

## 抗生物質の併用に関する研究〔I〕

臨床分離緑膿菌に対する Piperacillin, Ticarcillin と Dibekacin との  
*in vitro* 併用効果に関する実験的考察

青沼清一・大沼菊夫・渡辺 彰  
・佐々木昌子・大泉耕太郎・今野 淳  
東北大学抗酸菌病研究所内科

(昭和56年2月16日受付)

Dynatech MIC 2000 を用いて、臨床分離緑膿菌35株に対する PIPC, TIPC と DKB との *in vitro* 併用効果を検討した。

- 1) PCs 単独の MIC および MBC のピークは、いずれも PIPC が  $6.25 \mu\text{g/ml}$  に、TIPC が  $50 \mu\text{g/ml}$  にあり、PIPC は TIPC より3段階優れていた。
- 2) DKB との併用効果を発育阻止の面でみると、相乗作用あり (FIC index  $\leq 0.5$ ) は PIPC が 26 株 (74.3%)、TIPC が 23 株 (65.7%) であり PIPC の方が TIPC より優れていた。
- 3) 同様に殺菌力の面でみると、相乗作用あり (FBC index  $\leq 0.5$ ) は PIPC が 23 株 (65.7%)、TIPC が 18 株 (51.4%) であり PIPC の方が優れていた。
- 4) PCs 単独の MIC および MBC が  $6.25 \mu\text{g/ml}$  以下のグループと  $12.5 \mu\text{g/ml}$  以上のグループに分けて、それぞれの平均 FIC index および平均 FBC index を比較してみると、PIPC, TIPC とともに平均 FIC index および平均 FBC index のいずれも  $12.5 \mu\text{g/ml}$  以上のグループの方が小さい値を示し、臨床的合目的性が認められた。
- 5) DKB 添加による PCs の MIC が  $6.25 \mu\text{g/ml}$  以下となる株数の変化をみると、単独では PIPC が 19 株 (54.3%)、TIPC が 2 株 (5.7%) であったが、 $0.2 \mu\text{g/ml}$  の DKB 存在下では PIPC が 33 株 (94.3%)、TIPC が 23 株 (65.7%) であった。
- 6) 同様に PCs の MBC が  $6.25 \mu\text{g/ml}$  以下となる株数の変化をみると、単独では PIPC が 15 株 (42.6%)、TIPC が 2 株 (5.7%) であったが、 $0.2 \mu\text{g/ml}$  の DKB 存在下では PIPC が 29 株 (82.9%)、TIPC が 16 株 (45.7%) であった。

緑膿菌感染症に対しては SBPC, CBPC とアミノ配糖体剤の併用が臨床的に有用であり、また *in vitro* においても相乗効果が認められている<sup>1)</sup>。今回、われわれは Dynatech MIC 2000 を用いて臨床分離緑膿菌 35 株について PIPC, TIPC の MIC と MBC、これらと DKB との併用による MIC と MBC を求め、その *in vitro* 併用効果に関する知見を得たので報告する。

## I. 実験方法

使用菌株：臨床分離緑膿菌 35 株  
使用薬剤：Piperacillin (PIPC)  
Ticarcillin (TIPC)  
Dibekacin (DKB)

Dynatech MIC 2000 を用いて、呼吸器疾患患者の主に喀痰より分離された緑膿菌 35 株に対する PIPC, TIPC の単独の MIC と MBC、および DKB 併用による MIC

と MBC を測定した。

増菌用および感受性測定用培地は Heart infusion broth (Difco) を用いた。ペニシリン剤 (以下 PCs) は 0, 0.39~400  $\mu\text{g/ml}$ 、DKB は 0, 0.1~6.25  $\mu\text{g/ml}$  の2段階希釈濃度として、あらかじめ Fig. 1 に示したように PCs と DKB の種々の濃度の組み合わせのプレートを作製しておき、一夜培養菌液を滅菌生理的食塩液で 10 倍に希釈して接種し (この際 0.1 ml の薬剤含有培地に約  $10^5$  個の菌数となる)、 $37^\circ\text{C}$ 、18 時間培養後 MIC を測定するとともに、薬剤を含まない Heart infusion broth のプレートに再接種し、 $37^\circ\text{C}$ 、24 時間培養後 MBC を測定した (MBC は 99.95% 殺菌濃度として求められることになる)。

## II. 実験結果とその解析

- 1) 臨床分離緑膿菌 35 株に対する PCs の MIC を

Fig.1 Microplate of Dynatech MIC 2000 for the determination of combined effect of PC and DKB

PC	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
DKB	0	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400
A 0	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
B 0.1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
C 0.2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
D 0.39	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
E 0.78	○	○	○	○	○	●	○	○	○	○	○	○
F 1.56	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
G 3.13	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
H 6.25	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

2~12: PC (0.39~400 µg/ml)  
 B~H: DKB (0.1~6.25 µg/ml)  
 ●: PC 6.25 µg/ml + DKB 0.78 µg/ml

Fig.2 MICs of PIPC, TIPC against *Pseudomonas aeruginosa* (35 clinical isolates)

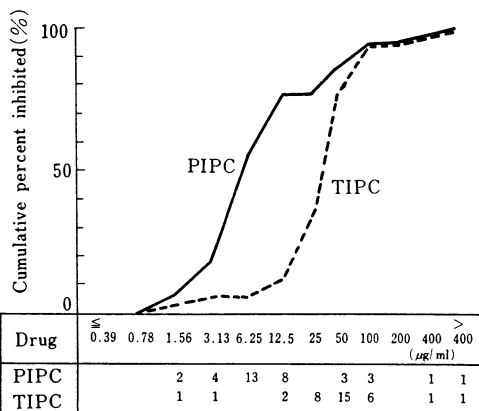


Fig.2に示した。MICのピークはPIPCが6.25 µg/mlに、TIPCが50 µg/mlにあり、PIPCがTIPCより3段階優れていた。

PCs単独のMBCをFig.3に示した。MBCのピークはPIPCが6.25 µg/mlに、TIPCが50 µg/mlにあり、PIPCがTIPCより3段階優れていた。

DKB単独のMICは0.2~6.25 µg/ml以上に分布し、0.39 µg/mlにピークを有しており、MBCは0.2~6.25 µg/ml以上に分布し、0.78 µg/mlにピークを有していた。MICおよびMBCともに35株中32株が3.13 µg/ml以下であり、殆んどがDKB感性菌であった。

2) PCsとDKBとの併用効果を Fractional inhibitory concentration index (以下 FIC index), Frac-

Fig.3 MBCs of PIPC, TIPC against *Pseudomonas aeruginosa* (35 clinical isolates)

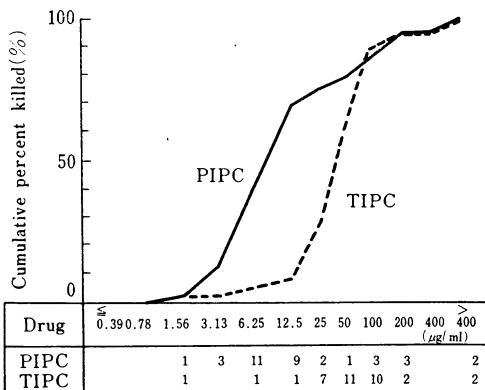


Table 1 Fractional inhibitory (bactericidal) concentration index [FIC index (FBC index)]

$$FIC_A = \frac{MIC(MBC) \text{ of drug A when combined with drug B}}{MIC(MBC) \text{ of drug A alone}}$$

$$FIC_B = \frac{MIC(MBC) \text{ of drug B when combined with drug A}}{MIC(MBC) \text{ of drug B alone}}$$

$$FIC \text{ index (FBC index)} = FIC_A(FBC_A) + FIC_B(FBC_B)$$

Table 2 Degree of combined effects of antibacterial activities

FIC index ≤ 0.5 (FBC index)	Synergistic
0.5 < FIC index < 1.0 (FBC index)	Partially synergistic
FIC index = 1.0 (FBC index)	Additive
FIC index = 2.0 (FBC index)	Indifferent

tional bactericidal concentration index (以下 FBC index) を求めることにより検討した。

B剤併用時のA剤のMICをA剤単独のMICで割った値をFIC<sub>A</sub>とし、同様にしてFIC<sub>B</sub>を求め、FIC<sub>A</sub>とFIC<sub>B</sub>を加えた値が最小となる点の値をもって、その株に対する両剤のFIC indexとした。同様にMICのところMICを代入すればFBC indexが求まる (Table 1)。

このindexが0.5かそれ以下の場合を相乗作用、0.5~1.0の間を部分的相乗作用、1.0の場合を相加作用、2.0の場合(併用効果も拮抗作用も認められない)

Table 3 Inhibitory effect of PCs plus DKB on growth of *Pseudomonas aeruginosa* (35 clinical isolates)

Interaction	Numbers of strains	
	PIPC+DKB	TIPC+DKB
Synergistic	26(74.3%)	23(65.7%)
Partially synergistic	9(25.7%)	8(22.9%)
Additive	0	2(5.7%)
Indifferent	0	2(5.7%)

Table 4 Bactericidal effect of PCs plus DKB on *Pseudomonas aeruginosa* (35 clinical isolates)

Interaction	Numbers of strains	
	PIPC+DKB	TIPC+DKB
Synergistic	23(65.7%)	18(51.4%)
Partially synergistic	12(34.3%)	15(42.9%)
Additive	0	0
Indifferent	0	2(5.7%)

を不関とした。なお拮抗作用を示した株はみられなかった (Table 2)。

3) 発育阻止の面で DKB との併用効果をみると、35 株中相乗作用は PIPC が 26 株 (74.3%)、TIPC が 23 株 (65.7%) にみられ、PIPC が TIPC より優れていた (Table 3)。殺菌力の面で DKB との併用効果をみると、35 株中相乗作用は PIPC が 23 株 (65.7%)、TIPC が 18 株 (51.4%) にみられ、PIPC が TIPC より優れていた (Table 4)。

次に、i) 全株、ii) PCs 単独の MIC が 12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以上、iii) 6.25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以下のグループに分けてそれぞれの平均 FIC index をみると、全株の場合、PIPC の平均 FIC index は 0.435、TIPC のそれは 0.581 であり、PIPC が優れていた。また PIPC、TIPC いずれの場合も、PCs 単独の MIC が 12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以上のグループの平均 FIC index の方が、6.25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以下のグループのそれよりも小さい値を示し、臨床的合目的性が認められた (Table 5)。

同様に平均 FBC index についてみると、全株の場合、PIPC の平均 FBC index は 0.438、TIPC のそれは 0.567 であり PIPC が優れていた。また PIPC、TIPC いずれの場合も、PCs 単独の MBC が 12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以上のグループの平均 FBC index の方が、6.25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以下のグループのそれよりも小さい値を示し、臨床的合目的性が認められた (Table 6)。

さらに見方を変えて、DKB 添加による緑膿菌 35 株

Table 5 Potentiation of anti-*Pseudomonas* activities of PCs in combination with DKB (35 clinical isolates)

	Mean FIC indices		
	Total	MICs of PCs	
		$\geq 12.5 \mu\text{g}/\text{ml}$	$\leq 6.25 \mu\text{g}/\text{ml}$
PIPC+DKB	0.435(35)	0.386(16)	0.479(19)
TIPC+DKB	0.581(35)	0.574(33)	0.688(2)

Number in parenthesis indicates the number of strains

Table 6 Potentiation of bactericidal activities against *Pseudomonas aeruginosa* of PCs in combination with DKB (35 clinical isolates)

	Mean FBC indices		
	Total	MBCs of PCs	
		$\geq 12.5 \mu\text{g}/\text{ml}$	$\leq 6.25 \mu\text{g}/\text{ml}$
PIPC+DKB	0.438(35)	0.351(20)	0.554(15)
TIPC+DKB	0.567(35)	0.556(33)	0.750(2)

Number in parenthesis indicates the number of strains

Table 7 Decrease in MICs against *Pseudomonas aeruginosa* of PCs in combination with DKB (35 clinical isolates)

Addition	Numbers of strains against which MICs of PCs are 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ or less	
	PIPC	TIPC
None	19(54.3%)	2(5.7%)
0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of DKB	29(82.9%)	11(31.4%)
0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of DKB	33(94.3%)	23(65.7%)

Table 8 Decrease in MBCs against *Pseudomonas aeruginosa* of PCs in combination with DKB (35 clinical isolates)

Addition	Numbers of strains against which MBCs of PCs are 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ or less	
	PIPC	TIPC
None	15(42.9%)	2(5.7%)
0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of DKB	26(74.3%)	8(22.9%)
0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of DKB	29(82.9%)	16(45.7%)

に対する PCs の MIC の変化を検討した。PCs 単独の MIC が 6.25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以下であった株は PIPC が 19 株 (54.3%)、TIPC が 2 株 (5.7%) であったが、0.2  $\mu\text{g}/$

ml の DKB を添加した場合には PIPC が 33 株 (94.3%)、TIPC が 23 株 (65.7%) と増加した (Table 7)。

同様に PCs の MBC が  $6.25 \mu\text{g/ml}$  以下の株数の変化をみると、単独では PIPC が 15 株 (42.6%)、TIPC が 2 株 (5.7%) であったのが、 $0.2 \mu\text{g/ml}$  の DKB を添加した場合には PIPC が 29 株 (82.9%)、TIPC が 16 株 (45.7%) と増加した (Table 8)。

### III. 考 察

近年、抗緑膿菌性  $\beta$ -ラクタム剤が続々と開発されている。かつては CBPC、SBPC の 2 剤だけであったのが、昭和 55 年 2 月には PIPC、TIPC が市販となった。さらに Cefsulodin、Cefoperazone、Apalcillin の市販が控えている。われわれの施設で扱うことの多い呼吸器感染症において、緑膿菌によるものの頻度はそれほど多くはないが、いったん発症すれば  $\beta$ -ラクタム剤の喀痰中濃度が低いことから<sup>2-5)</sup>、MIC を考慮すると CBPC や SBPC 単独では臨床効果が期待できない場合が多いことを経験してきた。またアミノ配糖体剤の場合、喀痰中濃度が起炎菌の MIC を超えているにもかかわらず除菌され難いとの報告もあり<sup>6)</sup>、両者の併用による臨床効果に期待がもたれる。緑膿菌に対する *in vitro* の併用効果に関しては、AMK と CBPC<sup>1)</sup>、GM と PIPC<sup>7)</sup>、などの報告がある。今回の実験に用いた臨床分離緑膿菌 35 株のうち大部分は DKB 感性菌ではあるが、*in vitro* において PIPC、TIPC と DKB との間に著明な併用効果を認めた。特に PIPC の場合、単独の MIC が TIPC よりも 3 段階低く、かつ DKB との併用効果も MIC、MBC において優れていた。すなわち  $0.2 \mu\text{g/ml}$  の DKB 存在下では PIPC の MIC は著明に低下し、35 株中 33 株が  $6.25 \mu\text{g/ml}$  以下であり、このうち 30 株は  $3.13 \mu\text{g/ml}$  以下であった。同様に  $0.2 \mu\text{g/ml}$  の DKB 存在下で PIPC の MBC も著明に低下し、35 株中 29 株が  $6.25 \mu\text{g/ml}$  以下であり、このうち 27 株が  $3.13 \mu\text{g/ml}$  以下であった。また、35 株中 3 株は DKB の MIC、

MBC が  $>6.25 \mu\text{g/ml}$  であり、後に測定した DKB の MIC、MBC は 2 株は  $12.5 \mu\text{g/ml}$ 、 $12.5 \mu\text{g/ml}$  であり、1 株は  $50 \mu\text{g/ml}$ 、 $100 \mu\text{g/ml}$  であった。これら 3 株に対する TIPC+DKB の FIC index は 1.0, 2.0, 2.0, FBC index は 2.0, 2.0, 0.531 であったが、PIPC+DKB の FIC index は 0.266, 0.625, 0.25 であり、FBC index は 0.5, 0.625, 0.188 と DKB 感性緑膿菌に対すると同様の併用効果を認めた。

現在、市販されている抗緑膿菌性  $\beta$ -ラクタム剤の中で PIPC は DKB との併用により、緑膿菌による慢性気道感染症あるいは肺癌二次感染に対しても効果が期待できるものと思われる。

### 文 献

- 1) 佐々木昌子, 大泉耕太郎, 渡辺 彰, 青沼清一, 今野 淳: Carbenicillin と Aminoglycoside 併用における基礎的, 臨床的研究。Chemotherapy 28: 825~835, 1980
- 2) MATSUMOTO, K. & Y. UZUKA: Concentrations of antibiotics in bronchiolar secretions of the patients with chronic respiratory infections, Chemotherapy, Vol.4, ed., Plenum Publishing Co., New York. 73~78, 1976
- 3) 松本慶蔵, 他 (2 施設): T-1220 の基礎的・臨床的研究。Chemotherapy 25: 1105~1121, 1977
- 4) 松本慶蔵, 宇塚良夫, 野口行雄, 渡辺貴和雄, 鈴木 寛, 永武 毅, 玉置公俊, 榎 士易, 井手政利: Ticarcillin の基礎的・臨床的研究。Chemotherapy 25: 2641~2649, 1977
- 5) 松本慶蔵, 野口行雄, 永武 毅, 宇塚良夫, 鈴木 寛, 玉置公俊, 渡辺貴和雄, 榎 士易, 井手政利: PC-904 に関する基礎的・臨床的研究。Chemotherapy 26S-2: 383~393, 1978
- 6) 松本慶蔵, 他 (4 施設): Tobramycin に関する基礎的, 臨床的研究。Chemotherapy 23: 915~928, 1975
- 7) 高橋公毅, 小林章男: 緑膿菌, クレブシエラ, セラチアに対する抗生剤の併用効果。Chemotherapy 27: 848~856, 1979

## STUDIES ON COMBINATION OF ANTIBIOTICS ( I )

IN VITRO COMBINED EFFECT OF PIPERACILLIN, TICARCILLIN AND  
DIBEKACIN AGAINST CLINICALLY ISOLATED *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*SEIICHI AONUMA, KIKUO ONUMA, AKIRA WATANABE, MASAKO SASAKI,  
KOTARO OIZUMI and KIYOSHI KONNODepartment of Internal Medicine, The Research Institute for  
Chest Diseases and Cancer, Tohoku University

(1) When used alone, MIC of PIPC was found most frequently at 6.25  $\mu\text{g/ml}$  and that of TIPC at 50  $\mu\text{g/ml}$ . Thus it was found that the antipseudomonal activity of PIPC was almost 3 times as strong as that of TIPC.

(2) Synergistic inhibitory effects of PIPC plus DKB (FIC index  $\leq 0.5$ ) were observed on 26 strains (74.3%) and those of TIPC plus DKB on 23 strains (65.7%). Thus synergistic growth-inhibitory effects by combination of PIPC and DKB were found to be somewhat superior to those of TIPC DKB.

(3) Synergistic potentiation of bactericidal activity (FBC index  $\leq 0.5$ ) of PIPC plus DKB was found against 23 strains (65.7%), while that of TIPC plus DKB against 18 strains (51.4%). Thus, PIPC was found to show more remarkable effects than TIPC when combined with DKB.

(4) Test strains in this experiment were divided into the following two groups: in group I, MIC of PIPC and TIPC respectively was 6.25  $\mu\text{g/ml}$  and below, and in group II, 12.5  $\mu\text{g/ml}$  and above.

Combined effects of PIPC plus DKB and those TIPC of DKB respectively were compared between group I and group II.

As shown by FIC- and FBC- indices, the combined effects were more evident in group II than in group I.

These results indicated the advantage of combining  $\beta$ -lactam antibiotics with DKB, as evidenced by enhanced synergistic growth-inhibitory effects on the strains that are not very sensitive to  $\beta$ -lactams.

MIC of PIPC and TIPC respectively was decreased by addition of a small amount of DKB. When used alone, MIC of 6.25  $\mu\text{g/ml}$  and below was found for PIPC in 19 strains (54.3%) and for TIPC in 2 strains (5.7%) respectively.

In the presence of 0.2  $\mu\text{g/ml}$  of DKB, on the other hand, MIC of 6.25  $\mu\text{g/ml}$  and below was found for PIPC in 33 strains (94.3%) and for TIPC in 23 strains (65.7%) respectively. Similarly, MBC (without partner drug) of 6.25  $\mu\text{g/ml}$  and below was found for PIPC in 15 strains (42.9%) and for TIPC in 2 strains (5.7%) respectively. When combined with 0.2  $\mu\text{g/ml}$  of DKB, MBC of 6.25  $\mu\text{g/ml}$  and below was found for PIPC in 29 strains (82.9%) and for TIPC in 16 strains (45.7%) respectively.