

Methicillin 耐性黄色ブドウ球菌に対する Vancomycin,
Fosfomycin, Minocycline および Cefamandole
の併用効果について

高橋 公毅・菅野 治重

千葉大学医学部附属病院検査部

陳 瑞 明

千葉大学医学部肺病研究施設内科

(昭和 61 年 10 月 23 日受付)

Vancomycin (VCM)+Fosfomycin (FOM), Cefamandole (CMD)+Minocycline (MINO), CMD+FOM の併用効果を臨床材料より分離した Methicillin 耐性黄色ブドウ球菌を用い、微量液体希釈法により検討した。相乗作用 (FIC index ≤ 0.5) は, VCM+FOM で 20.9%, CMD+MINO で 19.3%, CMD+FOM で 100.0% であった。今回行なった CMD+FOM の組み合わせは, チェス盤法および殺菌曲線においても著しい相乗効果を示し, 重症な MRSA 感染症に対する臨床的有用性がうかがわれた。

最近, Methicillin 耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) による感染症が増加している¹⁾。また千葉大学医学部附属病院検査部での MRSA の分離率も増加している²⁾。MRSA は VCM^{3,4)}, MINO^{5,6)}, FOM^{3,5)}, CMD⁷⁾ に感受性である。それ故, 臨床材料から分離された MRSA に対する VCM+FOM, CMD+MINO および CMD+FOM の併用効果を検討したので, その成績を報告する。

I. 実験材料と実験方法

1. 使用薬剤

VCM と CMD は塩野義製薬から, FOM は明治製薬, MINO は日本レダリーから提供を受けた粉末を適宜溶解して用いた。

2. 使用菌株

千葉大学医学部附属病院検査部で臨床材料から分離した MRSA (Methicillin に対する MIC が $>4 \mu\text{g/ml}$ ¹⁰⁾ 62 株を用いた。

3. 相乗作用

MRSA に対する VCM, MINO, FOM および CMD の MIC の測定および *in vitro* での併用効果は, Ca^{2+} , Mg^{2+} 加 Mueller-Hinton Broth (Difco 社) を用い, NCCLS¹¹⁾ に従って微量液体希釈法により検討した。VCM, MINO, FOM および CMD は, それぞれ 4.0~0.06 $\mu\text{g/ml}$, 8.0~0.125 $\mu\text{g/ml}$, 128.0~0.125 $\mu\text{g/ml}$, 64.0~0.06 $\mu\text{g/ml}$ の 2 段階希釈濃度とした。VCM+FOM, CMD+MINO および CMD+FOM 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

を滅菌水で 10 倍に希釈し, 抗菌剤含有培地に接種 (この際 0.1 ml の薬剤含有培地に約 5×10^4 個の接種菌量となる) し, 37°C, 48 時間培養後菌発育のみられぬ抗菌剤の最小濃度の組み合わせ点を求めた。併用効果の強さは, 併用による菌発育阻止点での fractional inhibitory concentration (FIC) と FIC 係数 (FIC index) で表わし, 最も低い FIC index で代表させた¹²⁾。FIC index が ≤ 0.5 を相乗作用, $0.5 < \text{FIC index} < 1.0$ を部分相乗作用, FIC index = 1.0 を相加作用, FIC index = 2 を不関, FIC index が > 2 を拮抗作用とした。FIC index が ≤ 0.5 の場合を有意義な相乗作用とした^{10,11)}。

4. 併用による経時的殺菌曲線

MRSA No. 5 株, No. 36 株および No. 51 株を Ca^{2+} , Mg^{2+} 加 Mueller-Hinton Broth で一夜培養し, MRSA No. 5 株, No. 36 株および No. 51 株を a), b), c) の薬液に, 菌の最終菌数が約 $10^6/\text{ml}$ になるように加えて, 37°C で培養し, 3 時間, 6 時間, 24 時間および 48 時間後に生菌数を測定した。殺菌曲線に用いた各薬剤の濃度は常用投与量で得られる平均血中濃度を用いた。薬剤を加えないものを対照とした。

- a) CMD 32 $\mu\text{g/ml}$
- b) FOM 32 $\mu\text{g/ml}$
- c) CMD 32 $\mu\text{g/ml}$ +FOM 32 $\mu\text{g/ml}$

II. 実験成績および考察

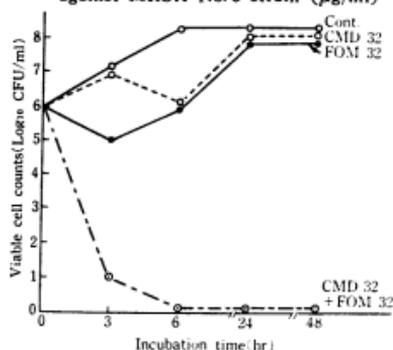
1. 微量液体チェス盤法による併用効果

結果を Table 1 に示した。VCM+FOM の組み合わせで, 相乗作用は 13 株 (20.9%), 部分相乗作用は 43

Table 1 Comparison of fractional inhibitory concentration (FIC) indices in two-antibiotic combinations against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

FIC index	No. of strains (%)		
	Vancomycin-Fosfomycin	Cefamandole-Minocycline	Cefamandole-Fosfomycin
2.0	3 (4.8)	12 (19.3)	
1.0	3 (4.8)	1 (1.6)	
0.75	6	10	
0.62	9	7	
0.56	10 (69.3)	7 (59.6)	
0.53	9	8	
0.51	9	5	
0.50	8	10	1
0.37	3 (20.9)	1	7
0.31	2		10
0.28			8
0.26			1
0.25		1	16 (100.0)
0.18			14
0.15			3
0.12			1
0.09			1
Range	0.31-2.0	0.25-2.0	0.09-0.50
Mean \pm S.D.	0.64 \pm 0.33	0.85 \pm 0.57	0.25 \pm 0.07

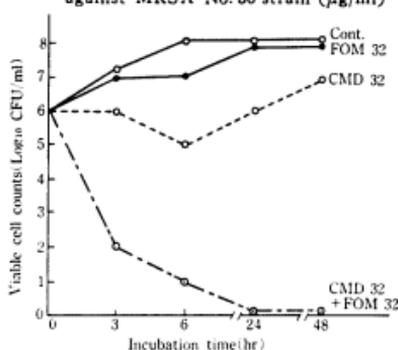
Fig. 1 Bactericidal effects of CMD+FOM against MRSA No. 5 strain ($\mu\text{g/ml}$)



MIC: CMD 32 $\mu\text{g/ml}$, FOM 64 $\mu\text{g/ml}$
FIC index: 0.12

株 (69.3%), 相加作用は3株 (4.8%), 不関は3株 (4.8%) に認められた。CMD+MINO の組み合わせで、相乗作用は12株 (19.3%), 部分相乗作用は37株 (59.6%), 相加作用は1株 (1.6%), 不関は12株 (19.3%) に認められた。CMD+FOM の組み合わせでは、相乗作用は62株 (100.0%) に認められた。VCM+FOM, CMD+MINO および CMD+FOM の平均 FIC

Fig. 2 Bactericidal effects of CMD+FOM against MRSA No. 36 strain ($\mu\text{g/ml}$)



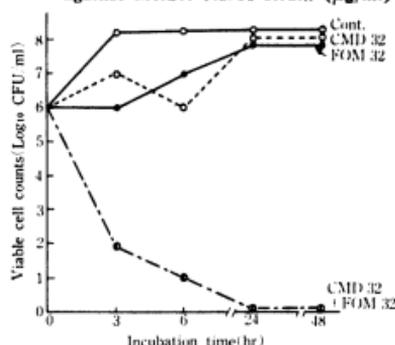
MIC: CMD 32 $\mu\text{g/ml}$, FOM 64 $\mu\text{g/ml}$
FIC index: 0.31

index は、それぞれ 0.64, 0.85 および 0.25 であった。

2. 併用による殺菌効果

MRSA No. 5 株, No. 36 株および No. 51 株に対する CMD+FOM の殺菌効果を Fig. 1, 2 および 3 に示した。MRSA No. 5 株, No. 36 株および No. 51 株に対する CMD および FOM の MIC は 32 $\mu\text{g/ml}$ および 64 $\mu\text{g/ml}$ であった。Fig. 1 から明らかなように、MRSA No. 5

Fig. 3 Bactericidal effects of CMD+FOM against MRSA No. 51 strain ($\mu\text{g/ml}$)



MIC : CMD 32 $\mu\text{g/ml}$, FOM 64 $\mu\text{g/ml}$
FIC index : 0.28

株に CMD 32 $\mu\text{g/ml}$ と FOM 32 $\mu\text{g/ml}$ を併用させ、3時間作用させると、はじめの接種菌量 $10^6/\text{ml}$ から $10^1/\text{ml}$ に減少し、6時間後には菌培養不能になった。Fig. 2 および 3 に示したように、MRSA No. 36 株と No. 51 株に CMD 32 $\mu\text{g/ml}$ と FOM 32 $\mu\text{g/ml}$ を併用させ、3時間作用させると、はじめの接種菌量 $10^6/\text{ml}$ から $10^2/\text{ml}$ に減少し、6時間後には $10^1/\text{ml}$ に、24時間後には菌培養不能となった。

今回我々は千葉大学医学部附属病院検査部で臨床材料から分離した MRSA 62 株に対する VCM+FOM, CMD+MINO および CMD+FOM の併用効果について検討した。VCM は MRSA による感染症に有効な抗菌剤であるが、副作用の点で大量に投与することができない¹²⁾。VCM の使用量を減らし副作用をできるだけ軽減し、MRSA に対する抗菌力を増強させるためにも、他の抗菌剤との併用が望まれる。今回我々は、VCM+FOM の組み合わせで、供試菌株の 20.9% (13 株) にしか相乗効果は認められなかったが、ALVAREZ らは、VCM+FOM の組み合わせで、供試菌株の大部分は不関を示し、2% に拮抗作用が認められたと報告している¹³⁾。先に我々¹⁴⁾は、VCM+CMD の組み合わせで、供試菌株の 84% に相乗効果を認めた。今回の実験で、CMD+FOM の組み合わせで、相乗効果は供試菌株の 100% に認められ、明らかに VCM+FOM の組み合わせによる相乗効果は、VCM+FOM および CMD+MINO のそれよりも優れていた。HIRSCHL らは、CMD は *in vitro* では MRSA に対して感受性であったが、*in vivo* では臨床的效果がなかった。それ故、MRSA 感染症の治療に CMD を用いる場合には他の薬剤と併用

すべきだと示唆している¹⁵⁾。先に我々¹⁶⁾は、緑膿菌呼吸器感染症に対する Tobramycin, Cefsulodin, Fosfomycin 3 剤の併用療法の研究において、*in vitro* での FIC index と臨床効果には相関が認められたことを報告している。

以上によって MRSA に試験管内で CMD+FOM の組み合わせで著しい相乗効果のあることが判明した。これは FIC index および殺菌曲線で証明され、臨床に用いてみる価値があると思われる。

文 献

- 1) WENZEL, P. P.: The emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Ann. Intern. Med. 97: 440-442, 1982
- 2) 菅野治重: 耐性菌の疫学的検索—千葉大学附属病院における薬剤耐性菌の疫学的検索—臨床と微生物 13: 141-153, 1986
- 3) 菅野治重, 寺尾 清: Methicillin 耐性 *Staphylococcus aureus* とその流行。千葉医学雑誌 59: 1-6, 1983
- 4) SORRELL, T. C.; D. R. PACHAM, S. SHANKER, M. FOLDES & R. MUNRO: Vancomycin therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Ann. Intern. Med. 97: 344-350, 1982
- 5) 菅野治重: 千葉大学附属病院における MRSA の検出状況、院内感染とその対策を考える。東八幡平シンポジウム(川名林治編), 55-73, 1985
- 6) MINUTH, J. H.; T. M. HOLMES & D. M. MUSHER: Activity of tetracycline, doxycycline and minocycline against methicillin-susceptible and -resistant *Staphylococci*. Antimicrob. Agents Chemother. 6: 411-414, 1974
- 7) HIRSCHL, A.; G. STANK & M. ROTTER: Effectiveness of cefamandole against methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* *in vitro* and in experimental infections. J. Antimicrob. Chemother. 13: 429-435, 1984
- 8) National Committee for Clinical Laboratory Standards. NCCLS Proposed Standard: PSM-7. Standard methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria which grow aerobically. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa., 1980
- 9) 高橋公毅, 菅野治重: 緑膿菌に対するピペラシリン・セフォペラゾン・セフスロジン・ホスホマイシン・トブラマイシン合併による併用効果。Chemotherapy 32: 966-971, 1984
- 10) PARSLEY, T. L.; R. B. PROVONCHEE, C. GLICKSMAN & S. H. AZINNER: Synergistic activity of trimethoprim and amikacin against gram-negative bacilli. Antimicrob. Agents Chemother. 12: 349-352, 1977
- 11) BUSCH, D. F.; V. L. SUTLER & S. M. FINEGOLD:

- Activity of combination of antimicrobial agents against *Bacteroides fragilis*. *J. Infect. Dis.* 133: 321~328, 1976
- 12) FEKETY, R.: Vancomycin. *Med. Clin. N. Am.* 66: 175~181, 1982
- 13) ALVAREZ, S.; M. JONES & S. BERK: *In Vitro* activity of fosfomicin, alone and in combination, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 28: 689~690, 1985
- 14) 高橋公毅, 菅野治重, 陳 瑞明: Methicillin 耐性黄色ブドウ球菌に対する vancomycin と他の抗菌剤との併用効果。 *Chemotherapy* 34: 847~852, 1986
- 15) 陳 瑞明, 菊池典雄, 村木典子, 長尾啓一, 栗山高之, 渡辺昌平, 高橋公毅, 菅野治重: 緑膿菌呼吸器感染症に対する Tobramycin, Cefsulodin, Fosfomicin 三剤の併用療法—FIC index と治療効果について—。 *Chemotherapy* 34: 688~704, 1986

EFFECTS OF COMBINATIONS OF VANCOMYCIN,
FOSFOMYCIN, MINOCYCLINE, AND
CEFAMANDOLE AGAINST
METHICILLIN-RESISTANT
STAPHYLOCOCCUS AUREUS

KOHKI TAKAHASHI and HARUSHIGE KANNO

Department of Clinical Laboratory Medicine, Chiba University Hospital, Chiba

RUEY-MEI CHEN

Department of Chest Medicine, Institute of Pulmonary Cancer Research,
School of Medicine, Chiba University, Chiba

The effects of antibiotic combinations against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) frequently found in hospitalized patients were investigated. By means of the microtiter broth dilution checkerboard method, the combinations of VCM+FOM, CMD+MINO, and CMD+FOM were synergistic against 20.9%, 19.3%, and 100.0% of the strains tested. The mean fractionary inhibitory concentration indices of VCM+FOM, CMD+MINO, and CMD+FOM were 0.64, 0.85, and 0.25, respectively. The effect of combination of CMD+FOM was superior to those of VCM+FOM, and CMD+MINO. In the time-killing curve studies, the combination of CMD+FOM also showed bactericidal effect against the selected strains of MRSA tested.

This combination therapy may be useful for severe MRSA infections.