

Tazobactam/Piperacillinの*in vitro*抗菌作用について

野村秀一・永山在明
福岡大学医学部微生物学教室*

新規 β -lactamase阻害剤tazobactam (TAZ)とpiperacillin (PIPC)を1:4の割合で配合したtazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC)の新鮮臨床分離菌に対する*in vitro*の抗菌力を既存の β -ラクタム剤PIPC, sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ), cefoperazone (CPZ), ceftazidime (CAZ), clavulanic acid/ticarcillin (CVA/TIPC), cefotiam (CTM)と比較検討した。

TAZ/PIPCはグラム陽性菌および陰性菌に対して幅広い抗菌スペクトルを有していた。methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA)に対する抗菌力はCTMとほぼ同等であり、他の β -ラクタム剤より優れていた。*Enterococcus faecalis*に対してはPIPCと同等であり、他の β -ラクタム剤よりも強い抗菌力を示した。一方、多くのグラム陰性菌に対する抗菌力はSBT/CPZ, CPZ, CAZ, CTMとほぼ同等であり、PIPC, CVA/TIPCより明らかに優れていた。

β -Lactamaseを産生する*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*を用いた殺菌効果の検討では、TAZ/PIPCはPIPC, CVA/TIPCでは殺菌作用を示さない濃度においても強い殺菌作用を示した。

TAZ/PIPCは1/4MIC存在下においてマクロファージの*K. pneumoniae* 109(β -lactamase産生株)に対する殺菌作用を増強させた。

Key words : tazobactam/piperacillin, TAZ/PIPC, *in vitro*抗菌力, β -lactamase

Tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC)は大鵬薬品工業株式会社研究所で新しく合成された β -lactamase阻害剤であるtazobactam (TAZ)と富山化学工業株式会社のパニシリン系抗生剤であるpiperacillin (PIPC)を1:4で配合した注射用配合剤である。PIPCはブドウ球菌を含むグラム陽性菌から、緑膿菌を含むグラム陰性菌にわたる広い抗菌域を持っている。しかし、PIPCは三橋らの分類のpenicillinase (PCase), oxyiminocephalosporinase (CXase)および一部cephalosporinase (CEPase)型の β -lactamaseに対して不安定であるために各種細菌に耐性株がみられる様になった。一方、TAZはこれらの型の β -lactamaseに対して強い阻害作用を有しているので¹⁻³⁾、PIPCとの配合によりPIPCの抗菌スペクトルおよび抗菌力の増大、回復が期待される。今回、我々はTAZ/PIPCの*in vitro*の抗菌力を新鮮臨床分離菌を用いてPIPC, sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ), cefoperazone (CPZ), ceftazidime (CAZ), clavulanic acid/ticarcillin (CVA/TIPC), cefotiam (CTM)の β -ラクタム剤を対照薬剤として比較検討したので報告する。

I. 材料と方法

1. 使用菌株

福岡大学医学部微生物学教室において1990年から1991年の1年間に複雑性尿路感染症から分離・同定されたmethicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) 24株, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) 51株, coagulase negative staphylococci (CNS) 53株, *Enterococcus faecalis* 54株, *Escherichia coli* 54株, *Klebsiella pneumoniae* 46株, *Klebsiella oxytoca* 20株, *Proteus mirabilis* 28株, *Proteus vulgaris* 20株, *Providencia rettgeri* 40株, *Morganella morganii* 54株, *Enterobacter cloacae* 54株, *Citrobacter freundii* 31株, *Citrobacter diversus* 22株, *Serratia marcescens* 54株, *Pseudomonas aeruginosa* 54株, *Pseudomonas cepacia* 15株の17菌種, 合計674株である。

2. 使用薬剤

TAZ/PIPCは大鵬薬品より供与された。対照薬剤としてpiperacillin (PIPC: 富山化学), sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ: ファイザー製薬), cefoperazone (CPZ: 富山化学), ceftazidime (CAZ: 日本グラクソ), clavulanic

*〒814-01 福岡市城南区七隈7-45-1

acid/ticarillin (CVA/TIPC: ビーチヤム製薬), cefotiam (CTM: 武田薬品)の β -ラクタム剤を用いた。

3. β -Lactamase産生能の測定

各種臨床分離株の β -lactamase産生能はアシドメトリ法(β -チェック: ファイザー製薬), およびニトロセフィン法(Cefinase: Becton Dickinson)を用いて測定した。

4. 最小発育阻止濃度(MIC)の測定

感受性の測定には, Mueller-Hinton寒天培地(Difco)を用いて, 日本化学療法学会標準法⁴⁾に準じ, 寒天平板希釈法により測定した。接種菌液は 10^8 cfu/mlと 10^6 cfu/mlの2種類とし, Heart infusion broth (Difco)で37℃, 18時間培養した菌液から調整した。マイクロプランター(佐久間製作所)で各薬剤希釈系列含有Mueller-Hinton寒天培地に接種後, 37℃, 18時間培養し, 菌の発育の認められない最小薬剤濃度をMICとした。

5. 殺菌効果の検討

当教室で分離・同定した最新の複雑性尿路感染症由来の臨床分離株である *E. coli* 13A, *K. pneumoniae* 158Ab, *M. morgani* 50Aa, *P. aeruginosa* 22Aを用い, Mueller-Hinton broth(Difco)に接種し, 生菌数が約 10^5 cfu/mlの対数増殖期にTAZ/PIPC, PIPC, CVA/TIPCの1/4MIC, 1/2MIC, 1MIC, 2MIC, 4MICを添加し, 薬剤添加1, 2, 4時間後に生菌数を測定した。

6. 食細胞との協力殺菌作用の検討

食細胞はマウスのマクロファージ細胞樹立株CA1-SL1⁵⁾をEagle's minimum essential medium (MEM: Gibco)に10%牛胎児血清, 10% LCM(L-cell conditioned medium)を添加し培養して, 均一なマクロファージ細胞集団を得て用いた。

臨床分離株の *K. pneumoniae* 109(PCase産生株)を用い, 薬剤としては, TAZ/PIPC, PIPC, CVA/TIPCについて比較検討した。各薬剤のMICは, 5%の非働化牛胎児血清を添加したMEMを用いた液体希釈法にて, 接種菌量 10^6 cfu/mlで測定した。各薬剤のMICはTAZ/PIPC; 3.13 μ g/ml, PIPC; 200 μ g/ml, CVA/TIPC; 6.25 μ g/mlであった。

対数増殖期の *K. pneumoniae* 109 (2.0×10^6 cfu/ml)を1/4MICの各薬剤とマクロファージ(1.6×10^7 cells/ml)を含んだ同培地に加えて培養を行い経時的に生菌数を測定した。

II. 実験結果

1. 臨床分離株に対する抗菌力

臨床分離株に対するTAZ/PIPCならびに対照薬剤の感受性分布幅とMIC₅₀及びMIC₉₀をTable 1-1, 1-2, 2-1,

2-2, 3-1, 3-2に示した。接種菌量は 10^6 cfu/ml及び 10^8 cfu/mlの2種類である。

1) *S. aureus*(MSSA)

β -Lactamase産生株は62%であった。接種菌量 10^6 cfu/mlにおいて, TAZ/PIPCは0.39~50 μ g/ml, PIPCは0.39~200 μ g/ml, SBT/CPZは1.56~25 μ g/ml, CPZは0.78~25 μ g/ml, CAZは6.25~100 μ g/ml, CVA/TIPCは1.56~50 μ g/ml, CTMは0.78~12.5 μ g/mlに分布していた。 10^8 cfu/ml接種におけるTAZ/PIPCのMIC₉₀は25 μ g/mlを示し, CTMとほぼ同等の抗菌力を示した。

2) MRSA

MethicillinのMICが12.5 μ g/ml以上のものをMRSAとした。 β -lactamase産生株は65%であった。接種菌量 10^6 cfu/mlにおいて, TAZ/PIPCは0.20~400 μ g/ml, PIPCは0.20~>400 μ g/ml, SBT/CPZは1.56~>400 μ g/ml, CPZは0.78~>400 μ g/ml, CAZは3.13~>400 μ g/ml, CVA/TIPCは1.56~>400 μ g/ml, CTMは0.78~>400 μ g/mlに分布し, MIC₉₀ではTAZ/PIPCは他の対照薬剤と同様に抗菌力を示さなかった。

3) CNS

β -Lactamase産生株は68%であった。接種菌量 10^6 cfu/mlにおいて, TAZ/PIPCは0.39~400 μ g/ml, PIPCは0.78~>400 μ g/ml, SBT/CPZは0.78~400 μ g/ml, CPZは6.25~>400 μ g/ml, CVA/TIPCは0.78~>400 μ g/ml, CTMは0.78~200 μ g/mlに分布していた。 10^8 cfu/ml接種におけるTAZ/PIPCのMIC₅₀は25 μ g/mlで, CTMには劣るものの, CAZ, CVA/TIPCの4倍, PIPCの16倍強い抗菌力を示した。

4) *E. faecalis*

接種菌量 10^6 cfu/mlにおいて, TAZ/PIPCは0.78~>400 μ g/ml, PIPCは0.78~>400 μ g/ml, SBT/CPZは12.5~>400 μ g/ml, CPZは12.5~>400 μ g/ml, CAZは12.5~>400 μ g/ml, CVA/TIPCは25~>400 μ g/ml, CTMは25~>400 μ g/mlに分布し, TAZ/PIPCのMIC₉₀は12.5 μ g/mlを示し, PIPCと同等であり他の対照薬剤よりも16倍以上の強い抗菌力を示した。

5) *E. coli*

β -Lactamase産生株は80%であった。接種菌量 10^6 cfu/mlにおいて, TAZ/PIPCは0.39~200 μ g/ml, PIPCは0.39~>400 μ g/ml, SBT/CPZは0.05~200 μ g/ml, CPZは0.05~200 μ g/ml, CAZは0.05~200 μ g/ml, CVA/TIPCは0.78~400 μ g/ml, CTMは0.05~>400 μ g/mlに分布していた。 10^8 cfu/ml接種におけるTAZ/PIPCのMIC₉₀は6.25 μ g/mlを示し, SBT/CPZ, CAZには劣るものの, CTM, CPZと同等であり, CVA/TIPC

の8倍、PIPCの128倍以上強い抗菌力を示した。

6) *K. pneumoniae*

β -Lactamase産生株は98%であった。接種菌量 10^6 cfu/mlにおいて、TAZ/PIPCは0.78~100 μ g/ml、PIPCは0.78~>400 μ g/ml、SBT/CPZは0.20~100 μ g/ml、CPZは0.10~25 μ g/ml、CAZは0.05~6.25 μ g/ml、CVA/TIPCは3.13~100 μ g/ml、CTMは0.10~>400 μ g/mlに分布していた。 10^8 cfu/ml接種におけるTAZ/PIPCのMIC₉₀は12.5 μ g/mlを示し、SBT/CPZ、CPZ、CAZ、CTMには劣るもののCVA/TIPCの4倍、PIPCの32倍強い抗菌力を示した。

7) *K. oxytoca*

β -Lactamase産生株は95%であった。接種菌量 10^6 cfu/mlにおいて、TAZ/PIPCは0.78~200 μ g/ml、PIPCは0.78~>400 μ g/ml、SBT/CPZは0.20~400 μ g/ml、CPZは0.10~400 μ g/ml、CAZは0.05~1.56 μ g/ml、

CVA/TIPCは3.13~100 μ g/ml、CTMは0.05~25 μ g/mlに分布していた。 10^8 cfu/ml接種におけるTAZ/PIPCのMIC₅₀は6.25 μ g/mlを示し、SBT/CPZ、CPZ、CAZ、CTMには劣るもののCVA/TIPCの4倍、PIPCの8倍強い抗菌力を示した。

8) *P. mirabilis*

β -Lactamase産生株は21%であった。接種菌量 10^6 cfu/mlにおいて、TAZ/PIPCは0.39~1.56 μ g/ml、PIPCは0.39~100 μ g/ml、SBT/CPZは1.56~3.13 μ g/ml、CPZは0.39~6.25 μ g/ml、CAZは0.05~0.10 μ g/ml、CVA/TIPCは0.78~12.5 μ g/ml、CTMは0.39~1.56 μ g/mlに分布していた。 10^8 cfu/ml接種におけるTAZ/PIPCのMIC₉₀は1.56 μ g/mlを示し、CAZには劣るもののCTMと同等であり、SBT/CPZ、CVA/TIPCの4倍、CPZの16倍、PIPCの64倍強い抗菌力を示した。

Table 1-1. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin and other antibiotics against gram-positive clinical isolates

(10^6 cfu/ml)

Organism (no. of strains)	Antibiotic	MIC (μ g/ml)		
		range	50%	90%
<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA) (24) [15]*	tazobactam/piperacillin	0.39~50	1.56	12.5
	piperacillin	0.39~200	3.13	25
	subactam/cefoperazone	1.56~25	6.25	12.5
	cefoperazone	0.78~25	3.13	12.5
	ceftazidime	6.25~100	12.5	25
	clavulanic acid/ticarcillin	1.56~50	3.13	12.5
	cefotiam	0.78~12.5	1.56	3.13
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) (51) [34]*	tazobactam/piperacillin	0.20~400	100	400
	piperacillin	0.20~>400	200	400
	subactam/cefoperazone	1.56~>400	100	400
	cefoperazone	0.78~>400	400	>400
	ceftazidime	3.13~>400	200	400
	clavulanic acid/ticarcillin	1.56~>400	200	>400
	cefotiam	0.78~>400	200	>400
Coagulase-negative staphylococci (53) [36]*	tazobactam/piperacillin	0.39~400	12.5	400
	piperacillin	0.78~>400	50	>400
	subactam/cefoperazone	0.78~400	12.5	200
	cefoperazone	0.39~>400	6.25	400
	ceftazidime	6.25~>400	50	400
	clavulanic acid/ticarcillin	0.78~>400	25	>400
	cefotiam	0.78~200	3.13	100
<i>Enterococcus faecalis</i> (54) [0]*	tazobactam/piperacillin	0.78~>400	6.25	12.5
	piperacillin	0.78~>400	6.25	12.5
	subactam/cefoperazone	12.5~>400	100	400
	cefoperazone	12.5~>400	50	200
	ceftazidime	12.5~>400	>400	>400
	clavulanic acid/ticarcillin	25~>400	100	400
	cefotiam	25~>400	200	>400

* : number of β -lactamase producing strains

9) *P. vulgaris*

β -Lactamase産生株は75%であった。接種菌量 10^6 cfu/mlにおいて、TAZ/PIPCは0.20~3.13 μ g/ml、PIPCは0.39~100 μ g/ml、SBT/CPZは0.78~12.5 μ g/ml、CPZは0.39~100 μ g/ml、CAZは0.05~1.56 μ g/ml、CVA/TIPCは0.78~25 μ g/ml、CTMは0.39~>400 μ g/mlに分布していた。 10^8 cfu/ml接種におけるTAZ/PIPCのMIC₉₀は3.13 μ g/mlを示し、CAZと同等でありSBT/CPZの4倍、CVA/TIPCの8倍、CPZの64倍、CTM、PIPCの128倍以上強い抗菌力を示した。

10) *P. rettgeri*

β -Lactamase産生株は48%であった。接種菌量 10^6 cfu/mlにおいて、TAZ/PIPCは0.05~50 μ g/ml、PIPCは0.05~>400 μ g/ml、SBT/CPZは0.05~100 μ g/ml、CPZは0.05~100 μ g/ml、CAZは0.05~100 μ g/ml、CVA/TIPCは0.20~400 μ g/ml、CTMは0.05~100 μ g/ml

mlに分布し、TAZ/PIPCのMIC₉₀は12.5 μ g/mlを示し、CAZには劣るもののCPZ、CTMと同等であり、SBT/CPZの2倍、CVA/TIPCの4倍、PIPCの8倍の強い抗菌力を示した。

11) *M. morgani*

β -Lactamase産生株は93%であった。接種菌量 10^6 cfu/mlにおいて、TAZ/PIPCは0.20~50 μ g/ml、PIPCは0.20~400 μ g/ml、SBT/CPZは0.10~50 μ g/ml、CPZは0.05~50 μ g/ml、CAZは0.05~200 μ g/ml、CVA/TIPCは0.78~>400 μ g/ml、CTMは0.10~>400 μ g/mlに分布していた。 10^8 cfu/ml接種におけるTAZ/PIPCのMIC₉₀は25 μ g/mlを示したが、SBT/CPZと同等であり、CPZ、CAZの4倍、CVA/TIPC、PIPCの16倍、CTMより16倍以上の強い抗菌力を示した。

12) *E. cloacae*

β -Lactamase産生株は100%であった。接種菌量 10^6

Table 1-2. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin and other antibiotics against gram-positive clinical isolates

(10⁸ cfu/ml)

Organism (no. of strains)	Antibiotic	MIC (μ g/ml)		
		range	50%	90%
<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA) (24) [15]*	tazobactam/piperacillin	0.78~100	3.13	25
	piperacillin	0.78~>400	50	200
	subactam/cefoperazone	3.13~100	6.25	50
	cefoperazone	1.56~200	6.25	100
	ceftazidime	12.5~200	25	100
	clavulanic acid/ticarcillin	3.13~100	12.5	100
	cefotiam	1.56~100	1.56	50
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) (51) [34]*	tazobactam/piperacillin	0.39~400	200	400
	piperacillin	0.39~>400	400	>400
	subactam/cefoperazone	1.56~>400	400	>400
	cefoperazone	0.78~>400	>400	>400
	ceftazidime	6.25~>400	400	>400
	clavulanic acid/ticarcillin	1.56~>400	400	>400
	cefotiam	0.78~>400	400	>400
Coagulase-negative staphylococci (53) [36]*	tazobactam/piperacillin	0.78~>400	25	400
	piperacillin	0.78~>400	400	>400
	subactam/cefoperazone	3.13~>400	25	400
	cefoperazone	0.78~>400	12.5	>400
	ceftazidime	6.25~>400	100	>400
	clavulanic acid/ticarcillin	1.56~>400	100	>400
	cefotiam	0.78~>400	6.25	400
<i>Enterococcus faecalis</i> (54) [0]*	tazobactam/piperacillin	1.56~>400	6.25	12.5
	piperacillin	1.56~>400	6.25	12.5
	subactam/cefoperazone	25~>400	100	400
	cefoperazone	12.5~>400	50	200
	ceftazidime	50~>400	>400	>400
	clavulanic acid/ticarcillin	50~>400	100	400
	cefotiam	50~>400	200	>400

*: number of β -lactamase producing strains

Table 2-1. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin and other antibiotics against gram-negative clinical isolates

Organism (no. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		range	50%	90%
<i>Escherichia coli</i> (54) [43]*	tazobactam/piperacillin	0.39 ~ 200	1.56	3.13
	piperacillin	0.39 ~ > 400	1.56	12.5
	subbactam/cefoperazone	0.05 ~ 200	0.20	0.78
	cefoperazone	0.05 ~ 200	0.20	0.78
	ceftazidime	0.05 ~ 200	0.20	0.39
	clavulanic acid/ticarcillin	0.78 ~ 400	3.13	25
	cefotiam	0.05 ~ > 400	0.20	0.39
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (46) [45]*	tazobactam/piperacillin	0.78 ~ 100	3.13	6.25
	piperacillin	0.78 ~ > 400	3.13	12.5
	subbactam/cefoperazone	0.20 ~ 100	0.39	3.13
	cefoperazone	0.10 ~ 25	0.20	1.56
	ceftazidime	0.05 ~ 6.25	0.20	0.78
	clavulanic acid/ticarcillin	3.13 ~ 100	6.25	25
	cefotiam	0.10 ~ > 400	0.20	1.56
<i>Klebsiella oxytoca</i> (20) [19]*	tazobactam/piperacillin	0.78 ~ 200	1.56	50
	piperacillin	0.78 ~ > 400	3.13	400
	subbactam/cefoperazone	0.20 ~ 400	1.56	100
	cefoperazone	0.10 ~ 400	0.78	50
	ceftazidime	0.05 ~ 1.56	0.10	0.78
	clavulanic acid/ticarcillin	3.13 ~ 100	6.25	50
	cefotiam	0.05 ~ 25	0.20	6.25
<i>Proteus mirabilis</i> (28) [6]*	tazobactam/piperacillin	0.39 ~ 1.56	0.39	0.78
	piperacillin	0.39 ~ 100	0.39	3.13
	subbactam/cefoperazone	1.56 ~ 3.13	1.56	3.13
	cefoperazone	0.39 ~ 6.25	0.78	3.13
	ceftazidime	0.05 ~ 0.10	0.10	0.10
	clavulanic acid/ticarcillin	0.78 ~ 12.5	0.78	3.13
	cefotiam	0.39 ~ 1.56	0.39	0.78
<i>Proteus vulgaris</i> (20) [15]*	tazobactam/piperacillin	0.20 ~ 3.13	0.78	1.56
	piperacillin	0.39 ~ 100	1.56	50
	subbactam/cefoperazone	0.78 ~ 12.5	1.56	6.25
	cefoperazone	0.39 ~ 100	0.78	50
	ceftazidime	0.05 ~ 1.56	0.10	0.78
	clavulanic acid/ticarcillin	0.78 ~ 25	1.56	12.5
	cefotiam	0.39 ~ > 400	25	400
<i>Providencia rettgeri</i> (40) [19]*	tazobactam/piperacillin	0.05 ~ 50	1.56	12.5
	piperacillin	0.05 ~ > 400	3.13	100
	subbactam/cefoperazone	0.05 ~ 100	3.13	25
	cefoperazone	0.05 ~ 100	1.56	12.5
	ceftazidime	0.05 ~ 100	0.20	6.25
	clavulanic acid/ticarcillin	0.20 ~ 400	6.25	50
	cefotiam	0.05 ~ 100	0.39	12.5
<i>Morganella morganii</i> (54) [50]*	tazobactam/piperacillin	0.20 ~ 50	0.78	25
	piperacillin	0.20 ~ 400	1.56	100
	subbactam/cefoperazone	0.10 ~ 50	3.13	12.5
	cefoperazone	0.05 ~ 50	1.56	25
	ceftazidime	0.05 ~ 200	0.20	50
	clavulanic acid/ticarcillin	0.78 ~ > 400	6.25	200
	cefotiam	0.10 ~ > 400	1.56	200

* : number of β -lactamase producing strains

Table 2-2. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin and other antibiotics against gram-negative clinical isolates (10⁸ cfu/ml)

Organism (no. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		range	50%	90%
<i>Escherichia coli</i> (54) [43]*	tazobactam/piperacillin	0.78 ~ >400	3.13	6.25
	piperacillin	0.78 ~ >400	3.13	>400
	subactam/cefoperazone	0.10 ~ 400	0.39	1.56
	cefoperazone	0.05 ~ >400	0.20	6.25
	ceftazidime	0.10 ~ 400	0.39	0.78
	clavulanic acid/ticarcillin	1.56 ~ >400	6.25	50
	cefotiam	0.10 ~ >400	0.39	6.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (46) [45]*	tazobactam/piperacillin	1.56 ~ 200	6.25	12.5
	piperacillin	6.25 ~ >400	100	400
	subactam/cefoperazone	0.39 ~ 200	1.56	6.25
	cefoperazone	0.20 ~ >400	0.78	3.13
	ceftazidime	0.20 ~ 25	0.78	1.56
	clavulanic acid/ticarcillin	6.25 ~ 200	25	50
	cefotiam	0.20 ~ >400	0.78	6.25
<i>Klebsiella oxytoca</i> (20) [19]*	tazobactam/piperacillin	0.78 ~ 200	6.25	100
	piperacillin	6.25 ~ >400	50	>400
	subactam/cefoperazone	0.39 ~ >400	3.13	200
	cefoperazone	0.20 ~ >400	3.13	100
	ceftazidime	0.10 ~ 1.56	0.20	1.56
	clavulanic acid/ticarcillin	6.25 ~ 200	25	100
	cefotiam	0.10 ~ >400	0.39	400
<i>Proteus mirabilis</i> (28) [6]*	tazobactam/piperacillin	0.78 ~ 1.56	0.78	1.56
	piperacillin	0.78 ~ >400	0.78	100
	subactam/cefoperazone	0.78 ~ 6.25	3.13	6.25
	cefoperazone	0.78 ~ >400	1.56	25
	ceftazidime	0.10 ~ 0.20	0.10	0.20
	clavulanic acid/ticarcillin	1.56 ~ 25	1.56	6.25
	cefotiam	0.78 ~ 50	0.78	1.56
<i>Proteus vulgaris</i> (20) [15]*	tazobactam/piperacillin	0.39 ~ 3.13	0.78	3.13
	piperacillin	0.39 ~ >400	3.13	>400
	subactam/cefoperazone	1.56 ~ 25	3.13	12.5
	cefoperazone	0.78 ~ >400	6.25	200
	ceftazidime	0.05 ~ 6.25	0.10	3.13
	clavulanic acid/ticarcillin	1.56 ~ 100	6.25	25
	cefotiam	1.56 ~ >400	>400	>400
<i>Providencia rettgeri</i> (40) [19]*	tazobactam/piperacillin	0.10 ~ 100	3.13	25
	piperacillin	0.10 ~ >400	6.25	>400
	subactam/cefoperazone	0.39 ~ 400	6.25	50
	cefoperazone	0.10 ~ >400	6.25	200
	ceftazidime	0.05 ~ 200	0.78	12.5
	clavulanic acid/ticarcillin	0.39 ~ >400	12.5	100
	cefotiam	0.05 ~ >400	1.56	>400
<i>Morganella morganii</i> (54) [50]*	tazobactam/piperacillin	0.20 ~ 50	1.56	25
	piperacillin	0.39 ~ >400	12.5	400
	subactam/cefoperazone	0.20 ~ 100	6.25	25
	cefoperazone	0.10 ~ >400	6.25	100
	ceftazidime	0.10 ~ 400	0.78	100
	clavulanic acid/ticarcillin	3.13 ~ >400	25	400
	cefotiam	0.10 ~ >400	400	>400

* : number of β -lactamase producing strains

cfu/mlにおいて、TAZ/PIPCは0.78~100 μ g/ml、PIPCは0.78~400 μ g/ml、SBT/CPZは0.20~100 μ g/ml、CPZは0.10~400 μ g/ml、CAZは0.10~400 μ g/ml、CVA/TIPCは1.56~>400 μ g/ml、CTMは0.20~>400 μ g/mlに分布し、TAZ/PIPCのMIC₉₀は50 μ g/mlを示したが、SBT/CPZと同等であり、CPZ、CAZの2倍、PIPCの4倍、CVA/TIPCの8倍、CTMより8倍以上強い抗菌力を示した。

Table 3-1. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin and other antibiotics against gram-negative clinical isolates (10⁶ cfu/ml)

Organism (no. of strains)	Antibiotic	MIC (μ g/ml)		
		range	50%	90%
<i>Enterobacter cloacae</i> (54) [54]*	tazobactam/piperacillin	0.78~100	6.25	50
	piperacillin	0.78~400	6.25	200
	subactam/cefoperazone	0.20~100	3.13	50
	cefoperazone	0.10~400	1.56	100
	ceftazidime	0.10~400	1.56	100
	clavulanic acid/ticarcillin	1.56~>400	25	400
	cefotiam	0.20~>400	100	>400
<i>Citrobacter freundii</i> (31) [31]*	tazobactam/piperacillin	0.78~200	12.5	100
	piperacillin	0.78~>400	200	>400
	subactam/cefoperazone	0.20~200	25	100
	cefoperazone	0.10~>400	50	200
	ceftazidime	0.20~>400	50	200
	clavulanic acid/ticarcillin	1.56~400	200	400
	cefotiam	0.39~>400	200	>400
<i>Citrobacter diversus</i> (22) [18]*	tazobactam/piperacillin	0.39~25	3.13	12.5
	piperacillin	0.78~400	6.25	50
	subactam/cefoperazone	0.05~25	0.39	6.25
	cefoperazone	0.05~100	0.20	1.56
	ceftazidime	0.05~12.5	0.20	1.56
	clavulanic acid/ticarcillin	1.56~100	6.25	50
	cefotiam	0.10~200	0.39	6.25
<i>Serratia marcescens</i> (54) [52]*	tazobactam/piperacillin	1.56~400	12.5	200
	piperacillin	1.56~>400	12.5	200
	subactam/cefoperazone	1.56~>400	100	400
	cefoperazone	0.78~>400	50	200
	ceftazidime	0.20~>400	200	>400
	clavulanic acid/ticarcillin	6.25~>400	200	>400
	cefotiam	3.13~>400	>400	>400
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (54) [49]*	tazobactam/piperacillin	1.56~400	6.25	50
	piperacillin	1.56~>400	6.25	200
	subactam/cefoperazone	3.13~>400	25	200
	cefoperazone	3.13~>400	12.5	400
	ceftazidime	0.78~>400	3.13	50
	clavulanic acid/ticarcillin	12.5~>400	50	400
	cefotiam	>400	>400	>400
<i>Pseudomonas cepacia</i> (15) [11]*	tazobactam/piperacillin	0.78~>400	12.5	200
	piperacillin	0.78~>400	12.5	200
	subactam/cefoperazone	0.78~>400	50	400
	cefoperazone	6.25~>400	25	400
	ceftazidime	1.56~>400	6.25	200
	clavulanic acid/ticarcillin	6.25~>400	200	>400
	cefotiam	50~>400	>400	>400

* : number of β -lactamase producing strains

13) *C. freundii*
 β -Lactamase産生株は100%であった。接種菌量 10^6
 cfu/mlにおいて、TAZ/PIPCは $0.78 \sim 200 \mu\text{g/ml}$ 、PIPC
 は $0.78 \sim > 400 \mu\text{g/ml}$ 、SBT/CPZは $0.20 \sim 200 \mu\text{g/ml}$ 、
 CPZは $0.10 \sim > 400 \mu\text{g/ml}$ 、CAZは $0.20 \sim > 400 \mu\text{g/ml}$ 、

CVA/TIPCは $1.56 \sim 400 \mu\text{g/ml}$ 、CTMは $0.39 \sim > 400$
 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、TAZ/PIPCのMIC₅₀は $12.5 \mu\text{g/ml}$ を示
 したが、SBT/CPZの2倍、CPZ、CAZの4倍、CVA/
 TIPC、CTM、PIPCの16倍強い抗菌力を示した。

Table 3-2. Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin and other antibiotics against gram-negative clinical isolates
 (10^8 cfu/ml)

Organism (no. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		range	50%	90%
<i>Enterobacter cloacae</i> (54) [54]*	tazobactam/piperacillin	1.56 ~ 200	12.5	100
	piperacillin	1.56 ~ > 400	25	> 400
	subactam/cefoperazone	0.78 ~ 200	25	100
	cefoperazone	0.20 ~ > 400	6.25	> 400
	ceftazidime	0.20 ~ > 400	6.25	400
	clavulanic acid/ticarcillin	3.13 ~ > 400	100	400
	cefotiam	1.56 ~ > 400	> 400	> 400
<i>Citrobacter freundii</i> (31) [31]*	tazobactam/piperacillin	3.13 ~ 200	50	200
	piperacillin	3.13 ~ > 400	> 400	> 400
	subactam/cefoperazone	0.78 ~ 400	50	200
	cefoperazone	0.78 ~ > 400	200	> 400
	ceftazidime	1.56 ~ > 400	200	400
	clavulanic acid/ticarcillin	6.25 ~ > 400	200	400
	cefotiam	12.5 ~ > 400	> 400	> 400
<i>Citrobacter diversus</i> (22) [18]*	tazobactam/piperacillin	0.78 ~ 50	12.5	25
	piperacillin	1.56 ~ > 400	50	> 400
	subactam/cefoperazone	0.20 ~ 50	1.56	25
	cefoperazone	0.10 ~ 400	0.78	6.25
	ceftazidime	0.10 ~ 25	0.78	6.25
	clavulanic acid/ticarcillin	3.13 ~ 100	25	100
	cefotiam	0.20 ~ 400	0.78	12.5
<i>Serratia marcescens</i> (54) [52]*	tazobactam/piperacillin	3.13 ~ > 400	50	200
	piperacillin	3.13 ~ > 400	100	> 400
	subactam/cefoperazone	6.25 ~ > 400	200	> 400
	cefoperazone	1.56 ~ > 400	100	> 400
	ceftazidime	0.39 ~ > 400	400	> 400
	clavulanic acid/ticarcillin	12.5 ~ > 400	400	> 400
	cefotiam	50 ~ > 400	> 400	> 400
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (54) [49]*	tazobactam/piperacillin	3.13 ~ > 400	12.5	100
	piperacillin	3.13 ~ > 400	25	> 400
	subactam/cefoperazone	12.5 ~ > 400	50	200
	cefoperazone	6.25 ~ > 400	25	400
	ceftazidime	1.56 ~ > 400	12.5	100
	clavulanic acid/ticarcillin	25 ~ > 400	100	> 400
	cefotiam	> 400	> 400	> 400
<i>Pseudomonas cepacia</i> (15) [11]*	tazobactam/piperacillin	0.78 ~ > 400	25	> 400
	piperacillin	1.56 ~ > 400	50	> 400
	subactam/cefoperazone	1.56 ~ > 400	100	> 400
	cefoperazone	6.25 ~ > 400	100	> 400
	ceftazidime	1.56 ~ > 400	12.5	400
	clavulanic acid/ticarcillin	12.5 ~ > 400	400	> 400
	cefotiam	100 ~ > 400	> 400	> 400

* : number of β -lactamase producing strains

14) *C. diversus*

β -Lactamase産生株は88%であった。接種菌量 10^6 cfu/mlにおいて、TAZ/PIPCは0.39~25 μ g/ml, PIPCは0.78~400 μ g/ml, SBT/CPZは0.05~25 μ g/ml, CPZは0.05~100 μ g/ml, CAZは0.05~12.5 μ g/ml, CVA/TIPCは1.56~100 μ g/ml, CTMは0.10~200 μ g/mlに分布していた。 10^8 cfu/ml接種におけるTAZ/PIPCのMIC₉₀は25 μ g/mlを示し、CPZ, CAZには劣るもののCTM, SBT/CPZとほぼ同等であり、CVA/TIPCの4倍, PIPCよりも16倍以上強い抗菌力を示した。

15) *S. marcescens*

β -Lactamase産生株は96%であった。接種菌量 10^6 cfu/mlにおいて、TAZ/PIPCは1.56~400 μ g/ml, PIPCは1.56~>400 μ g/ml, SBT/CPZは1.56~>400 μ g/ml, CPZは0.78~>400 μ g/ml, CAZは0.20~>400 μ g/ml, CVA/TIPCは6.25~>400 μ g/ml, CTMは3.13~>400 μ g/mlに分布し、TAZ/PIPCのMIC₅₀は12.5 μ g/mlを示し、PIPCと同等であり、CPZの4倍, SBT/CPZの8倍, CAZ, CVA/TIPCの16倍, CTMよりも32倍以上強い抗菌力を示した。

16) *P. aeruginosa*

β -Lactamase産生株は91%であった。接種菌量 10^6 cfu/mlにおいて、TAZ/PIPCは1.56~400 μ g/ml, PIPCは1.56~>400 μ g/ml, SBT/CPZは3.13~>400 μ g/ml, CPZは3.13~>400 μ g/ml, CAZは0.78~>400 μ g/ml, CVA/TIPCは12.5~>400 μ g/ml, CTMは>400 μ g/mlに分布していた。 10^8 cfu/ml接種におけるTAZ/PIPCのMIC₅₀は12.5 μ g/mlを示したが、CAZと同等であり、CPZ, PIPCの2倍, SBT/CPZの4倍, CVA/TIPCの8倍, CTMよりも32倍以上強い抗菌力を示した。

17) *P. cepacia*

β -Lactamase産生株は73%であった。接種菌量 10^6 cfu/mlにおいて、TAZ/PIPCは0.78~>400 μ g/ml, PIPCは0.78~>400 μ g/ml, SBT/CPZは0.78~>400 μ g/ml, CPZは6.25~>400 μ g/ml, CAZは1.56~>400 μ g/ml, CVA/TIPCは6.25~>400 μ g/ml, CTMは50~>400 μ g/mlに分布していた。 10^8 cfu/ml接種におけるTAZ/PIPCのMIC₅₀は25 μ g/mlを示し、CAZとほぼ同等であり、PIPCの2倍, SBT/CPZ, CPZの4倍, CVA/TIPCの16倍, CTMの16倍以上強い抗菌力を示した。

2. 殺菌効果

1) *E. coli* 13Aの場合

本菌株は β -lactamaseを産生し、寒天平板希釈法によるMICが接種菌量 10^6 cfu/mlにおいてTAZ/PIPCで1.56 μ g/ml, PIPCで12.5 μ g/ml, CVA/TIPCで25 μ g/ml

を示したものである。本菌株を用いて殺菌効果を調べた結果をFig. 1に示した。TAZ/PIPCでは6.25 μ g/ml (4MIC)を作用させると、2~4時間で著明な殺菌作用を示した。これに比べて、PIPCではTAZ/PIPCで殺菌作用を示した濃度を作用させても全く殺菌作用は認められなかった。また、50 μ g/ml (4MIC)を作用させた時2時間後に生菌数の減少が認められたが4時間後より再増殖し、殺菌作用は認められなかった。CVA/TIPCでは50 μ g/ml (2MIC)以上の濃度を作用させると2時間までの間に著明な殺菌作用が認められたが4時間後より再増殖が起こった。

2) *K. pneumoniae* 158Abの場合

本菌株は β -lactamaseを産生し、寒天平板希釈法によるMICが、接種菌量 10^6 cfu/mlにおいてTAZ/PIPCで3.13 μ g/ml, PIPCで50 μ g/ml, CVA/TIPCで25 μ g/mlを示したものである。本菌株を用いて殺菌効果を調べた結果をFig. 2に示した。TAZ/PIPCでは3.13 μ g/ml (MIC)を作用させると静菌的に作用したが、6.25 μ g/ml (2MIC)以上の濃度を作用させると著明な殺菌作用が認められた。PIPCでは100 μ g/ml (2MIC)以上の濃度を作用させると2時間までの間に殺菌作用が認められたが4時間後より再増殖が起こった。CVA/TIPCでは50 μ g/ml (2MIC)を作用させると2時間までは殺菌作用が認められたが4時間後より再増殖が起こった。また100 μ g/ml (4MIC)の濃度を作用させた場合は2時間までは殺菌的に作用しその後は静菌的に作用した。

3) *M. organii* 50Aaの場合

本菌株は β -lactamaseを産生し、寒天平板希釈法によるMICが、接種菌量 10^6 cfu/mlにおいてTAZ/PIPCで6.25 μ g/ml, PIPCで50 μ g/ml, CVA/TIPCで25 μ g/mlを示したものである。本菌株を用いて殺菌効果を調べた結果をFig. 3に示した。TAZ/PIPCでは6.25 μ g/ml (MIC)を作用させると、2~4時間で著明な殺菌作用を示した。これに比べ、PIPCではTAZ/PIPCと同等の殺菌作用を示すのに、100 μ g/ml (2MIC)の濃度を必要とした。

CVA/TIPCでは12.5 μ g/ml (1/2MIC)以上の濃度を作用させると、2時間までの間に著明な殺菌作用が認められたが、4時間後より作用させたすべての濃度で再増殖が起こった。

4) *P. aeruginosa* 22Aの場合

本菌株は β -lactamaseを産生し、寒天平板希釈法によるMICが、接種菌量 10^6 cfu/mlにおいてTAZ/PIPCで12.5 μ g/ml, PIPCで400 μ g/ml, CVA/TIPCで25 μ g/mlを示したものである。本菌株を用いて殺菌効果を調べた結果をFig. 4に示した。TAZ/PIPCでは25 μ g/ml

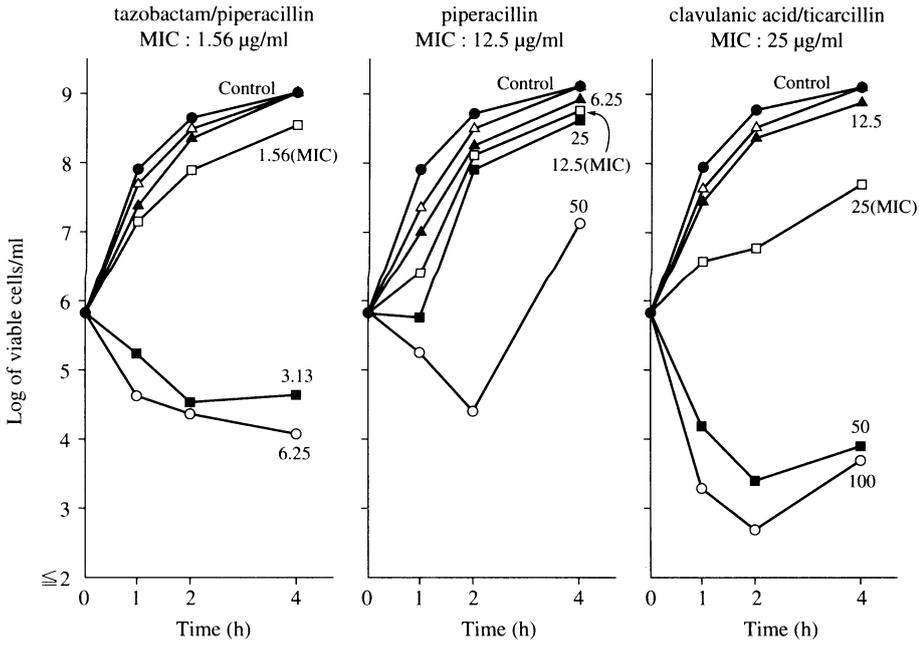


Fig. 1. Bactericidal activity of tazobactam/piperacillin and other antibiotics against *Escherichia coli* 13A.

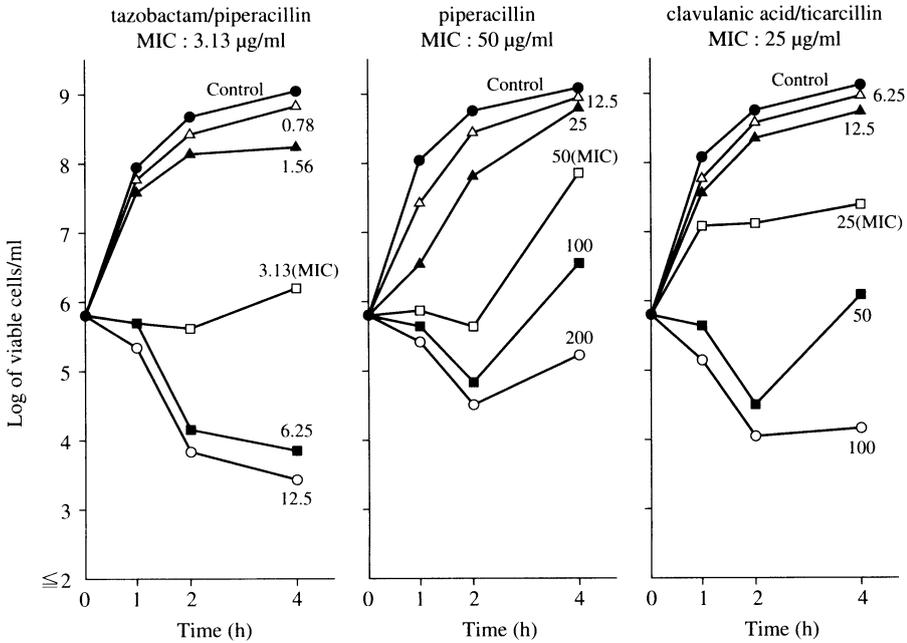


Fig. 2. Bactericidal activity of tazobactam/piperacillin and other antibiotics against *Klebsiella pneumoniae* 158Ab.

(2MIC)以上の濃度を作用させると4時間までの間に殺菌作用が認められた。

PIPCではTAZ/PIPCと同等の殺菌作用を示すのに、1600 $\mu\text{g/ml}$ (4MIC)の濃度を必要とした。CVA/TIPCでは50 $\mu\text{g/ml}$ (2MIC)以上の濃度を作用させると2時間までは静菌的に作用しその後殺菌的に作用した。

3. 食細胞との協力殺菌作用

マウスの株化マクロファージと1/4MICの薬剤存在下における*K. pneumoniae* 109株に対する殺菌効果を検討した (Fig. 5)。1/4MIC (0.78 $\mu\text{g/ml}$)のTAZ/PIPC単独処理では静菌的に作用した。マクロファージ存在下では時間の経過とともに生菌数が減少し、3時間後の生菌数は1/4MIC単独処理に比して約1/2に減少し、弱いながら食細胞との協力殺菌作用を示した。PIPCでは1/4MIC (50 $\mu\text{g/ml}$)の単独処理あるいはマクロファージ存在下にかかわらず時間の経過とともに生菌数が増加し、協力殺菌作用は示さなかった。1/4MIC (1.56 $\mu\text{g/ml}$)のCVA/TIPC単独処理では時間の経過とともに生菌数が増加した。マクロファージ存在下ではわずかに生菌数が増加したが、3時間後においては1/4MIC単独処理に比してその増殖は約1/3抑制され、弱いながら食細胞との協力殺菌作用を示した。

Ⅲ. 考 察

各種細菌の β -ラクタム系薬剤耐性株は大部分が β -lactamaseを産生し、この酵素が薬剤を加水分解するか、強く結合して薬剤の作用点到達を妨げるかで抵抗性を示すことが多い。現在、注射用ペニシリンとしてもっとも汎用されているPIPCは広い抗菌スペクトルを持つが、PCase, CXaseおよび一部のCEPase型の β -lactamaseに容易に加水分解されるために、各種細菌に耐性株が増加して来た。新しく合成された β -lactamase阻害剤であるTAZはこれらの型の β -lactamaseの活性を強く不可逆的に阻害することが知られているので¹⁻³⁾、PIPCとTAZを組み合わせることによって耐性菌対策の確立した幅広い抗菌スペクトルを持つペニシリンが作られる可能性があり、TAZとPIPCが1:4の割合で配合したTAZ/PIPCが開発された。

近年、臨床分離菌における β -lactamase産生株の頻度が極めて高率であることが報告されており⁶⁾、このTAZ/PIPCが新鮮な臨床分離菌に対しどのような抗菌スペクトルを示すのかは興味のある点である。著者らは複雑性尿路感染症由来の新鮮な臨床分離菌に対するTAZ/PIPCの*in vitro*抗菌力についてPIPCをはじめ既存の β -lactamase阻害剤であるCVAあるいはSBTと配合

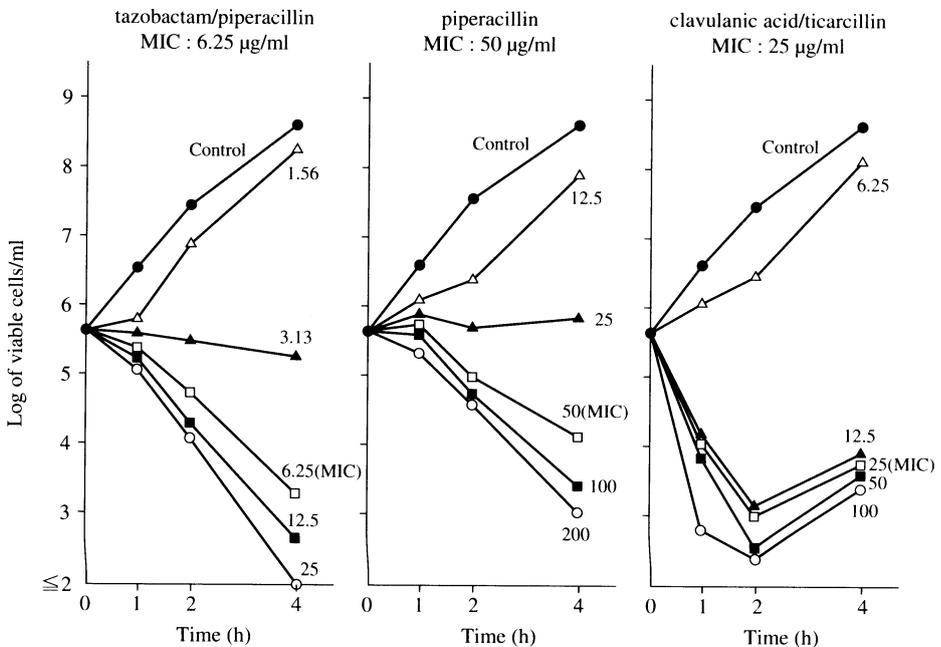


Fig. 3. Bactericidal activity of tazobactam/piperacillin and other antibiotics against *Morganella morganii* 150Aa.

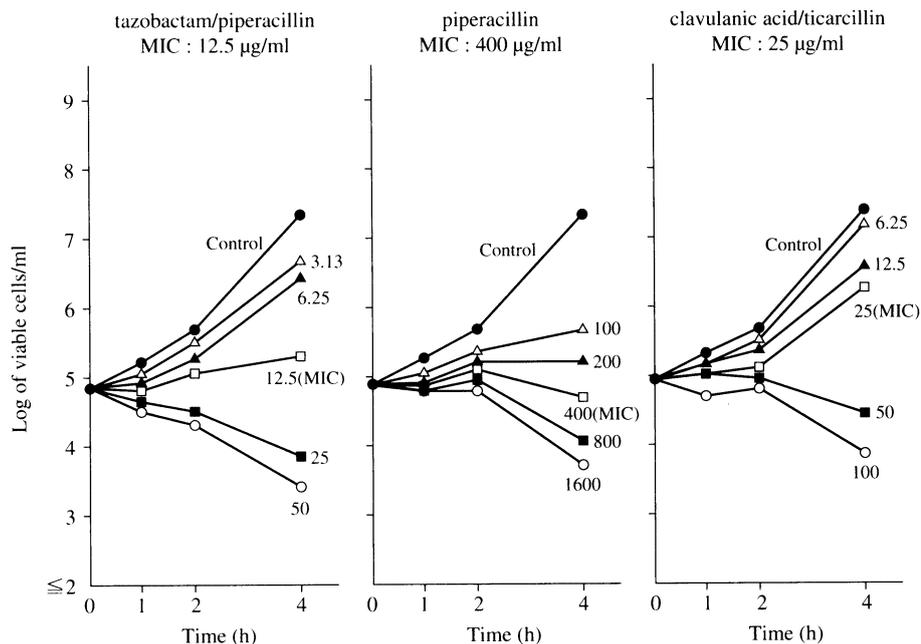


Fig. 4. Bactericidal activity of tazobactam/piperacillin and other antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* 22A.

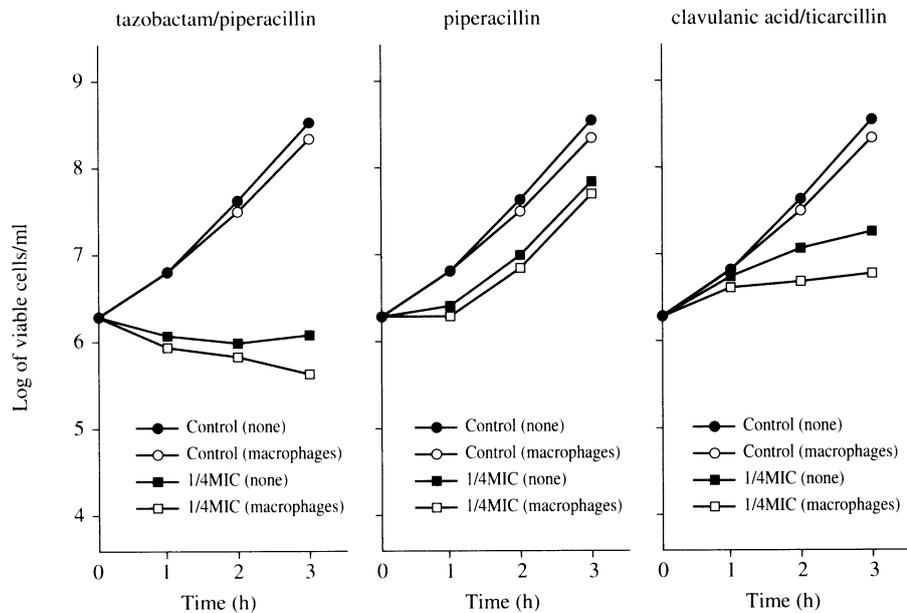


Fig. 5. Effect of tazobactam/piperacillin and other antibiotics on killing of *Klebsiella pneumoniae* 109 by macrophages.

されたCVA/TIPC, SBT/CPZやセフェム系薬剤であるCAZ, CTM, CPZを対照薬剤として比較検討した。TAZ/PIPCはグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して幅広い抗菌スペクトルを有していた。MSSAに対してはCTMとほぼ同等の抗菌力を示した。また、一般にセフェム系薬剤に耐性である*E. faecalis*に対してはPIPCと同様に強い抗菌力を示した。グラム陰性菌である腸内細菌群に対してはセフェム系薬剤と同等かあるいはそれ以上の抗菌力を示した。また、*P. aeruginosa*に対してはCAZとほぼ同等であり良好な抗菌力を示した。

PIPC耐性菌に対するTAZ/PIPCの抗菌力はPIPCよりもはるかに優れていた。特に、MSSA, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *C. diversus*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. rettgeri*, *M. morgani*の耐性菌に対してTAZを添加することによるPIPCの抗菌力の増強が顕著であった。これはTAZが β -lactamaseに対して強い阻害効果を有していることから、TAZの配合によりPIPCの加水分解が防止されたためと考えられる。

以上の結果からTAZ/PIPCは各種の β -lactamase産生菌による感染症に対して有用な薬剤となり得ると考えられる。

文 献

- 1) Moosdeen F, Keeble J and William J D: Induction/inhibition of chromosomal β -lactamases by β -lactamase inhibitors. *Rev infect Dis* 8 (S-5): 562~568, 1986
- 2) Gutmann L, Kitzis M D, Yamabe S and Acar J F: Comparative evaluation of a new β -lactamase inhibitor, YTR-830, combined with different β -lactam antibiotics against bacteria harboring known β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 29: 955~957, 1986
- 3) Higashitani F, Hyodo A, Ishida N, Inoue M and Mitsuhashi S: Inhibition of β -lactamases by tazobactam and *in vitro* antibacterial activity of tazobactam combined with piperacillin. *J Antimicrob Chemother* 25: 567~574, 1990
- 4) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度(MIC)測定再改訂について。 *Chemotherapy* 29: 76~79, 1981
- 5) Ohki K and Nagayama A: Cell hybrids between SV40-transformed macrophage cell lines and a chinese-hamster cell line: growth responsiveness and induction of colony-stimulating factor. *J Cell Physiol* 114: 291~301, 1983
- 6) 横田健: 臨床分離菌の β -lactamase産出率と各薬剤に対する感受性の検討。 *Chemotherapy* 39: 941~952, 1991

In vitro antibacterial activity of tazobactam/piperacillin

Shuichi Nomura and Ariaki Nagayama

Department of Microbiology, School of Medicine, Fukuoka University

45-1-7-chome Nanakuma, Jonan-ku, Fukuoka 814-01, Japan

Tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC) is a formulation of the β -lactam antibiotic piperacillin (PIPC; 4 parts) with a new β -lactamase inhibitor, tazobactam (TAZ; 1 part). The *in vitro* antibacterial activity of TAZ/PIPC against fresh clinical isolates of bacteria was compared with that of piperacillin (PIPC), sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ), cefoperazone (CPZ), ceftazidime (CAZ), clavulanic acid/ticarcillin (CVA/TIPC) and cefotiam (CTM).

TAZ/PIPC had a broad antibacterial spectrum against gram-positive and gram-negative bacteria.

The antibacterial activity of TAZ/PIPC against methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) was almost the same as that of CTM, and superior to that of other β -lactam antibiotics.

Its activity against *Enterococcus fecalis* was equal to that of PIPC and superior to that of other β -lactam antibiotics.

Its activity against gram-negative bacteria was almost the same as that of SBT/CPZ, CPZ, CAZ and CTM, and markedly superior to that of PIPC.

The bactericidal activity of TAZ/PIPC against the β -lactamase producing bacteria, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, was superior to that of PIPC and CVA/TIPC.

At 1/4 MIC of TAZ/PIPC, the bactericidal activity of macrophages against β -lactamase producing *K. pneumoniae* 109 was enhanced.