

Cefazolin と Gentamicin の併用に関する基礎評価

横田 好子・村川 武雄・西田 実

藤沢薬品工業株式会社中央研究所

(昭和54年1月8日受付)

CEZ と GM の併用効果について、グラム陽性球菌およびグラム陰性桿菌に対する *in vitro* および *in vivo* における相乗効果を検討した。

1. 感受性分布から評価した場合、相乗効果を明確に表示することはできなかった。しかし、FIC index で評価すると、CEZ と GM の併用比が1:1あるいは4:1において相乗効果の出現率が比較的高率にみられた菌種は、*S. aureus*, *S. faecalis*, *E. coli* および *E. aerogenes* で、ついで *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. rettgeri*, *C. freundii*, *S. marcescens* で、ほとんど相乗効果を示さない菌種は、*P. vulgaris* および *P. inconstans* B であった。

2. FIC index において相乗効果の認められた *E. coli* の菌株 (No. 75, No. 621) は、殺菌作用においても著明な相乗効果が認められた。また FIC index で相乗効果を示さなかった菌株 (FIC index : ≥ 1) でも、多くの菌株で殺菌効果は相乗的に増強された。

3. *E. coli* の試験菌株に対する両薬剤の *in vitro* における併用効果とマウスの感染防御効果とは、必ずしも対応せず、FIC index とは無関係に両薬剤による治療において相乗効果が認められる例があった。

序 文

β -ラクタム系抗生物質とアミノグリコシッド系抗生物質との併用療法は、種々の重症感染症または混合感染の症例に応用され、それらの併用の有効性を裏づける多くの基礎成績が報告されている¹⁾²⁾³⁾⁴⁾。しかし、両剤の抗生物質のうちで、cefazolin と gentamicin は比較的高頻度に併用投与されているにもかかわらず、両者の併用に関する詳細な基礎的資料は少ない。

われわれは、この問題に検討を加え、基礎的評価を行ったので報告する。

実験材料および方法

1. 抗生物質

cefazolin (CEZ, 藤沢薬品工業) および gentamicin (GM, 塩野義製薬) のいずれも力価の明らかなものを使用した。

2. 動物

マウス (ICR, 19~23g, 4週令, ♂) を使用した。

3. 使用菌株

新鮮分離の *S. aureus* 21株, *S. faecalis* 20株, *E. coli* 21株, *K. pneumoniae* 42株, *P. mirabilis* 17株, *P. vulgaris* 42株, *P. rettgeri* 21株, *P. inconstans* B 31株, *C. freundii* 21株, *S. marcescens* 21株および *E. aerogenes* 21株を用いた。

4. 抗菌力の測定法

最小発育阻止濃度 (MIC) は、日本化学療法学会標準法に従い測定した⁵⁾。すなわち Trypticase soy broth (BBL) で1夜培養した臨床分離菌を、生理食塩水で100倍に希釈し、それを薬剤の倍数希釈濃度を含む Heart infusion agar (Difco) 上にスタンプで接種した。37°C, 1夜培養後コロニーの有無によりMICを判定した。

5. 薬剤の併用条件

CEZ と GM の併用は、次の2種類の方法を用いた。すなわち、CEZ および GM 濃度が、1:1または4:1となるよう両薬剤を HI-agar に加える方法、および CEZ の希釈系列に GM の希釈系列を混合して、両薬剤⁶⁾の種々の組合せを HI-agar 中で調製する chess board 法を用いる方法によった⁶⁾。併用効果の有無および程度は、併用効果指数 (FIC index) で示した⁷⁾。

FIC (Fractional Inhibitory Concentration) index

$$= \frac{\text{MIC of Drug A in Comb.}}{\text{MIC of Drug A alone}} + \frac{\text{MIC of Drug B Comb.}}{\text{MIC of Drug B alone}}$$

すなわち、FIC index が 0.5 以下であれば著明な相乗効果、FIC index が 0.5~1.0 であれば部分的相乗効果、FIC index が 1 以上であれば変化なしと評価される。

6. *E. coli* の増殖曲線におよぼす併用効果

試験菌として臨床分離 *E. coli* を用いた。すなわち、CEZ および GM を各々単独で 1/2 MIC 濃度、および併

用例では、それぞれの 1/2 MIC 濃度となるように添加した HI-broth (100 ml) に Try soy broth で 1 夜培養した *E. coli* を約 10^5 /ml~ 10^6 /ml に接種した。37°C で振盪培養し、経時的に 1, 3, 5 および 7 時間目にサンプリングし、生菌数を測定した。

7. マウスの実験的 *E. coli* 感染に対する治療効果

マウスは ICR 系を 1 群 10 匹で用いた。

感染菌は Try soy agar で 1 夜培養した菌苔をかき取り、5% ムチン液で Table 2 および 3 に示す菌数となるよう調製し、その 0.5 ml を腹腔内に接種した。薬剤は接種後 1 時間目に 1 回、CEZ および GM をそれぞれ単独および併用で皮下に注射した。4 日間、マウスの生死を観察し、治療効果を ED₅₀ 値で評価した。

実験成績

1. 併用による感受性分布

グラム陽性球菌およびグラム陰性桿菌の各種の臨床分離菌に対し、CEZ および GM をそれぞれ単独あるいは

CEZ と GM を 1:1 および 4:1 の濃度比に組合せ、100 倍希釈菌液を用いて MIC を測定した。上記の併用比 1:1 は、*in vitro* の検討の際、一般的に用いられる組合せ、4:1 は実際に臨床で多く使用されている併用量比である。結果は Fig. 1 および 2 に示すとおりである。

試験した 8 種の細菌の GM に対する感受性は、*S. marcescens* の一部の菌株を除いて比較的高く、GM に高度耐性の菌株は殆んど存在しなかった。これに比較して、これらの試験菌株に対する CEZ の感受性は全般に低く、とくに *S. faecalis*, *P. vulgaris*, *S. marcescens* および *E. aerogenes* には CEZ に高度耐性の菌株が多く存在した。CEZ と GM を 1:1 または 4:1 の何れの組合せで併用しても GM 単独時の感受性分布よりも感受性化傾向は認められなかった。ただ GM に比較的感受性で、CEZ に耐性を示す菌株が多く存在する菌種、例えば *P. vulgaris*, *S. marcescens* および *E. aerogenes* など

Fig. 1 Susceptibility of clinical isolates to cefazolin and gentamicin, alone and in combination. (1)

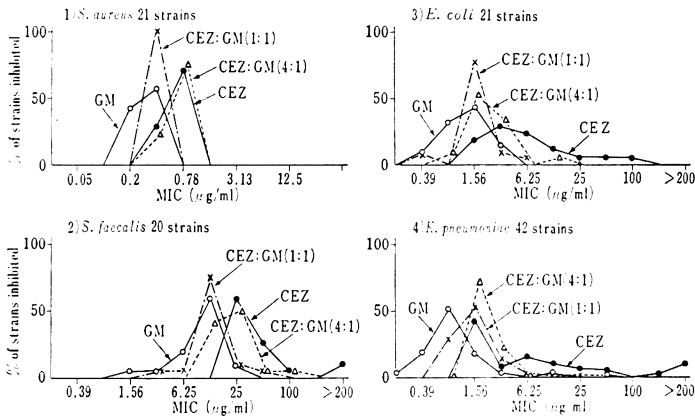


Fig. 2 Susceptibility of clinical isolates to cefazolin and gentamicin, alone and in combination. (2)

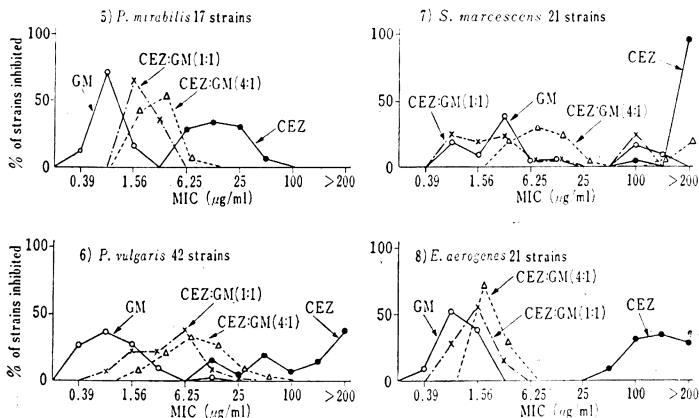


Table 1 Percent of strains of clinical isolates synergistically inhibited by combination of cefazolin and gentamicin.

Organism No. of strains tested	CEZ : GM (1 : 1)		CEZ : GM (4 : 1)		
	Synergy (FIC ; <1)	Indifference (FIC ; ≥1)	Synergy (FIC ; <1)	Indifference (FIC ; ≥1)	
<i>S. aureus</i>	21	42.9	57.1	0	100
<i>S. faecalis</i>	20	60.0	40.0	25.0	75.0
<i>E. coli</i>	21	23.8	76.2	52.4	47.6
<i>K. pneumoniae</i>	42	23.8	76.2	33.3	66.7
<i>P. mirabilis</i>	17	17.6	82.4	35.3	64.7
<i>P. vulgaris</i>	42	4.8	95.2	0	100
<i>P. rettgeri</i>	21	28.6	71.4	23.8	76.2
<i>P. inconstans</i> B	31	6.5	93.5	6.5	93.5
<i>C. freundii</i>	21	23.8	76.2	23.8	76.2
<i>S. marcescens</i>	21	33.3	66.7	33.3	66.7
<i>E. aerogenes</i>	21	47.6	52.4	76.2	23.8

$$\text{FIC index} = \frac{\text{MIC of Drug A in comb.}}{\text{MIC of Drug A alone}} + \frac{\text{MIC of Drug B in comb.}}{\text{MIC of Drug B alone}}$$

Method ; Agar dilution method (Stamp)

Medium ; Heart infusion agar (Difco)

Inoculum size ; 100-fold dilution of overnight culture.

では両剤の併用群の感受性分布は共存するGMの強い抗菌活性の影響を受け、CEZ単独の場合と比較して著明に感受性側に移行した。従って、これらの試験菌の併用効果を感受性分布として評価すると、明確に相乗効果を証明することはできなかった。

2. FIC index による相乗効果の出現頻度

併用時における個々の試験菌株の感受性変化を、実験の項に記載した FIC index を用いる方法に従って評価し、相乗効果の有無を検討した。すなわち CEZ と GM の濃度比を 1 : 1 および 4 : 1 に組合せた場合の個々の試験菌株を相乗効果の認められた群 (FIC index : <1) と、認められなかった群 (FIC index : ≥1) に分類すると Table 1 のとおりである。

グラム陽性菌の場合、まず *S. aureus* 21 株では CEZ と GM が 1 : 1 の併用で、約 43% の株に相乗効果が認められたが、4 : 1 の組合せで相乗効果を示した菌株は全くなかった。*S. faecalis* 20 株では、1 : 1 の組合せで 60% に相乗効果が認められたが、4 : 1 の組合せでは 25% となり、*S. aureus* の場合と同様、CEZ の併用比が増加すると相乗効果の出現率は減少した。一方、グラム陰性桿菌群では *E. coli* 21 株に対して CEZ と GM が 1 : 1 の組合せで 24%、4 : 1 の組合せで 52% に相乗効果が認められた。その他、*K. pneumoniae*、*P. mirabilis* および *E. aerogenes* などでは CEZ : GM の併用比が 1 : 1 の場合よりも 4 : 1 のほうが相乗効果の出現率が高率であった。*P. vulgaris*、*P. rettgeri*、*P. inconstans* B、

C. freundii および *S. marcescens* などは相乗効果の出現頻度が両剤の併用比によって影響されなかった。

CEZ と GM の併用時 (1 : 1 または 4 : 1) の *in vitro* 抗菌作用における相乗効果の出現率を FIC index から分類した結果から要約すると、比較的高い出現率を示す菌種 (40% 以上) は、*S. aureus*、*S. faecalis*、*E. coli*、*E. aerogenes*、20~30% の出現率の菌種は *K. pneumoniae*、*P. mirabilis*、*P. rettgeri*、*C. freundii* および *S. marcescens*、極めて低率 (10% 以下) の菌種は *P. vulgaris* および *P. inconstans* B など、両薬剤の併用効果は菌種菌株によってかなりの相違がみられた。

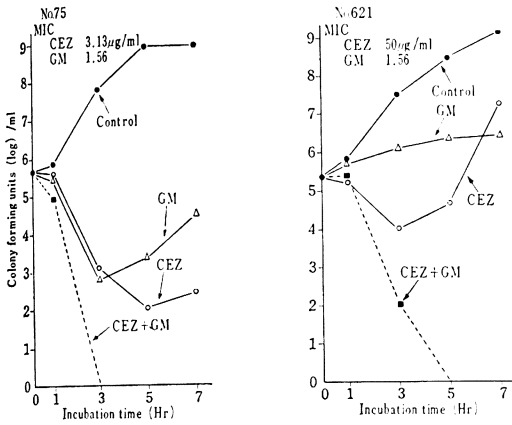
3. FIC index と殺菌効果の関係

前述の成績は、両薬剤の *in vitro* における併用効果を MIC を基礎として評価したものであるが、試験菌に薬剤を短時間接触させた際の生菌数の減少効果、すなわち殺菌作用からの併用効果を判定した。この目的のため *E. coli* を試験菌とし、FIC index から相乗効果が認められた菌株と、認められなかった菌株について CEZ と GM の単独および併用条件で、両薬剤を 1/2 MIC 濃度に培地に添加し、37°C、振盪培養下で経時的に残存生菌数を測定した。

1) FIC index が <1 の菌株の場合

CEZ と GM の併用比が 1 : 1 および 4 : 1 の何れの組合せにおいても FIC index が <1 で、相乗効果の認められた *E. coli* No. 75 株 (MIC : CEZ 3.13 μg/ml, GM 1.56 μg/ml) および *E. coli* No. 621 株 (MIC : CEZ 50

Fig. 3 Bactericidal activities of cefazolin and gentamicin, alone and in combination, against *E. coli* with FIC index ; <1.



μg/ml, GM 1.56 μg/ml) を用い検討した (Fig. 3)。

まず *E. coli* No. 75 株では、 4.4×10^5 cells/ml に菌液を接種し、37°C で 3 時間振盪培養後、CEZ および GM の各々単独の残存生菌数は 1.0×10^8 /ml および 6.3×10^2 /ml であったが、両剤併用では残存生菌は認められなかった。7 時間後、CEZ および GM 単独では再増殖の傾向がみられたが、両剤併用では再増殖はなく相乗効果が比較的著明にみられた。

CEZ に 50 μg/ml の MIC を示す *E. coli* No. 621 株では 3.0×10^5 /ml の菌液を接種後、3 時間後の CEZ および GM の各々単独の残存生菌数は 1.0×10^4 /ml および 1.4×10^6 /ml であるが、併用では急速な殺菌効果が認められ、 1.0×10^2 /ml に減少した。さらに 5 時間後には完全に殺菌され、24 時間後も再増殖は認められなかった。すなわち FIC index が <1 の菌株では殺菌作用においても明らかに相乗効果が認められた。

2) FIC index が ≥ 1 の菌株の場合

CEZ と GM が 1:1 および 4:1 の何れの組合せにおいても FIC index が ≥ 1 の、いわゆる相乗効果の認められなかった菌株、*E. coli* No. 68 株 (MIC : CEZ 3.13 μg/ml, GM 0.78 μg/ml) および *E. coli* No. 327 株 (MIC : CEZ 200 μg/ml, GM 0.39 μg/ml) を用い検討した (Fig. 4)。

まず *E. coli* No. 68 株では、GM 単独では菌の増殖に全く影響を及ぼさなかった。CEZ 単独では 3 時間まで生菌数の一過性の減少がみられ、併用時では CEZ 単独の場合とはほぼ対応した生菌数の減少を示し、相乗効果はみられなかった。

一方、CEZ に 200 μg/ml の高度耐性を示す *E. coli*

Fig. 4 Bactericidal activities of cefazolin and gentamicin, alone and in combination, against *E. coli* with FIC index ; ≥ 1 .

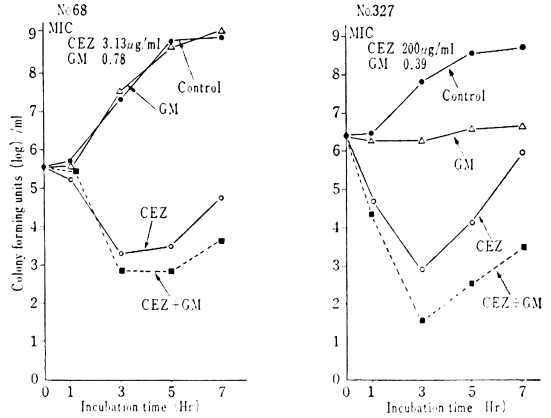
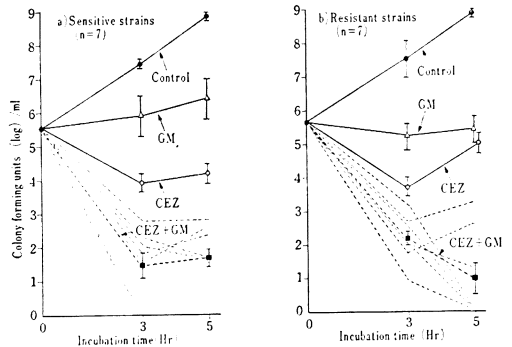


Fig. 5 Bactericidal activities of cefazolin and gentamicin, alone and in combination, against *E. coli* with FIC index ; ≥ 1 .



No. 327 株では 3.0×10^6 cells/ml を接種すると、両剤の単独時と比較して菌数の減少は明らかであった。すなわち、GM 単独では 1/2 MIC 濃度の添加で静菌的な影響を与えるだけで殺菌効果は認められなかった。CEZ 単独では 3 時間後に、 9.0×10^2 /ml となり、一過性の菌数の減少がみられたが、7 時間では接種菌量のレベルまで再増殖した。これに対して併用時では各々単独時に比較して菌数減少に強い影響を与えた。すなわち、FIC index が ≥ 1 であっても菌株によっては殺菌作用に相乗効果のみられる菌株が存在することが判明した。

3) FIC index : ≥ 1 と殺菌効果の関係

FIC index が ≥ 1 を示す菌株で CEZ に感受性および耐性の *E. coli* を各々無作為に選り上げ上記と同様に単独群と併用群について殺菌作用を検討した (Fig. 5)。

図はそれぞれの菌数を常用対数とし、その平均値を

示した。Fig. 5-a は CEZ 感受性 7 株の結果で、培養 3 時間後では CEZ 単独で生菌数は 9.3×10^3 /ml ($3.4 \times 10^3 \sim 8.0 \times 10^2$ /ml), GM 単独では 9.3×10^5 /ml ($3.5 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^3$ /ml) であるのに対し、両者併用では 3.5×10 /ml (7.0×10^2 /ml ~ 0) と明らかに生菌数の減少が認められた。さらに 5 時間後においてもこの生菌数は維持された。

一方、CEZ 耐性 7 株 (Fig. 5-6) でも、感受性株の場合と同様、単独の場合と比較して併用時に殺菌効果の著明な増強が認められた。とくに CEZ 耐性株の全てが CEZ 単独では再増殖し、GM 単独では静菌的であるにもかかわらず、併用により強い殺菌をうける菌株が多いという事実は、この種の菌株に対する両剤の併用が効果的であることを示唆している。以上の結果から FIC index が ≥ 1 の菌株のうち、*E. coli* No. 68 のようにほとんど相乗効果を示さない菌株もあるが、多くの菌株は殺菌作用

において相乗効果を示すことがわかった。

4. FIC index とマウス感染防御効果

in vitro における相乗効果が *in vivo* 効果に反映するかどうかをマウスの実験感染に対する防御効果で検討した。マウスの実験的 *E. coli* 感染に対する CEZ および GM 単独あるいは併用投与における防御効果は Table 2 および 3 に示すとおりである。両薬剤の各希釈濃度の組合せ溶液を作成し、感染 1 時間後に 1 回皮下注射した。

1) FIC index が < 1 の場合

FIC index および殺菌作用で著明な相乗効果がみられた *E. coli* No. 75 および No. 621 を試験菌とした。

まず CEZ に感受性の *E. coli* No. 75 に対する防御効果は、CEZ 単独時の $ED_{50} : 8.24$ mg/kg に対し、GM 単独時は $ED_{50} : 1.02$ mg/kg であった。GM で全例が死亡する dose, 0.1 mg/kg に CEZ を組合せた場合、CEZ の ED_{50} は 5.51 mg/kg となり、GM 0.39 mg/kg

Table 2 Protecting effects of combination of cefazolin and gentamicin against experimental infection with *E. coli* in mice.

Mouse ; ICR-strain, 19~22g, male, n=10
Infection ; I.P. infection of 0.5 ml with 5% mucin suspension.
Therapy ; S.C. injection 1 hr. after challenge.

a) FIC index ; < 1

No. 75		Survival %				
		CEZ				
Dose (mg/kg)		24	6.0	1.5	0	ED_{50} (mg/kg)
GM	6.0	100	100	90	100	< 1.5
	1.5	100	80	90	80	< 1.5
	0.39	90	70	20	0	3.84
	0.10	90	70	0	0	5.51
	0	80	50	0		8.24
	ED_{50} (mg/kg)	< 0.03	0.03	0.67	1.02	

Challenge dose ; 4.9×10^4 /mouse
MIC ; CEZ, 3.13 μ g/ml, GM, 1.56 μ g/ml

No. 621 Survival %

No. 621		Survival %				
		CEZ				
Dose (mg/kg)		240	60	15	0	ED_{50} (mg/kg)
GM	24	100	100	100	100	< 15
	6	100	90	90	100	< 15
	1.5	100	90	90	70	< 15
	0.39	70	0	0	20	175
	0	50	0	0		231
	ED_{50} (mg/kg)	0.24	0.99	0.99	0.85	

Challenge dose ; 6.5×10^7 /mouse
MIC ; CEZ, 50 μ g/ml, GM, 1.56 μ g/ml

Table 3 Protecting effects of combination of cefazolin and gentamicin against experimental infection with *E. coli* in mice.

Mouse ; ICR-strain, 19~22g, male, n=10
Infection ; I.P. infection of 0.5 ml with 5% mucin suspension.
Therapy ; S.C. injection 1 hr. after challenge.

b) FIC index ; ≥ 1

No. 68		Survival %				
		CEZ				
Dose (mg/kg)		24	6.0	1.5	0	ED_{50} (mg/kg)
GM	6.0	70	20	30	50	10.6
	1.5	20	10	0	0	> 24
	0.39	20	10	0	0	> 24
	0.1	0	0	0	0	> 24
	1	0	0	0	0	> 24
	ED_{50} (mg/kg)	3.14	> 6	> 6	5.55	

Challenge dose ; 3.4×10^5 /mouse
MIC ; CEZ, 3.13 μ g/ml, GM, 0.78 μ g/ml

No. 327 Survival %

No. 327		Survival %				
		CEZ				
Dose (mg/kg)		240	60	15	0	ED_{50} (mg/kg)
GM	24	100	100	100	100	< 5.81
	6.0	100	90	90	100	< 5.81
	1.5	90	90	70	60	5.81
	0.39	30	20	10	10	> 240
	0	0	0	0	0	> 240
	ED_{50} (mg/kg)	0.57	0.74	1.17	1.13	

Challenge dose ; 9.1×10^7 /mouse
MIC ; CEZ, 200 μ g/ml, GM, 0.39 μ g/ml

に CEZ を組合せると CEZ の ED₅₀ は、8.84 mg/kg と防御効果は増強された。逆に CEZ 単独では全例が死亡する dose, 1.5 mg/kg に GM の各種投与量を組合せた場合、GM の ED₅₀ は 0.67 mg/kg となり、CEZ 単独で 50% が生存する dose, 6 mg/kg を組合せると GM の ED₅₀ は 0.03 mg/kg と、明らかに相乗効果が認められた。

一方、CEZ に耐性の *E. coli* No. 621 では全例が死亡する CEZ の dose, 15 mg/kg および 60 mg/kg に GM を組合せた場合、ED₅₀ 値は共に 0.99 mg/kg となり、GM の単独投与時 (ED₅₀: 0.85 mg/kg) と変らなかった。ED₅₀ に相当する 240 mg/kg を組合せると ED₅₀ は 0.24 mg/kg と明らかに治療効果は増強された。しかし、GM 単独で 20% の生存率を示す dose, 0.39 mg/kg を CEZ に組合せた場合は 175 mg/kg で、著明な治療効果の増強は認められなかった。従って FIC index および殺菌作用の両方法で相乗効果を示した菌株でも、薬剤の 1 回治療によるマウス感染防御実験では、*in vitro* 効果を反映しない場合もあることが判明した。

2) FIC index が ≥ 1 の場合

FIC index が ≥ 1 で、殺菌作用で相乗効果の認められなかった *E. coli* No. 68 株と、殺菌作用に相乗効果が認められた *E. coli* No. 327 株について検討した (Table 3)。

まず *E. coli* No. 68 株では、CEZ 単独で全く治療効果を示さなかった 24 mg/kg の投与量において GM の各種投与量を組合せると、GM の ED₅₀ 値は 3.14 mg/kg となり、GM 単独時の ED₅₀ (5.55 mg/kg) に比較し、防御効果はある程度増強した。逆に GM 単独で 50% が死亡する 6 mg/kg に CEZ を併用すると、CEZ の ED₅₀ は 10.6 mg/kg となるが、相乗効果と認めうるような結果が得られなかった。

一方、CEZ に高度耐性の *E. coli* No. 327 株では、CEZ の 240 mg/kg の dose においても全例が死亡する。この CEZ の dose に GM の各種投与量を組合せると、GM の ED₅₀ は、0.57 mg/kg と GM の単独時 (1.13 mg/kg) に比べ防御効果は増強された。反対に GM の 1.5 mg/kg を CEZ に組合せると、CEZ の ED₅₀ は 5.81 mg/kg となり、著しい防御効果の増強が認められた。すなわち、CEZ 単独では治療効果の期待できない CEZ 高度耐性菌による感染に、GM との併用が有効である典型的な実験例であると思われる。

以上、FIC index および殺菌効果を基準とした *in vitro* 評価で CEZ と GM の相乗効果が認められた試験菌と、この種の効果がみられなかった試験菌を用いて両薬剤の菌感染防御効果を検討したが、この実験における薬

剤の投与条件においては *in vitro* と *in vivo* 活性に強い相関性を認めることができなかった。

考 察

抗生物質の併用投与は、抗菌スペクトラムの拡大、協力作用、耐性化防止、副作用の軽減などを目的として、実際の治療に応用されている。近年、 β -ラクタム剤とアミノグリコシッド剤の併用療法の普及に伴って、これらの薬剤の相互作用について基礎的臨床的研究が多く報告されている¹⁾²⁾³⁾⁴⁾。

J. KLASTERSKY らは、グラム陰性桿菌群の多数の株について、*in vitro* における相乗効果を検討し、carbenicillin (CBPC) と Tobramycin (TOB) または GM, cephalothin (CET) と TOB または GM との組合せが *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* および indole (+) *Proteus* に有効であること、*P. aeruginosa* の患者分離菌に対し、種々の抗生物質の組合せを比較し、CBPC と GM の併用が 76% の高率で相乗効果のあることを報告している⁸⁾⁹⁾。PHINEAS J. HYAMS らも *in vitro* 相乗効果について同様の検討を行い、GM と CEZ および CET との併用効果を比較し、*Proteus group* に対して GM と CEZ との併用では 93%、CET との併用では 75% の割合で相乗効果のあることを報告している¹⁰⁾。小林らは *P. aeruginosa* に対して Sulbenicillin (SBPC) と GM または Dibekacin (DKB) との併用効果を比較し、SBPC に対しては GM より DKB のほうが効果的な共働薬であると報告した¹¹⁾。これらの報告は、いずれも各薬剤の併用時の MIC を checker board 法により評価したものである。

薬剤の相乗効果は、併用した薬剤の作用を単純加算した効果以上の効果を期待するもので、個々の菌株に対する両薬剤の相互作用から決定される。従って当然のことながら最適な組合せ濃度は個々の菌株によって異なる。われわれは CEZ と GM を 1:1 または 4:1 の併用比として相乗効果を検討した。

菌種および菌株によって相乗効果の出現頻度はかなり異なり、*S. aureus* および *S. faecalis* のようなグラム陽性菌に対しては、CEZ と GM が 4:1 の組合せよりも 1:1 のほうが相乗効果の出現率がよく、グラム陰性菌の 9 菌種のうち *E. coli* など 4 菌種に対しては 4:1 の組合せが比較的相乗効果の出現率が高い傾向にあることを認めた。富岡は、*K. pneumoniae* の 20 株に対し、CEZ は 6.25~12.5 μ g/ml、GM は 0.2~0.39 μ g/ml の濃度の組合せにおいて相乗効果を有することを報告している¹²⁾。この併用比はわれわれの結果と多少異なるが、CEZ の割合が多いほうが相乗効果の出現率が高いという点で一致している。

MIC による *in vitro* 併用効果と MBC による評価との相関性についての研究において, PHINEAS J. HYAMS らは, *Proteus group* に対し, GM または TOB と CET または CEZ との併用で, MIC 評価で 60~80% に相乗効果がみられたが, MBC 評価では 36~37% と相乗効果の発現がそれほど高率ではないことを報告している¹⁰⁾。しかし K. R. COMBER らは *P. aeruginosa* に対し, Ticarcillin (TIPC) と TOB, CBPC と GM の併用は MIC よりも MBC で評価するほうが, 相乗効果の出現率が大きいと述べ¹³⁾, 既報の研究結果は必ずしも一致した結論を与えていない。

われわれは, *E. coli* の臨床分離株を試験菌として, CEZ と GM の *in vitro* における相乗効果を MIC を基準とした FIC index および殺菌効果の両方法によって評価し, 両者の相関性を検討した。これらの成績では FIC index において相乗効果が認められた菌株 (FIC index: <1) は, 殺菌効果においても顕著な相乗作用がみられた。

一方, FIC index において相乗効果がみられなかった菌株 (FIC index: ≥ 1) については, Fig. 5 の成績のとおり, 両薬剤の併用で比較的多くの菌株で殺菌効果は相乗的に増強された。従ってこの種の菌株では相乗効果の有無に関して, FIC 判定と殺菌効果判定とは対応しなかった。しかし, この実験で用いた殺菌効果の測定条件, すなわち比較的短時間における CEZ と GM の共働作用によって, 殺菌効果が相乗的に増強された試験菌株のうち, 完全に殺菌をうけるものと, 培養 3 時間以降も生存しないしは再増殖をする菌株が存在した。このような菌株間では, マウスの感染防御についての両薬剤の併用効果にも当然, 相違が生ずるものと考えられる。しかし FIC index および殺菌効果の両方法で相乗効果がみられた菌株, *E. coli* No. 75, *E. coli* No. 621 のうち, No. 75 株にだけ *in vivo* 相乗効果がみられ, No. 621 株では否定的な結果が得られた。この原因については現在のところ不明である。ただ両薬剤の存在下で完全殺菌に要する時間には相違があり, No. 75 株の 3 時間に対して, No. 621 では 5 時間を要した。

しかし, われわれの実験で *in vivo* 効果の判定方法として, 感染マウスに対する薬剤投与を感染 1 時間後, 1 回の皮下注射に限定した点には問題があり, CEZ と GM の *in vitro* と *in vivo* 効果の相関性を論ずる上で, さらに適当な薬剤投与の条件を検討する余地は残されている。文献的にも実験感染に対する β -ラクタム剤とアミノグリコシッド剤の併用については, いくつかの実験が報告されている。実験的 *Pseudomonas* 感染に CBPC とアミノグリコシッド剤の併用が効果的であることが報

告されているが¹⁴⁾¹⁵⁾, CEZ に関しても MERLE A. SANDE らはペニシリンに耐性の *Staphylococcus* および *Streptococcus* による実験的心内膜炎に対し, アミノグリコシッド剤との併用が効果的であり, 且つこれらの効果は *in vitro* 殺菌効果と相関性のあることを報告している¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾。

臨床における β -ラクタム剤とアミノグリコシッド剤との併用についての効果と, 基礎評価との相関性について J. KLASTERSKY らは, CBPC, CET, あよび Ampicillin (ABPC) と GM との併用による臨床例において, 起因菌の MIC と臨床効果との相関性を述べている¹⁹⁾。148 例の臨床例を対象とした結果によると, 臨床的に有効であったのは 99 例で, そのうち起因菌に対する MIC で相乗効果を示したのは 58 例 (58.6%), 残り 41 例 (41.4%) は MIC で相乗効果を示さないにもかかわらず, 臨床的には有効であったと報告している。しかし, 薬剤併用によって得られる *in vitro* 相乗効果の臨床的意義については, なお多くの検討が必要であると思われる。

文 献

- 1) CHARTRCHAI WATANAKUNAKORN & CHERYL GLOTZBECKER: Enhancement of the effects of anti-Staphylococcal antibiotics by aminoglycosides. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 6(6): 802~806, 1974
- 2) KLASTERSKY J.; F. MENNIER CARPENTIER, J. M. PREVOST & M. STAQUET: Synergism between amikacin and cefazolin against *Klebsiella*. *In vitro* studies and effect on the bactericidal activity of serum. *J. Infect. Dis.* 134(3): 271~276, 1976
- 3) GUTSCHIK E.; O. B. JEPSEN & IDA MORTENSEN: Effect of combinations of penicillin and aminoglycosides on *Streptococcus faecalis*. A comparative study of seven aminoglycoside antibiotics. *J. Infect. Dis.* 135(5): 382~386, 1977
- 4) RICHARD H. GLEW; ROBERT C. MOELLER, Jr. & KAREN R. BUETTNER: *In vitro* synergism between carbenicillin and aminoglycosidic aminocyclitols against *Acinetobacter calcoaceticus* var. *anitratus*. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 11(6): 1036~1041, 1977
- 5) MIC 測定法委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法. *Chemotherapy* 22(6): 1126~1128, 1974
- 6) MICHAEL BOURQUE; RICHARD QUINTILIANI & RICHARD C. TILTON: Synergism of cefazolin-gentamicin against *Enterococci*. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 10(1): 157~163, 1976
- 7) PAULA F. DOUGHERTY; DAVID W. YOTTER & THOMAS R. MATTHEWS: Microdilution transfer plate technique for determining *in vitro* synergy of antimicrobial agents. *Antimicrob.*

- Agents & Chemoth. 11(2) : 225~228, 1977
- 8) KLASTERSKY J.; ALAIN HENRI & LINDA VANDENBORRE : Antimicrobial activity of tobramycin and gentamicin used in combination with cephalothin and carbenicillin. Am. J. Med. Sci. 266(1) : 13~21, 1973
 - 9) YUCE K. & VANROOYEN C. E. : Carbenicillin and gentamicin in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infection. Canad. Med. Ass. J. 105(9) : 919~922, 1971
 - 10) PHINEAS J. HYAMS ; MICHAEL S. SIMBERKOFF & JAMES J. RAHAL, Jr. : Synergy between cephalosporin and aminoglycoside antibiotics against *Providencia* and *Proteus*. Antimicrob. Agents & Chemoth. 5(6) : 571~577, 1974
 - 11) 小林芳夫, 富岡一 : 緑膿菌に対する Aminoglycoside 系抗生剤と抗緑膿菌性 Penicillin 剤との併用効果の比較検討. 第 26 回日本化学療法学会総会 (東京)
 - 12) 増田剛太, 富岡一 : *Klebsiella* 感染症の化学療法に関する基礎的研究. Cephalosporin 系抗生剤単独と gentamicin との併用について. Chemotherapy 24(2) : 451~455, 1976
 - 13) COMBER, K. R.; M. J. BASKER, CHRISTINE D. OSBORNE & R. SUTHERLAND : Synergy between ticarcillin and tobramycin against *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacteriaceae in vitro* and *in vivo*. Antimicrob. Agents & Chemoth. 11(6) : 956~964, 1977
 - 14) GORDON ARCHER & F. ROBERT FEKETY, Jr. : Experimental endocarditis due to *Pseudomonas aeruginosa*. II. Therapy with carbenicillin and gentamicin. J. Infect. Dis. 136(3) : 327~335, 1977
 - 15) VINSANT T. ANDRIOLE ; Synergy of carbenicillin and gentamicin in experimental infection with *Pseudomonas*. J. Infect. Dis. 124 Sup. : S 46~S 55, 1971
 - 16) MERLE A. SANDE & MARK L. JOHSON ; Antimicrobial therapy of experimental endocarditis caused by *Staphylococcus aureus*. J. Infect. Dis. 131(4) : 367~375, 1975
 - 17) LAWRENCE J. LINCOLN ; ALLAN J. WEINSTEIN, MOLLY GALLAGHER & ELIAS ABRUTYN : Penicillinase-resistant penicillins plus gentamicin in experimental Enterococcal endocarditis. Antimicrob. Agents & Chemoth. 12(4) : 484~489, 1977
 - 18) DEVEIKIS, A.; V. SCHAUF, M. MIZEN & L. RIFF : Antimicrobial therapy of experimental group B Streptococcal infection in mice. Antimicrob. Agents & Chemoth. 11(5) : 817~820, 1977
 - 19) KLASTERSKY J.; R. CAPPEL & D. DANEAU : Clinical significance of *in vitro* synergism between antibiotics in gram-negative infections. Antimicrob. Agents & Chemoth. 2(6) : 470~475, 1972

ANTIBACTERIAL EFFECTS OF THE COMBINATION OF CEFAZOLIN AND GENTAMICIN *IN VITRO* AND *IN VIVO*

YOSHIKO YOKOTA, TAKEO MURAKAWA and MINORU NISHIDA

Research Laboratories, Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.,

Osaka, Japan

The *in vitro* and *in vivo* synergistic activities of cefazolin and gentamicin against organisms of gram positive cocci and of gram negative rods were studied.

In all organisms tested, no significant difference was found between the susceptibility distributions to the antibiotic alone and in combination.

When the fractional inhibitory concentration (FIC) index was applied to evaluate the *in vitro* effect of cefazolin and gentamicin, however, the synergism of the two antibiotics was demonstrated with different frequency among the bacterial species. Results indicated that the combinations of both antibiotics were frequently synergistic against strains of *S. aureus*, *S. faecalis*, *E. coli* and *E. aerogenes*, and with low frequency against *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. rettgeri*, *C. freundii* and *S. marcescens*. The synergistic effect of cefazolin and gentamicin was rarely found against strains of *P. vulgaris* and *P. inconstans* B.

The combination of cefazolin and gentamicin was markedly synergistic in the bactericidal activity against No. 75 and 621 strains of *E. coli* to which the synergistic values in FIC index were demonstrated. The antibiotic combination also enhanced synergistically the bactericidal action against many strains of *E. coli* to which the negative values in FIC index were shown.

In the present investigation, no direct relationship between the various *in vitro* tests for synergism of the antibiotics and the *in vivo* effect on the systemic *E. coli* infections in mice treated with the antibiotic combination was observed. In some cases, however, therapeutic effect was synergistically enhanced by the combination of both antibiotics without correlating to FIC index.