

## 抗生物質の併用に関する研究 (Ⅲ)

臨床分離菌に対する Piperacillin と Dibekacin の *in vitro* 併用効果に関する実験的考察

—肺炎桿菌に対する殺菌効果を含めて—

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 11 月 4 日受付)

Dynatech MIC 2000 を用いた液体培地希釈法により臨床分離の *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. marcescens*, *E. cloacae* に対する Piperacillin (PIPC) と Dibekacin (DKB) の *in vitro* 併用効果を検討した。いずれの菌種においても強い併用効果を示し、相乗作用はそれぞれ 40%, 70%, 36.8%, 55%, 47.1% に認められた。また、0.39  $\mu\text{g/ml}$  の DKB 併用により PIPC の MIC が 1.56  $\mu\text{g/ml}$  以下となる株は、それぞれ 95%, 95%, 68.4%, 80%, 76.5% であり、呼吸器感染症に対する臨床的有用性がうかがわれた。

*K. pneumoniae* PCI 602 に対する PIPC と DKB の殺菌作用は、併用時に著しく増強され、薬剤作用 4 時間後の生菌数は初めの  $4 \times 10^7$  cells/ml から、1/8 MIC の PIPC と 1/4 MIC の DKB の併用では  $2 \times 10^4$  cells/ml に、1/8 MIC の PIPC と 1/2 MIC の DKB の併用では  $6 \times 10^2$  cells/ml にまで減少した。

*P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* に対する  $\beta$ -ラクタム剤とアミノ配糖体が *in vitro* で併用効果を示す報告は多く<sup>1-6)</sup>、臨床的にもその有用性が認められている<sup>1,6)</sup>。

われわれは、*P. aeruginosa* に対して PIPC と DKB が *in vitro* で著明な併用効果を示すことを確認している<sup>3)</sup>。今回、*P. aeruginosa* 以外のグラム陰性桿菌 4 菌種と *S. aureus* に対する PIPC と DKB の *in vitro* 併用効果を検討し、さらに *K. pneumoniae* の標準株に対する殺菌効果についても検討した。

## I. 実験方法

使用菌株：主に喀痰より分離された *S. aureus* 20 株、*K. pneumoniae* 20 株、*E. coli* 19 株、*S. marcescens* 20 株、*E. cloacae* 17 株と *K. pneumoniae* PCI 602。

使用薬剤：Piperacillin (PIPC)

Dibekacin (DKB)

使用培地：増菌用および感受性測定用として heart infusion broth (HIB, Difco) を用いた。

## 1. 各菌種に対する PIPC と DKB の併用効果

Dynatech MIC 2000 を用いた液体培地希釈法により、上記菌種について PIPC の単独および DKB 併存下の MIC を測定した。

PIPC は 0, 0.2~200  $\mu\text{g/ml}$ , DKB は 0, 0.1~6.25  $\mu\text{g/ml}$  の 2 段階希釈濃度とした。あらかじめ両薬剤が

種々の濃度の組み合わせで含有された培地のプレートを作成しておき、1 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、グラム陰性桿菌の場合は約  $10^5$  個、*S. aureus* の場合は約  $10^4$  個の接種菌量となる)、37°C, 18 時間培養後 MIC を測定した。

2. *K. pneumoniae* PCI 602 に対する PIPC, DKB の単独および併用による殺菌効果

1 夜培養した *K. pneumoniae* PCI 602 の菌液を HIB で 100 倍に希釈して 37°C で 1 時間培養後、最終濃度が a)~f) となるように薬剤を加えて 37°C で培養し、2 時間および 4 時間後に生菌数を測定した。薬剤を加えないものを対照とした。

- a) PIPC 12.5  $\mu\text{g/ml}$  (MIC)
- b) PIPC 1.56  $\mu\text{g/ml}$  (1/8 MIC)
- c) DKB 0.78  $\mu\text{g/ml}$  (1/2 MIC)
- d) DKB 0.39  $\mu\text{g/ml}$  (1/4 MIC)
- e) PIPC 1.56  $\mu\text{g/ml}$ +DKB 0.78  $\mu\text{g/ml}$
- f) PIPC 1.56  $\mu\text{g/ml}$ +DKB 0.39  $\mu\text{g/ml}$

## II. 実験結果とその解析

1. 各菌種に対する PIPC と DKB の併用効果

Fig. 1~5 に PIPC の単独および DKB 併存下での MIC 分布と累積曲線を示した。いずれの菌種において

Fig. 1 Sensitivity distribution of PIPC alone or combined with DKB

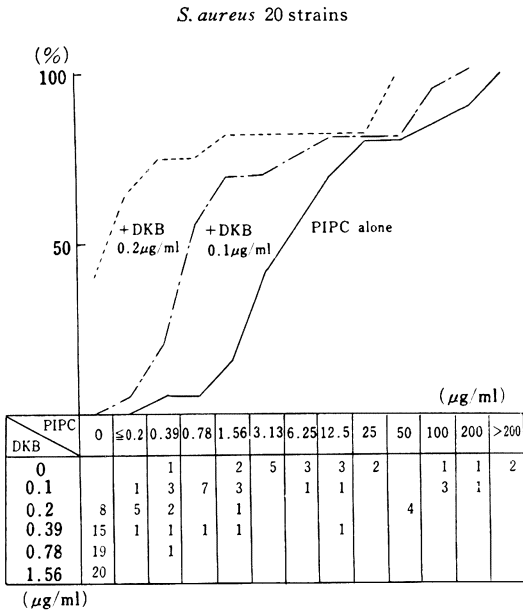


Fig. 2 Sensitivity distribution of PIPC alone or combined with DKB

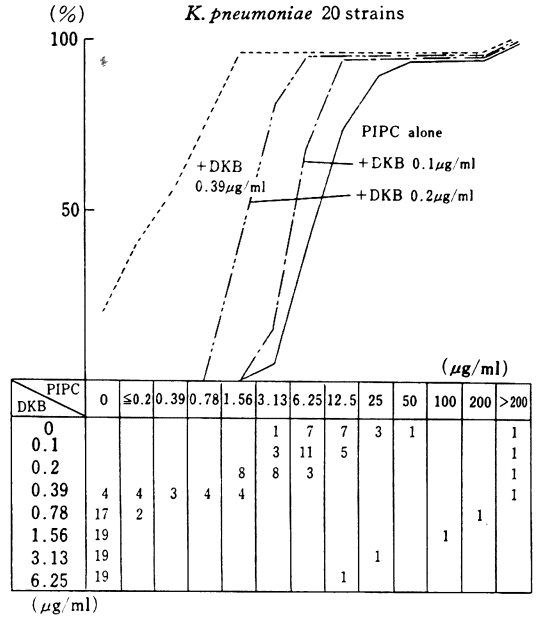


Fig. 3 Sensitivity distribution of PIPC alone or combined with DKB

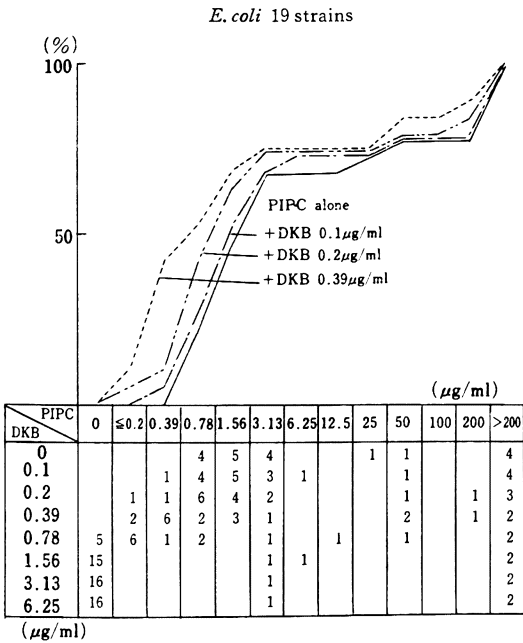
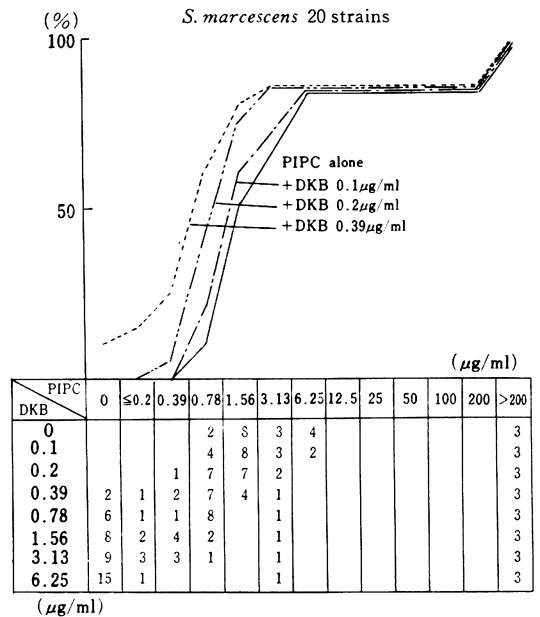


Fig. 4 Sensitivity distribution of PIPC alone or combined with DKB

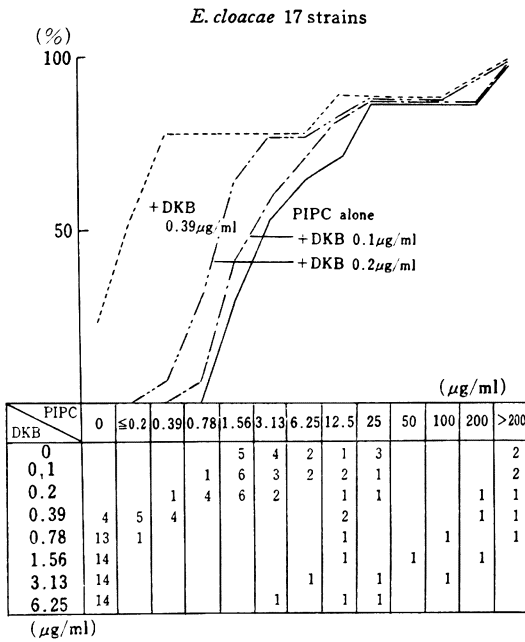


も、低濃度のDKBの併用によりPIPCのMIC累積曲線は左方に移動し、明らかな併用効果が認められた。

各菌株についてチェス平板法によりFIC indexを求め、FIC index ≤ 0.5を相乗作用、0.5 < FIC index < 1.0を部分的相乗作用、FIC index = 1.0を相加作用、

併用効果も拮抗作用も示さないものを不関と定義してTable 1に示した。相乗作用を示した株は*K. pneumoniae*が70%と最も多く、他の菌種においても36.8%から55%であり、部分的相乗作用まで含めると80%以

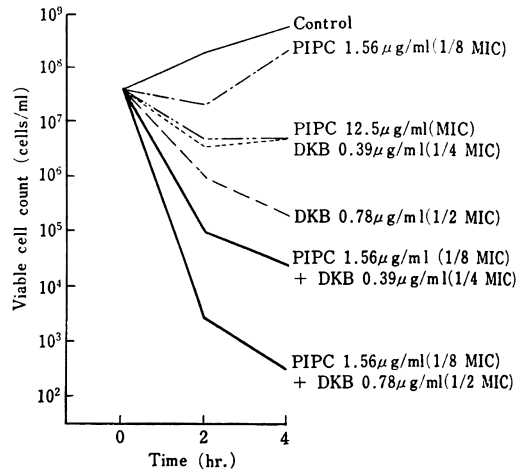
Fig. 5 Sensitivity distribution of PIPC alone or combined with DKB



上を占めた。なお拮抗作用はみられなかった。

次に各菌種について、DKBの併用により PIPC の MIC が 1.56 μg/ml 以下となる株数の変化を Table 2 に示した。各菌種とも 0.39 μg/ml の DKB 併用により 68.4% から 95% の株が PIPC の 1.56 μg/ml 以下で発育が阻止された。注目すべきは、*K. pneumoniae* の場合 PIPC 単独では 1.56 μg/ml 以下の株が 0 だったの

Fig. 6 Bactericidal activity of PIPC and DKB against *Klebsiella pneumoniae* PCI 602



が、0.39 μg/ml の DKB 併用で 19 株 (95%) が 1.56 μg/ml の PIPC で阻止されたことである。

2. *K. pneumoniae* PCI 602 に対する殺菌効果

生菌数の変化を Fig. 6 に示した。薬剤作用 2 時間までに、いずれの薬剤濃度でも生菌数の減少を認めたが、1/8 MIC の PIPC と 1/2 MIC の DKB の併用が最も強い殺菌作用を示した。2 時間から 4 時間までの生菌数の変化をみると、1/8 MIC の PIPC では増加し、1 MIC の PIPC および 1/4 MIC の DKB それぞれ単独では殆ど変化しなかった。1/2 MIC の DKB 単独でも殺菌作用を認めたが、1/8 MIC の PIPC と 1/4 MIC の DKB の併用および 1/8 MIC の PIPC と 1/2 MIC の DKB

Table 1 Combined effect of PIPC and DKB

	Number of strains				
	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>E. cloacae</i>
Synergy	8 (40%)	14 (70%)	7 (36.8%)	11 (55%)	8 (47.1%)
Partial synergy	11 (55%)	6 (30%)	8 (42.1%)	5 (25%)	6 (35.3%)
Addition	1 (5%)	0	1 (5.3%)	0	3 (17.6%)
Indifference	0	0	3 (15.8%)	4 (20%)	0

Table 2 Combined effect of PIPC and DKB

With DKB	Number of strains whose MICs of PIPC are 1.56 μg/ml or less				
	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>E. cloacae</i>
0	3 (15%)	0	9 (47.4%)	10 (50%)	5 (29.4%)
0.1 μg/ml	14 (70%)	0	10 (52.6%)	12 (60%)	7 (41.2%)
0.2 μg/ml	16 (80%)	8 (40%)	12 (63.2%)	15 (75%)	11 (64.7%)
0.39 μg/ml	19 (95%)	19 (95%)	13 (68.4%)	16 (80%)	13 (76.5%)

の併用は、いずれもさらに強い殺菌作用を認め、薬剤作用4時間で、それぞれ生菌数は初めの1千分の1および10万分の1となった。

### III. 考 按

PIPC はグラム陽性球菌から *P. aeruginosa* を含むグラム陰性桿菌まで広範囲抗菌スペクトラムを有するといわれている。しかし、ペニシリナーゼ産生 *S. aureus* や *K. pneumoniae* に対する抗菌力は充分とはいえない。今回の実験で、PIPC 単独の MIC が  $1.56 \mu\text{g/ml}$  以下の株は、前者が3株 (15%)、後者は0であったのが、 $0.39 \mu\text{g/ml}$  の DKB 併用により、いずれも19株 (95%) と増加し、両薬剤のこれらの濃度は常用量の投与で得られる喀痰内濃度であり<sup>7,8)</sup>、呼吸器感染症に対する臨床的有用性がうかがわれた。

*K. pneumoniae* の標準株に対する殺菌効果において、MIC 以下の PIPC と DKB の併用で著しい殺菌作用を示した。われわれは先に、同株に対して Cephalothin (CET)+Amikacin (AMK), Cefazolin (CEZ)+DKB, Cefmetazole (CMZ)+DKB は、いずれもそれぞれ 1/2 MIC ずつの併用で殺菌作用が増強されることを報告したが<sup>9)</sup>、今回の実験で 1/8 MIC の PIPC と 1/2 MIC の DKB の併用がさらに強い殺菌作用を示したことは注目し値する。すなわち当施設において扱うことが多い肺癌二次感染症においては、喀痰より *K. pneumoniae* が分離される場合が多く<sup>6)</sup>、また宿主は局所的・全身的に感染抵抗力が減弱しており、低濃度でより強力な殺菌作用を有する薬剤の投与が必要である。そのためには  $\beta$ -ラクタム剤とくにセフェム剤とアミノ配糖体を併用し、良好な治療成績を得ている。しかし二世代までのセフェム剤は *Serratia*, *Enterobacter*, *P. aeruginosa* に対しては無効であり、まれにこれらの菌による菌交代症を起こすことがある<sup>9,10)</sup>。その点 PIPC と DKB の併用は、*K. pneumoniae* に対して強い殺菌作用を示すばかりでなく、*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Serratia*, *Enterobacter* に対しても強い併用効果を示すので、その有用性が期待される。

### 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) 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
- 3) 青沼清一, 大沼菊夫, 渡辺 彰, 佐々木昌子, 大泉耕太郎, 今野 淳: 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. *Chemotherapy* 30: 149~153, 1982
- 4) 青沼清一, 大沼菊夫, 渡辺 彰, 佐々木昌子, 大泉耕太郎, 今野 淳, 林 泉, 岡本宏明: 抗生物質の併用に関する研究(II), 緑膿菌に対する Cefsulodin と Aminoglycoside 併用に関する基礎的・臨床的研究. *Chemotherapy* 30: 770~775, 1982
- 5) 青沼清一, 大沼菊夫, 渡辺 彰, 佐々木昌子, 大泉耕太郎, 今野 淳, 林 泉: 肺炎桿菌に対するセフェム剤とアミノグリコシド剤の *in vitro* 併用効果. 第28回日本化学療法学会東日本支部総会抄録集, No. 135, 1981
- 6) 今野 淳, 本宮雅吉, 大泉耕太郎, 佐々木昌子, 渡辺 彰, 青沼清一, 大沼菊夫: 抗生物質の併用に関する研究—— $\beta$ -lactam剤とアミノ配糖体の併用. *日本医事新報* 2978: 26~29, 1981
- 7) 松本慶蔵, 他(2施設): T-1220の基礎的・臨床的研究. *Chemotherapy* 25: 1105~1121, 1977
- 8) 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
- 9) 青沼清一, 渡辺 彰, 佐々木昌子, 富樫秀生, 大泉耕太郎, 今野 淳: 菌交代症としてのセラチアによる呼吸器感染症の誘因と予後について. *日本胸部疾患学会誌* 17, 増刊号: 32, 1979
- 10) 佐々木昌子, 大泉耕太郎, 青沼清一, 今野 淳: 緑膿菌による肺癌二次感染の最近5年間の傾向. *結核* 56: 238, 1981

## STUDIES ON COMBINATION OF ANTIBIOTICS (III)

IN VITRO COMBINED EFFECT OF PIPERACILLIN AND DIBEKACIN  
AGAINST CLINICAL ISOLATES—BACTERICIDAL EFFECT OF PIPERACILLIN AND DIBEKACIN  
AGAINST *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*—

SEIICHI AONUMA, KIKUO ONUMA, AKIRA WATANABE,  
MASAKO SASAKI, KOHTARO OIZUMI and KIYOSHI KONNO  
Department of Internal Medicine, The Research Institute  
for Chest Disease and Cancer, Tohoku University

*In vitro* combined activity of piperacillin (PIPC) and dibekacin (DKB) against clinical isolates of *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. marcescens*, *E. cloacae* was investigated by use of Dynatech MIC 2000. Excellent combined effects were observed against all of tested species. Synergism (FIC index  $\leq 0.5$ ) was demonstrated in 40%, 70%, 36.8%, 55%, 47.1%, in above mentioned species respectively.

Bactericidal activity against *K. pneumoniae* PCI 602 was enhanced by combination of PIPC and DKB. When bacilli were treated for 4 hours with PIPC (1/8 MIC) plus DKB (1/2 MIC), the viable cell count decreased markedly and the colony-forming-unit was found to be 1/100000 of the initial inoculum.