the free drug concentration exceeds the MIC

Source: [資料4.2.1.1.43]

図 2.6.2-7　　PK/PD 指標と好中球減少症マウスの大腿部に感染した *Escherichia coli*（ATCC 25922 株）に対するセフトロザンの抗菌活性との関係

Confidential

β-ラクタマーゼ陰性の腸内細菌科細菌及び *P. aeruginosa* を用いて、セフトロザンの静菌及び殺菌作用をもたらす%T>MIC 値を総用量より評価した。静菌、1 log 殺菌及び2 log 殺菌をもたらす%T>MIC の中央値は、それぞれ24.8%、32.2%及び42.8%であった。個々の菌株に対する結果を[表 2.6.2-29]に示す。

表 2.6.2-29　腸内細菌科細菌及び *Pseudomonas aeruginosa* に対する静菌及び殺菌活性に必要な%T>MIC

Organism	Ceftolozane MIC (μg/mL)	Percent (%) T > MIC of Ceftolozane		
		Bacteriostasis	1-$\log_{10}$ kill	2-$\log_{10}$ kill
Enterobacteriaceae				
E. coli ATCC 25922	0.5	28.1	32.8	42.2
E. coli NIH-J	0.06	28.0	32.3	40.8
K. pneumoniae ATCC 43816	1 – 2	25.2	32.0	43.4
K. pneumoniae 216	1	24.0	29.2	40.9
Mean ±SD		**26.3 ± 2.1**	**31.6 ± 1.6**	**41.8 ± 1.2**
P. aeruginosa				
ATCC 27853	0.5	24.3	33.9	66.0
4034A	0.5 -1	28.5	35.3	45.7
PO2	0.5	21.7	30.1	61.6
313	1	21.4	26.7	35.5
Mean ±SD		**24.0 ± 3.3**	**31.5 ± 3.9**	**52.2 ± 14.1**
Overall Median for all strains		**24.8**	**32.2**	**42.8**

%T>MIC=time as a percentage of the dosing interval the drug concentrations exceeds the MIC; ATCC=American Type Culture Collection; MIC=minimum inhibitory concentration; SD=standard deviation
Source: [資料4.2.1.1.43], [資料4.2.1.1.58]

さらに MIC 値の違いが有効性に及ぼす影響を評価するために、多数の *P. aeruginosa* の臨床分離株 (n=14) を用いて試験を実施した[資料4.2.1.1.51]。この分離株のうち、7株がカルバペネム耐性、7株がセフタジジム耐性、8株が PIPC/TAZ 耐性、そして7株がセフェピム耐性であった。*P. aeruginosa* に対するセフトロザンの MIC 値は2～16 μg/mL の範囲であり8倍の差がみられた。これらの MIC 値の相違は、有効性に必要な%T>MIC に影響を及ぼすことはなく、静菌及び1 log 殺菌に必要な%T>MIC の平均値はそれぞれ31.2%及び39.4%となった。検討した用量では、5株のみに2 log 殺菌が認められ、%T>MIC は27.6%～46.5%であった[表 2.6.2-30]。注目すべきこととして、%T>MIC 値は MIC 値及び *P. aeruginosa* の耐性機構とは無関係であった。

C Confidential

表 2.6.2-30　MIC 値が高い *Pseudomonas aeruginosa* 及び *Streptococcus pneumoniae* に対する静菌及び殺菌活性に必要な%T>MIC

Organism	Ceftolozane MIC (μg/mL)	Percent (%) T > MIC of Ceftolozane		
		Bacteriostasis	1-log kill	2-log kill
***Pseudomonas aeruginosa* (n=14)**				
3B	2	15.9	20.1	27.6
2638	2	40.1	43.2	46.4
4304A	2	36.2	47.0	Not achieved
3068	4	30.3	37.8	44.9
3070	4	37.3	47.1	Not achieved
2757	4	37.5	42.7	Not achieved
2627	4	38.0	45.4	Not achieved
9139	4	25.6	36.6	46.5
3072	4	28.7	Not achieved	Not achieved
3071	8	27.2	43.7	Not achieved
823	8	21.5	33.5	Not achieved
26975	8	29.9	36.3	44.5
3076	16	35.9	Not achieved	Not achieved
24530	16	32.6	39.5	Not achieved
Mean ±SD		**31.2±6.99**	**39.4±7.53**	**42.0±8.11**
***Streptococcus pneumoniae* (n=6)**				
10813	0.125	20.9	23.8	27.7
145	0.125	17.0	20.0	25.9
146	0.25	15.2	20.8	26.4
1020	8	25.4	30.0	Not achieved
1329	8	17.1	26.2	Not achieved
49619	16	12.6	22.0	Not achieved
Mean ±SD		**18.1±4.52**	**23.8±3.75**	**26.7±0.94**

%T>MIC=time as a percentage of the dosing interval the drug concentrations exceeds the MIC; MIC=minimum inhibitory concentration; SD=standard deviation.
Source:　[資料4.2.1.1.51].

さらに好中球減少症マウス大腿部モデルを用いて、グラム陽性病原菌 *S. pneumoniae* に対する有効性を評価した[資料4.2.1.1.51]。セフトロザンの *S. pneumoniae* に対する MIC 値は、0.125～16 μg/mL であった。分離株のうち4株はペニシリン耐性であり、各1株がそれぞれペニシリン中等度耐性とペニシリン感受性であった。静菌に必要な%T>MIC の平均値は18.1%であり、グラム陰性病原菌に対する値より低かった。静菌、1 log 殺菌及び2 log 殺菌に必要な%T>MIC の要約を[表 2.6.2-30]に示す。

以上、%T>MIC がセフトロザンの有効性を予測するための最適な PD パラメータであるといえる。薬剤耐性 *P. aeruginosa* を含むグラム陰性菌の静菌及び1 log 殺菌に必要な%T>MIC は、それぞれ約30%及び約40%であった。薬剤感受性 *S. pneumoniae* に対する静菌及び1 log 殺菌に必要な%T>MIC はそれぞれ約20%及び約25%であり、グラム陰性分離株よりも低かった。重要なこととして、有効性を得るのに必要な%T>MIC は MIC 値の影響を受けることはなく、腸内細菌科細菌、*P. aeruginosa* 及び *S. pneumoniae* に対して同程度であり、すべての菌種、耐性プロファイル及び MIC 値に対して、静菌及び1 log 殺菌に必要な%T>MIC の平均値はそれぞれ31.2%及び39.4%以下であった。

C Confidential

2.6.2.2.8.5　　In vivo PD モデル：セフトロザン／タゾバクタム

標準的な好中球減少症マウス大腿部モデルを用いて、セフトロザン及びタゾバクタム併用時の *E. coli*（n=6）と *K. pneumoniae*（n=4）の臨床分離株に対する in vivo 曝露量－応答関係を検討した[資料4.2.1.1.59]。標準的な方法により、マウス大腿部に細菌を接種して好中球減少症を発症させ、セフトロザン単独又はタゾバクタムとの併用による様々な用量を投与した。投与はいずれも感染2時間後に開始した。用量と PK/PD の指標に E_{max}（最大効果）モデルを適用して、セフトロザン単独及びタゾバクタムとの併用時に静菌作用が得られる PK/PD の指標の値を検討した。タゾバクタムに対しては、閾値濃度0.25、1及び4 μg/mL を用いて、%T>threshold を算出した。

全分離株が β-ラクタマーゼ（CTX-M、TEM、OXA、HSV）を産生し、このうち *K. pneumoniae* の4株中3株、*E. coli* の6株中2 株が複数の β-ラクタマーゼを産生した。%T>MIC が有効性に関する PD パラメータとしてすでに確立されていたことから、これらの試験ではセフトロザンの投与間隔を2時間ごとのモデルとした。タゾバクタムは、2、4、6、8、12又は24時間ごとの投与とした。

曝露量－応答関係の解析により、タゾバクタムの効果が投与頻度に依存することが示された[表2.6.2-31]。タゾバクタムを2時間ごとに併用投与したところ、静菌作用を得るのに必要なタゾバクタムの用量は、8時間ごとに投与した場合の約1/4～1/120に低下した。必要とされるタゾバクタムの濃度の低下幅は、菌株並びに産生される β-ラクタマーゼの量及び種類によって異なっていた。

以上、in vivo 好中球減少症マウス大腿部感染モデルにより、タゾバクタムの有効性に関する PD の指標が%T>threshold であることが示された。また、タゾバクタムの閾値濃度0.25～1 μg/mL は有効性とよく相関すると考えられた[資料4.2.1.1.59]。

表 2.6.2-31　タゾバクタムの用量が β-ラクタマーゼ産生株に対するセフトロザンの有効性に及ぼす影響

Strain	Ceftolozane dose (mg/kg)	Tazobactam dose (mg/kg) q2h for Static Effect	Tazobactam dose (mg/kg) q8h for Static Effect
Escherichia coli 10771J	8	51.5	6026
Klebsiella pneumoniae 58	32	374.4	1535
Escherichia coli 15	32	83.6	1145

qxh=every x hours,　Source: [資料4.2.1.1.59]

2.6.2.2.8.6　　結論

好中球減少症マウス大腿部感染モデルにより、セフトロザンの治療効果と最も相関度の高い PD の指標が、他のセファロスポリン系抗菌薬と同じく%T>MIC であることが示された。有効性に関する%T>MIC の値はセフトロザンの方が他の β-ラクタム系薬剤よりも低かった。*P. aeruginosa* の静菌に必要なセフトロザンの%T>MIC 値の平均値は29.6%（表2.6.2-29及び30の平均）であり、腸内細菌科細菌では26.3%、*S. pneumoniae* では18.1%であった。1 log 殺菌に必要な%T>MIC の平均値は、*P. aeruginosa*、腸内細菌科細菌及び *S. pneumoniae* ではそれぞれ37.4%、31.6%及び23.8%であり、静菌に必要な%T>MIC 値と比べわずかに高いのみであることから、セフトロザンの殺菌活性の高さが注目される。また、セファロスポリン系抗菌薬は蛋白結合率が低く、総血中薬物濃度又は非結合型血中薬物濃度のいずれでも%T>MIC は同様であることが報告されている [資料4.3:

C Confidential

132]。好中球減少症マウス大腿部感染モデルでは、セフトロザンの蛋白結合率が低いことから、総血中薬物濃度を用いて PK/PD 指標を求めた。したがって、PK/PD ターゲット値は MIC を超える非結合型血漿中薬物濃度（%fT>MIC）の投与間隔中の%として求められ、その値は約30%と保守的に算出されている。

今まで、BLI の PK/PD モデルリングに関する試験はほとんど報告されていない。In vitro 及び in vivo の試験データから、セフトロザン併用下では%T>threshold がタゾバクタムの効果と相関することが示された。In vitro では、この閾値の予測値が MIC 値の分数値1/2×MIC と相関しており、in vivo ではタゾバクタムの閾値濃度1 μg/mL が有効性とのよい相関を示した。この閾値濃度（1 μg/mL）における静菌に必要な%fT>threshold の平均値（標準偏差値）は17.7%（12%）であった[資料4.3: 137]。

In vivo モデルのほうが in vitro モデルよりも臨床への外挿性が高いため、タゾバクタムの PK/PD ターゲットは、1 μg/mL の閾値濃度に対して約20%の fT>threshold と判断された。

2.6.2.2.9　In vivo 感染防御試験

セフトロザン及びセフトロザン／タゾバクタムの in vivo での有効性を、敗血症、肺炎、尿路感染症、熱傷及び大腿部感染等、マウスを用いた様々な感染症モデルにより評価した。セフトロザン及びセフトロザン／タゾバクタムは、様々な感染症モデルにおいて、試験対象とした多剤耐性 *P. aeruginosa* を含むすべての病原菌に対して、全般的に対照薬と同程度又はそれ以上の優れた有効性を示した。

敗血症モデルでは、セフトロザンは様々な腸内細菌科細菌、*S. pneumoniae* 及び多剤耐性株の *P. aeruginosa* に有効であり、セフトロザン／タゾバクタムは ESBL 産生 *E. coli* 及び *K. pneumoniae* に有効であることが示された。尿路感染症モデルでは、セフトロザンは多剤耐性株を含む *P. aeruginosa* に対して強力な活性を示した。肺炎モデルでは、免疫能正常及び好中球減少のマウスを用いてセフトロザンの有効性を評価し、いずれのマウスに対してもセフトロザンは強い活性を示した（免疫能正常肺炎モデルでは *P. aeruginosa* を接種、好中球減少肺炎モデルでは多剤耐性株を含む *P. aeruginosa* 及び *K. pneumoniae* を接種）。また、2種類の細菌（多剤耐性 *P. aeruginosa* 及び *K. pneumoniae*）を同時感染させた複雑性肺炎モデルにおいても、セフトロザンは強い活性を示した。

熱傷感染モデルでは、セフトロザンは多剤耐性株を含む *P. aeruginosa* に対して対照薬よりも強い活性を示した。好中球減少症大腿部感染モデルでは、セフトロザンは *E.coli*、*K. pneumoniae* 及び *P. aeruginosa* の感受性株に対して、セフトロザン／タゾバクタムは ESBL 産生の腸内細菌科細菌（*E. coli*、*E. cloacae* 及び *K. pneumoniae*）に対して殺菌活性を示した。

タゾバクタムは極めて短時間で消失するため［タゾバクタムのマウスでの消失半減期（$t_{1/2}$）は約11分］、マウスに β-ラクタム系抗菌薬とタゾバクタムを併用し評価するのは特に困難である。同じくセフトロザンも半減期が短く（ヒト $t_{1/2}$は約2.5時間に対して、マウスは約11～15分）[資料4.2.1.1.43]、したがってマウス試験では用量が高くなることから、臨床用量を直接推定することができない。ただし、セフトロザンは単剤でほとんどの β-ラクタマーゼ産生 *P. aeruginosa* に対して活性を示すため、in vitro 及び in vivo のいずれの試験においても、タゾバクタムがセフトロザンの

Confidential

抗 *P. aeruginosa* 活性に寄与することがなく、したがってマウスでのタゾバクタムの $t_{1/2}$が短くなることは、セフトロザン／タゾバクタムの *P. aeruginosa* に対する活性評価へは影響しないと考えられる。

2.6.2.2.9.1　　マウス敗血症モデル

マウス敗血症モデルを用いた試験により、セフトロザン単剤は野生型の腸内細菌科細菌、*S. pneumoniae* 及び多剤耐性株を含む *P. pneumoniae* に有効であり、セフトロザン／タゾバクタムはESBL 産生 *E. coli* 及び *K. pneumoniae* に有効であることが示された。

セフトロザン

4週齢の ICR マウス（8匹／群）へ *P. aeruginosa*（セフタジジム感受性又はセフタジジム／シプロフロキサシン耐性）、様々な腸内細菌科細菌又は *S. pneumoniae* の最小致死量を、5%ブタ胃ムチンに懸濁して腹腔内投与した[資料4.2.1.1.47]。感染後1、3及び5時間の時点で、異なる用量のセフトロザン又は対照薬を皮下投与した。マウスの生存状態を最長7日間観察し、各薬剤が致死量の細菌接種から50%の動物を生存させた作用量（ED_{50}）をプロビット回帰により求めた。その結果、セフトロザンはセフタジジム／シプロフロキサシン耐性 *P. aeruginosa* を含む用いたすべての菌株の致死量の接種からマウスを生存させるのに有効であった[表 2.6.2-32]。

表 2.6.2-32　*Pseudomonas aeruginosa*、腸内細菌科細菌及び *Streptococcus pneumoniae* により誘発されたマウス敗血症に対するセフトロザンの有効性の要約

Organism	Challenge (CFU/mouse)	Ceftolozane		CAZ	IMP/CS[a]	CIP
		MIC (μg/mL)	ED_{50} (mg/kg)[b]	ED_{50} (mg/kg)[b]		
P. aeruginosa 93 CAZ-S	6.9×10^5	0.25	1.07	3.16	0.85	0.91
P. aeruginosa 18064 CAZ- and CIP-R	4.5×10^6	1	2.58	>96	3.2	>48
E. coli 29	1.8×10^6	0.125	0.2	0.14	0.67	0.042
K. pneumoniae 1	2.8×10^5	0.125	0.26	0.21	1.46	0.21
P. mirabilis 4	2.5×10^6	0.5	0.33	0.092	1.11	0.14
S. marcescens 4003	8.2×10^4	0.5	1.57	0.78	4.42	0.4
E. cloacae 3020	1.8×10^7	0.25	0.26	0.34	1.36	0.085
S. pneumoniae FP1284	2.6×10^3	0.125	2.47	6.00	0.60	>48

CAZ=ceftazidime; CFU=colony forming units; CIP=ciprofloxacin; ED_{50}=effective dose protecting 50% of animals from a lethal inoculum, IMP/CS=imipenem/cilastatin; MIC=minimum inhibitory concentration; S=susceptible; SC=subcutaneous; R=resistant

[a] Concentrations represent imipenem.

[b] Determined on Day 7 after infection.　Treatments were SC on Days 1, 3, and 5 after infection.

Source:　[資料4.2.1.1.47]

タゾバクタム

タゾバクタム単剤は in vitro 抗菌活性を示さない[2.6.2.2.1.2項]。また、タゾバクタムは in vivo でも抗菌活性は報告されていないことから、タゾバクタム単剤での有効性に関する動物試験は実施しなかった。

C Confidential

セフトロザン／タゾバクタム

マウス敗血症モデルを用いて、ESBL 産生 *E. coli* 及び *K. pneumoniae* に対するタゾバクタム併用下のセフトロザンの有効性を評価した[資料4.2.1.1.48] [資料4.2.1.1.49]。ESBL 産生 *E. coli* 2株（いずれも CTX-M 型）、ESBL 陰性1株及び *K. pneumoniae* 3株［うち1株は ESBL 陰性株、2株が ESBL 産生株（bla_{SHV}、bla_{TEM}及びbla_{CTX-M}）］に対するセフトロザン／タゾバクタム（2：1の割合）及びセフトロザン単剤の ED_{50}を求め、セフタジジム及び PIPC/TAZ（8：1の割合）と比較した。マウスへ5%ブタムチンに懸濁した100%致死量の上記菌株を腹腔内接種した。感染後2、4、6時間時点で種々の用量（8匹／群）の薬剤を皮下投与した。5日間にわたってマウスの生存状態を評価し、ED_{50}を求めた。

[表 2.6.2-33]に、マウス敗血症モデルにおける有効性データを示す。評価に用いた薬剤はいずれも ESBL 陰性株に有効であったが、PIPC/TAZ の ED_{50}は他剤よりも高いことが示された。ESBL 産生 *E. coli* に対しては、セフトロザン／タゾバクタムはセフトロザン単剤の約5～8倍の活性を示した。セフタジジム感受性の *E. coli* C14に対するセフトロザンの活性は、セフトロザン／タゾバクタムとほぼ同程度であった。ESBL 産生 *E.coli* 2株に対しては、PIPC/TAZ は in vitro では感受性であったが、in vivo のマウスモデルではこれらの2株に対して無効であった（ED_{50} > 300 mg/kg）。

ESBL 陰性 *K. pneumonia* C4に対しては、PIPC/TAZ を除き、いずれの薬剤も ED_{50}値が同程度であった。ESBL 産生 *K. pneumonia* C1はセフトロザンに耐性を示したことから、このマウスモデルでは無効となった。セフタジジムのこの菌株に対する MIC は1 μg/mL、ED_{50}は20.8 mg/kg に対して、セフトロザン／タゾバクタムは、ED_{50}が47.5 mg/kg であった。ESBL 産生 *K. pneumonia* C2に対しては、セフトロザン／タゾバクタムのみが in vivo での活性を示し、ED_{50}が44.9 mg/kg と他の *K. pneumoniae* 2株と同程度の活性を示した。

表 2.6.2-33　*Escherichia coli* 及び *Klebsiella pneumoniae* の ESBL 陰性及び陽性臨床分離株を接種したマウス敗血症モデルに対するセフトロザン／タゾバクタム及び対照薬の有効性

Antibiotic	*E. coli* C14 ESBL-negative		*E. coli* C11 ESBL-positive		*E. coli* C12 ESBL-positive	
	MIC (μg/mL)	ED_{50} (mg/kg) [(a)]	MIC (μg/mL)	ED_{50} (mg/kg)	MIC (μg/mL)	ED_{50} (mg/kg)
Ceftolozane	0.25	0.9	2	192.3	64	123.3
Ceftolozane/TAZ	0.25	0.3	0.25	25.9	1	25.5
Ceftazidime	0.125	0.4	0.5-1	25.6	32-64	263.3
PIPC/TAZ	1.5	14.7	1	>300	2	>300
	K. pneumoniae C4 ESBL-negative		*K. pneumoniae* C1 ESBL-positive		*K. pneumoniae* C2 ESBL-positive	
Ceftolozane	0.25	32.8	16	> 300	128	183.3
Ceftolozane/TAZ	0.25	30.0	0.5	47.5	1	44.9
Ceftazidime	0.25	17.7	1	20.8	32	>300
PIPC/TAZ	2	195.7	2	>300	16	>300

ESBL=extended spectrum β lactamase; ED_{50}=effective dose protective of 50% of animals from a lethal inoculum; MIC=minimum inhibitory concentration
[a] Determined 5 days after infection.　Treatment administered subcutaneously 2, 4, and 6 hours after infection.
Source:　[資料4.2.1.1.48] [資料4.2.1.1.49]

Confidential

2.6.2.2.9.2　　マウス尿路感染症モデル

標準的な尿路感染症（UTI）マウスモデルを用いて、*P. aeruginosa* に対するセフトロザン及び対照薬の有効性を評価した[資料4.2.1.1.47] [資料4.3: 103]。雌マウスには、細菌接種前日に飲水させなかった。ペントバルビタール50 mg/kg の静脈内投与による麻酔後、マウスに生理食塩水に懸濁した *P. aeruginosa* を経尿道的に感染させた。感染5時間後に各薬剤を皮下投与し、さらに感染後の2日間に各薬剤を1日2回投与した。その翌日にマウスを安楽殺して両側腎を摘出し、ホモジナイズ後に生理食塩水に懸濁した後、寒天培養して生菌数を測定した。その結果、セフトロザンはセフタジジム感受性及び多剤耐性の *P. aeruginosa* に対して強力な活性を示した（腎臓での菌量は未治療対照群より3 $\log_{10}$ CFU 超低かった）[表 2.6.2-34]。セフタジジム感受性株に対するセフトロザンの有効性は、シプロフロキサシンと同程度であり、セフタジジム及びイミペネム／シラスタチンよりも優れていた。多剤耐性株に対しては、セフトロザン投与による腎臓での細菌数の減少は、他の3種類の対照薬投与による減少よりも有意に上回った（P < 0.01）。

表 2.6.2-34　*Pseudomonas aeruginosa* によるマウス尿路感染症に対するセフトロザン及び対照薬の有効性

Organism (inoculum)	Antibiotic	Bacterial Burden[a] (Mean $\log_{10}$ CFU/kidneys ± SD)		MIC (μg/mL)
		0.5 mg/kg	2 mg/kg	
P. aeruginosa 93 ceftazidime-S (2.1×10^4 CFU/mouse)	Control	8.01 ± 0.05		NA
	Ceftolozane	4.52 ± 0.41[(b)c]	3.29 ± 0.14[bde]	0.25
	Ceftazidime	5.57 ± 0.16[b]	4.57 ± 0.41[b]	1
	Imipenem/cilastatin	6.08 ± 0.41[b]	4.73 ± 0.24[b]	1
	Ciprofloxacin	5.02± 0.24[b]	2.95 ± 0.35[b]	0.125
		2 mg/kg	10 mg/kg	
P. aeruginosa 18064 CAZ- and CIP-R (2.2×10^4 CFU/mouse)	Control	7.54 ± 0.26		NA
	Ceftolozane	3.97 ± 0.63[bf]	2.33 ± 0.33[bf]	1
	Ceftazidime	6.61± 0.37	5.66 ± 0.34[g]	32
	Imipenem/cilastatin	6.69 ± 0.22	4.58 ± 0.39[b]	16
	Ciprofloxacin	7.33± 0.34	6.35 ± 0.27	64

CFU=colony forming units; MIC=minimum inhibitory concentration; NA=not applicable; s=susceptible; SD=standard deviation.

[a] Determined on Day 3 after infection.　Test agents were administered SC at 5 hours post challenge and then twice daily on Days 1 and 2 after infection.

[b] p < 0.01 versus control.

[c] p < 0.05 versus imipenem.

[d] p < 0.05 versus ceftazidime.

[e] p < 0.01 versus imipenem.

[f] p < 0.01 versus ceftazidime, imipenem, and ciprofloxacin.

[g] p < 0.05 versus control.

Source:　[資料4.2.1.1.47] [資料4.3: 103]

Confidential

2.6.2.2.9.3　　マウス肺炎モデル

免疫能正常マウス及び好中球減少症マウスの肺炎モデルを用いて、セフトロザンの有効性を評価した[資料4.2.1.1.50]。

麻酔下の免疫能正常マウスへ *P. aeruginosa* を気管内投与により感染させ、2時間後にセフトロザン180 mg/kg、セフタジジム200 mg/kg 又は PIPC/TAZ 400 mg/kg を皮下投与し、その後8時間ごとに1日3回、2日間投与した。各薬剤の用法・用量は、ヒト血漿中 AUC をシミュレートするように設定された。その結果、セフトロザンは免疫能正常マウスの肺感染に対し高い有効性を示した。セフトロザンにより肺及び脾臓組織の細菌数は、それぞれ3.44 $\log_{10}$ CFU/g 及び2.43 $\log_{10}$ CFU/g 減少した。セフトロザンは、対照薬と比較して肺の細菌数を減少させる効果が有意に高かった（$P < 0.05$）[表 2.6.2-35]。

表 2.6.2-35　免疫能正常マウス肺感染症モデルのセフトロザン、セフタジジム及びピペラシリン／タゾバクタム投与 48 時間後の肺及び脾臓の細菌数

Regimen	MIC Value (μg/mL)	Bacterial Counts Mean $\log_{10}$ CFU/g of Organ ± SD	
		Lung	Spleen
Controls	NA	7.05 ± 0.86	5.06 ± 0.63
Ceftolozane	1	3.61 ± 0.35[a,b]	2.63 ± 0.46[a]
Ceftazidime	4	4.74 ± 1.01[a]	2.74 ± 0.49[a]
PIPC/TAZ	64	5.04 ± 0.90[a]	2.80 ± 0.84[a]

CFU=colony-forming units; NA=not applicable; SD=standard deviation, PIPC/TAZ=Piperacillin/tazobactam.
a: P<0.001 versus controls
b: P<0.05 versus ceftazidime and piperacillin/tazobactam groups
Source:　[資料4.2.1.1.50]

さらに好中球減少症マウス肺炎モデルを用いて、*P. aeruginosa* 及び *K. pneumoniae* に対するセフトロザンの活性を評価した[資料4.2.1.1.47] [資料4.3: 103]。マウスへシクロフォスファミドを腹腔内投与して好中球減少症を誘発させ、その4日後に麻酔下マウスへ細菌を鼻腔内へ接種し感染させた。感染3時間及び6時間後に薬剤を皮下投与し、試験2日及び3日も1日2回投与した。試験4日にマウスを安楽殺して、肺を摘出し生菌数を測定した。

その結果、セフトロザン投与により、接種後72時間までに肺内の3株全株の細菌数は未治療の対照群より3 $\log_{10}$ CFU 超減少することが示された[表 2.6.2-36]。多剤耐性株の *P. aeruginosa* に対して、セフトロザン及び対照薬は有効性を示した。セフトロザンにより4 $\log_{10}$ CFU 超の細菌数低下が認められ、この有効性はイミペネムと同程度以上であり、セフタジジム及びシプロフロキサシンと比較すると有意に優れていた（$P < 0.01$）。また、0.5 mg/kg 及び2 mg/kg を用いた *K. pneumoniae* に対する有効性では、セフトロザン投与後の細菌数は有意に減少した（5 $\log_{10}$ CFU 超減少）。セフトロザンの有効性はシプロフロキサシンを除き、いずれの薬剤とも概ね同程度又はそれ以上であった。0.5 mg/kg では、セフトロザンとシプロフロキサシンのみが細菌数の有意な減少を示した。

C Confidential

表 2.6.2-36　好中球減少症マウス肺感染症モデルにおけるセフトロザン及び対照薬の *Pseudomonas aeruginosa* 及び *Klebsiella pneumoniae* に対する有効性

Organism (inoculum)	Antibiotic	Bacterial Burden[(a)] (Mean $\log_{10}$ CFU/lungs ± SD)		MIC (μg/mL)
P. aeruginosa 93 ceftazidime-S (2×10^3 CFU/mouse)		2 mg/kg	10 mg/kg	
	Untreated controls	6.93 ± 0.22		NA
	Ceftolozane	3.40 ± 0.28[bc]	2.54 ± 0.05[bc]	0.25
	Ceftazidime	4.93 ± 0.09[b]	3.59 ± 0.10[b]	1
	Imipenem/cilastatin	3.09 ± 0.18[b]	2.41± 0.15[b]	1
	Ciprofloxacin	3.04 ± 0.14[b]	2.38± 0.21[b]	0.125
P. aeruginosa 18064 CAZ- and CIP-R (2.2×10^4 CFU/mouse)		10 mg/kg	50 mg/kg	
	Untreated controls	7.27 ± 0.07		NA
	Ceftolozane	3.06 ± 0.20[bcd]	1.82 ± 0.07[bcd]	1
	Ceftazidime	6.12 ± 0.24[b]	4.63 ± 0.25[b]	32
	Imipenem/cilastatin	3.74 ± 0.19[b]	2.21 ± 0.04[b]	16
	Ciprofloxacin	6.84 ± 0.08	5.65 ± 0.26[b]	64
K. pneumoniae 19014 (1.6×10^6 CFU/mouse)		0.5 mg/kg	2 mg/kg	
	Untreated controls	7.84 ± 0.12		NA
	Ceftolozane	2.72 ± 0.08	1.72 ± 0.19[e]	0.125
	Ceftazidime	4.51 ± 0.49	1.81± 0.17	0.125
	Imipenem/cilastatin	5.34 ± 0.52[f]	2.73 ± 0.18	0.25
	Ciprofloxacin	2.22 ± 0.29	< 1.18[b]	≤ 0.03

CFU=colony-forming units; MIC=minimum inhibitory concentration; NA=not applicable; s=susceptible; SD=standard deviation.
a: Determined on the day after the last treatment.　Treatment by subcutaneous injection twice daily, for 3 days, starting 3 hours after infection
b: p< 0.01 versus control.
c: p< 0.01 versus ceftazidime
d: p< 0.01 versus ciprofloxacin
e: p< 0.05 versus control.
f: p< 0.05 versus ceftolozane
Source:　[資料4.2.1.1.47] [資料4.3: 103]

さらに好中球減少症マウスに2種類の細菌を同時感染させた複雑性肺炎モデルを用いてセフトロザンを評価した[資料4.2.1.1.47]。多剤耐性の *P. aeruginosa* と感受性 *K. pneumoniae* の重複感染モデルにおいて、セフトロザン（2、10、50 mg/kg）は、セフタジジム、イミペネム／シラスタチン及びシプロフロキサシンと比較して、両細菌株に対して同程度又はそれ以上の大きな細菌数減少を示した[表 2.6.2-37]。シプロフロキサシンは感受性 *K. pneumoniae* に対しては高い有効性を示したが、多剤耐性の *P. aeruginosa* に対してはほとんど効果を示さなかった。イミペネム／シラスタチン及びセフタジジムは、全般的にセフトロザンより両病原菌に対する活性が低く、特に低用量（2 mg/kg）では顕著に低かった。

Confidential

表 2.6.2-37　好中球減少マウス肺感染症モデルにおける *Pseudomonas aeruginosa* 及び *Klebsiella pneumoniae* 同時感染に対するセフトロザン及び対照薬の有効性

Strain (inoculum amount)	Antibiotics	Mean Log CFU/lung ± SD			MIC (μg/mL)
		2 mg/kg	10 mg/kg	50 mg/kg	
P. aeruginosa 18064 CAZ- and CIP-R (2.2×10^4 CFU/mouse))	Control	7.91 ± 0.29			
	Ceftolozane	4.55 ± 0.42(*)	3.73 ± 0.31*	2.77 ± 0.31*	1
	CAZ	7.23 ± 0.19#	5.87 ± 0.44(#)	5.02 ± 0.25	32
	IPM/CS	6.74 ± 0.32	4.66 ± 0.29(*)	3.74 ± 0.38*	16
	CPFX	7.12 ± 0.09#	6.18 ± 0.59(#)	6.40 ± 0.27#	64
K. pneumoniae 19014 (1.6×10^6 CFU/mouse)	Control	7.70 ± 0.29			
	Ceftolozane	2.16 ± 0.34	<1.33*	<1.00*	0.125
	CAZ	4.50 ± 0.51	2.63 ± 0.29(#)	<1.00*	0.125
	IPM/CS	5.17 ± 0.20(#)	2.32 ± 0.23	<1.10*	0.25
	CPFX	1.48 ± 0.12(*)	<1.00*	<1.00*	≤0.0313

*,(*): Significant difference from control ($p<0.01$, $p<0.05$)
#,(#): Significant difference from ceftolozane ($p<0.01$, $p<0.05$)
CFU: colony-forming units, MIC: minimum inhibitory concentration, CAZ: ceftazidime, IPM: imipenem, CS: cilastatin, CPFX: ciprofloxacin.
Source: [資料4.2.1.1.47]

同じ多剤耐性の *P. aeruginosa* と *H. influenzae* による複雑性肺感染症マウスに対するセフトロザンの効果においても、同様の結果が得られた[資料4.2.1.1.47]。

2.6.2.2.9.4　マウス熱傷感染モデル

マウス熱傷感染モデルを用いて、セフタジジム感受性及び多剤耐性株の *P. aeruginosa* に対するセフトロザン及びセフタジジムを評価した[資料4.2.1.1.47] [資料4.3: 103]。エタノールによりマウスに熱傷を作成し、熱傷部位に *P. aeruginosa* のセフタジジム感受性又は多剤耐性株を接種した。セフタジジム感受性 *P. aeruginosa* に感染させたマウスでは、セフトロザン投与後の熱傷部位の細菌数は、溶媒対照群と比べ、有意に低下していた（$P < 0.05$）。セフトロザンは、セフタジジム及びイミペネム／シラスタチンよりも、この菌株に対する活性が高かった。多剤耐性株に対しても、50 mg/kg のセフトロザン投与により細菌数が溶媒対照群よりも4 $\log_{10}$ CFU 超減少し、セフトロザンの有効性はセフタジジム、イミペネム／シラスタチン及びシプロフロキサシンよりも優れていた。

2.6.2.2.9.5　好中球減少症マウス大腿部感染モデル

セフトロザン

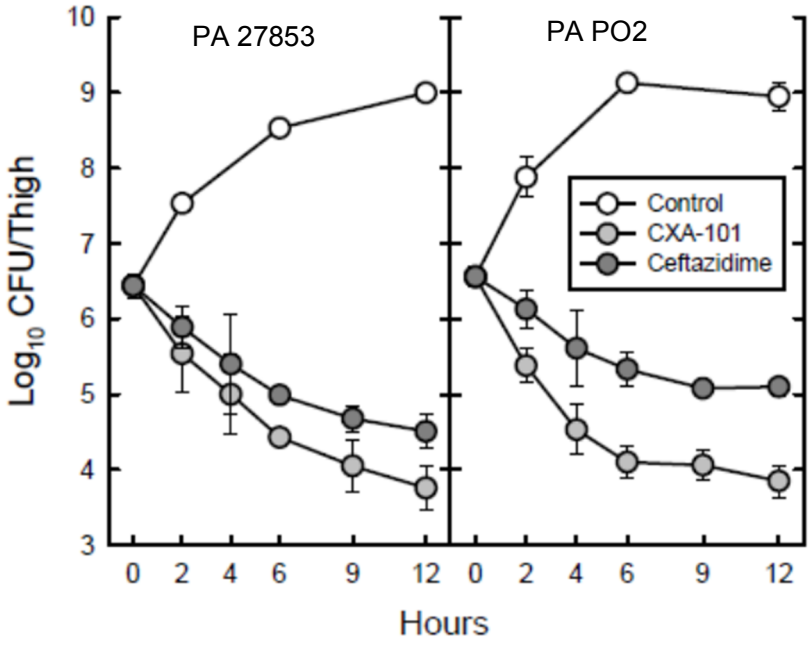
セフトロザンの in vivo PD モデルによる評価に使用された好中球減少症マウス大腿部感染モデルを用いて[2.6.2.2.8.4項]、セフトロザンの *E. coli*、*K. pneumoniae* 及び *P. aeruginosa* に対する有効性を評価した[資料4.2.1.1.43]。

β-ラクタム系抗菌薬で予想されたとおり、セフトロザンは in vivo で *E. coli*、*K. pneumoniae* 及び *P. aeruginosa* の感受性株に殺菌活性を示した。セフトロザンを6時間ごとに投与したところ、*E. coli* 及び *K. pneumoniae* の各2株に対する最大殺菌数（投与開始時点における未投与群と比較して）の平均値は2.60 ± 0.24 $\log_{10}$ CFU/mL、*P. aeruginosa* の4株に対しては2.44 ± 0.46 $\log_{10}$ CFU/mL であっ

Confidential

た。また、投与頻度を増加すると効果を得るのに必要な総用量が減少したが、これはマウスでのセフトロザンの $t_{1/2}$が短く、%T>MIC が有効性と最も良く相関する PK/PD 指標であることと一致していた。

大腿部の細菌数を経時的に測定したところ、*P. aeruginosa* 2株（ATCC 27853、PO2）に対してセフトロザン 200 mg/kg を2~3時間ごとに投与すると、この好中球減少症マウス大腿部モデルにおいて迅速な殺菌作用を引き起こすことが確認できた。セフトロザンとセフタジジムの *P. aeruginosa* 2株に対する MIC は同程度（セフトロザン：0.5 µg/mL、セフタジジム：2 µg/mL）であったが、上記細菌に対するセフトロザンの殺菌の程度と速度は、同量のセフタジジムよりも優れていた[図 2.6.2-8]。



ATCC=American Type Culture Collection; CFU=colony-forming units; CXA-101=ceftolozane; MIC=minimum inhibitory concentration
Note:　Left panel, strain ATCC 27853; right panel, strain PO2.
Ceftolozane MIC values were 0.5 µg/mL for both strains; ceftazidime MIC values were 2 µg/mL for both strains.
Treatment was with 200 mg/kg every 2 or 3 hours.
Source:　[資料4.2.1.1.43]

図 2.6.2-8　*Pseudomonas aeruginosa*（ATCC 27853、PO2）に対するセフトロザン及びセフタジジムの殺菌活性の経時的変化

セフトロザン／タゾバクタム

同じく好中球減少症マウス大腿部感染モデルを用いて、ESBL 産生腸内細菌科細菌に対するセフトロザン／タゾバクタムの有効性をセフトロザン単剤及び別のβ-ラクタマーゼ阻害剤であるクラブラン酸とセフトロザンの併用投与と比較した[資料4.2.1.1.43]。セフトロザンと上記の β-ラクタマーゼ阻害剤2剤は様々な比率で検討した。接種した細菌は、*E. coli* 及び *Enterobacter cloacae*

Confidential

が各1株、*K. pneumoniae* が3株（このうち1株は CTX M-3 ESBL を有しており、AmpC の過剰産生が認められた）をそれぞれ用いた。

はじめに in vitro 感受性試験により、本感染モデルで用いる ESBL 産生腸内細菌科細菌を用いて、セフトロザンの抗菌活性に対するクラブラン酸又はタゾバクタム併用の影響を評価した[表 2.6.2-38]。その結果、すべての測定菌株に対してクラブラン酸及びタゾバクタムの併用により、セフトロザン単剤と比べ、その抗菌活性は増強された。併用の比率としては、セフトロザン／クラブラン酸、セフトロザン／タゾバクタムともに、8:1よりも4:1の方が1管ほど強く、さらにタゾバクタム併用では4:1より2:1の方が強かった。

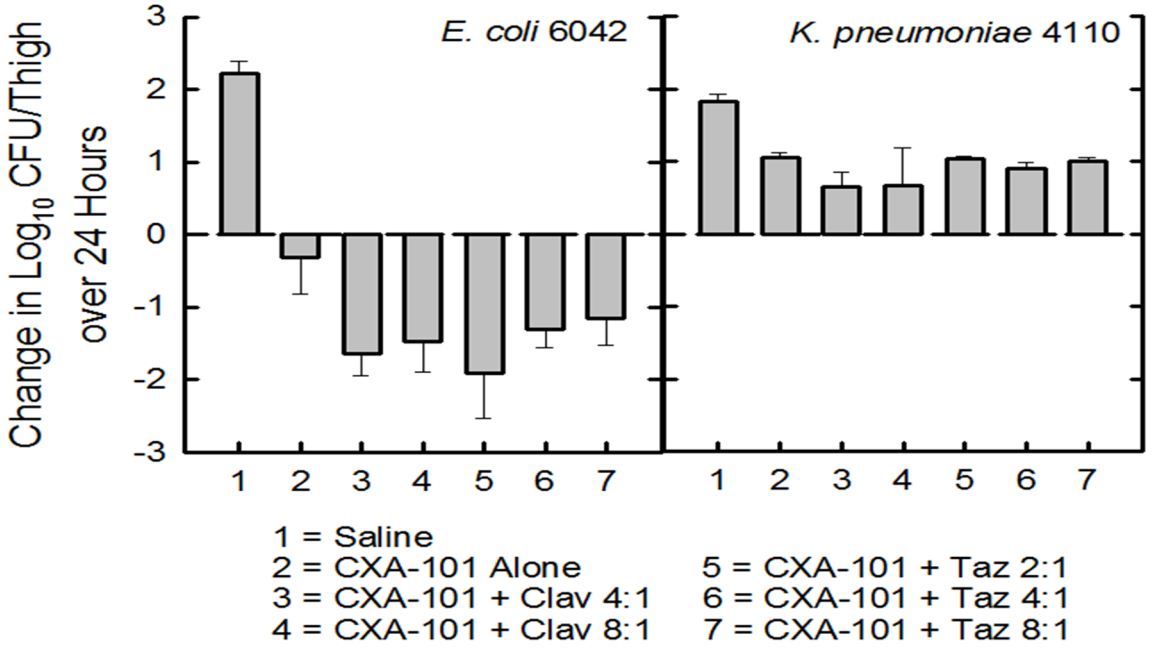
表 2.6.2-38　ESBL 産生菌に対するセフトロザン単剤及び β-ラクタマーゼ阻害剤と併用した場合の MIC 値

Organism*	MIC (μg/mL of ceftolozane)						Enzyme Genotype
	Ceftolozane	Ceftolozane/Clavulanic Acid Ratio		Ceftolozane/TAZ Ratio			
		4:1	8:1	2:1	4:1	8:1	
E. coli 6042	16 - 32	1	2	2	4	8	TEM-10
K. pneumoniae 4110	> 64	1 - 2	2 - 4	8 - 16	16	16 - 32	TEM-10
E. cloacae 81-1291A	8 - 16	2	4	2	1 - 2	4	SHV-5
K. pneumoniae 81-1260A	32 - 64	4	8	2	4	8	CTX-M-3 AmpC
K. pneumoniae 4105	> 64	2	4	4 - 8	8 - 16	32	TEM-29

*好中球減少症マウス大腿部感染モデルに使用した菌株
ESBL: extended spectrum β-lactamase, MIC=minimum inhibitory concentration.
Source: [資料4.2.1.1.43]

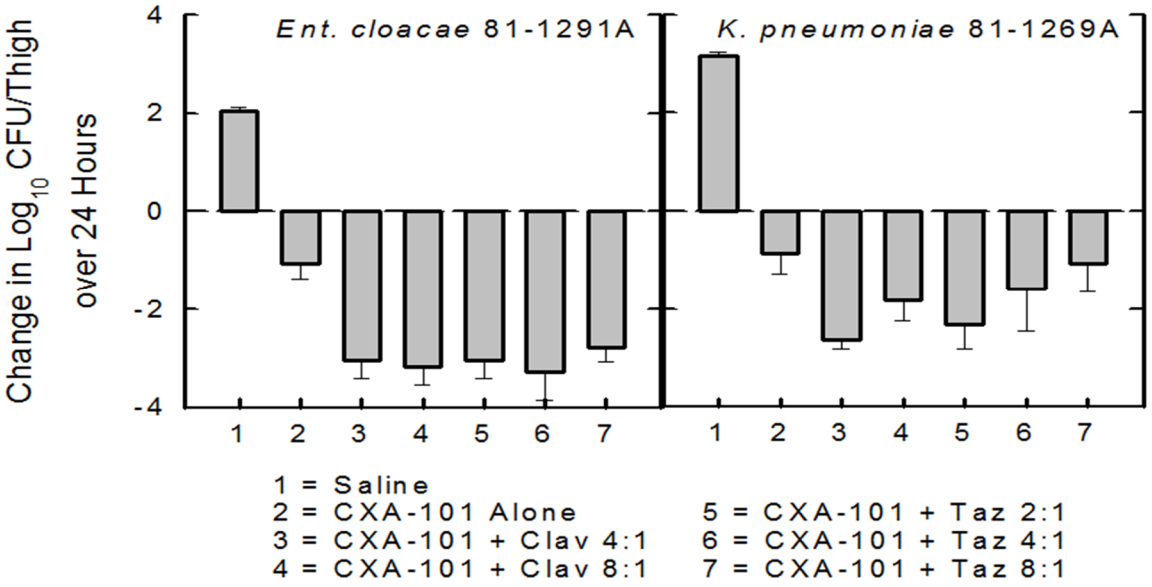
様々な用法・用量によるマウス大腿部の細菌数に及ぼす影響を[図 2.6.2-9]、[図 2.6.2-10]、[図 2.6.2-11]及び[図 2.6.2-12]に示す。タゾバクタムの用量の増加（その結果、セフトロザン／タゾバクタム配合比は8:1から2:1へと変化）は、*E. coli* 6042[図 2.6.2-9]及び *K. pneumoniae* 81-1269A[図 2.6.2-10]に対する in vivo 殺菌活性の増加と相関すると考えられた。この大腿部モデルでは、セフトロザン（400 mg/kg/6h）とタゾバクタム又はクラブラン酸のいずれを併用しても *K. pneumoniae* 4105株[図 2.6.2-11]及び *K. pneumoniae* 4110株[図 2.6.2-9]に対する活性は低かった。しかしながら、*K. pneumoniae* 4110株に対しては、この2剤併用の高用量（セフトロザン：800 mg/kg/6h）で活性がみられ[図 2.6.2-12]、また4105株に対しては、大腿部より肺モデルでその活性は強かった[図 2.6.2-11]。他のげっ歯類モデルと同様、マウスでのセフトロザン及び β-ラクタマーゼ阻害剤は薬物動態プロファイルが十分ではないため（短時間で消失し $t_{1/2}$が短い）比較的高用量が投与された。

C Confidential



CFU=colony-forming units; Clav=clavulanic acid; CXA-101=ceftolozane; Taz=tazobactam.
Note:　Treatment was subcutaneous.
Source:　[資料4.2.1.1.43]

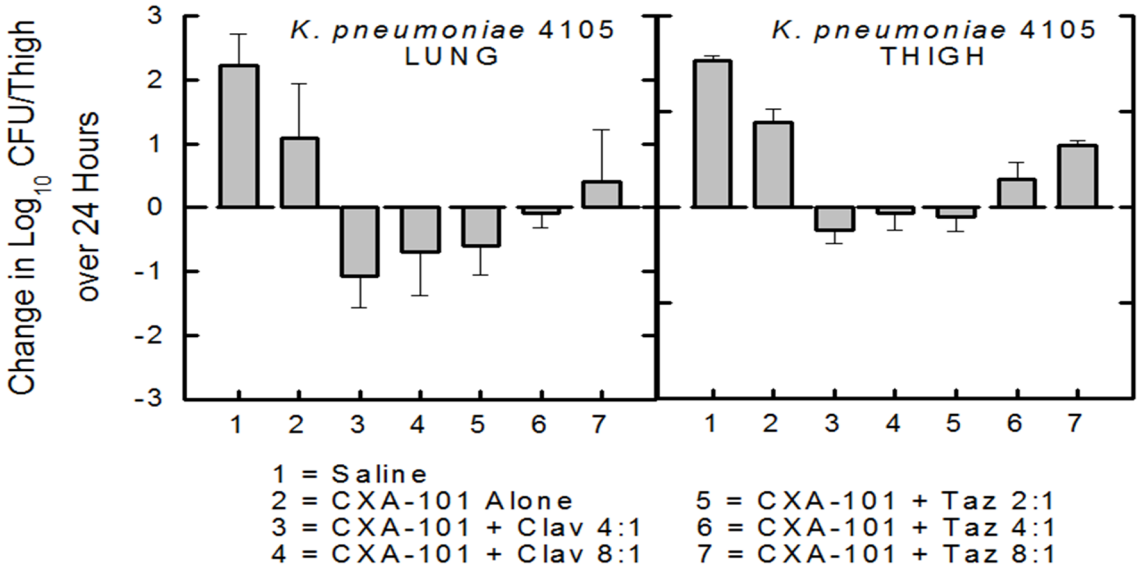
図 2.6.2-9　好中球減少症マウス大腿部感染モデルにセフトロザン 400 mg/kg/6h を単剤投与した場合とクラブラン酸又はタゾバクタムを併用した場合の有効性



CFU=colony-forming units; Clav=clavulanic acid; CXA-101=ceftolozane; Taz=tazobactam.
Note:　Treatment was subcutaneous.
Source:　[資料4.2.1.1.43]

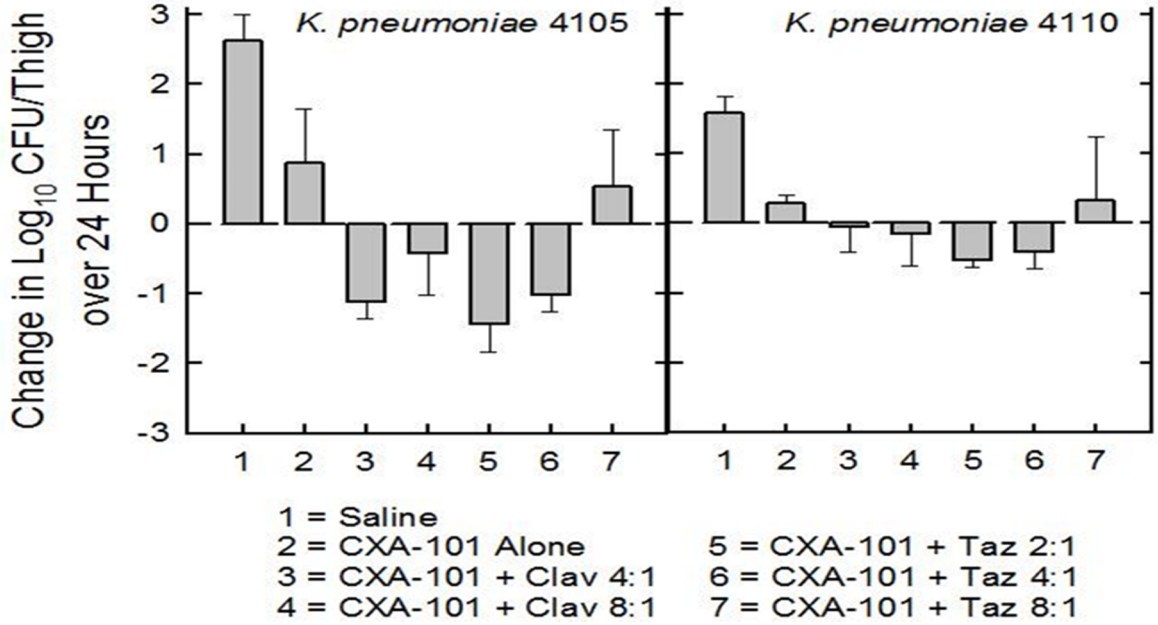
図 2.6.2-10　好中球減少症マウス大腿部感染モデルにセフトロザン 800 mg/kg/6h を単剤投与した場合とクラブラン酸又はタゾバクタムを併用した場合の有効性

Confidential



CFU=colony-forming units; Clav=clavulanic acid; CXA-101=ceftolozane; Taz=tazobactam.
Note:　Treatment was subcutaneous.
Source:　[資料4.2.1.1.43]

図 2.6.2-11　好中球減少症マウスの肺又は大腿部にセフトロザン 400 mg/kg/6h を単剤投与した場合とクラブラン酸又はタゾバクタムを併用した場合の有効性



CFU=colony-forming units; Clav=clavulanic acid; CXA-101=ceftolozane; Taz=tazobactam.
Note:　Treatment was subcutaneous.
Source: [資料4.2.1.1.43]

図 2.6.2-12　好中球減少症マウス大腿部感染モデルにセフトロザン 800 mg/kg/6h を単剤投与した場合とクラブラン酸又はタゾバクタムを併用した場合の ESBL 産生腸内細菌科細菌 2 株に対する有効性

C Confidential

2.6.2.3　副次的薬理試験

2.6.2.3.1　受容体／酵素スクリーニング試験

128～130種類の標的外の分子（受容体及び酵素）パネルに対して、セフトロザン（766 μg/mL）、タゾバクタム（448 μg/mL）及びタゾバクタム M1代謝物（30 μg/mL）の in vitro 結合阻害活性（無血清下）を検討した。セフトロザン、タゾバクタム及びタゾバクタム M1代謝物は、それぞれ合計16種類、1種類及び2種類の分子に対する結合を50%超で阻害した。この無血清アッセイで用いたセフトロザン及びタゾバクタムの濃度は、日本人患者における平均臨床 C_{max} のそれぞれ約11倍及び24倍であった。タゾバクタム M1代謝物の濃度は、日本人健康被験者の49倍であった[2.7.2項]。認められた阻害が比較的軽微であったこと（大半は60%未満）、また、これらの影響が平均臨床 C_{max} 値の11～49倍の濃度で認められていることから、上記の分子に対する IC_{50}値を求めるための追加試験は実施しなかった。さらに、ラット又はイヌを用いて実施したセフトロザン（タゾバクタム存在又は非存在下）の in vivo 安全性薬理試験及び一般毒性試験で、これらの分子に関連する可能性のある明らかな影響は認められなかった。

セフトロザン

セフトロザン（766 μg/mL）は、以下に示す分子に対して50%超の阻害を示した[資料4.2.1.2.1]。

受容体：ヒスタミン H_3（56.19%）、オピオイド δ 2（50.80%）、オピオイド κ 1（56.57%）、オピオイド μ（88.76%）、プリン受容体 P2Y（58.99%）、シグマ1（51.52%）、コレシストキニン CCK1（96.14%）、ニューロキニン NPY1（61.81%）。

酵素：ホスホジエステラーゼ PDE10A2（50.24%）、ホスホジエステラーゼ PDE2A（66.00%）、ホスホジエステラーゼ PDE3B（61.00%）、ホスホジエステラーゼ PDE4A1A（55.00%）、ホスホジエステラーゼ PDE5A1（56.60%）、プロテインキナーゼ Akt1（84.29%）、プロテインキナーゼ MEK1（100.15%）、ヒストン脱アセチル化酵素 SIRTUIN1（105.52%）。

タゾバクタム

タゾバクタム（448 μg/mL）は、プロテインキナーゼ MEK1に対してのみ50%超の阻害（56.25%）を示した[資料4.2.1.2.2]。

タゾバクタムの M1代謝物

タゾバクタムの主要代謝物 M1（30 μg/mL）は、以下に示す2種類の分子に対してのみ50%超の阻害を示した[資料4.2.1.2.3]：カンナビノイド CB1受容体（57.10%）、ホスホジエステラーゼ PDE3A（51.00%）。

C Confidential

2.6.2.4　　安全性薬理試験

特性が十分に明らかにされている in vitro 及び in vivo 安全性薬理試験において、セフトロザンは臨床用量での曝露量で、心血管系、呼吸系及び中枢神経系の機能に影響を及ぼさなかった。セフトロザンを用いて実施した安全性薬理試験では、セフトロザンの C_{max} を直接測定していないが、ラット及びイヌを用いて GLP 適用下で実施した重要な毒性試験で測定された投与初日の C_{max} に基づいて、間接的に推定した[2.6.7.7.1A 項]（TX[redacted]3006）、[2.6.7.7.1D 項]（TX[redacted]3013）。

セフトロザンは検討した最高濃度の667 µg/mL まで hERG チャネルに影響を及ぼさず、この濃度は日本人 cUTI 及び cIAI 患者における臨床試験（013/014試験）[資料5.3.4.2: 04SQ2L] での平均 C_{max}（67.8 µg/mL）と比較して約9.8倍高かった。雄のラット又はイヌにセフトロザンを100 mg/kg の用量で静脈内投与しても、心血管機能に有意な影響は認められず、この用量での推定 C_{max} は日本人 cUTI 及び cIAI 患者における平均 C_{max} と比較して約3.2～3.6倍高かった。ラットにセフトロザンを320 mg/kg の用量で急速静脈内投与したところ、心拍数が投与前値と比較してわずかではあるが統計学的に有意に減少（11%）した。1,000 mg/kg 群では、投与前値と比較して統計学的に有意な心拍数の減少（22%）及び平均血圧の低下（27%）がみられた。イヌでは、セフトロザンを静脈内投与すると、300 mg/kg 群の1例で一過性の心拍数の増加（37%）が認められたが、ECG に変化は認められなかった。これらの変化が認められた用量での推定 C_{max} は、ラット（雄）では728～2,028 µg/mL、イヌ（雄）では793 µg/mL であり、日本人 cUTI 及び cIAI 患者における平均 C_{max} の約11～30倍に相当した。

セフトロザンは検討した最高用量の689 mg/kg（推定 C_{max} は1,397 µg/mL）までラットの呼吸系及び神経系に影響を及ぼさなかった。この C_{max} は、日本人 cUTI 及び cIAI 患者における平均 C_{max} の約21倍に相当した。セフトロザンをマウス及びラットの脳室内に投与したときの痙攣誘発作用の強さは、販売されているセファロスポリン系抗菌薬のセフォセリスと比較すると、それぞれ24分の1及び7.4分の1であった。In vitro において、セフトロザンを3,000 µg/mL（日本人 cUTI 及び cIAI 患者における平均 C_{max} の約44倍）までの濃度でヒトの末梢血白血球とインキュベートしても、生物学的に意義があるヒスタミンの放出は認められなかった。

セフトロザンの腎臓への影響に関する安全性薬理試験は、最長4週間反復投与したラット及びイヌに有害な影響が認められなかったため、実施しなかった[2.6.7.7.1B 項]（TX[redacted]3014）、[2.6.7.17.3 項]（CX.101.TX.031）、[2.6.7.7.1D 項]（TX[redacted]3013）。

タゾバクタムは、現在製造販売されている注射用タゾバクタム・ピペラシリンの組成成分の1つであり、臨床で安全に長期間使用されてきた実績がある十分に確立された β-ラクタマーゼ阻害薬であることから、タゾバクタム及びその M1代謝物の安全性薬理試験は実施しなかった。

ICH M3（R2）「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」では、一般的に臨床試験の実施や製造販売承認のための配合剤を用いた安全性薬理試験の実施は推奨されていないことから、セフトロザン／タゾバクタム併用での安全性薬理試験は実施しなかった。医薬品の種類、薬理学的作用機序、タゾバクタム及びその M1代謝物で知られている臨床での安全性プロファイル、セフトロザンの安全性薬理試験で懸念される所見が認められなかったこと、並びに、臨床用量での曝露量でセフトロザン及びタゾバクタムに標的

C Confidential

分子以外の薬理作用は認められなかったことを考慮すると、安全性薬理評価において相乗的又は相加的な影響を及ぼすことはないと考えられた。また、セフトロザン及びタゾバクタムの薬物動態は、両薬物を併用投与しても変化しないため[2.6.4.3.1.3 項]、各薬物の単独投与の場合と比較して、セフトロザン／タゾバクタムの併用投与で心血管系、呼吸系及び中枢神経系の機能への影響が変化することはないと考えられた。

実施した安全性薬理試験の一覧を[表 2.6.2-39]に示す。

表 2.6.2-39　実施した安全性薬理試験の一覧

Study Report Number	Study Type and Duration	GLP Status	Route of Administration	Dose or Concentration	Species or Test System
Ceftolozane					
080125.DMK	CV/hERG	GLP (with exceptions)[a]	In vitro	~0, 66.7, 200, 667 µg/mL (100, 300, 1,000 µM)	HEK 293 cells transfected with hERG cDNA
PH[redacted]0247	CV (Single dose)	Non GLP	IV	100, 320, 1,000 mg/kg	Wistar rats
CXA101-T-001	CV (Latin-square design): Day 1, 4, 8, 11	GLP	IV	0, 30, 100, 300 mg/kg	Beagle dogs
CXA101-T-003	Respiratory (Single dose)	GLP	IV	0, 68.9, 207, 689 mg/kg	Sprague Dawley rats
PH[redacted]1444	CNS (Single dose)	Non GLP	ICV injection	100,200,400, 600 µg per mouse	ICR mice
	CNS (Single dose)	Non GLP	ICV injection	400, 566, 800, 1,131, and 1,600 µg per rat	Sprague Dawley rats
CXA101-T-002	CNS (Single dose)	GLP	IV	0, 68.9, 207, 689 mg/kg	Sprague Dawley rats
PH[redacted]1574	Immune /Histamine Release	Non GLP	In vitro	0, 0.3, 1, 3 mg/mL	Human peripheral WBC
Tazobactam - No safety pharmacology studies with tazobactam were conducted by the Sponsor					
Tazobactam M1 Metabolite - No safety pharmacology studies with tazobactam M1 were conducted by the Sponsor					

a　Test article formulations were not analyzed for stability, homogeneity, or concentrations of ceftolozane. Stock solutions of ceftolozane prepared were analyzed for concentrations of test article.

Abbreviations: CNS = central nervous system; CV = cardiovascular; GLP = good laboratory practice; HEK 293 = human embryonic kidney cells 293; hERG = human ether-á-go-go related gene; ICV = intracerebroventricular; IV = intravenous; WBC = white blood cells.

C Confidential

2.6.2.4.1　心血管系

2.6.2.4.1.1　hERG カリウムチャネルに対するセフトロザンの影響（080125.DMK）

In vitro hERG 試験において、セフトロザンは1,000 µM（約667 µg/mL）までの濃度で、hERG チャネルのカリウム電流を阻害しなかった[2.6.3.4 項]。

本試験では、GLP に準拠し、in vitro で hERG チャネル電流に及ぼすセフトロザン（Lot [redacted]）の影響を検討した。セフトロザンを HEPES 緩衝生理食塩液で0（媒体対照）、100、300及び1,000 µM の濃度（それぞれ約0、66.7、200及び667 µg/mL）に調製し、細胞を処理した（1濃度あたり3回測定）。テルフェナジン（60 nM）を陽性対照として用いた。hERG チャネルのカリウム電流の阻害率（平均±標準誤差）は、媒体対照では0.3%±0.4%、セフトロザンでは66.7、200及び667 µg/mL の濃度でそれぞれ0.8%±0.2%、0.4%±0.0%及び0.3%±0.1%であった。一方、テルフェナジンは hERG チャネルのカリウム電流を74.8%±3.7%阻害した。セフトロザンによるカリウム電流の阻害が1%未満であり、媒体対照と同程度であったことから IC_{50}値は求められなかった。

以上のように、セフトロザンは、検討した最高濃度の1,000 µM（667 µg/mL）まで、hERG チャネルのカリウム電流に対して生物学的に意義のある阻害を引き起こさなかった。

2.6.2.4.1.2　ラットの心血管系への影響（PH[redacted]0247）

本（非 GLP）試験では、無麻酔下の雄 Wistar ラット（3匹／群）にセフトロザンを100、320又は1,000 mg/kg の用量で静脈内投与した[2.6.3.4 項]。静脈内への投与速度は2 mL/分、投与容量は10 mL/kg とした。投与前に、各ラットの大腿静脈にカテーテルを留置した。カテーテルを圧変換器に接続し、投与後2時間の血圧と心拍数を測定した。酵素免疫測定法（ELISA）で血漿中ヒスタミン濃度を測定した。

セフトロザンを1,000 mg/kg で投与した1分後に、統計学的に有意な一過性の血圧低下（27%）が認められた（P<0.01）。投与5分後には、投与前値と比較して血圧に統計学的な有意差は認められなかった。以降の試験期間中は、投与前値と同程度の血圧で維移した。統計学的に有意ではなかったが、100及び320 mg/kg 群で、投与1分後に血圧がそれぞれ8%及び11%低下した。

また、320 及び1,000 mg/kg 群では、投与1分後に、統計学的に有意な心拍数減少（それぞれ11%及び22%）が認められた（P<0.05）。心拍数は投与30分後には投与前値に回復した。統計学的に有意ではなかったものの、100 mg/kg 群で投与1分後に心拍数が8%減少した。

血漿中ヒスタミン濃度については、いずれの投与量においても投与前値と比較して投与5分後に有意な変化はみられなかった。

以上のように、セフトロザンをラットに単回静脈内投与すると、1,000 mg/kg 群では統計学的に有意な一過性の血圧低下と心拍数減少がみられ、320 mg/kg 群では統計学的に有意な心拍数減少が認められた。100 mg/kg 群では、心血管系に対して統計学的に有意な影響は認められなかった。

2.6.2.4.1.3　イヌの心血管系への影響（CXA101-T-001）

本試験では、GLP に準拠し、テレメトリーを装着した供試歴のある覚醒下の雄ビーグル4匹を用いて、心臓、循環器機能あるいは ECG に現れるセフトロザン（Lot [redacted]）の急性影響を検討し

C Confidential

た[2.6.3.4 項]。1、4、8及び11日目にラテン方格配置で、セフトロザンを0（媒体：生理食塩液）、30、100及び300 mg/kg の用量で約5分間かけて静脈内投与した。投与速度は10 mL/分、投与容量は5 mL/kg とした。いずれの用量においても、血行動態及び ECG のテレメトリーデータの収集を、投与の少なくとも20分前に開始し、投与の約22時間後に終了した。各試験動物の収縮期血圧、拡張期血圧、平均動脈圧、心拍数及び ECG パラメータ（P 波持続時間、PR 間隔、QRS 間隔、R 波振幅及び QT 間隔）を測定した。投与15分前並びに投与開始30分後、1、2、4、8、12及び22時間後に ECG を1分間記録した。この試験中、一般状態に毒性変化は認められなかった。

テレメトリーを装着した覚醒下のイヌにセフトロザンを30及び100 mg/kg の用量で静脈内投与しても、心拍数及び動脈圧に対して意義のある影響は認められなかった。

300 mg/kg 群でも、動脈圧に対してはセフトロザンの投与に関連する明らかな影響は認められなかったが、1例で、投与15分後に一過性の心拍数の急速な増加［投与前値（111拍／分）と比較して37%（152拍／分）］が認められた。この所見は4例中1例でみられた孤発性かつ一過性の変化であるが、セフトロザンの投与と関連する可能性を完全に除外することはできなかった。この試験で、イヌにセフトロザンを300 mg/kg までの用量で静脈内投与しても、心臓のリズム又は ECG 波形に対して毒性学的に意義がある影響はみられなかった。

以上のように、セフトロザンは30 mg/kg 及び100 mg/kg の用量で心臓及び循環器のパラメータに意義がある影響を及ぼさなかった。テレメトリーを装着した覚醒下のイヌにセフトロザンを単回静脈内投与すると、300 mg/kg 群の1例で、投与15分後に一過性の心拍数の急速な増加が認められ、セフトロザンの投与と関連する可能性を完全に除外することはできなかった。テレメトリーを装着した覚醒下のイヌにセフトロザンを30、100及び300 mg/kg の用量で投与しても、いずれの用量においても ECG に影響は認められず、QT 及び QTc 間隔に変化はみられなかった。

2.6.2.4.2　　呼吸系

2.6.2.4.2.1　　ラットの呼吸系への影響（CXA101-T-003）

本試験では、GLP に準拠し、覚醒下の雄 Sprague Dawley（SD）ラット（4匹／群）にセフトロザンを0（媒体：生理食塩液）、68.9、207又は689 mg/kg の用量で単回静脈内投与し、肺機能に及ぼす影響を検討した[2.6.3.4 項]。静脈内への投与速度は2 mL/分、投与容量は10 mL/kg とした。投与日に動物をプレチスモグラフィーチャンバーに入れ、投与前値として5分間の平均値を測定した。投与前値測定後、動物にセフトロザンを投与してチャンバーに戻し、投与15分後、1、2、4及び6時間後に5分間安静時の呼吸系パラメータ（1回換気量、分時換気量及び呼吸数）を5秒ごとに記録した。媒体及びセフトロザンを689 mg/kg までの用量で静脈内投与しても、投与前値と比較して呼吸系パラメータに生物学的に意義がある影響は認められなかった。

以上のように、覚醒下の雄ラットにセフトロザンを689 mg/kg までの用量で静脈内投与しても、呼吸数、1回換気量又は分時換気量に生物学的に意義がある影響は認められなかった。

C Confidential

2.6.2.4.3　　中枢神経系

2.6.2.4.3.1　　マウス及びラットの脳室内投与による痙攣誘発作用（PH[redacted]1444）

多くのβ-ラクタム系抗菌薬は痙攣を誘発することが知られているため、本（非 GLP）試験では、雄 ICR マウス（10匹／群）及び雄 SD ラット（8又は9匹／群）を用いて、セフトロザンの痙攣誘発作用を検討した[2.6.3.4: 項]。セフトロザンをマウスには100、200、400又は600 μg/匹の用量で、ラットには400、566、800、1,131又は1,600 μg/匹の用量で脳室内投与し、投与後2時間の痙攣（振戦、間代性痙攣、強直性痙攣又は死亡）を評価した。セフトロザンの痙攣誘発作用は、市販されている広域スペクトルセファロスポリン系抗菌薬のセフォセリスと比較した。セフォセリスをマウスには5、10、20又は50 μg/匹の用量で、ラットには40、80、120、160又は320 μg/匹の用量で脳室内投与した。マウスで痙攣を誘発するのに要するセフトロザンの50%作用量（ED_{50}）は428 μg/匹、セフォセリスでは17.8 μg/匹であった。ラットでの ED_{50}はセフトロザンで789 μg/匹、セフォセリスで107 μg/匹であった。

以上のように、マウス及びラットに脳室内投与したときのセフトロザンの痙攣誘発作用は、市販されているセファロスポリン系抗菌薬であるセフォセリスと比較して弱いことが示された。

2.6.2.4.3.2　　ラットの中枢神経系への影響（CXA101-T-002）

本試験では、GLP に準拠し、雄 SD ラット（10匹／群）にセフトロザン（Lot[redacted]）を0（媒体：生理食塩液）、68.9、207又は689 mg/kg で単回静脈内投与して、中枢神経系に及ぼす影響を検討した[2.6.3.4 項]。静脈内への投与速度は2 mL/分、投与容量は10 mL/kg とした。投与5、15、30分後、1、2、3、4及び24時間後に、神経学的又は毒性学的な症状として、発作及び痙攣、驚愕反応、易刺激性、分泌増加、握力低下、自発運動、異常姿勢、排泄、立毛、瞳孔径、角膜反射、覚醒反応、異常発声、腹部緊張低下、振戦、不動、運動失調、常同行動、呼吸低下、正向消失、侵害受容性疼痛反応及び耳介反射を観察した。投与終了15分後には体温も測定した。

ラットに媒体又はセフトロザンを68.9、207又は689 mg/kg で投与しても、投与後24時間の観察で神経薬理学的又は毒性学的な症状はみられなかった。また、体温にも統計学的に有意な影響又は生物学的に意義がある影響は認められなかった。

以上のように、セフトロザンを689 mg/kg までの用量で単回静脈内投与しても、中枢神経系の機能に影響はみられなかった。

2.6.2.4.4　　腎臓系

セフトロザンの腎臓への影響に関する安全性薬理試験は実施しなかった。ラット及びイヌを用いたセフトロザンの反復投与毒性試験で認められた腎臓での変化は、近位尿細管における硝子滴のみであったが、この変化の毒性学的意義はほとんどないと考えられた[2.6.7.7.1B 項]（TX[redacted]3014）、[2.6.7.17.3 項]（CX.101.TX.031）、[2.6.7.7.1D 項]（TX[redacted]3013）。この結論は、腎尿細管に毒性学的に意義がある変性や壊死が認められなかったこと、血清の BUN、クレアチニン、無機リン、尿量に生物学的に関連のある変化がみられていないこと並びに尿中に細胞性円柱及び顆粒円柱がみられていないことより腎機能に対する影響もなかったこと、全身毒性を示す一般状

C Confidential

態の変化も認められなかったことに基づいている[資料 4.2.3.2.9]（CX.101.TX.032）。

2.6.2.4.5　　免疫系

2.6.2.4.5.1　　ヒスタミン遊離作用（PH[redacted]1574）

本（非 GLP）試験では、ヒト末梢血白血球を用いてヒスタミンの遊離（放出）に及ぼすセフトロザンの影響を検討した[2.6.3.4 項]。健康成人男性2名の末梢血から白血球を採取し、その白血球を0.3、1又は3 mg/mL のセフトロザン濃度で曝露して37°C で45分間インキュベートした。各検体の上清中のヒスタミン濃度を ELISA で測定した。1例目の成人男性から得た白血球検体にセフトロザンを0.3、1又は3 mg/mL の濃度で曝露後に測定されたヒスタミン濃度は、それぞれ4.74、4.78及び5.70 nM であり、陽性対照（抗 Ig E 抗体）を0.3 µg/mL の濃度で曝露後に測定されたヒスタミン濃度は49.8 nM であった。2例目の成人男性から得た検体にセフトロザンを0.3、1又は3 mg/mL の濃度で曝露後に測定されたヒスタミン濃度は、それぞれ3.61、2.87及び4.31 nM、陽性対照では14.8 nM であった。

以上のように、セフトロザンを3 mg/mL までの濃度で in vitro でヒトの白血球に曝露してもヒスタミンの遊離は誘導されなかった。

2.6.2.5　　薬力学的薬物相互作用試験

セフトロザン及びタゾバクタムの単独投与又は併用投与による薬力学的相互作用試験は実施していない。様々な in vitro 試験の結果から、セフトロザン／タゾバクタムは、併用投与される可能性のある他の抗菌薬の活性に悪影響を及ぼさず、また、影響を受けることはないことが示唆されている[2.6.2.2.7 項]。セフトロザン／タゾバクタムをグラム陰性菌感染症の治療に用いる可能性のある他の薬剤と併用した際に、グラム陰性菌に対して最も多くみられた相互作用は、相乗作用又は相加作用であった。

2.6.2.6　　考察及び結論

セフトロザン／タゾバクタムは、新規の注射用セファロスポリン系抗菌薬と既承認の β-ラクタマーゼ阻害剤の配合剤であり、cUTI 及び cIAI に関連してよく検出される病原菌を含む、一般的なグラム陰性菌及び特定のグラム陽性菌に対し抗菌活性を有することが認められている。In vitro での微生物学的試験データから、セフトロザン／タゾバクタムは腸内細菌科細菌及び *P. aeruginosa* を含む臨床的に重要なグラム陰性病原菌に対して強力な活性を有することが示されている。セフトロザンは、細菌の生存に必須のペニシリン結合蛋白（PBP）を阻害して細胞壁の合成阻害とそれに続く細胞死を引き起こし、速やかに殺菌活性を発揮する。タゾバクタムは一般的なクラス A の β-ラクタマーゼの大部分及びクラス C の β-ラクタマーゼの一部に対する強力な阻害作用を有するため、セフトロザンの活性スペクトルが増強される。この活性スペクトルには ESBL 産生腸内細菌科細菌の大半が含まれる。

薬剤に対する耐性菌選択試験により、セフトロザン／タゾバクタムの耐性菌の出現頻度は低いことが示された。In vitro における一段階及び多段階選択試験で、*P. aeruginosa* が耐性を獲得する

C Confidential

可能性は低く、すべての in vitro 継代培養試験で、セフトロザンに対する耐性の発現率はセフタジジムよりも低かった。また、10日間の中空糸モデルでも、セフトロザン／タゾバクタムは臨床的に関連した用法・用量で *P. aeruginosa* 及び *E. coli* の耐性菌が出現する可能性は低いことが示された。

海外の33,000以上（2008～2012年）の臨床分離株について、固定濃度のタゾバクタム（4 μg/mL）を用いてセフトロザン／タゾバクタムの感受性試験を実施した[2.6.2.2.3項]。これらの試験では、米国で2008年に分離・同定した4,000以上の分離株、2011～2012年に分離・同定した10,000以上の分離株、欧州で2011～2012年に分離・同定した11,000以上の分離株を対象とした。その結果、セフトロザン／タゾバクタムは、*E. coli* 及び *K. pneumoniae* 等の腸内細菌科細菌や *P. aeruginosa* 等のブドウ糖非発酵菌を含む臨床的に重要な多くのグラム陰性菌、*S. pneumoniae* や *S. pyogenes* 等のグラム陽性菌、及び *B. fragilis* 等の嫌気性菌を含む広範な抗菌スペクトルを示した。また、カルバペネム系、セファロスポリン系、フルオロキノロン系及びアミノグリコシド系抗菌薬に耐性の *P. aeruginosa* 株（多くの多剤耐性分離株を含む）に対する活性を示した。一連の *P. aeruginosa* 株に対するセフトロザン／タゾバクタムの $MIC_{50/90}$値（0.5/4 μg/mL）は、全身投与されるすべての抗 *P. aeruginosa* 薬剤の中で、コリスチンを除いて最も低かった。セフトロザン／タゾバクタムは大半の腸内細菌科細菌に対して活性を示し、*E. coli* に対する $MIC_{50/90}$は0.25/0.5 μg/mL、ESBL 産生 *E. coli* に対する $MIC_{50/90}$は0.5/4 μg/mL であった[表 2.6.2-10]。

日本国内の臨床分離株に対しても、海外と同様に、固定濃度のタゾバクタム（4 μg/mL）を用いてセフトロザン／タゾバクタムの感受性試験を2回実施した。これらの試験では、主に2012年から2013年に日本国内で分離・同定した約630の臨床分離株、さらに2016年1月から9月に分離・同定した約2,050の臨床分離株を用いた。セフトロザン／タゾバクタムは、*E. coli* 及び *K. pneumoniae* 等の腸内細菌科細菌や *P. aeruginosa* 等の臨床的に重要な多くのグラム陰性菌に対する活性を示した。また、*S. pneumoniae* や *S. pyogenes* 等のグラム陽性菌及び *B. fragilis* 等の嫌気性菌に対して活性を示した。特に IPM 非感性及び AmpC 産生菌を含む *P. aeruginosa* に対して強い活性を示した。国内臨床分離株を用いた2回の感受性試験からは同様の結果が得られ、両試験間に差異はみられなかった。また、海外臨床分離株を用いた感受性試験と概ね同様の結果であった。

セフトロザンの活性スペクトルは、全般的にセフタジジムと類似しているが、セフトロザンの抗 *P. aeruginosa* 活性は、現在市販されているセファロスポリン系及びカルバペネム系を含むすべての β-ラクタム系抗菌薬の中で最も強力である。特にカルバペネム系、セファロスポリン系、フルオロキノロン系又はアミノグリコシド系抗菌薬に耐性の *P. aeruginosa*（多くの多剤耐性分離株を含む）に対して、セフトロザンは活性を示していることは重要である。セフトロザンは、*P. aeruginosa* の AmpC 酵素による加水分解に比較的安定であり、排出ポンプの過剰発現や外膜蛋白質ポーリン（OprD）の欠損といった *P. aeruginosa* の耐性機構による影響もほとんど受けないため、薬剤耐性 *P. aeruginosa* に対し強力な活性を有する。タゾバクタムは、ESBL 産生グラム陰性桿菌の大部分及び *B. fragilis* 等の重要な嫌気性病原菌に対するセフトロザンの in vitro 抗菌活性を増強させる[資料4.3: 101]。他のセファロスポリン系抗菌薬と同様に、セフトロザン／タゾバクタムの腸球菌及びブドウ球菌に対する活性は限定的であった。

C Confidential

他のセファロスポリン系抗菌薬と同じく、セフトロザンの in vivo での有効性と最も関連する PK 指標は、血漿中薬物濃度が最小発育阻止濃度（MIC）を超えている時間の割合（%T>MIC）であることが示された。有効性に関する%T>MIC の値は、セフトロザンの方が他のβラクタム系薬剤よりも低かった。In vivo 試験に基づき、静菌及び1 log 殺菌に必要な平均%T>MIC（中間値）は、それぞれ25.2%（24.8%）及び31.5%（32.2%）であった。セフトロザンの蛋白結合率は低く、また MIC に対する血清の影響はないことから、セフトロザンの PK/PD パラメータのターゲット値は約30%の T>MIC であることが支持された。。

セフトロザン及びセフトロザン／タゾバクタムの in vivo での有効性を、敗血症、肺炎、尿路感染症、熱傷及び大腿部感染等、マウスを用いた様々な感染症モデルにより評価した。その結果、セフトロザン及びセフトロザン／タゾバクタムは、多剤耐性株を含めた *P. aeruginosa* 及び ESBL 産生株を含めた腸内細菌科細菌（*E. coli*、*K. pneumoniae* 等）を接種した様々な感染症モデルにおいて優れた有効性を示した。また、試験対象としたすべての病原菌に対してセフトロザン及びセフトロザン／タゾバクタムは、全般的に対照薬と同程度又はそれ以上の有効性を示した。

セフトロザン、タゾバクタム及びタゾバクタム M1代謝物は、臨床に関連する曝露量で標的以外の分子に対して、懸念される影響を示さなかった。

特性が十分に明らかにされている in vitro 及び in vivo 安全性薬理試験において、セフトロザンは臨床用量での曝露量で、心血管系、呼吸系、中枢神経系及びその他の器官に有害な影響を及ぼさなかった。タゾバクタムは、現在製造販売されている薬剤である注射用タゾバクタム・ピペラシリンの組成成分の1つであり、十分に確立された β-ラクタマーゼ阻害薬であることから、タゾバクタムの安全性薬理試験は実施しなかった。

ICH M3（R2）「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」では、一般的に臨床試験の実施や製造販売承認のための配合剤を用いた安全性薬理試験の実施は推奨されていないことから、セフトロザン／タゾバクタムの併用での安全性薬理試験は実施しなかった。医薬品の種類、薬理学的作用機序、タゾバクタム及びその M1代謝物で知られている臨床での安全性プロファイル、セフトロザンの安全性薬理試験で懸念される所見が認められなかったこと、並びに、臨床用量での曝露量でセフトロザン及びタゾバクタムに標的分子以外に対する薬理作用は認められなかったことから、安全性薬理評価において相乗的又は相加的な影響を及ぼすことはないと考えられた。また、セフトロザン及びタゾバクタムの薬物動態は、両薬物を併用投与しても変化しないため[2.6.4.3.1.3 項]、各薬物の単独投与の場合と比較して、セフトロザン／タゾバクタムの併用投与で心血管系、呼吸系及び中枢神経系の機能への影響が変化することはないと考えられた。

全体の要約

以上、新規の抗菌薬であるセフトロザン／タゾバクタムは、多剤耐性株を含む *P. aeruginosa* 及び大部分の ESBL 産生腸内細菌科細菌を含むその他の一般的なグラム陰性病原菌に対し活性を示

C Confidential

した。また、セフトロザン／タゾバクタムに対する耐性が発現する可能性は低いことが示された。セフトロザンは、臨床用量での曝露量で、非臨床試験に用いた動物種の心血管系、呼吸系及び中枢神経系の機能に影響を及ぼさなかった。タゾバクタムは、現在製造販売されている注射用タゾバクタム・ピペラシリンの組成成分の1つであり、十分に確立された β-ラクタマーゼ阻害剤である。

収集したセフトロザン、タゾバクタム及びセフトロザン／タゾバクタムの非臨床薬理試験成績とタゾバクタム及びタゾバクタムの M1代謝物に関する臨床安全性データベースを併せると、cUTI 及び cIAI の治療においてセフトロザン／タゾバクタムを1回1,000 mg/500 mg の用量で1日3回静脈内投与することが支持される。

C Confidential

2.6.2.7　参考文献

文献番号	タイトル	著者	掲載誌
[資料4.3: 001]	Affinity of the new cephalosporin CXA-101 to penicillin-binding proteins of *Pseudomonas aeruginosa*.	Moyá B, Zamorano L, Juan C, et al.	Antimicrob Agents Chemother. 2010; 54: 3933-7.
[資料4.3: 101]	Antimicrobial activity of CXA-101, a novel cephalosporin tested in combination with tazobactam against *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Bacteroides fragilis* strains having various resistance phenotypes.	Sader HS, Rhomberg PR, Farrell DJ, et al.	Antimicrob Agents Chemother. 2011; 55:2390-4.
[資料4.3: 102]	Stability of FR264205 against AmpC beta-lactamase of *Pseudomonas aeruginosa*.	Takeda S, Ishii Y, Hatano K, et al.	Int J Antimicrob Agents. 2007; 30: 443-5.
[資料4.3: 103]	In vitro and in vivo activities of a new cephalosporin, FR264205, against *Pseudomonas aeruginosa*.	Takeda S, Nakai T, Wakai Y, et al.	Antimicrob Agents Chemother. 2007; 51: 826-30.
[資料4.3: 105]	Kinetic interactions of tazobactam with β-lactamases from all major structural classes.	Bush K, Macalintal C, Rasmussen BA, et al.	Antimicrob Agents Chemother 1993; 37: 851-8.
[資料4.3: 106]	Comparative activities of clavulanic acid, sulbactam, and tazobactam against clinically important β-lactamases.	Payne DJ, Cramp R, Winstanley DJ, et al.	Antimicrob Agents Chemother 1994; 38: 767-72.
[資料4.3: 107]	Relationship between ceftolozane-tazobactam exposure and drug resistance amplification in a hollow-fiber infection model.	Vanscoy B, Mendes RE, Castanheira M, et al.	Antimicrob Agents Chemother. 2013; 57: 4134-8.
[資料4.3: 108]	*Pseudomonas aeruginosa* - a phenomenon of bacterial resistance.	Strateva T, Yordanov D.	J Med Microbiol 2009 ; 58: 1133-48.
[資料4.3: 109]	Activity of a new cephalosporin, CXA-101 (FR264205), against beta-lactam-resistant *Pseudomonas aeruginosa* mutants selected in vitro and after antipseudomonal treatment of intensive care unit patients.	Moya B, Zamorano L, Juan C, et al.	Antimicrob Agents Chemother, 2010; 54: 1213-7.
[資料4.3: 110]	*Pseudomonas aeruginosa*: resistance to the max.	Poole K.	Front Microbiol. 2011; 2: 1-13.
[資料4.3: 111]	Clinical and Laboratories Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Eighth Edition. M7-A8	CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009.
[資料4.3: 112]	Clinical and Laboratories Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Ninth Edition.M07-A9	CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.
[資料4.3: 113]	Determination of minimum inhibitory concentrations.	Andrews JM.	J Antimicrob Chemother. 2001; 48 Suppl 1:5-16.
[資料4.3: 114]	Clinical and Laboratories Standards Institute. Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria; Approved Standard - 7 ed. M11-A7. vol.27, No.2.	CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute, 2007.

C Confidential

文献番号	タイトル	著者	掲載誌
[資料4.3: 115]	Clinical and Laboratories Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement. M100-S17	CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute, 2007.
[資料4.3: 116]	Clinical and Laboratories Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement. M100-S22	CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.
[資料4.3: 117]	Clinical and Laboratories Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. M100-S23.	CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013.
[資料4.3: 118]	Pfizer Injectables. ZOSYN (Piperacillin and Tazobactam for Injection, USP) [Internet]. Philadelphia; 2012.	Pfizer Pharmaceutical co.ltd.	
[資料4.3: 119]	Clinical and Laboratories Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Nineteenth Informational Supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute document M100-S19	CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009.
[資料4.3: 120]	In vitro activity of CXA-101 plus tazobactam (CXA-201) against CTX-M-14- and CTX-M-15-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae.	Titelman E, Karlsson IM, Ge Y, et al.	Diagn Microbiol Infect Dis. 2011; 70:137-41.
[資料4.3: 121]	Activity of cephalosporin CXA-101 (FR264205) and comparators against extended-spectrum-β-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa.	Giske CG, Ge J, Nordmann P.	J Antimicrob Chemother. 2009; 64: 430-1.
[資料4.3: 122]	Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid Pseudomonas aeruginosa and Burkholderia cepacia.	Govan JR, Deretic V.	Microbiol Rev. 1996; 60: 539-74.
[資料4.3: 123]	Clinical and Laboratories Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Seventh Edition.	CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006.
[資料4.3: 124]	Clinical and Laboratories Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute document M100-S20	CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010.
[資料4.3: 125]	Intrapulmonary penetration of ceftolozane/tazobactam and piperacillin/tazobactam in healthy adult subjects.	Chandorkar G, Huntington JA, Gotfried MH, et al.	J Antimicrob Chemother. 2012; 67: 2463-9.
[資料4.3: 126]	Inhibition of daptomycin by pulmonary surfactant: in vitro modeling and clinical impact.	Silverman JA, Mortin LI, Vanpraagh AD, et al.	J Infect Dis. 2005; 191: 2149-52.
[資料4.3: 127]	Effect of the inoculum size on carbapenem	Miyazaki H, Horii T,	Curr Microbiol 2009;

C Confidential

文献番号	タイトル	著者	掲載誌
	susceptibilities of β-lactamase-negative, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*.	Nagura O, et al.	58: 18-24.
[資料4.3: 128]	Antibiotics in Laboratory Medicine (3rd Edition, 1991).	Lorian V.	Chapter 12. Postantibiotic Effect. 403-8.
[資料4.3: 130]	Pharmacokinetics-Pharmacodynamics of Antimicrobial Therapy: It's Not Just for Mice Anymore	Ambrose PG, Bhavnani SM, Rubino CM, et al.	Clin Infec Dis. 2007; 44: 79–86.
[資料4.3: 131]	Impact of resistance selection and mutant growth fitness on the relative efficacies of streptomycin and levofloxacin for plague therapy.	Louie A, Deziel MR, Liu W, et al.	Antimicrob Agents Chemother. 2007; 51: 2661–7.
[資料4.3: 132]	Basic pharmacodynamics of antibacterials with clinical applications to the use of β-lactams, glycopeptides, and linezolid.	Craig WA.	Infect Dis Clin North Am. 2003; 17: 479–501.
[資料4.3: 133]	The inoculum effect: Fact or artifact?	Craig WA.	Diagn Microbiol Infect Dis. 2004; 50: 229–30.
[資料4.3: 134]	「抗菌薬の PK/PD ガイドライン」について		薬生審査発1225第10号　平成27年12月25日
[資料4.3: 135]	In Vivo Activities of Ceftolozane, a New Cephalosporin, with and without Tazobactam against Pseudomonas aeruginosa and Enterobacteriaceae, Including Strains with Extended-Spectrum β-Lactamases, in the Thighs of Neutropenic Mice.	Craig WA, Andes DR.	Antimicrob Agents Chemother. 2013; 57: 1577-82.
[資料4.3: 136]	Pharmacokinetic characteristics of piperacillin/tazobactam.	Sorgel F, Kinzig M.	Intensive Care Med. 1994; 20: S14-20.
[資料4.3: 137]	Pharmacodynamics of ceftolozane combined with tazobactam against *Enterobacteriaceae* in a neutropenic mouse thigh model.	Melchers MJ, Mavridou E, Mil van AC, et al.	Antimicrob Agents Chemother. 2016; 60: 7272-9.

C Confidential

CTD 第 2 部
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.3 薬理試験概要表

MSD 株式会社

目次

頁

2.6.3　薬理試験の概要表 2
2.6.3.1　薬理試験：一覧表 2
2.6.3.2　効力を裏付ける試験 12
2.6.3.3　副次的薬理試験 13
2.6.3.4　安全性薬理試験 14

C Confidential

2.6.3　薬理試験の概要表

2.6.3.1　薬理試験：一覧表

Type of Study	Test System	Method of Administration	Test Facility	[Module] Study No
2.6.3.1.1 Primary Pharmacodynamics				
Mechanism of Action Spectrum of Activity	In vitro	In vitro	[redacted], France	[資料4.2.1.1.1] CXA201M006 参考資料
Mechanism of Action Resistance Bactericidal Activity	In vitro	In vitro	[redacted] SPAIN	[資料4.2.1.1.2] CXA101M013 参考資料
Resistance Spectrum of Activity	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.3] CXA201M013 参考資料
Mechanism of Action	In vitro	In vitro	[redacted], SPAIN	[資料4.2.1.1.4] CXA015MC 参考資料
Mechanism of Action	Enzyme	In vitro	Cubist Pharmaceuticals, 65 Hayden Avenue, Lexington, MA 02421, USA	[資料4.2.1.1.5] CXA080MC 評価資料
Surveillance	In vitro	In vitro	[redacted], USA	[資料4.2.1.1.6] CXA017MC 参考資料
Surveillance	In vitro	In vitro	[redacted], USA	[資料4.2.1.1.7] CXA022MC 参考資料
Spectrum of Activity Resistance Bactericidal Activity	In vitro	In vitro	[redacted] Japan	[資料4.2.1.1.8] CRE060042 評価資料

C Confidential

Type of Study	Test System	Method of Administration	Test Facility	[Module] Study No
Resistance Activity in Biofilm	In vitro	In vitro	[redacted], SPAIN	[資料4.2.1.1.9] CXA101M012 評価資料
Resistance	In vitro	In vitro	Discovery Biology, Cubist Pharmaceuticals, Lexington, Massachusetts, USA	[資料4.2.1.1.10] CXA012MC 評価資料
Resistance	In vitro	In vitro	Discovery Biology, Cubist Pharmaceuticals, Lexington, Massachusetts, USA	[資料4.2.1.1.11] CXA013MC 評価資料
Resistance	In vitro	In vitro	Discovery Biology, Cubist Pharmaceuticals, Lexington, Massachusetts, USA	[資料4.2.1.1.12] CXA031MC 評価資料
Resistance	In vitro	In vitro	[redacted], SPAIN	[資料4.2.1.1.13] CXA084MC 参考資料
Resistance	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.14] CXA044MC 参考資料
Resistance	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.15] CXA047MC 参考資料
Resistance	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.16] CXA072MC 参考資料
Mechanism of Action Resistance	In vitro	In vitro	[redacted] SPAIN	[資料4.2.1.1.17] CXA101M014 参考資料

C Confidential

Type of Study	Test System	Method of Administration	Test Facility	[Module] Study No
Resistance	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.18] CXA021MC 参考資料
Surveillance	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.19] CXA201M003 参考資料
Surveillance	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.20] CXA048MC 参考資料
Surveillance	In vitro	In vitro	[redacted] Canada	[資料4.2.1.1.21] CXA018MC 参考資料
Surveillance	In vitro	In vitro	[redacted] Canada	[資料4.2.1.1.22] CXA075MC 参考資料
Surveillance	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.23] CXA054MC 参考資料
Spectrum of Activity	In vitro	In vitro	[redacted], UK.	[資料4.2.1.1.24] CXBD001 参考資料
Spectrum of Activity	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.25] CXA101M002 参考資料
Spectrum of Activity	In vitro	In vitro	[redacted] SPAIN	[資料4.2.1.1.26] CXA101M010 参考資料

C Confidential

Type of Study	Test System	Method of Administration	Test Facility	[Module] Study No
Spectrum of Activity	In vitro	In vitro	[redacted] UK	[資料4.2.1.1.27] CXA201M001 参考資料
Spectrum of Activity	In vitro	In vitro	[redacted] SWEDEN	[資料4.2.1.1.28] CXA201M002 参考資料
Analysis of Surveillance Data	In vitro	In vitro	Clinical Microbiology, Cubist Pharmaceuticals, Lexington, Massachusetts, USA	[資料4.2.1.1.29] CXA049MC 参考資料
Spectrum of Activity	In vitro	In vitro	[redacted] CANADA	[資料4.2.1.1.30] CXA033MC 参考資料
Spectrum of Activity	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.31] CXA201M009 参考資料
Spectrum of Activity	In vitro	In vitro	[redacted] SPAIN	[資料4.2.1.1.32] CXA101M007 参考資料
Surveillance	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.33] CXA051MC 参考資料
Spectrum of Activity	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.34] CXA026MC 参考資料
Spectrum of Activity (Japan)	In vitro	In vitro	[redacted] Japan	[資料4.2.1.1.35] PNM14B025 評価資料

C Confidential

Type of Study	Test System	Method of Administration	Test Facility	[Module] Study No
Spectrum of Activity (Japan)	In vitro	In vitro	[redacted] Japan	[資料4.2.1.1.36] M16000501 評価資料
Mechanism of Action	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.37] CXA101M001 参考資料
Susceptibility Testing Parameters	In vitro	In vitro	[redacted], ENGLAND	[資料4.2.1.1.38] CXA007MC 参考資料
Susceptibility Testing Parameters	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.39] CXA081MC 評価資料
Susceptibility Testing Parameters	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.40] CXA053MC 評価資料
Susceptibility Testing Parameters	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.41] CXA006MC 参考資料
Susceptibility Testing Parameters	In vitro	In vitro	Discovery Biology, Cubist Pharmaceuticals, Lexington, Massachusetts, USA	[資料4.2.1.1.42] CXA011MC 評価資料
Bactericidal Activity Efficacy	In vitro In vivo	In vitro Subcutaneous	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.43] CXA101M004 参考資料
Bactericidal Activity	In vitro	In vitro	[redacted], USA	[資料4.2.1.1.44] CXA020MC 参考資料

C Confidential

Type of Study	Test System	Method of Administration	Test Facility	[Module] Study No
Post β-Lactamase Inhibitor Effect	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.45] CXA041MC 参考資料
Drug Interaction	In vitro	In vitro	Discovery Biology, Cubist Pharmaceuticals, Lexington, Massachusetts, USA	[資料4.2.1.1.46] CXA010MC 評価資料
Efficacy	In vivo	Subcutaneous	[redacted] Japan	[資料4.2.1.1.47] CRE060041 評価資料
Efficacy	In vivo	Subcutaneous	[redacted] France	[資料4.2.1.1.48] CXA201M010 参考資料
Efficacy	In vivo	Subcutaneous	[redacted] France	[資料4.2.1.1.49] CXA201M014 参考資料
Efficacy	In vivo	Subcutaneous	[redacted] France	[資料4.2.1.1.50] CXA055MC 参考資料
Efficacy	In vivo	Subcutaneous	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.51] CXA073MIC 参考資料
Spectrum of activity	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.52] CXA057MC 評価資料
Mechanism of Action (Tazobactam)	Enzyme	In vitro	Discovery Biology, Cubist Pharmaceuticals Inc., Lexington, Massachusetts, USA	[資料4.2.1.1.53] CXA050MC 評価資料

C Confidential

Type of Study	Test System	Method of Administration	Test Facility	[Module] Study No
In vitro PD model	In vitro	In vitro	[redacted] USA.	[資料4.2.1.1.54] CXA039MC 参考資料
In vitro PK model	In vitro	In vitro	[redacted] UK.	[資料4.2.1.1.55] CXA040MC 参考資料
In vitro infection model	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.56] CXA043MC 参考資料
PK/PD model	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.57] CXA045MC 参考資料
Bactericidal Activity Efficacy	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.1.58] CXA085MC 参考資料
Efficacy	In vivo	Intraperitoneal	[redacted] Netherlands	[資料4.2.1.1.59] CXA083MC 参考資料
Surveillance	In vitro	In vitro	[redacted] UK.	[資料4.2.1.1.60] BSAC Surveillance 参考資料
2.6.3.1.2 Secondary Pharmacodynamics				
Enzyme/Receptor Screen (Ceftolozane)	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.2.1] CX101SP001 参考資料
Enzyme/Receptor Screen (Tazobactam)	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.2.2] CX101SP002 参考資料

C Confidential

Type of Study	Test System	Method of Administration	Test Facility	[Module] Study No
Enzyme/Receptor Screen (Tazobactam M1)	In vitro	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.2.3] CX101SP003 参考資料

C Confidential

Type of Study	GLP Compliance	Test System	Method of Administration	Test Facility	[Module] Study No
2.6.3.1.3 Safety Pharmacology					
Ceftolozane					
CV/hERG	Yes[a]	HEK 293 cells transfected with hERG cDNA	In vitro	[redacted] USA	[資料4.2.1.3.1] 080125.DMK 評価資料
CV	No	Wistar rats	Intravenous Infusion	[redacted], Japan	[資料4.2.1.3.2] PH[redacted]0247 参考資料
CV	Yes	Beagle dogs	Intravenous Infusion	[redacted], USA	[資料4.2.1.3.3] CXA101-T-001 評価資料
Respiratory	Yes	Sprague-Dawley rats	Intravenous Infusion	[redacted], USA	[資料4.2.1.3.4] CXA101-T-003 評価資料

C Confidential

Type of Study	GLP Compliance	Test System	Method of Administration	Test Facility	[Module] Study No
CNS	No	ICR mice	Intracerebro-ventricular injection	[redacted], Japan	[資料4.2.1.3.5] PH[redacted]1444 参考資料
	No	Sprague –Dawley rats	Intracerebro-ventricular injection	[redacted], Japan	
CNS	Yes	Sprague-Dawley rats	Intravenous Infusion	[redacted], USA	[資料4.2.1.3.6] CXA101-T-002 評価資料
Immune/ Histamine Release	No	Human peripheral white blood cells	In vitro	[redacted], Japan	[資料4.2.1.3.7] PH[redacted]1574 参考資料
Tazobactam - No safety pharmacology studies with tazobactam were conducted by the Sponsor.					
Tazobactam M1- No safety pharmacology studies with tazobactam M1 were conducted by the Sponsor.					
a　Working solutions were not analyzed for stability, homogeneity, or concentrations of ceftolozane. Stock solutions of ceftolozane prepared were analyzed for concentrations of test article. Abbreviations: cDNA = complementary deoxyribonucleic acid; CNS = central nervous system; CV = cardiovascular; GLP = good laboratory practices; HEK 293 = Human embryonic kidney cells; hERG = Human ether-à-go-go related gene.					

C Confidential

2.6.3.2　　効力を裏付ける試験

セフトロザン／タゾバクタムの効力を裏付けるすべての試験データは、薬理試験の概要文の効力を裏付ける試験[2.6.2.2項]に記載した。

C Confidential

2.6.3.3　副次的薬理試験

Test System	Method of administration	Concentration (μg/mL)	Number /group	Noteworthy Findings	GLP	[Module] Study No.
Ceftolozane						
Enzyme / receptor screen	In vitro	766	Duplicate	Greater than 50% inhibition of 16 targets including histone deacetylase SIRTUIN1 (105.52%), protein kinase MEK1 (100.15%), cholecystokinin CCK1 (96.14%), mu opioid receptor (88.76%), delta2 opioid receptor (50.80%), kappa1 opioid receptor (56.57%), protein kinase Akt1 (84.29%), neurokinin NPY1 (61.81%), purinergic P2Y receptor (58.99%), sigma 1 receptor (51.52%), histamine H3 receptor (56.19%), phosphodiesterases PDE2A (66.00%), PDE3B (61.00%), PDE5A1 (56.60%), PDE4A1A (55.00%), and PDE10A2 (50.24%). No response greater than 50% for the remaining 114 receptors/enzymes tested	No	[資料4.2.1.2.1] CX101SP001
Tazobactam						
Enzyme / receptor screen	In vitro	448	Duplicate	Greater than 50% inhibition of 1 target; protein kinase MEK1 (56.25%). No response greater than 50% for the remaining 129 receptors/enzymes tested	No	[資料4.2.1.2.2] CX101SP002
Tazobactam M1						
Enzyme / receptor screen	In vitro	30	Duplicate	Greater than 50% inhibition of 2 targets; cannabinoid CB1 (57.10%) and phosphodiesterase PDE3A (51.00%). No response greater than 50% for the remaining 126 receptors/enzymes tested	No	[資料4.2.1.2.3] CX101SP003

C Confidential

2.6.3.4　安全性薬理試験

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Admin.	Concentration (µM or µg/mL) or Doses (mg/kg)	Gender (No. per Group)	Noteworthy Findings	GLP	Module/Study Report Number
Ceftolozane							
CV/hERG	HEK 293 cells transfected with hERG cDNA	In vitro	~0, 66.7, 200, 667 µg/mL (100, 300, 1,000 µM)	3 cells per concentration	Ceftolozane did not inhibit hERG potassium current; the inhibitory effect of ceftolozane on hERG potassium current was similar to vehicle and < 1%.	Yes (with exceptions)[a]	[資料4.2.1.3.1] 080125.DMK
CV	Rat/Wistar	Intravenous	100, 320, 1,000 mg/kg	M (3)	Compared to pre-dosing values, mean blood pressure transiently decreased by 8%, 11%, and 27% at 100, 320, and 1,000 mg/kg, respectively, 1 minute post dose. Decrease at 1,000 mg/kg was statistically significant. Compared to pre-dosing values, heart rate decreased by 8%, 11%, and 22% at 100, 320, and 1,000 mg/kg, respectively, 1 minute post dose. Findings were statistically significant at 320 and 1,000 mg/kg. Heart rate returned to pre-dose levels 30 minutes post dose for all groups. No significant changes in plasma histamine concentration were seen in any groups.	No	[資料4.2.1.3.2] PH[redacted]0247

C Confidential

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Admin.	Concentration (µM or µg/mL) or Doses (mg/kg)	Gender (No. per Group)	Noteworthy Findings	GLP	Module/Study Report Number
CV	Dog/Beagle (conscious/ telemeterized)	Single intravenous infusion over ~4 to 5 minutes at a rate of 10 mL/min	0, 30, 100, 300 mg/kg	M (4)	Ceftolozane induced a rapid, transient increase in heart rate at 15 minutes post-dose in one animal in the 300 mg/kg dose group; 37% increase in heart rate vs baseline (152 beats/min vs 111 beats/min). No ECG effects noted at any dose level.	Yes	[資料4.2.1.3.3] CXA101-T-001
Respiratory	Rat/Sprague Dawley	Single Intravenous infusion over ~1.5 minutes at a rate of 2 mL/min	0, 68.9, 207, 689 mg/kg	M (4)	Administration of ceftolozane at doses of 68.9, 207 and 689 mg/kg in conscious male rats did not result in biologically relevant effects on respiratory rate, tidal volume, or minute volume.	Yes	[資料4.2.1.3.4] CXA101-T-003
CNS (convulsive activity)	Mouse/ICR	Intracerebro-ventricular injection	100, 200, 400, 600 µg/mouse	M (10)	Convulsive activity (ED_{50}: 428 µg/head) was 24 times less than marketed broad-spectrum injectable cephalosporin (cefoselis ED_{50}: 17.8 µg/head).	No	[資料4.2.1.3.5] PH[redacted]1444
	Rat/ Sprague-Dawley	Intracerebro-ventricular injection	400, 566, 800, 1,131, 1,600 µg/rat	M (8 or 9)	Convulsive activity (ED_{50}: 789 µg/head) was 7.4 times less than marketed broad-spectrum injectable cephalosporin (cefoselis ED_{50}: 107 µg/head).	No	
CNS	Rat/ Sprague Dawley	Intravenous infusion over ~ 1 minute at a rate of 2 mL/min	0, 68.9, 207, 689 mg/kg	M (10)	No neuropharmacological or toxicological signs were observed through 24 hours post-dose in rats receiving either the control article or ceftolozane at 68.9, 207 or 689 mg/kg. There were no biologically relevant effects on body temperature at any dose.	Yes	[資料4.2.1.3.6] CXA101-T-002

C Confidential

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Admin.	Concentration (µM or µg/mL) or Doses (mg/kg)	Gender (No. per Group)	Noteworthy Findings	GLP	Module/Study Report Number
Immune / Histamine Release	Human peripheral white blood cells	In vitro	0, 0.3, 1, 3 mg/mL	M (2)	The concentration of histamine from male Volunteer No. 1 was 4.74, 4.78, and 5.70 nM at concentrations of 0.3, 1, and 3 mg/mL, respectively as compared to the positive control (anti-immunoglobulin [Ig]E) results of 49.8 nM at a concentration of 0.3 µg/mL. The concentration of histamine from male Volunteer No. 2 was 3.61, 2.87, and 4.31 nM at concentrations of 0.3, 1, or 3 mg/mL, respectively; as compared to the positive control results of 14.8 nM at a concentration of 0.3 µg/mL. Ceftolozane solutions up to and including 3 mg/mL did not induce histamine release from human white cells under the conditions of this assay.	No	[資料4.2.1.3.7] PH[redacted]1574
Tazobactam – No safety pharmacology studies with tazobactam were conducted by the Sponsor.							
Tazobactam M1 Metabolite – No safety pharmacology studies with tazobactam M1 were conducted by the Sponsor.							

a　Test article formulations were not analyzed for stability, homogeneity, or concentrations of ceftolozane. Stock solutions of ceftolozane prepared were analyzed for concentrations of test article.
Abbreviations: Admin = administration; cDNA = complementary deoxyribonucleic acid; CNS = central nervous system; CV = cardiovascular; ECG = electrocardiography; ED_{50} = median effective dose; GLP = good laboratory practices; HEK 293 = Human embryonic kidney cells; hERG = Human ether-à-go-go related gene; M = male; No . = number

C Confidential