

Tazobactam/piperacillin の腸内細菌叢におよぼす影響

—小児科臨床例における検討—

岩田 敏¹⁾・上牧 勇¹⁾・磯畑 栄一²⁾・金 慶彰²⁾・横田 隆夫²⁾・楠本 裕²⁾
佐藤 吉壮³⁾・秋田 博伸²⁾・南里清一郎²⁾・老川 忠雄²⁾・砂川 慶介³⁾

¹⁾ 国立霞ヶ浦病院小児科・

²⁾ 慶応義塾大学医学部小児科学教室

³⁾ 国立東京第二病院小児科

(平成 7 年 11 月 7 日受付・平成 8 年 2 月 21 日受理)

新しい β -lactamase 阻害剤の tazobactam (TAZ) と注射用ペニシリン系抗生物質の piperacillin (PIPC) を力価比 1:4 に配合した新しい注射用配合剤である tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC) について、小児臨床例の腸内細菌叢におよぼす影響を検討した。対象は感染症で入院した小児 5 例 (男児 2 例, 女児 3 例, 年齢 4 か月~9 歳 10 か月, 体重 8.14~28.0 kg) で、TAZ/PIPC を 1 回 43~53.6 mg/kg, 1 日 4 回, 5~15 日間静脈内投与し、投与前, 中, 後の糞便を採取して、糞便 1 g 中に含まれる各種細菌の同定および菌数計算を行った。同時に糞便中の TAZ および PIPC 濃度, β -lactamase 活性および *Clostridium difficile* D-1 抗原の測定も行った。TAZ/PIPC 投与中の糞便内細菌叢の変動は症例により若干のばらつきが認められたが、主要な好気性菌のうち Enterobacteriaceae は全症例で投与中に減少する傾向が認められ、5 例中 3 例では検出限界以下まで著明に減少した。Enterococcus も 5 例中 3 例で投与中に検出限界以下まで減少し、残りの 2 例でも属内での菌交代が認められた。その結果好気性菌総数は 1 例で著明な減少が、1 例で軽度の減少がそれぞれ認められた。嫌気性菌では優勢菌種である Bifidobacterium, Eubacterium, Bacteroides が投与中著明に減少し、その結果嫌気性菌総数が著明に減少した症例が 3 例認められたが、これらの症例はいずれも乳幼児例であった。ブドウ糖非醗酵性グラム陰性桿菌は 1 例で、真菌は 4 例で、Bacillus は 4 例でそれぞれ投与中に増加する傾向が認められ、Enterobacteriaceae, Enterococcus, 主要嫌気性菌のいずれもが著明に減少した乳幼児の 2 例では下痢が認められ、Candida が投与中の最優勢菌種となっていた。C. difficile および C. difficile D-1 抗原はそれぞれ 1 例および 2 例で検出されたが、その消長と便性に関連性はなかった。糞便中の TAZ は 1 例で投与中の検体から検出され、その濃度は 27.4~41.8 μ g/g であった。一方糞便中の PIPC は腸内細菌叢の変動の大きかった乳幼児例 3 例で投与中の検体から検出され、その濃度は 34.7~238 μ g/g であった。糞便中 β -lactamase 活性は 4 例で投与前に陽性を示したが、このうち 3 例では投与中に陰性化した。以上の成績から、TAZ/PIPC は小児の腸内細菌叢におよぼす影響が大きい薬剤と考えられ、使用する場合には下痢や菌交代に注意する必要がある。

Key words : tazobactam/piperacillin, β -ラクタム系抗生物質, β -lactamase 阻害剤, 腸内細菌叢, 小児科領域

最近の抗生物質の開発には目覚ましいものがあり、感染症の治療に大きく貢献しているが、一方では、抗生物質が常在細菌叢にも影響をおよぼし、菌交代や副作用発現などの結果を引き起こすこともあって、問題となっている。我々はこうした点に注目して、腸内細菌叢に対する各種抗生物質の影響を検討してきたが^{1)~12)}、今回新しい β -lactamase 阻害剤の tazobactam (TAZ) と注射用ペニシリン系抗生物質の piperacillin (PIPC) を力価比 1:4 に配合した新しい注射用配合剤である tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC) (Fig.

1) について、小児臨床例の腸内細菌叢におよぼす影響を検討したので報告する。

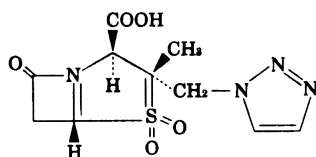
I. 対象および方法

1. 対象および投与方法

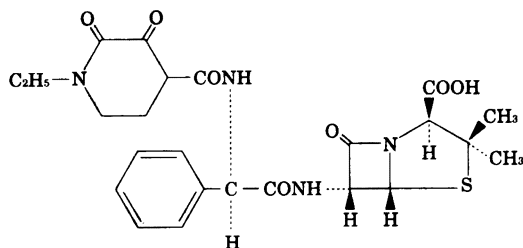
対象は 1993 年 8 月から 1994 年 3 月までの 8 か月間に国立霞ヶ浦病院小児科に感染症で入院した小児のうち、感染治療の目的で TAZ/PIPC が適応と考えられた小児 5 例で、男児 2 例, 女児 3 例, 年齢は 4 か月から 9 歳 10 か月, 体重は 8.14~28.0 kg であった。疾患の

Table 1. Patient backgrounds and method of tazobactam/piperacillin administration

Case no.	Sex	Age	Body weight (kg)	Diagnosis	Daily dose (mg/kg×times)
				complication	duration (days)
1	M	0 y 4 m	8.14	pyelonephritis	49×4
				(-)	9
2	F	1 y 9 m	11.5	pneumonia	43×4
				immunodeficiency syndrome bronchiectasis	5 (4 3/4)
3	F	4 y 0 m	17	pyelonephritis	51×4
				(-)	15 (14 2/4)
4	M	6 y 3 m	16	pneumonia otitis media	50×4
				febrile convulsion speech retardation	8 (7 2/4)
5	F	9 y 10 m	28	pneumonia	53.6×4
				bronchial asthma	8 (7 1/4)



Tazobactam (TAZ)



Piperacillin (PIPC)

Fig. 1. Chemical structure of tazobactam and piperacillin.

内訳は肺炎 2 例, 肺炎および中耳炎 1 例, 尿路感染症 2 例であった。3 例では抗菌薬の前投与は行われていなかったが, 症例 2 では cefixime が, 症例 4 では cephalexin がそれぞれ前投与されていた。投与方法は TAZ/PIPC 1 回 43~53.6 mg/kg を 1 日 4 回静脈内投与し, 投与期間は 5~15 日間とした。各症例の性, 年齢, 体重, 疾患名, 1 日投与量および投与期間を Table 1 に示した。

なお TAZ/PIPC の使用にあたっては, 保護者に試験の内容を説明し同意を得るとともに, 投与にさきだけ TAZ/PIPC 皮内反応試験を実施し, 陰性であることを確認した。

2. 検体および検査方法

TAZ/PIPC 投与開始後, 連日糞便の性状を観察し, 投与前, 中, 後の糞便を採取して, 糞便 1 g 中に含まれ

る各種細菌の分離・同定および菌数計算を行った。同時に TAZ および PIPC の糞便中濃度, 糞便中 β -lactamase 活性および *Clostridium difficile* D-1 抗原の測定を行った。

糞便は排泄後ただちにケンキポーター (クリニカル サプライ社) に採集し, ラップで蓋をした後, 嫌気ガスがケンキポーター内に入るように空気孔を開け, バイオバック (Marion Scientific 社) に封入して, 嫌気状態で 4℃ で保存した。糞便中細菌の分離・同定および菌数計算は, 検体採取後 24 時間以内に行った。また, 薬剤濃度測定用の検体は, 採取後 -20℃ 以下で冷凍保存し測定に供した。

各検査法の詳細は下記のとおりである。

1) 糞便中細菌の分離・同定および菌数測定方法

採取した糞便を嫌気性培養装置 (Anaerobic System Mode 1024, Forma Scientific 社) 内で 1 g 秤量し, Table 2 に示した光岡の希釈液¹²⁾ 9 ml を加えて十分に混和した後, この液を用いて 10 倍希釈系列を作成し検液とした。これを装置外へ取り出し, Table 3 に示した各平板培地上に 0.1 ml ずつ正確に滴下し, コンラージ棒で十分に塗抹した。Table 3 の平板培地のうち Trypticase soy agar, BL agar, EG agar には 5% 馬繊維血を, Kanamycin CW, agar には 10% Egg Yolk をそれぞれ添加して使用した。また嫌気性菌用の平板培地は作製後 24~48 時間嫌気的条件下に保存して還元処理した後に使用した。好気性菌は 35℃, 24~48 時間,

Table 2. Composition of T. Mitsuoka dilution

KH ₂ PO ₄	4.5 g
Na ₂ HPO ₄	6.0 g
L-Cysteine · HCl · H ₂ O	0.5 g
Tween 80	0.5 g
Agar	1.0 g
Distilled water	1.0 L

Table 3. Bacteriological medium

Aerobes
Trypticase soy agar (BBL)
CLED medium (OXOID)
Mannitol salt agar (Nissui)
EF agar (Nissui)
NAC agar (Eiken)
Candida agar (Nissui)
Anaerobes
BL agar (Nissui)
EG agar (Nissui)
BBE agar (Kyokuto)
FM modified agar (Nissui)
Kanamycin CW agar (Nissui)
Vancomycin Veillonella agar (Difco)
CCFA (OXOID)
LBS modified agar (BBL)

嫌気性菌は嫌気性培養装置内で 35℃, 48 時間～1 週間培養後、同定および菌数計算を行った。細菌の同定は Manual of clinical microbiology 5th ed.¹⁴⁾ に従い、平板培地上の集落形態、グラム染色標本の鏡検、好気的条件下における発育試験および各種生化学的性状試験により行い、嫌気性菌については、必要に応じて細菌の産生する脂肪酸をガスクロマトグラフィーで分析し、同定の確認を行った。菌数計算は平板培地上の集落数をマニュアルコロニーカウンター MC-707 (メディコ社) で測定し、糞便 1 g 中の菌数として示した。

2) 糞便中薬剤濃度の測定

糞便中濃度測定は三菱油化 (現三菱化学) BCL において高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて行った。分離カラムは Inertsil ODS-2, 5 μ m, 4.6 mm I. D. \times 150 mm を用い、移動層はアセトニトリル/0.01 M リン酸緩衝液 (pH 5.5) とし、内部標準はベンジルペニシリンカリウムとし、流速は 1.5 ml/min, UV 220 nm にて検出した。前処理として糞便 1 g を秤量し、ホモジネート液 (エタノール/1% リン酸緩衝液) を 4 ml, ガラスビーズ 2 g を加え、ダイレクトミックス TS-100 (サーマル化学産業) で 5 分間継続攪拌後、4℃, 10,000 r. p. m., 10 分間遠心分離後、上清をメンブランフィルターで濾過した。上清 0.5 ml に 0.1 M リン酸水素カリウム液を 2 ml 加え検液とした。

3) 糞便中 β -lactamase 活性の測定

糞便 1 g を秤量し、9 ml の 0.05 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) を加えてよく攪拌し、4℃, 10,000 r. p. m., 20 分間遠心分離後、上清を 0.45 μ m の Millex フィルター HA (ミリポア) で濾過し、その濾液を検液として用いた。検液 0.5 ml とニトロセフィン溶液 (500 μ g/ml) 0.1 ml を反応させ、10 分間で黄色から赤色に変化したものを陽性とした。

4) *C. difficile* D-1 抗原の検出

C. difficile D-1 抗原の検出は、糞便に等量の 0.1 M

トリス塩酸緩衝液 (pH 8.0) を加えてよく攪拌し、4℃, 10,000 r. p. m., 20 分間遠心分離後、上清を 0.45 μ m の Millex フィルター HA (ミリポア) で濾過し、その濾液を検液として用いた。D-1 抗原の検出は、D-1 ラテックス試薬 (ダイヤトロン社) を用いたラテックス凝集法により行った。判定は精製した *C. difficile* D-1 抗原; 0, 125, 250, 500, 1,000, 2,000 ng/ml をそれぞれ抗原として作製したコントロールと比較し、0 ng/ml および 125 ng/ml を (-), 250 ng/ml を (\pm), 500 ng/ml を (+), 1,000 ng/ml および 2,000 ng/ml を (2+) として半定量した。

II. 成 績

1. 便性および消化器症状

TAZ/PIPC を投与した 5 例中 2 例 (症例 1, 3) に中等度から重度の下痢 (水様便) が認められたが、止痢剤もしくは生菌剤を併用して投与を続けることができ、投与終了後に消失した。また、嘔吐、腹痛などの消化器症状は認められなかった。

2. 腸内細菌叢の変動

5 例の糞便 1 g 中の細菌の変動を Tables 4～8 および Figs. 2～6 に示した。症例により、菌種、菌数の変動には若干のばらつきがみられたが、各症例の TAZ/PIPC 投与中の好気性菌総数についてみると、症例 1 で著明な減少が、症例 4 で一過性の中等度の減少がそれぞれ認められた。一方嫌気性菌総数については症例 1, 2, 3 で著明な減少が、症例 5 で軽度の減少がそれぞれ認められた。

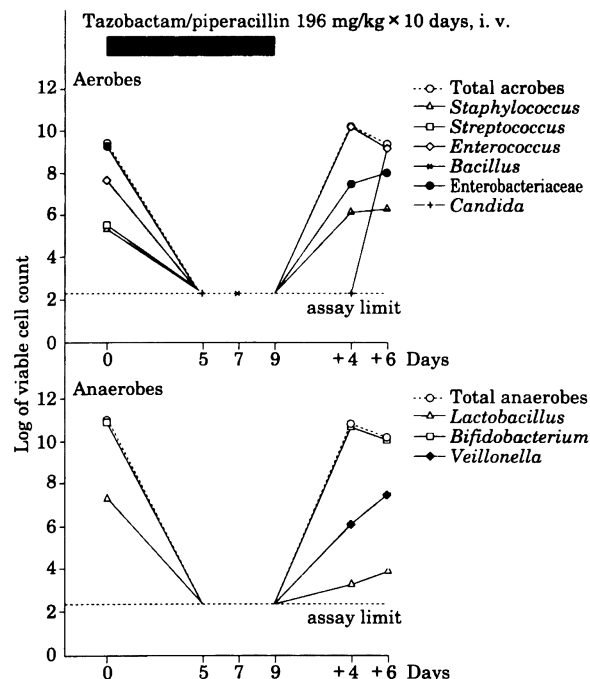


Fig. 2. Changes in viable fecal cells following administration of tazobactam/piperacillin (Case 1, 0 y 4 m, male, Pyelonephritis).

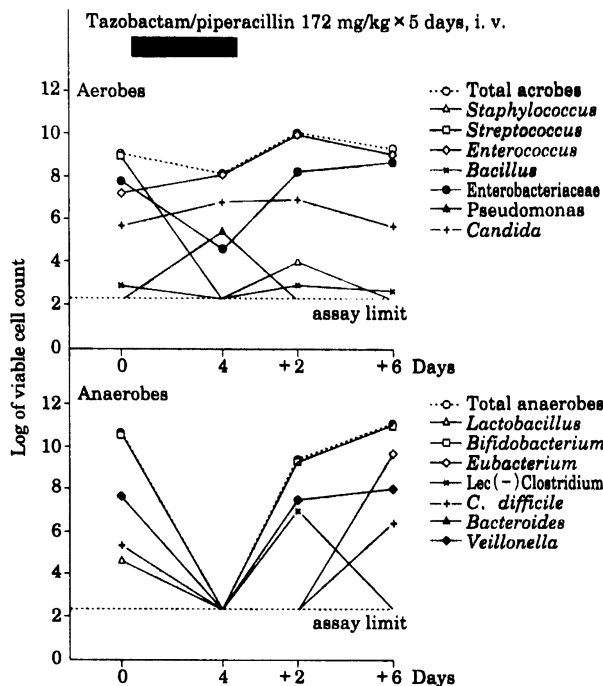


Fig. 3. Changes in viable fecal cells following administration of tazobactam/piperacillin (Case 2, 1 y 9 m, female, Pneumonia).

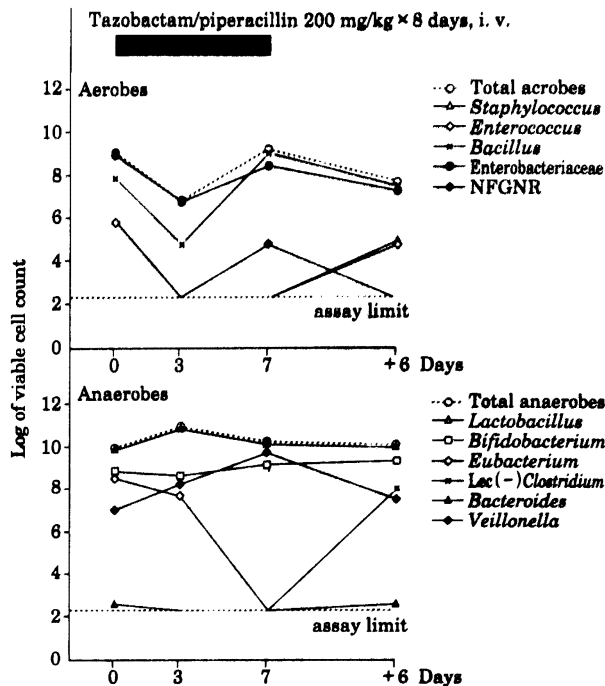


Fig. 5. Changes in viable fecal cells following administration of tazobactam/piperacillin (Case 4, 6 y 3 m, male, Pneumonia and Otitis media).

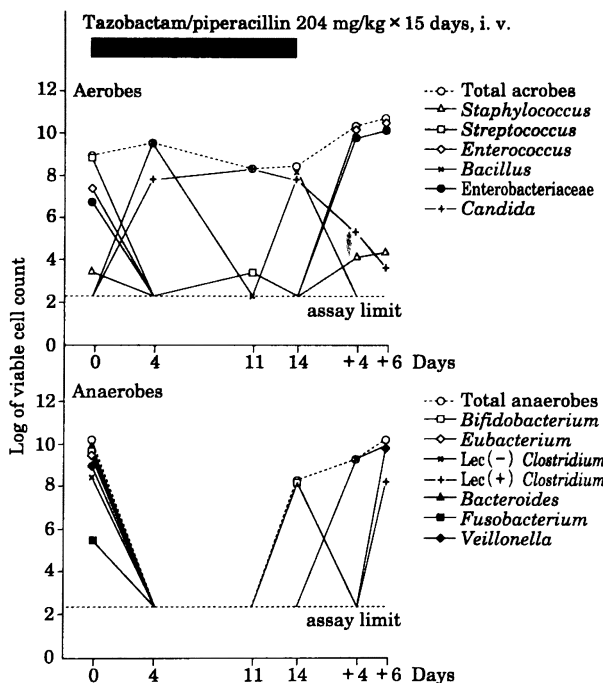


Fig. 4. Changes in viable fecal cells following administration of tazobactam/piperacillin (Case 3, 4 y 0 m, female, Pyelonephritis).

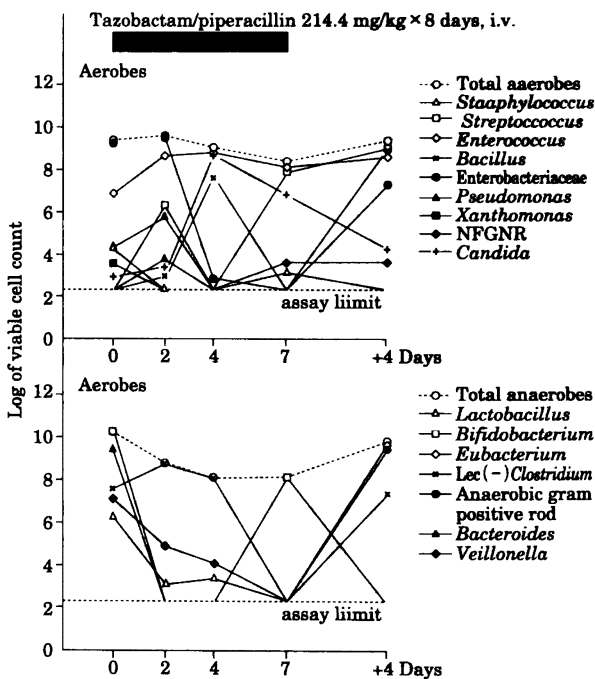


Fig. 6. Changes in viable fecal cells following administration of tazobactam/piperacillin (Case 5, 9 y 10 m, female, Pneumonia).

菌種別の変動をみると、好気性菌の主要菌種である *Escherichia coli* をはじめとする *Enterobacteriaceae* は、すべての症例で投与中に減少する傾向が認められ、症例 1, 3, 5 では著明な減少が、症例 2, 4 では中等度の減少がそれぞれ認められた。*Enterococcus* は、症例 1, 3,

4 で投与中著明に減少し、症例 2, 5 においても、*Enterococcus avium* が検出限界以下となり *Enterococcus faecium* が増加するなど属内での菌交代が認められた。少数菌である *Staphylococcus* は症例 1, 3, 5 で投与前に検出されていたが、いずれの症例においても投与中に

Table 4. Fecal microflora, concentration of tazobactam/piperacillin (TAZ and PIPC) and β -lactamase activity in feces before, during and after administration of tazobactam/piperacillin (Case 1)

Counts of organisms*	Case 1					
	day of study					
	0	5	7	9	+4	+6
Aerobes						
<i>Staphylococcus</i> sp.	2.8×10^4				1.1×10^4	2.1×10^4
<i>S. aureus</i>	2.0×10^4				8.0×10^4	5.8×10^4
<i>S. epidermidis</i>					9.8×10^4	1.0×10^5
Coagulase (-) <i>Staphylococcus</i>	8.0×10^4				6.0×10^4	5.6×10^4
<i>Streptococcus</i> sp.	3.2×10^4					1.2×10^5
α -Haemolytic <i>Streptococcus</i>						1.2×10^5
γ -Haemolytic <i>Streptococcus</i>	3.2×10^4					
Group D <i>Streptococcus</i>						
<i>Enterococcus</i> sp.	4.0×10^7				1.4×10^{10}	1.2×10^9
<i>E. faecalis</i>						
<i>E. faecium</i>	4.0×10^7				1.4×10^{10}	1.2×10^9
<i>E. avium</i>						
<i>Bacillus</i> sp.			2.0×10^4			
Enterobacteriaceae	2.2×10^4				2.4×10^7	6.1×10^7
<i>E. coli</i>	2.2×10^4				2.4×10^7	6.0×10^7
<i>C. freundii</i>						
<i>K. pneumoniae</i>	1.8×10^4					8.0×10^4
<i>K. oxytoca</i>						
<i>E. cloacae</i>					1.6×10^4	6.0×10^4
<i>Pseudomonas</i> sp.						
<i>P. aeruginosa</i>						
<i>P. putida</i>						
Other <i>Pseudomonas</i>						
<i>X. maltophilia</i>						
NFGNR						
<i>Candida</i> sp.		2.0×10^2			2.0×10^4	
<i>C. albicans</i>					2.0×10^4	
<i>C. glabrata</i>						
Other <i>Candida</i>		2.0×10^4				
Total count of aerobes	2.2×10^4	2.0×10^4	2.0×10^4	$< 2.0 \times 10^4$	1.4×10^{10}	2.5×10^9
Anaerobes						
<i>Lactobacillus</i> sp.	2.2×10^7				2.2×10^4	7.6×10^4
<i>Bifidobacterium</i> sp.	8.8×10^{10}				3.8×10^{10}	1.0×10^{10}
<i>Eubacterium</i> sp.						
<i>Clostridium</i> sp.						
Lec (-) <i>Clostridium</i>						
Lec (+) <i>Clostridium</i>						
<i>C. difficile</i>						
Anaerobic gram positive rod						
<i>Bacteroides fragilis</i> group						
<i>B. fragilis</i>						
<i>B. distasonis</i>						
<i>B. thetaiotaomicron</i>						
<i>B. vulgatus</i>						
<i>B. uniformis</i>						
<i>Fusobacterium</i> sp.						
<i>Veillonella</i> sp.					1.1×10^6	2.6×10^7
Total count of anaerobes	8.8×10^{10}	$< 2.0 \times 10^2$	$< 2.0 \times 10^2$	$< 2.0 \times 10^2$	3.8×10^{10}	1.0×10^{10}
Concentration of TAZ in feces ($\mu\text{g/g}$)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Concentration of PIPC in feces ($\mu\text{g/g}$)	ND	61.6	83.8	158	ND	ND
β -lactamase activity in feces	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>C. difficile</i> D-1 antigen	NT	(-)	(-)	(-)	NT	NT

*Viable cells count per gram of feces, NFGNR: Glucose-nonfermentative gram-negative rods, Lec (-): Lecithinase-negative, Lec (+):

Lecithinase-positive, ND: Not detected, NT: Not tested

TAZ: tazobactam, PIPC: piperacillin

Table 5. Fecal microflora, concentration of tazobactam/piperacillin (TAZ and PIPC) and β -lactamase activity in feces before, during and after administration of tazobactam/piperacillin (Case 2)

Counts of organisms*	Case 2			
	day of study			
	0	4	+2	+6
Aerobes				
<i>Staphylococcus</i> sp.			1.0×10^4	
<i>S. aureus</i>			2.4×10^3	
<i>S. epidermidis</i>			8.0×10^3	
Coagulase (-) <i>Staphylococcus</i>				
<i>Streptococcus</i> sp.	1.0×10^4			
α -Haemolytic <i>Streptococcus</i>	1.0×10^4			
γ -Haemolytic <i>Streptococcus</i>				
Group D <i>Streptococcus</i>				
<i>Enterococcus</i> sp.	1.6×10^7	1.4×10^4	1.0×10^{10}	1.2×10^8
<i>E. faecalis</i>				
<i>E. faecium</i>		1.4×10^4	8.4×10^3	8.0×10^3
<i>E. avium</i>	1.6×10^7		2.0×10^3	4.0×10^3
<i>Bacillus</i> sp.	8.0×10^3		8.0×10^3	4.0×10^3
Enterobacteriaceae	6.0×10^7	4.0×10^4	1.8×10^4	5.5×10^3
<i>E. coli</i>	6.0×10^7	2.0×10^4	1.8×10^3	4.0×10^3
<i>C. freundii</i>		2.0×10^4		1.4×10^7
<i>K. pneumoniae</i>				1.4×10^3
<i>K. oxytoca</i>				
<i>E. cloacae</i>				
<i>Pseudomonas</i> sp.		2.6×10^3		
<i>P. aeruginosa</i>		2.6×10^3		
<i>P. putida</i>				
Other <i>Pseudomonas</i>				
<i>X. maltophilia</i>				
NFGNR				
<i>Candida</i> sp.	5.0×10^3	6.0×10^3	8.0×10^3	4.2×10^3
<i>C. albicans</i>	5.0×10^3	6.0×10^3	8.0×10^3	8.0×10^3
<i>C. glabrata</i>				
Other <i>Candida</i>				3.4×10^3
Total count of aerobes	1.1×10^9	1.5×10^8	1.1×10^{10}	1.8×10^9
Anaerobes				
<i>Lactobacillus</i> sp.	4.0×10^4			
<i>Bifidobacterium</i> sp.	4.6×10^{10}		2.8×10^3	1.1×10^{11}
<i>Eubacterium</i> sp.				6.0×10^3
<i>Clostridium</i> sp.	2.2×10^3		1.0×10^7	2.6×10^3
Lec (-) <i>Clostridium</i>			1.0×10^7	
Lec (+) <i>Clostridium</i>				
<i>C. difficile</i>	2.2×10^3			2.6×10^3
Anaerobic gram positive rod				
<i>Bacteroides fragilis</i> group				
<i>B. fragilis</i>				
<i>B. distasonis</i>				
<i>B. thetaiotaomicron</i>				
<i>B. vulgatus</i>				
<i>B. uniformis</i>				
<i>Fusobacterium</i> sp.				
<i>Veillonella</i> sp.	5.0×10^7		3.2×10^7	1.2×10^8
Total count of anaerobes	4.6×10^{10}	$< 2.0 \times 10^3$	2.8×10^3	1.2×10^{11}
Concentration of TAZ in feces ($\mu\text{g/g}$)	ND	ND	ND	35.5
Concentration of PIPC in feces ($\mu\text{g/g}$)	ND	34.7	ND	53.5
β -lactamase activity in feces	(+)	(-)	(+)	(+)
<i>C. difficile</i> D-1 antigen	(++)	(-)	(-)	(++)
	1,000 ng/g			1,000 ng/g

*Viable cells count per gram of feces, NFGNR: Glucose-nonfermentative gram-negative rods, Lec (-): Lecithinase-negative, Lec (+):

Lecithinase-positive, ND: Not detected

TAZ: tazobactam, PIPC: piperacillin

Table 6. Fecal microflora, concentration of tazobactam/piperacillin (TAZ and PIPC) and β -lactamase activity in feces before, during and after administration of tazobactam/piperacillin (Case 3)

Counts of organisms*	Case 3					
	day of study					
	0	4	11	14	+4	+6
Aerobes						
<i>Staphylococcus</i> sp.	2.6×10^4				1.1×10^4	2.0×10^4
<i>S. aureus</i>	4.0×10^4					
<i>S. epidermidis</i>	2.2×10^4					2.0×10^4
Coagulase (-) <i>Staphylococcus</i>					1.1×10^4	
<i>Streptococcus</i> sp.	6.6×10^4		2.0×10^5			
α -Haemolytic <i>Streptococcus</i>						
γ -Haemolytic <i>Streptococcus</i>	6.0×10^4		2.0×10^5			
Group D <i>Streptococcus</i>	6.0×10^7					
<i>Enterococcus</i> sp.	2.0×10^7				1.1×10^{10}	2.8×10^{10}
<i>E. faecalis</i>					6.0×10^8	1.2×10^9
<i>E. faecium</i>						3.2×10^7
<i>E. avium</i>	2.0×10^7				1.0×10^{10}	2.7×10^{10}
<i>Bacillus</i> sp.		3.0×10^9	2.0×10^2	1.6×10^8		
Enterobacteriaceae	5.7×10^8				5.4×10^9	1.3×10^{10}
<i>E. coli</i>	5.6×10^8					7.0×10^9
<i>C. freundii</i>					2.2×10^9	2.6×10^9
<i>K. pneumoniae</i>	1.2×10^8				2.0×10^8	3.4×10^8
<i>K. oxytoca</i>					1.2×10^9	
<i>E. cloacae</i>						
<i>Pseudomonas</i> sp.						
<i>P. aeruginosa</i>						
<i>P. putida</i>						
Other <i>Pseudomonas</i>						
<i>X. maltophilia</i>						
NFGNR						
<i>Candida</i> sp.		6.2×10^7	1.8×10^8	5.6×10^7	1.7×10^8	3.4×10^8
<i>C. albicans</i>			6.0×10^2			
<i>C. glabrata</i>		6.2×10^7	1.8×10^8	5.6×10^7	1.6×10^8	3.4×10^8
Other <i>Candida</i>					7.6×10^3	
Total count of aerobes	6.9×10^8	3.1×10^9	1.8×10^8	2.2×10^8	1.6×10^{10}	4.1×10^{10}
Anaerobes						
<i>Lactobacillus</i> sp.						
<i>Bifidobacterium</i> sp.	3.4×10^8			1.4×10^8		
<i>Eubacterium</i> sp.	2.0×10^8					
<i>Clostridium</i> sp.	2.4×10^8				1.2×10^8	6.7×10^8
Lec (-) <i>Clostridium</i>	2.4×10^8				1.2×10^8	6.6×10^8
Lec (+) <i>Clostridium</i>						1.3×10^8
<i>C. difficile</i>						
Anaerobic gram positive rod						
<i>Bacteroides fragilis</i> group	6.0×10^9					
<i>B. fragilis</i>						
<i>B. distasonis</i>						
<i>B. thetaiotaomicron</i>						
<i>B. vulgatus</i>	3.4×10^9					
<i>B. uniformis</i>	2.6×10^9					
<i>Fusobacterium</i> sp.	2.4×10^8					
<i>Veillonella</i> sp.	8.0×10^8					4.0×10^9
Total count of anaerobes	1.2×10^{10}	$< 2.0 \times 10^2$	$< 2.0 \times 10^2$	1.4×10^8	1.2×10^9	1.1×10^{10}
Concentration of TAZ in feces ($\mu\text{g/g}$)	ND	ND	41.8	27.4	ND	ND
Concentration of PIPC in feces ($\mu\text{g/g}$)	ND	55.7	156	238	ND	31.5
β -lactamase activity in feces	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
<i>C. difficile</i> D-1 antigen	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

*Viable cells count per gram of feces, NFGNR: Glucose-nonfermentative gram-negative rods, Lec (-): Lecithinase-negative, Lec (+):

Lecithinase-positive, ND: Not detected

TAZ: tazobactam, PIPC: piperacillin

Table 7. Fecal microflora, concentration of tazobactam/piperacillin (TAZ and PIPC) and β -lactamase activity in feces before, during and after administration of tazobactam/piperacillin (Case 4)

Counts of organisms*	Case 4			
	day of study			
	0	3	7	+8
Aerobes				
<i>Staphylococcus</i> sp.				8.0×10^4
<i>S. aureus</i>				
<i>S. epidermidis</i>				8.0×10^4
Coagulase (-) <i>Staphylococcus</i>				
<i>Streptococcus</i> sp.				
α -Haemolytic <i>Streptococcus</i>				
γ -Haemolytic <i>Streptococcus</i>				
Group D <i>Streptococcus</i>				
<i>Enterococcus</i> sp.	6.8×10^5			6.3×10^4
<i>E. faecalis</i>	2.0×10^4			8.0×10^4
<i>E. faecium</i>	6.6×10^5			5.5×10^4
<i>E. avium</i>				
<i>Bacillus</i> sp.	8.0×10^7	6.0×10^4	1.4×10^5	2.8×10^7
Enterobacteriaceae	1.1×10^9	6.0×10^8	3.0×10^9	1.7×10^7
<i>E. coli</i>	1.1×10^9	6.0×10^8	3.0×10^9	1.5×10^7
<i>C. freundii</i>				
<i>K. pneumoniae</i>				2.0×10^8
<i>K. oxytoca</i>				
<i>E. cloacae</i>				
<i>Pseudomonas</i> sp.				
<i>P. aeruginosa</i>				
<i>P. putida</i>				
Other <i>Pseudomonas</i>				
<i>X. maltophilia</i>				
NFGNR			6.0×10^4	
<i>Candida</i> sp.				
<i>C. albicans</i>				
<i>C. glabrata</i>				
Other <i>Candida</i>				
Total count of aerobes	1.2×10^9	6.1×10^8	1.7×10^9	4.5×10^7
Anaerobes				
<i>Lactobacillus</i> sp.	4.0×10^3			4.0×10^3
<i>Bifidobacterium</i> sp.	8.0×10^8	5.4×10^8	1.6×10^9	2.2×10^9
<i>Eubacterium</i> sp.	4.0×10^8	6.0×10^7		
<i>Clostridium</i> sp.				1.0×10^8
Lec (-) <i>Clostridium</i>				1.0×10^8
Lec (+) <i>Clostridium</i>				
<i>C. difficile</i>				
Anaerobic gram positive rod				
<i>Bacteroides fragilis</i> group	8.2×10^9	8.8×10^{10}	1.2×10^{10}	9.2×10^9
<i>B. fragilis</i>		2.0×10^{10}	1.4×10^9	
<i>B. distasonis</i>		6.8×10^{10}	1.0×10^9	4.0×10^8
<i>B. thetaiotaomicron</i>	2.2×10^9		4.0×10^9	8.8×10^9
<i>B. vulgatus</i>	6.0×10^9		6.0×10^9	
<i>B. uniformis</i>				
<i>Fusobacterium</i> sp.				
<i>Veillonella</i> sp.	1.2×10^7	2.0×10^8	5.2×10^9	3.4×10^7
Total count of anaerobes	9.4×10^9	8.9×10^{10}	1.9×10^{10}	1.2×10^{10}
Concentration of TAZ in feces ($\mu\text{g/g}$)	ND	ND	ND	ND
Concentration of PIPC in feces ($\mu\text{g/g}$)	ND	ND	ND	ND
β -lactamase activity in feces	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>C. difficile</i> D-1 antigen	(-)	(-)	(-)	(-)

*Viable cells count per gram of feces, NFGNR: Glucose-nonfermentative gram-negative rods, Lec (-): Lecithinase-negative, Lec (+):

Lecithinase-positive, ND: Not detected

TAZ: tazobactam, PIPC: piperacillin

Table 8. Fecal microflora, concentration of tazobactam/piperacillin (TAZ and PIPC) and β -lactamase activity in feces before, during and after administration of tazobactam/piperacillin (Case 5)

Counts of organisms*	Case 5				
	day of study				
	0	2	4	7	+4
Aerobes					
<i>Staphylococcus</i> sp.	1.7×10^4	2.0×10^2		1.2×10^3	
<i>S. aureus</i>	8.0×10^3	2.0×10^2			
<i>S. epidermidis</i>	2.0×10^2			1.2×10^3	
Coagulase (–) <i>Staphylococcus</i>	8.8×10^3				
<i>Streptococcus</i> sp.		2.0×10^6		8.0×10^7	8.0×10^8
α -Haemolytic <i>Streptococcus</i>		2.0×10^6		8.0×10^7	8.0×10^8
γ -Haemolytic <i>Streptococcus</i>					
Group D <i>Streptococcus</i>					
<i>Enterococcus</i> sp.	6.9×10^6	4.0×10^8	6.1×10^8	1.1×10^8	3.0×10^8
<i>E. faecalis</i>					
<i>E. faecium</i>	9.0×10^5	4.0×10^8	6.1×10^8	1.1×10^8	3.0×10^8
<i>E. avium</i>	6.0×10^6				
<i>Bacillus</i> sp.		8.0×10^2	4.0×10^7		6.0×10^8
Enterobacteriaceae	2.0×10^9	3.4×10^9	6.0×10^2		1.6×10^7
<i>E. coli</i>	2.0×10^9	3.4×10^9	6.0×10^2		1.6×10^7
<i>C. freundii</i>					
<i>K. pneumoniae</i>					
<i>K. oxytoca</i>					
<i>E. cloacae</i>					
<i>Pseudomonas</i> sp.	2.0×10^4	5.8×10^5			
<i>P. aeruginosa</i>					
<i>P. putida</i>	2.0×10^4				
Other <i>Pseudomonas</i>		5.8×10^5			
<i>X. maltophilia</i>	3.0×10^3				
NFGNR		5.0×10^3		3.2×10^3	3.4×10^3
<i>Candida</i> sp.	8.0×10^2	2.2×10^3	3.9×10^8	6.0×10^8	1.4×10^4
<i>C. albicans</i>					
<i>C. glabrata</i>		2.0×10^3	3.9×10^8	6.0×10^8	
Other <i>Candida</i>	8.0×10^2	2.0×10^2			1.4×10^4
Total count of aerobes	2.0×10^9	3.8×10^9	1.0×10^9	2.0×10^8	1.7×10^9
Anaerobes					
<i>Lactobacillus</i> sp.	1.6×10^6	1.2×10^3	2.4×10^3		
<i>Bifidobacterium</i> sp.	1.4×10^{10}			1.2×10^7	
<i>Eubacterium</i> sp.					2.8×10^9
<i>Clostridium</i> sp.	3.4×10^7	6.0×10^8	1.2×10^8		2.0×10^7
Lec (–) <i>Clostridium</i>	3.4×10^7	6.0×10^8	1.2×10^8		2.0×10^7
Lec (+) <i>Clostridium</i>					
<i>C. difficile</i>					
Anaerobic gram positive rod					2.0×10^9
<i>Bacteroides fragilis</i> group	2.2×10^9				
<i>B. fragilis</i>					
<i>B. distasonis</i>					
<i>B. thetaiotaomicron</i>	2.2×10^9				
<i>B. vulgatus</i>					
<i>B. uniformis</i>					
<i>Fusobacterium</i> sp.					
<i>Veillonella</i> sp.	1.2×10^7	8.0×10^4	1.1×10^4		
Total count of anaerobes	1.6×10^{10}	6.0×10^8	1.2×10^8	1.2×10^8	4.8×10^9
Concentration of TAZ in feces ($\mu\text{g/g}$)	ND	ND	ND	238	ND
Concentration of PIPC in feces ($\mu\text{g/g}$)	ND	ND	ND	ND	ND
β -lactamase activity in feces	(–)	(–)	(–)	(–)	(–)
<i>C. difficile</i> D-1 antigen	(+) 500 ng/g	(–)	(–)	(–)	(–)

*Viable cells count per gram of feces, NFGNR: Glucose-nonfermentative gram-negative rods, Lec (–): Lecithinase-negative, Lec (+):

Lecithinase-positive, ND: Not detected, NT: Not tested

TAZ: tazobactam, PIPC: piperacillin

検出限界以下となった。ブドウ糖非醗酵性グラム陰性桿菌は症例 2, 4, 5 で *Pseudomonas aeruginosa* などが本剤投与中にやや増加したが、優勢菌種とはならなかった。また症例 1, 3, 4, 5 では投与中に *Bacillus* が増加し、症例 3, 4 では一時的に優勢菌種となった。真菌に関しては症例 1, 2, 3, 5 で投与中に増加する傾向が認められ、他の主要菌種が著明に減少した症例 1, 3 では最優勢菌種となった。

嫌気性菌では主要菌種のうち *Bacteroides* は比較的年長の症例 3, 4, 5 の 3 例で検出されたが、症例 3, 5 では TAZ/PIPC の投与に伴い著明な減少が認められた。症例 4 では属内での菌種の変動はあったが全体として大きな変動は認められなかった。*Bifidobacterium* はすべての症例で投与前に検出されていたが症例 4 を除く 4 例で投与開始後著明に減少した。*Eubacterium* は症例 3, 4 で投与前に検出されていたが、いずれの症例においても投与後著明な減少が認められた。

なお投与中に菌数に変動が認められた菌種については一部を除き投与終了後に回復する傾向が認められた。

C. difficile は症例 2 で投与前および投与終了後に検出されたのみであった。*C. difficile* D-1 抗原は *C. difficile* の検出された検体と症例 5 の投与前の検体で陽性を呈した。

3. 糞便中 TAZ および PIPC 濃度および β -lactamase 活性

TAZ/PIPC 投与前, 中, 後の糞便中 TAZ および PIPC 濃度および β -lactamase 活性を Tables 4~8 に示した。

TAZ は症例 3 の投与中の糞便 2 検体から検出され、その濃度は 27.4~41.8 $\mu\text{g/g}$ であったが、他の症例ではいずれも検出限界以下であった。一方 PIPC は腸内細菌叢の変動の大きかった症例 1, 2, 3 の投与中の糞便 7 検体から検出され、その濃度 34.7~238 $\mu\text{g/g}$ と高値であった。

糞便中の β -lactamase 活性は、症例 5 を除いた 4 例で投与前に陽性を示していたが、症例 1, 2, 3 では投与開始後陰性化した。

III. 考 察

抗生物質による腸内細菌叢の変動は抗生物質投与中の下痢、菌交代、出血傾向の発現などに関連して大きな問題となっている^{2,4,15)}。また抗生物質の腸内細菌叢におよぼす影響に関与する因子としては、各種臓器への親和性、代謝過程、排泄経路、抗菌力などを考慮する必要がある。今回検討した TAZ/PIPC は、大鵬薬品工業株式会社で開発された新しい β -lactamase 阻害剤の TAZ と、富山化学工業株式会社で開発された長年臨床の場で使用されている PIPC を力価配合比 1:4 で配合した注射用配合剤で、PIPC を分解する各種 β -lactamase が TAZ より阻害されるため、 β -lactamase による

耐性菌にも抗菌活性を示し、*Staphylococcus*, *Enterococcus*, *P. aeruginosa* を含む好気性および嫌気性のグラム陽性菌、陰性菌に幅広い抗菌スペクトルを有している¹⁰⁾。また体内では TAZ はほとんどが未変化体のまま、一部が TAZ の非活性代謝物 M-1 として主として尿中に排泄されるのに対し、PIPC はその 54~68 % 程度が尿中に排泄されるという特徴を持っており¹¹⁾、小児の腸内細菌叢にどの程度の影響をおよぼすのか興味の持たれるところである。

今回乳児から学童までの小児 5 例に TAZ/PIPC を投与して検討した結果、小児の腸内細菌叢を構成する主要菌種のうち、Enterobacteriaceae, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Eubacterium* などが著明に減少する症例が多く、結果として 1 例で好気性菌総数が、この 1 例を含む 3 例で嫌気性菌総数が、TAZ/PIPC 投与中著明に減少し、このうち 2 例で下痢が認められた。この 3 例はいずれも今回の検討の中では比較的年齢の低い乳幼児で、特に生後 4 か月の乳児では好気性菌総数、嫌気性菌総数の両者に著明な減少が認められた。主要菌叢の変動を反映して、ブドウ糖非醗酵性グラム陰性桿菌、真菌、*Bacillus* などが増加し、一部の症例では優勢菌種となった。投与中に減少あるいは増加した各菌種は、一部の症例を除いて投与終了後には速やかに回復する傾向が認められたが、長期間投与を続けるような場合には菌交代にかなり注意を払う必要があると思われる。また、*C. difficile* は 1 例で、*C. difficile* D-1 抗原は 2 例でそれぞれ検出されたが、*C. difficile* が優勢菌種となった症例はなく、*C. difficile* や *C. Difficile* D-1 抗原の消長と便性の間に一定の関係は認められなかった。TAZ/PIPC を健康成人に投与した場合¹⁰⁾ にも同様の傾向は認められているが、腸内細菌叢に対する影響は小児の方が大きいようであった。

腸内細菌叢の変動と密接な関係があると考えられる糞便中薬剤濃度に関しては、TAZ は 1 例で投与中の 2 検体から検出され、その濃度は 27.4~41.8 $\mu\text{g/g}$ であったが、他の症例ではいずれも検出限界以下であった。これに対し PIPC は腸内細菌叢の変動の大きかった 3 症例の投与中の糞便 7 検体から検出され、その濃度は 34.7~238 $\mu\text{g/g}$ と高値であった。4 菌種定着マウスを用いた実験¹⁰⁾ では明らかにすることができなかったが、PIPC は本来胆汁排泄が良好な薬剤であり、これに TAZ が加わることにより腸管内での PIPC の安定性が増し、糞便中に高濃度に排泄された可能性が考えられる。残念ながら今回は PIPC が単独で投与された症例との比較は行っていないので、ヒトの腸管内の PIPC におよぼす TAZ の影響については確認することはできなかったが、今後機会があれば比較検討してみたい。

β -lactamase 阻害剤とペニシリン系抗生物質を組み

合わせた薬剤は, sulbactam/ampicillin⁶⁾ や sultamicillin⁷⁾ でもみられたように腸内細菌叢におよぼす影響が大きく, 下痢の頻度も高いようであるが, 今回検討した TAZ/PIPC の場合もヒト腸内細菌叢に対しては上記の薬剤とはほぼ同様の影響があると考えられる。実際に臨床の場で使用する場合にはそうした点を考慮にいられて投与することが重要である。

文 献

- 1) 南里清一郎: 抗生剤経口投与の腸内細菌叢に及ぼす影響。第一編 Germfree マウスを用いた実験的検討。感染症学雑誌 54: 766~779, 1980
- 2) 南里清一郎: 抗生剤経口投与の腸内細菌叢に及ぼす影響。第二編 腸内細菌叢の変動と尿路感染症。感染症学雑誌 54: 780~788, 1980
- 3) 秋田博伸: 各種抗生剤投与による腸内細菌叢の変動。無菌動物を用いた実験。感染症学雑誌 56: 1203~1215, 1982
- 4) 秋田博伸: 各種抗生剤投与による腸内細菌叢の変動。小児科領域にみられる影響について。感染症学雑誌 56: 1216~1224, 1982
- 5) 岩田 敏, 他: Cefixime (CFIX) 腸内細菌叢に及ぼす影響。感染症学雑誌 60: 549~573, 1986
- 6) 佐藤吉壮, 石川和夫, 岩田 敏, 秋田博伸, 老川忠雄, 砂川慶介: 小児科領域における Sulbactam/Ampicillin の基礎的検討。Jap J Antibiotics 42: 579~597, 1989
- 7) 岩田 敏, 他: Sultamicillin の腸内細菌叢に及ぼす影響。Jap J Antibiotics 41: 2012~2034, 1988
- 8) 岩田 敏, 他: Cefpirome の腸内細菌叢におよぼす影響。Jap J Antibiotics 44: 62~83, 1991
- 9) 岩田 敏, 他: Cefditoren pivoxil 粒剤の腸内細菌叢に及ぼす影響。Chemotherapy 41: 358~374, 1993
- 10) 岩田 敏, 他: Panipenem/Betamipron の腸内細菌叢に及ぼす影響。Chemotherapy 40: 747~762, 1992
- 11) 岩田 敏, 他: SY5555 dry syrup の腸内細菌叢におよぼす影響。Chemotherapy 42: 938~951, 1994
- 12) 岩田 敏, 他: Biapenem (L-627) の腸内細菌叢に及ぼす影響。Jap J Antibiotics 47: 1668~1684, 1994
- 13) 光岡知足: 腸内細菌叢の検索手技。感染症学雑誌 45: 406~419, 1971
- 14) Balows A, Hausler W J, Herrmann K L, Isenberg H D, Shadomy H J: Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D. C., 1991
- 15) 岩田 敏: 抗生剤投与中の腸内細菌叢及び血液凝固系の変動に関する検討。感染症学雑誌 58: 903~920, 1984
- 16) 新薬シンポジウム, Tazobactam/Piperacillin (TAZ/PIPC, YP-14)。第 40 回日本化学療法学会東日本支部総会, Oct 14~15, 1993 (青森)
- 17) 松本慶蔵, 永武 毅, 大石和徳, 天本敏昭, 浦江隆次, 入江 伸, 仁位泰樹, 浦江明憲: Tazobactam/Piperacillin の臨床第 I 相試験。Chemotherapy 42 (S-2): 281~299, 1994
- 18) 本広 孝, 他: Tazobactam/Piperacillin のヒト糞便内細菌叢に対する影響。Chemotherapy 42 (S-2): 300~317, 1994
- 19) 岩田 敏, 他: Tazobactam/piperacillin の腸内細菌叢におよぼす影響— 4 菌種定着マウスにおける検討—。日本化学療法学会雑誌 44: 403~408, 1996

Effect of tazobactam/piperacillin on intestinal bacterial flora

—Studies in the pediatric field—

Satoshi Iwata¹⁾, Isamu Kamimaki¹⁾, Eiichi Isohata²⁾, Yoshiaki Kin²⁾,
Takao Yokota³⁾, Yutaka Kusumoto²⁾, Yoshitaka Sato²⁾, Hironobu Akita²⁾,
Seiichiro Nanri²⁾, Tadao Oikawa²⁾ and Keisuke Sunagawa³⁾

¹⁾Department of Pediatrics, Kasumigaura National Hospital, 2-7-14 Shimotakatsu, Tsuchiura, Ibaragi, Japan

²⁾Department of Pediatrics, School of Medicine, Keio University

³⁾Department of Pediatrics, The Second Tokyo National Hospital

Tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC), a new injectable combination antibiotic consisting of tazobactam (TAZ), a new β -lactamase inhibitor, and piperacillin (PIPC), an injectable penicillin, in a ratio of 1: 4 (potency) was studied with regard to its effect on the intestinal flora of pediatric patients. Five children with infections (2 boys and 3 girls; ages: 4 months to 9 years 10 months; body weights 8.14~28.0 kg) were given TAZ/PIPC at 43~53.6 mg/kg 4 times daily for 5~15 days. Before, during and after administration, fecal samples were collected and bacterial contents per gram of feces were assessed and viable cells counted for each bacterial species. At the same time, fecal levels of TAZ and PIPC, β -lactamase activity and contents of *Clostridium difficile* D-1 antigen were also determined. With regards to changes in fecal bacterial flora during administration of TAZ/PIPC, slight individual differences were seen. A decreasing tendency was seen in Enterobacteriaceae among major aerobes in feces. The cell count of this species of bacteria decreased remarkably, falling below the detectable limit in 3 of 5 cases. The cell count of *Enterococcus* also fell below the detectable limit in 3 of 5 cases. In the 2 remaining cases, changes in bacteria occurred within the genera of the bacterial species examined. As a result, the total cell count of aerobes decreased remarkably in 1 case and slightly in 1 other case. Among anaerobes in feces, *Bifidobacterium*, *Eubacterium* and *Bacteroides*, which had been prevalent, showed a remarkable decrease in cell count during treatment. In 3 cases, the total cell count of anaerobes decreased remarkably. In all 3 of these cases the patients were infants. An increasing tendency was seen in glucose-nonfermentative gram-negative rods, fungi and *Bacillus* in 1, 4 and 4 cases, respectively, during treatment. In 2 infants in whom remarkable decreases were seen in Enterobacteriaceae, *Enterococcus* and the main fecal anaerobes, diarrhea was observed, and *Candida* became the most predominant organism during treatment. *C. difficile* and *C. difficile* D-1 antigen were isolated in 1 and 2 cases, respectively, and no relation was found between changes in these counts and fecal characteristics. In 2 cases, TAZ was detected in feces during administration and the fecal concentration ranged from 27.4 to 41.8 $\mu\text{g/g}$. On the other hand, PIPC was detected in feces during treatment in 3 infants in whom marked changes were seen in the intestinal flora. These cases had fecal concentrations of 34.7 to 238 $\mu\text{g/g}$. Before treatment, β -lactamase activity was positive in 4 cases. In 3 of these cases, conversion to negativity was obtained during treatment. From these results, TAZ/PIPC is considered to have a marked influence on the intestinal flora in children. Caution should thus be exercised as the development of diarrhea, along with changes in gastrointestinal bacteria, may occur during the use of TAZ/PIPC.