

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌に対する flomoxef と cefamandole の
in vitro および *in vivo* 併用効果

小林 茂直・園部 直美・土肥 正善

村上 和久・吉田 正

塩野義製薬株式会社研究所*

(平成3年5月21日受付・平成3年7月18日受理)

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) に対する flomoxef (FMOX) と cefamandole (CMD) の併用効果を *in vitro* および *in vivo* において検討した。 *In vitro* 併用効果はチェス盤法で Fractional Inhibitory Concentration (FIC) index を測定することによって、また *in vivo* 併用効果はマウス腹腔内感染に対する薬剤の単独時、併用時の ED₅₀ 値を測定し、Fractional Effective Dose (FED) index を算出することによって検討した。 FMOX と CMD の併用は *in vitro* では MRSA 190 株中 181 株 (95%) に相乗効果 (最小 FIC index ≤ 0.5) を示し、特に 36% の株では最小 FIC index が 0.25 以下となり強い相乗効果が認められた。さらに、65% の株において併用時の両薬の MIC 値は共に 1.6 μg/ml 以下となった。この併用は、fosfomycin (FOM) と他の cephalosporin との併用より強い相乗効果を示した。また latamoxef (LMOX)/cephalothin (CET) の併用は FMOX/CMD より強い相乗効果を示したが、併用時の MIC 値は FMOX/CMD の方が低かった。 Demethoxy-FMOX/CMD の併用では相乗効果が非常に弱いことから FMOX の 7α-メトキシ基が相乗作用に関与していることが確認され、ペニシリン結合タンパク質 4 (PBP 4) の阻害が MRSA の増殖阻止に必要であることが示唆された。 *In vivo* では、FMOX/CMD の併用は MRSA 4 株中 3 株に相乗治療効果を示した。この併用は FOM/CMZ あるいは LMOX/CET の併用より FED index は大きかったが併用時の ED₅₀ 値は最も小さく、少ない投与量で治療効果が認められた。以上、FMOX/CMD の併用は MRSA に対し *in vitro* と *in vivo* において相乗効果を示した。

Keywords: MRSA, flomoxef, cefamandole, 併用効果

ペニシリナーゼに安定なメチシリンが臨床に導入されてまもなくメチシリンに耐性を獲得したいわゆるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) が出現した¹⁻³⁾。1980 年代初期から我が国でも MRSA の分離頻度が次第に増加し始めている⁴⁾。これらの株の耐性機構は β-ラクタマーゼ産生によるものではなく、β-ラクタム薬に親和性の低いペニシリン結合タンパク質 (PBP 2') を産生するためであることが示された^{5,6)}。

MRSA の多くは多剤耐性であるためにこれらに有効な薬剤が少なく、MRSA 感染症の治療は困難をきわめているのが現状である。既存の薬剤の抗菌活性を高める方法として併用療法があるが、特に MRSA では有効な薬剤が少ないため、この併用療法が種々試みられている^{7,8)}。Flomoxef (FMOX) は 1-oxacephem 薬で⁹⁾グラム陽性球菌から陰性桿菌に至る広い抗菌スペクトルを持っているが、さら

に一部の MRSA にもある程度の抗菌力を示すのがその特徴である^{10,11)}。また cefamandole (CMD) は FMOX が抗菌活性を示さない耐性度の高い MRSA にもある程度の抗菌活性を有しており、MRSA に対する MIC 値が比較的狭い範囲におさまるという特徴を持っている^{12,13)}。そこで本研究では、これらの薬剤を組合せたときの MRSA に対する *in vitro* および *in vivo* 併用効果を検討した。

I. 材料と方法

1. 使用薬剤

Flomoxef (FMOX, 塩野義), cefamandole (CMD, 塩野義), cephalothin (CET, 塩野義), latamoxef (LMOX, 塩野義), fosfomycin (FOM, 明治製薬), cefmetazole (CMZ, 三共) を使用した。FMOX から 7α-メトキシ基をとり去った化学構造とした demethoxy-FMOX は、塩野義製薬研究所で合

* 大阪市福島区鷺洲 5-12-4

成された。

2. 使用菌株

日本各地で臨床検査材料から分離された黄色ブドウ球菌のうち FMOX の MIC が 1.6 $\mu\text{g/ml}$ 以上であった 190 株を MRSA として使用した。これら MRSA の 94 % は 1985 年以降に分離された株である。

3. *In vitro* 併用効果の測定

日本化学療法学会の寒天平板希釈法による抗菌薬感受性測定の標準法¹⁴⁾に準じチェス盤法で MIC を測定した。2 薬剤を各々 2 倍系列希釈して、各濃度の組み合わせの Mueller-Hinton Agar (Difco) 平板を作製した。一方, Tryptic Soy Broth (Difco) で一夜培養した菌を Mueller-Hinton Broth (Difco) で 10^6 cfu/ml に希釈し、約 1 μl を上述の平板上に接種した。37°C で 18 ~ 20 時間培養した後、MIC を判定した。各薬剤の単独時および併用時の MIC 値より Fractional Inhibitory Concentration (FIC) index を算出し、最小 FIC index が 0.5 以下の際に、「相乗効果あり」と判定した。

4. *In vivo* 併用効果の測定

滅菌水で 3 倍系列希釈した 4 濃度の薬剤溶液を用意し、各濃度 5 匹のマウス (Slc-ICR 系, 雌, 4 週齢) を用いた実験を 3 回行った。致死量の菌を 5 % ムチン液 1 ml に浮遊させてマウス腹腔内に接種し、1 時間後に薬剤を 0.2 ml 皮下投与した。7 日間生死を観察し、各薬剤の単独投与と併用時の ED₅₀ 値を probit 法により求め、Fractional Effective Dose (FED) index を算出した。実験誤差を考慮して FED index が 0.75 以下の場合を「相乗効果あり」と判定した。

II. 実験成績

1. *In vitro* 併用試験

FMOX/CMD の併用は、MRSA 190 株中 181 株

(95 %) に相乗効果を示し、特に 36 % の株では最小 FIC index が 0.25 以下となり相乗効果が強かった (Table 1)。相乗効果を示さなかった株はすべて FMOX 単独の MIC が 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の高度耐性株か、3.1 $\mu\text{g/ml}$ 以下の耐性の低い株であった。相乗効果の認められた株においても FMOX の単独時の MIC 値が低い株と高い株では相乗効果が弱く、FMOX 単独の MIC が 6.3 と 12.5 $\mu\text{g/ml}$ の株では、相乗効果が強く出現する傾向があった。次に、FMOX と CMD の併用によって両薬の MIC が 1.6 $\mu\text{g/ml}$ 以下になった株を、併用によって治療効果が期待し得る株と考え、その株数を調べた (Fig. 1)。単独作用時の両薬の MIC のうち少なくとも一方の MIC が 1.6 $\mu\text{g/ml}$ を示す株数は 190 株中 55 株 (29 %) であったが、併用時では両薬の MIC が共に 1.6 $\mu\text{g/ml}$ 以下になる株数が 131 株 (69 %) と増加し、併用によって単に相乗効果が現われるというだけでなく多くの株においては MIC 値が比較的低い値にまで低下した。

FMOX の MIC 分布が母集団と類似するように 190 株の MRSA から 43 株または 22 株を選び、FMOX/CMD の併用を他薬のそれと比較した (Table 2)。FOM と FMOX, LMOX, CMD, または CMZ の併用では、いずれの組合せでも FMOX/CMD に比較して弱い相乗効果しか得られなかった。併用時の MIC が FOM の場合は血中濃度が高いので 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以下、他の薬剤については FMOX と同様に 1.6 $\mu\text{g/ml}$ 以下の株を併用治療効果を期待できる株として、その株の割合を調べた (Fig. 2)。FMOX/FOM と CMD/FOM の併用ではその割合は 60 % 以上となり FMOX/CMD の組合せとほぼ同等であったが、CMZ/FOM あるいは LMOX/FOM の組合せでは FMOX/CMD

Table 1. MIC distributions of flomoxef and FIC index of flomoxef-cefamandole against 190 strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Minimal FIC ^a index (F)	MIC ($\mu\text{g/ml}$) of flomoxef									Total strains (%)	
	0.8	1.6	3.1	6.3	12.5	25	50	100	200		>200
0.5 \leq F		2	1					4	2		9 (5)
0.25 \leq F < 0.5		47	25	7	9	10	7	4	3		112 (59)
0.125 \leq F < 0.25		5	15	14	13	9	5	1			62 (32)
F < 0.125		1	1	1	3	1					7 (4)
Total strains (%)		55 (29)	42 (22)	22 (12)	25 (13)	20 (10)	12 (6)	9 (5)	5 (3)		190 (100)

MICs were determined by agar dilution method.

^a Fractional inhibitory concentration.

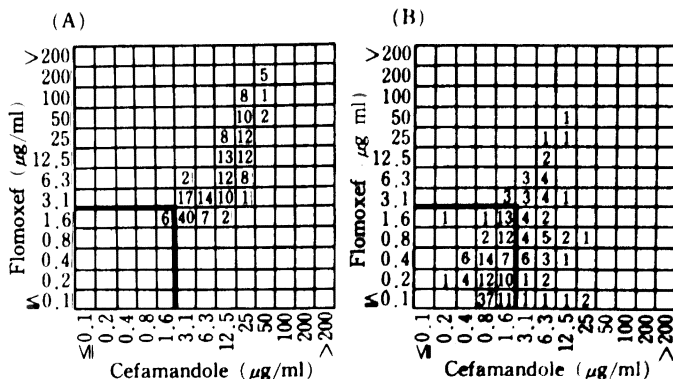


Fig. 1. MIC distributions of flomoxef and cefamandole against 190 strains of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*.

Figures are number of strains with MICs of flomoxef and cefamandole determined alone (A) or in combination (B).

Table 2. *In vitro* combination effects of various antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Drug	Combined with	Number (%) of strains with minimal FIC index (F) of:			
		F ≤ 0.125	0.125 < F ≤ 0.25	0.25 < F ≤ 0.5	0.5 < F
FMOX	CMD	7 (16)	21 (49)	14 (33)	1 (2)
	FOM	3 (14)	5 (22)	11 (50)	3 (14)
CMD	FOM	4 (18)	7 (32)	9 (41)	2 (9)
CMZ	FOM	8 (19)	6 (14)	26 (60)	3 (7)
LMOX	CET	27 (63)	9 (21)	6 (14)	1 (2)
	FOM	6 (27)	4 (18)	12 (55)	
Demethoxy-FMOX	CMD			16 (37)	27 (63)

FMOX, flomoxef; CMD, cefamandole; FOM, fosfomycin; CMZ, cefmetazole; LMOX, latamoxef; CET, cephalothin.

の場合より少なかった。一方、LMOX/CETはFIC indexでみた場合、今回用いた組合せのなかでは最も相乗効果が強かったが併用時の両薬のMICは、FMOX/CMDより若干劣っており併用時のMICが共に1.6 µg/ml以下になる株数も少なかった。

2. 相乗効果に必須の7α-メトキシ基

FMOXがもつ7α-メトキシ基の相乗効果に対する役割を調べるために、メトキシ基をもたないdemethoxy-FMOXとCMDの併用効果をFMOX/CMDのそれと比較した (Table 2)。Demethoxy-FMOXは、FMOXの場合と比較すると非常に小さな相乗効果しか認められず、FMOXの相乗作用には7α-メトキシ

基が必須の部分構造であることが判明した。

3. *In vivo* 併用試験

In vitro 試験で使用したMRSAのうち、マウスに対する毒力の高い4株を選び、マウス全身感染症における併用治療効果を検討した。用いた菌株は中等度耐性株と高度耐性株それぞれ2株ずつでFMOX/CMDのFIC indexは0.13~0.25であった。FMOX/CMDの等量投与による併用治療効果においては4株中3株でFED indexが0.75以下となり併用による相乗効果が認められた (Table 3)。しかしFED indexはFIC indexに比べ大きな値となり *in vivo* では *in vitro* におけるほど相乗効果は強くなかった。用いた

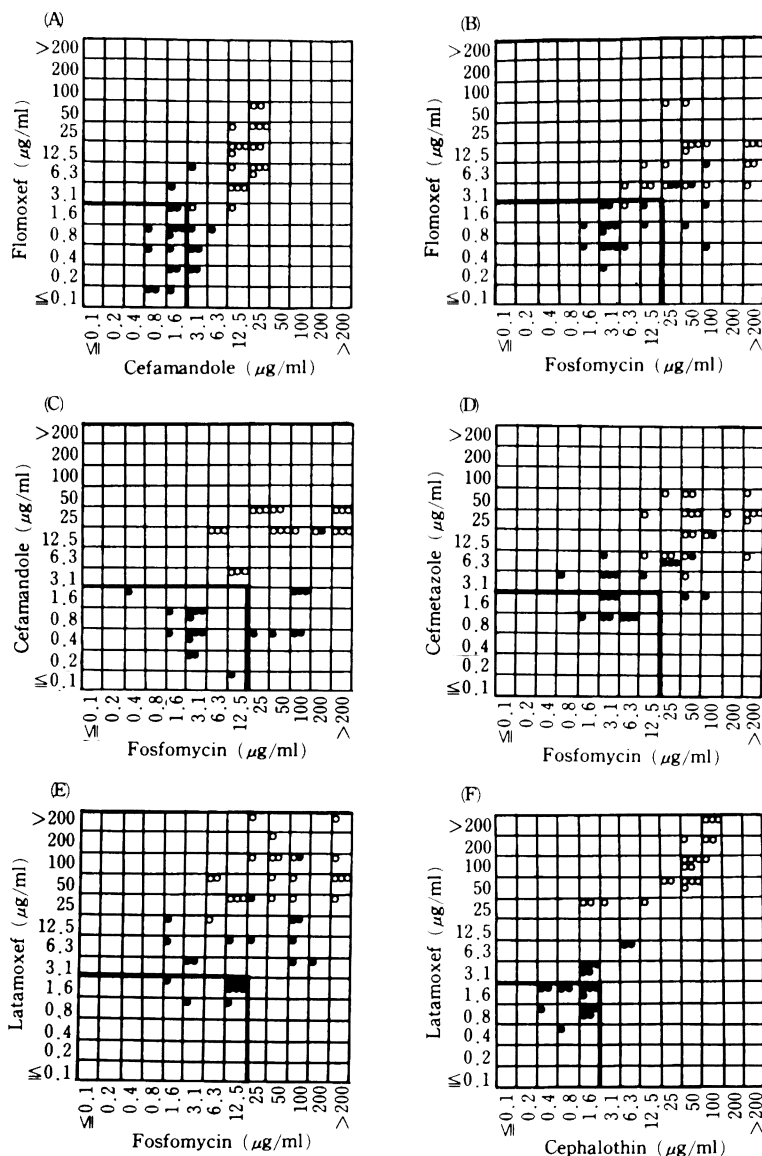


Fig. 2. MIC distributions of various antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

Each symbol indicates individual strain with MICs determined alone (○) or in combination (●) of flomoxef/cefamandole (A), flomoxef/fosfomicin (B), cefamandole/fosfomicin (C), cefmetazole/fosfomicin (D), latamoxef/fosfomicin (E) or latamoxef/cephalothin (F).

MRSA 4 株中 3 株では FMOX と CMD の MIC が異なっていたのでこの 3 株については MIC の比率で薬剤を投与した場合についても検討したが FED index は等量投与の場合と類似の値を示した (Table 3)。次

に SR 5747 株を選び FOM/CMZ, LMOX/CET の併用治療効果を測定し FMOX/CMD のそれと比較した (Table 4)。FED index は LMOX/CET < FOM/CMZ < FMOX/CMD の順で LMOX/CET が最も強

Table 3. Therapeutic efficacy of the combination of flomoxef and cefamandole against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in mice

S. aureus strain	FMOX/CMD ratio	ED ₅₀ (mg/kg) ^a				FED index	MIC (μg/ml) ^b				FIC index
		Alone		Combination			Alone		Combination		
		FMOX	CMD	FMOX	CMD		FMOX	CMD	FMOX	CMD	
SR 5747	1 : 1	150	160	47	47	0.61	50	25	0.2	3.1	0.13
	2 : 1 ^c	190	170	79	79	0.65					
SR 5777	1 : 1 ^c	350	200	93	93	0.73	25	25	0.4	3.1	0.14
SR 2030	1 : 1	13	63	10	10	0.93	1.6	6.3	0.2	0.8	0.25
	1 : 4 ^c	17	69	7.2	29	0.83					
SR 6124	1 : 1	320	300	81	81	0.52	6.3	12.5	0.4	0.8	0.13
	1 : 2 ^c	390	460	43	87	0.30					

^a Mice (ICR female, 4 weeks of age) were intraperitoneally challenged with *S. aureus* ($3-8 \times 10^7$ cfu/mouse) in 5% mucin and antibiotics were subcutaneously administered at 1 h after bacterial challenge.

^b MIC was determined by checker-board dilution method.

^c MIC ratio.

FMOX, flomoxef; CMD, cefamandole.

Table 4. Therapeutic efficacy of combinations of flomoxef/cefamandole, fosfomycin/cefmetazole and latamoxef/cephalothin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in mice

Drug	ED ₅₀ (mg/kg)				FED index	MIC (μg/ml)				FIC index
	Alone		Combination			Alone		Combination		
FMOX/CMD	150	160	47	47	0.61	50	25	0.2	3.1	0.13
FOM/CMZ	790	450	87	87	0.30	50	50	3.1	3.1	0.12
LMOX/CET	2,600	600	130	130	0.27	>800	100	3.1	1.6	<0.02

S. aureus SR 5747 was used. Equal amounts of antibiotics was administered.

FMOX, flomoxef; CMD, cefamandole; FOM, fosfomycin; CMZ, cefmetazole; LMOX, latamoxef; CET, cephalothin.

い相乗作用を示し FIC index を反映した。しかし、やはりこの場合も FED index の方が FIC index より大きかった。一方、併用時の ED₅₀ 値は FMOX/CMD < FOM/CMZ < LMOX/CET の順で FMOX/CMD は相乗効果は弱かったが最も高い治療効果を示した。

III. 考 察

MRSA は基礎疾患を有する immunocompromised host など重篤な感染症をひき起こす。単剤で MRSA に有効な薬剤は少ないため、抗菌剤の併用による治療研究が行われている^{7,8)}。また、臨床での効果を予測するため様々な薬剤の組合せが *in vitro*^{7,15-21)} と *in vivo*^{16,22,23)} で検討されている。

今回我々は耐性度が比較的低い中等度 MRSA にあ

る程度有効な FMOX と FMOX が無効である耐性度の高い高度 MRSA にもある程度抗菌力を有する CMD の併用効果を検討した。FMOX と CMD の併用は、中等度 MRSA と高度 MRSA のいずれかに対しても優れた *in vitro* 相乗作用を示したが、69% の株においては、併用時の両薬の MIC が共に 1.6 μg/ml 以下となり、相乗効果があるというだけでなく抗菌活性そのものも強かった。このような *in vitro* 併用効果はマウス腹腔内感染に対する併用時の治療効果にも反映した。MRSA 感染症患者は免疫機能が低いことが多いので健常マウスを用いたこれらの *in vivo* 実験結果からただちに臨床効果を予測することはできない。しかし、両薬は生体内でも相乗的に働き得ることは示されたので、FMOX や CMD がある程度の MIC

を示す菌株による感染症であれば有用性が期待される。

セファマイシン系薬とセフェム系薬の組合せが MRSA に対して相乗効果を示すことはすでに報告されているが^{19,24)}、これらの結果はセファマイシン系薬の 7 α -メトキシ基が相乗効果に重要な役割を果たしていることを示唆している。そこで 7 α -メトキシ基を持たない demethoxy-FMOX と CMD の相乗作用を調べたところ、FMOX の場合に比べ、相乗作用は弱かった。Demethoxy-FMOX と FMOX は 7 α -メトキシ基の有無を除いては同じ構造であるので 7 α -メトキシ基は相乗作用に必須の構造であることが明らかとなった。7 α -メトキシ基は PBP 4 に対する親和性を高めるので^{25,26)}、併用時の MRSA の殺菌には PBP 4 の障害が何らかの形で関与していると思われる。このことは、セファマイシン系薬と同様に PBP 4 に親和性の高い imipenem²⁷⁾も cefazolin あるいは ceftizoxime と相乗作用を示すこと²⁰⁾からも明らかである。さらに、PBP 2 非産生 MRSA では、セファマイシン系薬剤にのみ親株と比べて感受性が高まっていることを我々は報告したが²⁸⁾、この事実も PBP 4 の障害が殺菌に必要であることを示唆している。一方、併用において相乗的に働くためにはセフェム系薬はセファマイシン系薬にはない活性を持つことが必要と思われる。CMD は PBP 4 以外の PBP 1 と 3 に対し FMOX よりそれぞれ約 8 倍と 4 倍親和性が高く、PBP 2 に対しては同じ親和性であった²⁶⁾。これらの PBP に対する両薬の親和性の差は PBP 4 における程顕著ではないので CMD の PBP 1 と 3 に対するより高い親和性が相乗作用に関係しているかどうかは今のところ不明である。相乗作用におけるセフェム系薬と PBP との関係についてはこれらの薬剤と PBP との相互作用を 50%結合濃度の測定だけでなく PBP とセフェム系薬とのアシル複合体の安定性も含めてもっと詳しく調べれば明らかになることと思われる。

謝 辞

動物実験を行うにあたり多大な助言をいただきました塩野義製薬研究所三和秀明氏および demethoxy-FMOX を合成していただきました元塩野義製薬研究所辻 照二博士に感謝いたします。

文 献

- 1) Jevons M P: "Celbenin"-resistant staphylococci. Brit Med J 1: 124~125, 1961
- 2) Barber M: Methicillin-resistant staphylococci. J Clin Pathol 14: 385~393, 1961
- 3) Wenzel R P: The emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Annals Intern Med 97: 440~442, 1982
- 4) 島田 馨, 安達桂子, 田中喜久子, 上条仁子, 佐々木宗男, 山山 勤, 稲松孝思, 浦山京子: セフェムを含む多剤耐性黄色ブドウ球菌の分離状況と 41 抗菌剤に対する感受性. Chemotherapy 31: 835~841, 1983
- 5) Hartman B J, Tomasz A: Low-affinity penicillin-binding protein associated with β -lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. J Bact 158: 513~516, 1984
- 6) Utsui Y, Yokota T: Role of an altered penicillin-binding protein in methicillin- and cephem-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 28: 397~403, 1985
- 7) 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, minocycline および cefamandole の併用効果について. Chemotherapy 35: 180~183, 1987
- 8) 林 泉: MRSA 感染とその治療. 日本臨床 46: 201~208, 1988
- 9) Tsuji T, Satoh H, Narisada M, Hamashima Y, Yoshida T: Synthesis and antibacterial activity of 6315-S, a new member of the oxacephem antibiotic. J Antibiot 38: 466~476, 1985
- 10) 亀田康雄, 永田 弘, 元川清司, 深尾 孝, 中本省三, 渡辺芳浩, 吉田 正: Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) の *in vitro* 抗菌作用. Chemotherapy 35: 76~107, 1987
- 11) 村上和久, 野村和秀, 土井正善, 吉田 正: Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) のメチシリン耐性 *Staphylococcus aureus* に対する抗菌作用. Chemotherapy 35: 108~114, 1987
- 12) Frongillo R F, Bianchi P, Moretti A, Pasticci M B, Ripa S, Pauluzzi S: Cross-resistance between methicillin and cephalosporins for staphylococci: a general assumption not true for cefamandole. Antimicrob Agents Chemother 25: 666~668, 1984
- 13) Chambers H F: Coagulase-negative staphylococci resistant to β -lactam antibiotics *in vivo* produce penicillin-binding protein 2a. Antimicrob Agents Chemother 31: 1919~1924, 1987
- 14) 五島瑳智子, 徐慶一郎, 河喜多龍祥, 小酒井望, 三橋 進, 西野武志, 大沢伸孝, 田波 洋: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について. Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 15) Walsh T J, Auger F, Tatem B A, Hansen S L, Standiford H C: Novobiocin and rifampicin in combination against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an *in vitro* comparison with vancomycin plus rifampicin. J Antimicrob Chemother 17: 75~82, 1986
- 16) Balth A L, Basse C, Fanciullo G, Smith R P: *In vitro* antimicrobial activity of enoxacin in

- combination with eight other antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa*, Enterobacteriaceae and *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother 19: 45 ~ 48, 1987
- 17) 井上久美子, 小栗豊子: Methicillin 耐性 *Staphylococcus aureus* に対する fosfomycin (FOM) と cefmetazole (CMZ) 併用効果のディスク法による測定。臨床と微生物 16: 201 ~ 204, 1989
 - 18) 渡辺 彰, 大泉耕太郎, 青沼清一, 小野玲子, 本田芳宏, 徳江 豊, 北村直人, 庄司 聡: 多剤耐性黄色ブドウ球菌に関する研究 (V), MRSA および MSSA に対する cefuzonam と minocycline の *in vitro* 併用効果。Chemotherapy 37: 131 ~ 136, 1989
 - 19) 渡邊正人, 三橋 進, 井上松久: *Staphylococcus aureus* に対する cefpiramide と cefotetan の併用効果。Chemotherapy 37: 406 ~ 411, 1989
 - 20) 井上松久, 橋本 一, 松井初江, 桜井奈津子, 大久保豊司: MRSA に対する cefazolin または ceftizoxime と imipenem との併用効果について。Chemotherapy 37: 869 ~ 876, 1989
 - 21) Takahashi K, Kanno H: *In vitro* synergistic activity of imipenem and fosfomycin against methicillin - resistant *Staphylococcus aureus*. Chemotherapy 38: 220 ~ 225, 1990
 - 22) Olay T, Vicente M V, Saraza M L, Rodriguez A: Experimental *Staphylococcus aureus* osteomyelitis treated with fosfomycin and cefazolin, single and combined therapy. Drugs Exp Clin Res 9: 55 ~ 59, 1983
 - 23) Elwell L P, Wilson H R, Knick V B, Keith B R: *In vitro* and *in vivo* efficacy of the combination trimethoprim sulfamethoxazole against clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 29: 1092 ~ 1094, 1986
 - 24) Yoshida T, Sonoyama T, Mishimura K, Kageyama K, Ito M: Synergy of cephalothin combined with moxalactam against *Staphylococcus aureus*. 24th ICAAC Abstr No.1051, 1984
 - 25) Georgopapadakou N H, Liu F Y: Binding of β -lactam antibiotics to penicillin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus faecalis*: relation to antibacterial activity. Antimicrob Agents Chemother 18: 834 ~ 836, 1980
 - 26) Murakami K, Nomura K, Doi M, Yoshida T: Production of low affinity penicillin-binding protein by low and high-resistance groups of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 31: 1307 ~ 1311, 1987
 - 27) Hashizume T, Park W, Matsuhashi M: The affinity of imipenem (N - formimidoylthienamycin) for the penicillin-binding proteins of *Staphylococcus aureus*: binding and release. J Antibiot 37: 1049 ~ 1053, 1984
 - 28) Murakami K, Nomura K, Doi M, Yoshida T: Increased susceptibility to cephamycin-type antibiotics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* defective in penicillin-binding protein 2. Antimicrob Agents Chemother 31: 1423 ~ 1425, 1987

SYNERGISTIC ACTIVITY OF FLOMOXEF AND CEFAMANDOLE AGAINST METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Yoshinao Kobayashi, Naomi Sonobe, Masayoshi Doi,

Kazuhisa Murakami and Tadashi Yoshida

Shionogi Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd.,

Fukushima-ku, Osaka 553, Japan

In vitro antibacterial activity of the combination of flomoxef (FMOX) and cefamandole (CMD) against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) was evaluated by checkerboard dilution method. The combination showed synergistic activity against 181 (95 %) of 190 MRSA strains with a minimal fractional inhibitory concentration (FIC) of less than 0.5. Furthermore, the MICs of both antibiotics were less than 1.6 $\mu\text{g/ml}$ against 65 % of strains when administered in combination. Removal of the 7 α -methoxy substituent from FMOX resulted in diminution of the synergistic effect suggesting that inhibitory action of FMOX against penicillin-binding protein 4 (PBP 4) was involved in its synergistic effect because 7 α -methoxy conferred on the compound an affinity for PBP 4. This *in vitro* synergistic activity was reflected in the therapeutic efficacy of the combination against experimental infections in mice intraperitoneally challenged with MRSA.