臨床分離株に対するTazobactam/Piperacillinの抗菌活性および tazobactamとpiperacillinの抗菌併用効果

出口浩一・横田のぞみ・古口昌美・鈴木由美子・深山成美・石原理加
東京総合臨床検査センター研究部*

近年に検出した主な臨床分離株に対するtazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC)の抗菌活性と共に、tazobactam (TAZ) + piperacillin (PIPC)の試験管内における抗菌併用効果を検討し、以下の結果を得た。

1. 主としてpenicillinaseを産生する菌種に対するTAZ/PIPCの抗菌活性は強く、 β -ラクタマーゼ産生*Haemophilus* spp. に認められたTAZ/PIPCの強い抗菌活性からは、 β -ラクタマーゼに対するTAZの阻害効果と共にTAZとPIPCの相乗効果が示唆された。

一方、主としてcephalosporinaseもしくはoxyiminocephalosporinase産生の*Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas cepacia*に対するTAZ/PIPCの強い抗菌活性が認められることから、TAZの β -ラクタマーゼ阻害スペクトルの拡大が示唆された。

2. β -ラクタマーゼ産生*Haemophilus influenzae*, 同じく*Moraxella subgenus*, *Branhamella catarrhalis*を対象としたTAZ + PIPCの抗菌併用効果は、0.03~0.25 μ g/mlのきわめて低いTAZ濃度存在下において、両薬剤の強い抗菌併用効果が認められた。

Key words : 臨床分離株, 抗菌活性, 抗菌併用効果, tazobactam/piperacillin, tazobactam, β -ラクタマーゼ

Tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC) は、大鵬薬品工業(株)研究所で開発された新しい β -ラクタマーゼ阻害剤としてのtazobactam (TAZ)とペニシリン系抗生物質であるpiperacillin (PIPC)を1:4に配合した注射剤である¹⁾。

TAZの抗菌力の一部の菌種を除いては弱いために、単独では臨床応用が不可能であるが、各種の細菌が産生する β -ラクタマーゼを不可逆的に阻害することから、 β -ラクタム系薬剤(β -lactams)との併用効果が期待できる^{1,2)}。近年までに検討されたTAZと β -lactamsに関する報告をみると、penicillinase (PCase)に対するTAZの阻害効果はsulbactam (SBT)には勝り、clavulanic acid (CVA)と同等^{1,3)}、さらにTAZの β -ラクタマーゼ阻害スペクトルは一部のcephalosporinase (CEPase)にまで及ぶことから、CVAおよびSBTのそれに比較して広い^{1,4-8)}。そして、TAZはCVAに比較して β -lactamaseの誘導が認められていない¹⁾。

TAZ + β -lactamsの併用による基礎的、臨床的検討は、American Cynamid社によりTAZ + PIPC 1:4または1:8の割合で検討されており、我が国においては大鵬薬品工業(株)と富山化学工業(株)が共同でTAZ + PIPC 1:4、すなわち「TAZ/PIPC」として進められている。

上記のことから我々は、1990年以降に検出した臨床分離株を対象にしてTAZ/PIPCの抗菌活性と、TAZとPIPCの試験管内抗菌併用効果を検討した。

I. 検討方法

1. 臨床分離株に対するTAZ/PIPCの抗菌活性

1) 供試分離株

1990年10月~1992年11月に、当所において検出した以下の臨床分離株を供試した。

Methicillin (DMPPC) -susceptible *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (MSSA) 60株¹⁾, DMPPC-resistant *S. aureus* subsp. *aureus* (MRSA) 40株²⁾, Coagulase-negative staphylococci (CNS) 30株, cefazolin (CEZ) -resistant *Escherichia coli* 30株³⁾, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* 50株⁴⁾, *Enterobacter aerogenes* 10株⁵⁾, *Enterobacter cloacae* 20株⁵⁾, ampicillin (ABPC) -resistant *Proteus mirabilis* 20株⁶⁾, *Proteus vulgaris* 20株⁵⁾, *Morganella morganii* 50株⁵⁾, *Pseudomonas aeruginosa* 30株⁵⁾, *Pseudomonas cepacia* 10株⁵⁾, *Acinetobacter baumannii* 18株⁵⁾, *Acinetobacter luoffii* 8株⁵⁾, *Acinetobacter junii* 4株⁵⁾, β -lactamase producing *Haemophilus influenzae* 50株, β -lactamase producing *Haemophilus parainfluenzae* 50株, β -lactamase producing *Mo-*

*〒120 東京都足立区千住仲町14-4 足立区医師会館内

raxella subgenus *Branhamella catarrhalis* 70株, 合計570株。

なお, 上記の細菌名は Approved list of bacterial names (1988年改訂版) の学名に従った⁹⁻¹¹⁾。

- *1. 以下の本文ではMSSAと略記した。
- *2. 以下の本文ではMRSAと略記した。
- *3. CEZのMIC値 $\geq 12.5\mu\text{g/ml}$, 以下の本文ではCEZ' *E. coli*と略記した。
- *4. 無作為に集積, 以下の本文では*K. pneumoniae*と略記した。
- *5. 無作為に集積した。
- *6. ABPCのMIC値 $\geq 100\mu\text{g/ml}$, 以下の本文ではABPC' *P. mirabilis*と略記した。

2) 供試株の β -ラクタマーゼ産生性

上記1)に示した*H. influenzae*, *H. parainfluenzae*, *M. (B.) catarrhalis*の β -ラクタマーゼ産生性はacidimetry disc method (β -チェック, ファイザー)とchromogenic disc method (セフィナーゼ, BBL)にてチェックした。

3) 抗菌活性の試験薬剤

TAZ/PIPC (TAZ+PIPC, 1:4), PIPC, SBT/cefepirone (SBT/CPZ, 1:1), ceftazidime (CAZ)はすべての菌種に, cefotiam (CTM)は*P. aeruginosa*を除く菌種に, MSSAとMRSAにはDMPPCを, CEZ' *E. coli*にはCEZを, ABPC' *P. mirabilis*にはABPCを, *P. vulgaris*と*M. organii*と*P. cepacia*にはcefotaxime (CTX)を, *P. aeruginosa*と*Acinetobacter* spp.にはCVA/ticarcillin (CVA/TIPC, 1:15)を加えた。なお, 上記の薬剤はすべて標準原末を使用した。

4) TAZ/PIPCと対照薬剤の抗菌活性測定法

上記1)に示した570株に対するTAZ/PIPCと対照薬剤の抗菌活性は, 本学会最小発育阻止濃度(MIC)測定標準法に従い¹²⁾, 10^6 cfu/ml接種の寒天平板希釈法にてminimum inhibitory concentration (MIC)を測定した。

2. TAZ+PIPC試験管内抗菌併用効果

1) 供試臨床分離株

1991年1月~2月に, 当所において検出した*H. influenzae* 20株 (β -lactamase producing strains 15, β -lactamase non-producing strains 5), および*M. (B.) catarrhalis* 20株 (β -lactamase producing strains 16, β -lactamase non-producing strains 4), 合計40株。

2) TAZ+PIPC試験管内抗菌併用効果の測定法

上記1)に示した40株に対するTAZ+PIPCの試験管内における抗菌併用効果は, Schaedlers broth (Difco, nicotinamide, vitamin K-1, Fildes extract horse serum, horse cythemolytic added)に, PIPC 64~0.06 $\mu\text{g/ml}$, TAZ/PIPC (TAZ+PIPC, 1:4) 64~0.06 $\mu\text{g/ml}$, TAZ

64~0.06 $\mu\text{g/ml}$ 各々単独の希釈系列と, PIPC 64~0.06 $\mu\text{g/ml}$ の希釈系列にTAZ 0.03, 0.06, 0.13, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 $\mu\text{g/ml}$ を各々添加した希釈系列を加えた合計11希釈列を1株に対応する希釈系列とした。これにより, 作製した希釈系列は合計440系列である。上記の希釈系列の各Wellに, 供試株を 10^{5-8} CFU/mlに調整した菌液をMIC2000 System Automatic inoculator (Dynatec, USA)で接種し, 37 $^{\circ}\text{C}$ 22時間培養にて, 各々の希釈系列ごとのMICを測定した。

なお, 菌液の調整法, MICの測定法は本学会微量液体希釈法によるMIC測定法(微量液体法)¹³⁾と, 我々が考案した微量液体希釈法の応用法¹⁴⁾に従った。

II. 成 績

1. 臨床分離株に対するTAZ/PIPCの抗菌活性

Table 1~5に各菌種, 菌属に対するTAZ/PIPCと対照薬剤のMIC分布を示した。

1) *Staphylococcus* spp.

Table 1の上段はMSSA, 中段はMRSA, 下段はCNSの結果である。MSSAに対するTAZ/PIPCのMIC₅₀は1.56 $\mu\text{g/ml}$, MIC₉₀が6.25 $\mu\text{g/ml}$ であり, MSSAに対するTAZ/PIPCの抗菌活性はMIC₉₀ではCTMに8倍, DMPPCに4倍, SBT/CPZには2倍劣るものの, CAZに2倍, PIPCには8倍勝っていたが, MRSAに対するTAZ/PIPCの抗菌活性は対照薬剤と共に弱い結果だった。一方, CNSにはTAZ/PIPCと対照薬剤に耐性を示す株が2割強に認められた。これにより, CNSに対するTAZ/PIPCのMIC₅₀は1.56 $\mu\text{g/ml}$, MIC₉₀が $\geq 25\mu\text{g/ml}$ であり, CNSに対するTAZ/PIPCの抗菌活性はMIC₉₀ではCTMには4倍劣るものの, SBT/CPZと同等, PIPCおよびCAZには各々4倍勝る結果だった。

2) CEZ' *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter* spp.

Table 2の上段はCEZ' *E. coli*, 中段は*K. pneumoniae*, 下段は*Enterobacter* spp.の結果である。CEZ' *E. coli*, すなわちCEZのMIC値 $\geq 12.5\mu\text{g/ml}$ を示す供試株に対するTAZ/PIPCのMIC₅₀は6.25 $\mu\text{g/ml}$, MIC₉₀が $\geq 25\mu\text{g/ml}$ であり, CEZ' *E. coli*に対するTAZ+PIPCの抗菌活性はMIC₉₀ではSBT/CPZに8倍, CAZには4倍劣るものの, CTMに2倍, PIPCには4倍, そしてCEZには4倍以上勝っていた。一方, *K. pneumoniae*に対するTAZ/PIPCのMIC₅₀は3.13 $\mu\text{g/ml}$, MIC₉₀が $\geq 6.25\mu\text{g/ml}$ であり, *K. pneumoniae*に対するTAZ/PIPCの抗菌活性はMIC₉₀ではPIPCには8倍勝るものの, SBT/CPZ, CTM, CAZのいずれにも劣る結果であった。また*Enterobacter* spp.に対するTAZ/PIPCのMIC₅₀は6.25 $\mu\text{g/ml}$, MIC₉₀が $\geq 100\mu\text{g/ml}$ であり, *Enterobacter* spp.に対するTAZ/PIPCの抗菌活性はMIC₉₀ではSBT/CPZには2倍劣るも

Table 1. Distribution of MICs of tazobactam/piperacillin and other antibiotics against clinically isolated *Staphylococcus* spp.

Organism	No. of strains	Antibiotic	MICs ($\mu\text{g}/\text{ml}^{\text{a)}$			
			range	50%	80%	90%
MSSA ^{b)}	60	TAZ/PIPC	0.05 ~ 12.5	1.56	3.13	6.25
		PIPC	0.05 ~ 100	6.25	25	50
		SBT/CPZ	0.2 ~ 6.25	1.56	3.13	3.13
		CTM	0.2 ~ 1.56	0.39	0.78	0.78
		CAZ	3.13 ~ 12.5	6.25	6.25	12.5
		DMPPC	0.78 ~ 1.56	1.56	1.56	1.56
MRSA ^{c)}	40	TAZ/PIPC	6.25 ~ > 100	25	> 100	> 100
		PIPC	12.5 ~ > 100	> 100	> 100	> 100
		SBT/CPZ	3.13 ~ > 100	25	> 100	> 100
		CTM	1.56 ~ > 100	> 100	> 100	> 100
		CAZ	25 ~ > 100	> 100	> 100	> 100
		DMPPC	12.5 ~ > 100	50	> 100	> 100
CNS ^{d)}	30	TAZ/PIPC	0.2 ~ > 100	1.56	6.25	25
		PIPC	0.78 ~ > 100	3.13	50	100
		SBT/CPZ	0.39 ~ > 100	1.56	6.25	25
		CTM	0.2 ~ > 100	0.39	3.13	6.25
		CAZ	1.56 ~ > 100	6.25	25	100

a): MICs were determined with serial twofold dilutions of the agents in sensitivity test agar.

Bacteria cultured overnight were inoculated onto the agar plates at 10^6 CFU per spot and incubated for 20 h at 36 ~ 37°C.

b): Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*

c): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*

d): Coagulase-negative staphylococci

TAZ/PIPC: tazobactam + piperacillin 1:4, PIPC: piperacillin, SBT/CPZ: sulbactam + cefoperazone 1:1

CTM: cefotiam, CAZ: ceftazidime, DMPPC: methicillin

Table 2. Distribution of MICs of tazobactam/piperacillin and other antibiotics against clinically isolated *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. and *Enterobacter* spp.

Organism	No. of strains	Antibiotic	MICs ($\mu\text{g}/\text{ml}^{\text{a)}$			
			range	50%	80%	90%
<i>Escherichia coli</i> (CEZ ⁷⁾ ^{b)}	30	TAZ/PIPC	1.56 ~ 50	6.25	12.5	25
		PIPC	6.25 ~ > 100	25	50	100
		SBT/CPZ	0.2 ~ 25	1.56	3.13	3.13
		CTM	0.39 ~ 100	6.25	25	50
		CAZ	0.1 ~ 12.5	1.56	6.25	6.25
		CEZ	12.5 ~ > 100	100	> 100	> 100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ^{c)}	50	TAZ/PIPC	0.78 ~ 50	3.13	6.25	6.25
		PIPC	3.13 ~ > 100	12.5	25	50
		SBT/CPZ	0.1 ~ 12.5	0.39	0.78	1.56
		CTM	0.1 ~ 1.56	0.2	0.39	0.78
		CAZ	≤ 0.025 ~ 0.39	0.05	0.1	0.2
<i>Enterobacter</i> spp.	30 ^{d)}	TAZ/PIPC	1.56 ~ > 100	6.25	25	100
		PIPC	3.13 ~ > 100	12.5	50	> 100
		SBT/CPZ	0.78 ~ > 100	6.25	25	50
		CTM	1.56 ~ > 100	100	> 100	> 100
		CAZ	0.1 ~ > 100	1.56	50	100

a): MICs were determined with serial twofold dilutions of the agents in sensitivity test agar.

Bacteria cultured overnight were inoculated onto the agar plates at 10^6 CFU per spot and incubated for 20 h at 36 ~ 37°C.

b): cefazolin-resistant *E. coli*, c): *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, d): *E. aerogenes* 10 strains, *E. cloacae* 20 strains

CEZ: cefazolin

のの、CAZとは同等、PIPCおよびCTMには勝る結果だった。

3) ABPC^c *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *M. morganii*

Table 3の上段はABPC^c *P. mirabilis*, 中段は*P. vulgaris*, 下段は*M. morganii*の結果である。ABPC^c *P. mirabilis*, すなわちABPCのMIC値 $\geq 100\mu\text{g/ml}$ を示す供試株に対するTAZ/PIPCのMIC₉₀は $1.56\mu\text{g/ml}$ であり, ABPC^c *P. mirabilis*に対するTAZ/PIPCの抗菌活性はMIC₉₀ではCAZに16倍, CTMには2倍劣るものの, SBT/CPZとは同等, PIPCには64倍, ABPCには64倍以上勝っていた。*P. vulgaris*にはCAZとCTXに耐性を示す株が2割強に認められたが, TAZ/PIPCのMIC₅₀は $0.78\mu\text{g/ml}$, MIC₉₀が $6.25\mu\text{g/ml}$ であり, *P. vulgaris*に対するTAZ/PIPCの抗菌活性はMIC₉₀ではSBT/CPZに2倍, CAZに8倍, PIPC, CTM, CTXには各々16倍以上勝っていた。*M. morganii*にもCAZとCTXに耐性を示す株が2割前後に認められたが, TAZ/PIPCのMIC₅₀は $0.78\mu\text{g/ml}$, MIC₉₀が $3.13\mu\text{g/ml}$ であり, *M. morganii*に対するTAZ/PIPCの抗菌活性はMIC₉₀ではSBT/CPZおよびCTXに2倍, CAZに4倍, PIPCに32倍, CTMには

32倍以上勝っていた。

4) glucose-nonfermentative gram-negative rods ((G)NF-GNR)

Table 4の上段は*P. aeruginosa*, 中段は*P. cepacia*, 下段は*Acinetobacter* spp. の結果である。*P. aeruginosa*の供試株には試験薬剤のすべてに耐性を示す多剤耐性株が2割強に認められたが, TAZ/PIPCのMIC₅₀は $1.56\mu\text{g/ml}$, MIC₉₀が $> 100\mu\text{g/ml}$ であり, *P. aeruginosa*に対するTAZ/PIPCの抗菌活性はMIC₅₀ではCAZと同等, PIPCおよびSBT/CPZに2倍, CVA/TIPCには4倍勝っていたが, 多剤耐性株に対するTAZ/PIPCの抗菌活性は対照薬剤と共に弱い結果だった。一方, *P. cepacia*に対するTAZ/PIPCのMIC₉₀は $1.56\mu\text{g/ml}$ であり, *P. cepacia*に対するTAZ/PIPCの抗菌活性はMIC₉₀ではCAZと同等, PIPCおよびSBT/CPZに8倍, CTXに16倍, CTMには64倍以上勝る結果だったが, *Acinetobacter* spp. に対するTAZ/PIPCのMIC₅₀は $6.25\mu\text{g/ml}$, MIC₉₀が $25\mu\text{g/ml}$ であり, *Acinetobacter* spp. に対するTAZ/PIPCの抗菌活性はMIC₉₀ではPIPCに2倍, CTMには4倍以上勝るものの, CVA/TIPCとは同等, CAZには2倍,

Table 3. Distribution of MICs of tazobactam/piperacillin and other antibiotics against clinically isolated *Proteus* group

Organism	No. of strains	Antibiotic	MICs ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}			
			range	50%	80%	90%
<i>Proteus mirabilis</i> (ABPC ^{b)})	20	TAZ/PIPC	0.2~3.13	0.78	1.56	1.56
		PIPC	12.5~>100	25	100	100
		SBT/CPZ	0.39~3.13	1.56	1.56	1.56
		CTM	0.1~1.56	0.2	0.39	0.78
		CAZ	≤ 0.025 ~0.2	0.05	0.05	0.1
		ABPC	100~>100	>100	>100	>100
<i>Proteus vulgaris</i>	20	TAZ/PIPC	0.2~12.5	0.78	3.13	6.25
		PIPC	0.78~>100	6.25	>100	>100
		SBT/CPZ	0.39~25	1.56	12.5	12.5
		CTM	25~>100	>100	>100	>100
		CAZ	≤ 0.025 ~100	0.1	25	50
		CTX	≤ 0.025 ~>100	0.1	100	>100
<i>Morganella morganii</i>	50	TAZ/PIPC	0.2~6.25	0.78	3.13	3.13
		PIPC	0.78~>100	3.13	50	100
		SBT/CPZ	1.56~6.25	3.13	6.25	6.25
		CTM	1.56~>100	25	>100	>100
		CAZ	≤ 0.025 ~50	0.1	12.5	12.5
		CTX	≤ 0.025 ~50	0.05	6.25	6.25

a): MICs were determined with serial twofold dilutions of the agents in sensitivity test agar.

Bacteria cultured overnight were inoculated onto the agar plates at 10^6 CFU per spot and incubated for 20 h at 36~37°C.

b): ampicillin-resistant *P. mirabilis*

CTX: cefotaxime ABPC: ampicillin

さらにSBT/CPZには4倍劣る結果だった。

5) *Haemophilus* spp., *M.(B.) catarrhalis*

Table 5の上段は*H. influenzae*, 中段は*H. parainfluenzae*, 下段は*M.(B.) catarrhalis*の結果であるが, 3菌種の供試株はすべてが β -ラクタマーゼ産生株である。 β -ラクタマーゼ産生*H. influenzae*に対するTAZ/PIPCのMIC₉₀は0.39 μ g/mlであり, β -ラクタマーゼ産生*H. influenzae*に対するTAZ/PIPCの抗菌活性はMIC₉₀ではCAZに4倍劣るものの, SBT/CPZとは同等, CTMに8倍, PIPCには256倍勝っており, β -ラクタマーゼ産生*H. parainfluenzae*に対するTAZ/PIPCの抗菌活性も上記の*H. influenzae*とほぼ同等だった。一方, β -ラクタマーゼ産生*M.(B.) catarrhalis*に対するTAZ/PIPCのMIC₉₀は0.2 μ g/mlであり, β -ラクタマーゼ産生*M.(B.) catarrhalis*に対するTAZ/PIPCの抗菌活性はMIC₉₀ではCAZとは同等, SBT/CPZに2倍, PIPCおよびCTMには各々32倍勝る結果だった。

2. TAZ+PIPCの試験管内抗菌併用効果

Table 6に*H. influenzae*の結果を, Table 7に*M.(B.) catarrhalis*の結果を示した。

1) *H. influenzae*に対するTAZ+PIPCの抗菌併用効果

供試株は β -ラクタマーゼ産生15株, β -ラクタマーゼ非産生5株である。Table 6の上段はPIPCおよびTAZ単独とTAZ/PIPCのMIC分布, 下段はPIPCにTAZ 0.03~4 μ g/mlを各々添加した希釈系列から得られたMIC分布である。PIPC単独およびTAZ/PIPCのMIC値 $\leq$ 0.06~0.13 μ g/mlを示した5株は β -ラクタマーゼ非産生株, PIPC単独のMIC値 $1 \sim \geq$ 64 μ g/ml, およびTAZ/PIPCのMIC値0.25~1 μ g/mlを示した15株は β -ラクタマーゼ産生株であるが, β -ラクタマーゼ産生株に対するTAZ/PIPCのMIC分布は, PIPCに比較して有意差をもってTAZ/PIPCが勝っていた。しかし, TAZ単独のMICは8~32 μ g/mlに分布しており, β -ラクタマーゼ産生の有無によるMIC分布の大きな差は認められなかった。

一方, PIPCの希釈系列にTAZを添加した結果は, 0.03~0.25 μ g/mlのきわめて低いTAZの濃度存在下において, β -ラクタマーゼ産生株に対する両薬剤の強い併用効果が認められた。

2) *M.(B.) catarrhalis*に対するTAZ+PIPCの抗菌併用効果

供試株は β -ラクタマーゼ産生16株, β -ラクタマーゼ非産生4株である。Table 7の上段はPIPCおよび

Table 4. Distribution of MICs of tazobactam/piperacillin and other antibiotics against clinically isolated glucose-nonfermentative gram-negative rods

Organism	No. of strains	Antibiotic	MICs (μ g/ml) ^{a)}			
			range	50%	80%	90%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30	TAZ/PIPC	0.39 ~ >100	1.56	100	>100
		PIPC	0.39 ~ >100	3.13	100	>100
		CVA/TIPC	1.56 ~ >100	6.25	100	>100
		SBT/CPZ	0.78 ~ >100	3.13	50	>100
		CAZ	0.39 ~ >100	1.56	12.5	25
<i>Pseudomonas cepacia</i>	10	TAZ/PIPC	0.2 ~ 6.25	0.78	0.78	1.56
		PIPC	3.13 ~ 25	6.25	6.25	12.5
		SBT/CPZ	1.56 ~ 25	6.25	12.5	12.5
		CTM	>100	>100	>100	>100
		CAZ	0.39 ~ 6.25	0.78	1.56	1.56
		CTX	6.25 ~ 50	12.5	25	25
<i>Acinetobacter</i> spp.	30 ^{b)}	TAZ/PIPC	1.56 ~ 50	6.25	25	25
		PIPC	6.25 ~ 100	12.5	50	50
		CVA/TIPC	3.13 ~ 50	12.5	25	25
		SBT/CPZ	0.2 ~ 12.5	1.56	3.13	6.25
		CTM	12.5 ~ >100	100	100	>100
		CAZ	1.56 ~ 50	6.25	6.25	12.5

a) MICs were determined with serial twofold dilutions of the agents in sensitivity test agar.

Bacteria cultured overnight were inoculated onto the agar plates at 10⁶ CFU per spot and incubated for 20 h at 36~37°C.

b) A. *baumannii* 18 strains, A. *lwoffii* 8 strains, A. *junii* 4 strains

Table 5. Distribution of MICs of tazobactam/piperacillin and other antibiotics against clinically isolated *Haemophilus* spp. and *Moraxella* subgenus *Branhamella catarrhalis*

Organism	No. of strains	Antibiotic	MICs ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}			
			range	50%	80%	90%
<i>Haemophilus influenzae</i>	50 ^{b)}	TAZ/PIPC	$\leq 0.025 \sim 1.56$	0.2	0.39	0.39
		PIPC	3.13 ~ >100	25	50	100
		SBT/CPZ	$\leq 0.025 \sim 0.78$	0.2	0.39	0.39
		CTM	0.39 ~ 6.25	0.78	1.56	3.13
		CAZ	$\leq 0.025 \sim 0.2$	0.05	0.1	0.1
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	50 ^{b)}	TAZ/PIPC	0.1 ~ 1.56	0.2	0.39	0.78
		PIPC	3.13 ~ >100	25	100	100
		SBT/CPZ	$\leq 0.025 \sim 1.56$	0.2	0.39	0.39
		CTM	0.39 ~ 12.5	1.56	3.13	6.25
		CAZ	$\leq 0.025 \sim 0.78$	0.05	0.1	0.2
<i>Moraxella</i> subgenus <i>Branhamella catarrhalis</i>	70 ^{b)}	TAZ/PIPC	$\leq 0.025 \sim 0.39$	0.05	0.1	0.2
		PIPC	0.1 ~ 50	1.56	6.25	6.25
		SBT/CPZ	$\leq 0.025 \sim 1.56$	0.2	0.39	0.39
		CTM	0.1 ~ 12.5	0.78	3.13	6.25
		CAZ	$\leq 0.025 \sim 0.39$	0.05	0.1	0.2

a): MICs were determined with serial twofold dilutions of the agents in sensitivity test agar supplemented with 5% Fildes enrichment and 10% horse blood.

b): β -lactamase producing strains

Table 6. Distribution of MICs of tazobactam and piperacillin on clinically isolated *Haemophilus influenzae*

No. of strains	Antibiotic	MICs ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}										Test			
		≤ 0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	≥ 64	χ^2 *1	U*2	
20 ^{b)}	PIPC	3	2			1	4	1	1			8	***	**	
	TAZ/PIPC	3	2	4	8	3									
	TAZ								6	8	6				
	PIPC	TAZ, 0.03 $\mu\text{g/ml}$	3	3	1	9	4								
		TAZ, 0.06	4	4	11	1									
		TAZ, 0.13	4	13	3										
		TAZ, 0.25	8	12											
		TAZ, 0.5	12	8											
		TAZ, 1	13	7											
TAZ, 2		16	4												
TAZ, 4	18	2													

a): MICs of the agents in Schaedlers broth (Difco, nicotinamide, vitamin K-1, Fildes extract horse serum and horse cythemolytic added). Bacteria cultured overnight were inoculated onto the micro dilution broth at $10^{5,8}$ CFU per spot and incubated for 22 h at 37°C.

b): β -lactamase producing strains 15, β -lactamase non-producing strains 5

*1: χ^2 test

*2: U test

***: $P < 0.05$, **: $P < 0.001$

TAZ単独とTAZ/PIPCのMIC分布, 下段はPIPCにTAZ 0.03~4 μ g/mlを各々添加した希釈系列から得られたMIC分布である。PIPC単独のMIC値0.13 μ g/mlを示した4株, およびTAZ/PIPCのMIC値0.13 μ g/mlを示した10株中の4株は β -ラクタマーゼ非産生株, PIPC単独のMIC値0.25~2 μ g/mlを示した16株, およびTAZ/PIPCのMIC値0.13 μ g/mlを示した10株中の6株, 同じく0.25~0.5 μ g/mlを示した10株は β -ラクタマーゼ産生株であるが, β -ラクタマーゼ産生株に対するTAZ/PIPCのMIC分布は, PIPCに比較して有意差をもってTAZ/PIPCが勝っていた。しかし, TAZ単独のMICは2~32 μ g/mlに分布しており, β -ラクタマーゼ産生の有無によるMIC分布の大きな差は認められなかった。

一方, PIPCの希釈系列にTAZを添加した結果は, 0.03~0.13 μ g/mlのきわめて低いTAZの濃度存在下において, β -ラクタマーゼ産生株に対する両薬剤の強い併用効果が認められた。

III. 考 察

今回示した我々の検討結果には二つの目的があった。その第一は, 臨床分離株に対するTAZ/PIPCの抗菌活性を知ることであったが, そこでは β -ラクタマー

ゼ産生株を主たる対象とした。そして第二はTAZ+PIPCの試験管内における抗菌併用効果であるが, この実験系においてはTAZの添加濃度を実際臨床におけるTAZの組織移行性等を考慮して設定したことにあった。

第一の目的であった臨床分離株に対するTAZ/PIPCの抗菌活性であるが, この結果は前項で詳細を記述したので, 以下では供試株に対するTAZ/PIPCの抗菌活性の結果をTAZの β -ラクタマーゼ阻害効果から考えてみたい。供試株の中で主としてPCaseを産生していて, それによるPIPCのMIC値が上昇していると考えられる菌種はMSSAと大部分のCNS, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *Haemophilus* spp. であるが¹⁵⁻¹⁸⁾, これらの菌種に対するTAZ/PIPCのMIC値はPIPCのそれに比較して低い方に分布していた。しかし, そこには菌種別にみると両者のMIC分布の差が大きい菌種と比較的小さい菌種があった。両者の差が大きい菌種は*P. mirabilis*, *Haemophilus* spp. であり, 両者の差が比較的小さい菌種は*Staphylococcus* spp., *E. coli*, *K. pneumoniae*である。これらの差はTAZの β -ラクタマーゼ阻害効果と共に, 対象菌種に対するPIPC基本の抗菌力

Table 7. Distribution of MICs of tazobactam and piperacillin on clinically isolated *Moraxella* subgenus *Branhamella catarrhalis*

No. of strains	Antibiotic	MICs (μ g/ml) ^{a)}											Test			
		≤ 0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	≥ 64	χ^2 *1	U*2		
20 ^{b)}	PIPC		4	3	3	5	5							**	**	
	TAZ/PIPC		10	7	3											
	TAZ						10		2	6	2					
	PIPC	TAZ, 0.03 μ g/ml	11	7	2											
		TAZ, 0.06	14	6												
		TAZ, 0.13	17	3												
		TAZ, 0.25	20													
		TAZ, 0.5	20													
		TAZ, 1	20													
TAZ, 2		20														
TAZ, 4	20															

a): MICs of the agents in Schaedlers broth (Difco, nicotinamide, vitamin K-1, Fildes extract horse serum and horse cythemolytic added). Bacteria cultured overnight were inoculated onto the micro dilution broth at $10^{5.8}$ CFU per spot and incubated for 22 h at 37°C.

b): β -lactamase producing strains 16, β -lactamase non-producing strains 4

*1. χ^2 test

*2. U test

** : P < 0.05

が反映していること、さらに*Haemophilus* spp. には、TAZの β -ラクタマーゼ阻害効果と共にTAZとPIPCによる相乗的協力効果も考えられた。

一方、これらの菌種の中にはTAZ/PIPCの抗菌活性が十分に及ばない株も認められた。MRSA、一部の*E. coli*と*K. pneumoniae*がそれである。これらはMRSAにおいては「 β -ラクタマーゼによらない耐性」であることを示唆するものであるが¹⁷⁾、*E. coli*と*K. pneumoniae*には新しいタイプの β -ラクタマーゼが報告されていることから⁷⁾、これらの要因の解明は今後における検討課題と考えられた。

次に供試株の中で主としてCEPaseもしくはCXaseを産生していて、それによるPIPCやセフェム系薬剤のMIC値が上昇していると考えられる菌種は*Enterobacter* spp., *P. vulgaris*, *M. morgani*, *P. aeruginosa*, *P. cepacia*, *Acinetobacter* spp. であるが¹⁵⁻¹⁸⁾、これらの菌種に対するTAZ/PIPCのMIC分布には菌種別の差が認められた。TAZ/PIPCのMIC値が低い方に分布していた菌種は*P. vulgaris*, *M. morgani*, *P. cepacia*であり、TAZ/PIPCのMIC値がPIPCのそれに比較して大きな差が認められなかったのは*Enterobacter* spp., *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. である。これらは、前者においてはTAZの β -ラクタマーゼ阻害スペクトルの広がり報告を支持するものであるが¹⁴⁻⁸⁾、後者の菌種にはTAZの β -ラクタマーゼ阻害効果が弱いことが考えられた。

なお、*M. (B.) catarrhalis*にもTAZ/PIPCの強い抗菌活性が認められたが、*M. (B.) catarrhalis*が産生する β -ラクタマーゼはBRO-1, BRO-2に分類される特異な酵素であることから¹⁹⁾、この菌種に対するTAZの β -ラクタマーゼ阻害効果が認められた意義は大きい。

第二の目的であったTAZ+PIPCの抗菌併用効果は、対象とした β -ラクタマーゼを産生する*H. influenzae*と*M. (B.) catarrhalis*には、共通してTAZのきわめて低い濃度存在下において両薬剤の強い併用効果が認められたが、これらの要因には上述した両薬剤の相乗的協力効果も考えられた。そうしてこの結果は、下気道感染症や化膿性髄膜炎などのように薬剤移行濃度が低い感染症においても、TAZ/PIPCの抗菌力が期待できることを示唆したものと考えられた。

ところで、TAZの構造式は β -lactam環を持つことから、一部の菌種には抗菌力を示すことは上述したが、そこにおけるTAZの主な作用点はpenicillin-binding proteins (PBPs)である。一方、TAZは細菌が産生する β -ラクタマーゼを阻害するが、そこにおいては β -ラクタマーゼの立体構造に影響を与える物質が産生されるために、 β -ラクタマーゼは機能を失い不可逆的に

不活化されてしまう。すなわち、TAZはCVAやSBTと同様に不可逆的自殺型 β -ラクタマーゼ阻害剤 (irreversible suicide type inhibitor) である²⁰⁾。しかし、TAZの β -ラクタマーゼ阻害スペクトルは、CVAとSBTのそれに比較して広いことは我々の示した結果にも認められた⁴⁻⁸⁾。そして、現状における臨床分離株の耐性は β -ラクタマーゼによる割合が高いことを考えるならば¹⁸⁾、TAZ/PIPCが臨床の場に登場することの今日的意義が大きいとの結論に達した。

文 献

- 1) YP-14概要: pp. 1~38, 大鵬薬品工業(株), 1990
- 2) Recent Advances in Chemotherapy: 1273~1275, 14th, Int Congress of Chemotherapy, Tokyo, 1985
- 3) Gutmann L, Kitzis M D, Yamabe S and Acar J F: Comparative evaluation of a new β -lactamase inhibitor, YTR830, combined with different β -lactam antibiotics against bacteria harboring known β -lactamase. Antimicrob Agents Chemother 29: 955~957, 1986
- 4) Evaluation of a new β -lactamase inhibitor, YTR830 combined with cephalosporins: 27th Int Conferens of Antimicrob Agents Chemother New York, 1987
- 5) Kitzis M D, Ferre B, Coutrot A, Acar J F and Gutmann L: *In vitro* activity of combinations of beta-lactam antibiotics with beta-lactamase inhibitors against cephalosporinase-producing bacteria. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 8: 783~788, 1988
- 6) Kobayashi S, Arai S, Hayashi S and Sakaguchi T: *In vitro* effects of β -lactams combined with β -lactamase inhibitors against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 33 (No. 3): P. 1~22, 1989
- 7) Kitzis M D, Billo-Klein D, Goldstein F W, Williamson R, Tran Van Nhieu G, Carlet J, Acar J F and Gutmann L: Dissemination of the novel plasmid-mediated β -lactamase CTX-1 which confers resistance to broad-spectrum cephalosporins and its inhibition by β -lactamase inhibitors. Antimicrob Agents Chemother 32: 9~14, 1988
- 8) Coleman K, Griffin R J D, Page W J, Upshon A P: *In vitro* evaluation of BRL42715, a Novel β -

- lactamase inhibitor, *Antimicrob Agents Chemother* 33: 1580~1587, 1989
- 9) 日本化学療法学会編集委員会：化学療法用語集，微生物名。1. 細菌名。Chemotherapy 39: 109~130, 1991
 - 10) 出口浩一：日常診療で検出される主な細菌名(学名)とその解説。(株)ユニオンエース，東京，1992
 - 11) 日本細菌学会用語委員会：(英和，和英)微生物学用語集第4版。2. 細菌学名。pp. 333~428，(株)菜根出版，1992
 - 12) 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度(MIC)測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
 - 13) 日本化学療法学会：微量液体希釈法によるMIC測定法(微量液体希釈法)。Chemotherapy 38: 103~105, 1990
 - 14) 出口浩一，横田のぞみ，古口昌美，中根 豊，深山成美，西村由起子，小田清次：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌に対するcefuzonamとarbekacinの抗菌併用作用。—微量液体希釈法を応用した成績—。Chemotherapy 37: 744~749, 1989
 - 15) Richmond M H and Sykes R B: The β -lactamases of Gram-negative bacteria and their possible physiological role. In *Arance in Microbial Physiology* (Rose A H, Tempest P W eds). Academic Press, London 9: 31~88, 1973
 - 16) 五島瑳智子，辻 明良： β -ラクタム系抗生物質と β -ラクタマーゼ。検査と技術 9: 464~471, 1981
 - 17) 出口浩一，横田のぞみ，古口昌美，深山成美，西村由起子，中根 豊，小田清次，田中節子，加藤三枝子，佐藤久美子，福本寅雄：新鮮臨床分離株に対するSulbactam/Cefoperazoneの抗菌力。Jap J Antibiotics 40: 1752~1761, 1987
 - 18) 三橋 進，井上松久，岡本了一，宇津井幸男，平岡聖樹：(β -ラクタム系薬の)耐性機序。 β -ラクタム系薬(上田 泰，清水喜八郎編)pp. 32~47，南江堂，東京，1987
 - 19) Wallace R J Jr, Steingrube V A, Nash D R, Hollis D G, Flanagan C, Brown B A, Labidi A and Weaver R E: BRO β -lactamases of *Branhamella catarrhalis* and *Moraxella subgenus Moraxella*, including evidence for chromosomal β -lactamase transfer by conjugation in *B. catarrhalis*, *M. nonliquefaciens* and *M. lacunata*. *Antimicrob Agents Chemother* 33: 1845~1854, 1989
 - 20) Hamilton C W, Romankiewicz J A and Labia R: Understanding and management of antibiotic resistance in β -lactamase Inhibition-Concepts and therapeutic implications (Labia R ed). *Advanced Therapeu Commun Inc*, New Jersey, pp. 7~34, 1984

Antibacterial activity of tazobactam/piperacillin and effect of tazobactam combined with piperacillin against clinical isolates

Koichi Deguchi, Nozomi Yokota, Masami Koguchi, Yumiko Suzuki, Shigemi Fukayama
and Rika Ishihara

Section of Studies, Tokyo Clinical Research Center
14-4, Senjunakamachi, Adachi-ku, Tokyo, 120, Japan

The antibacterial activity of tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC) was determined, and the *in vitro* antibacterial activity of tazobactam (TAZ) and piperacillin (PIPC) in combination against recent clinical isolates was studied.

The following results were obtained:

1. The antibacterial activity of TAZ/PIPC was greatest mainly against penicillinase-producing strains. We studied the effects of TAZ, a β -lactamase inhibitor, and the synergistic effects of TAZ and PIPC against β -lactamase-producing *Haemophilus* spp.

The antibacterial activity of TAZ/PIPC was strong against cephalosporinase or oxyiminocephalosporinase producing *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii* and *Pseudomonas cepacia*. It was suggested that the inhibitory spectrum of TAZ was expanded against these β -lactamase-producing bacteria.

2. The antibacterial activity of the combination of TAZ and PIPC against β -lactamase-producing *Haemophilus influenzae* and *Moraxella* subgenus *Branhamella catarrhalis* was strong at the very low TAZ concentration of 0.03~0.25 $\mu\text{g/ml}$.