

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* に対する各種抗菌薬の *in vitro* 併用効果

—第1報 Piperacillin と他剤の併用について—

伊藤 章¹⁾・神永陽一郎¹⁾・村野 俊代¹⁾
高畑 正裕²⁾・岡本 世紀²⁾・満山 順一²⁾
山城 芳子²⁾・南 新三郎²⁾・保田 隆²⁾

¹⁾ 横浜市立大学医学部臨床検査部*

²⁾ 富山化学工業株式会社総合研究所

(平成5年5月6日受付・平成5年7月7日受理)

横浜市立大学医学部附属病院中央検査部において、1991年1月から7月に分離された methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 54株について、ペニシリン系 β -lactam 剤、piperacillin (PIPC) と、種々の抗生物質、抗菌剤との *in vitro* 併用効果を調べた。用いた MRSA はすべて *mecA* 遺伝子を保有し、検討した β -lactam 剤に比較的高度耐性を示す菌株であった。またコアグラージェ型別は 98.1%が II 型、エンテロトキシンはタイプ C がもっとも多く 48.1%、ブドウ球菌 TSST-1 (Toxic Shock Syndrome toxin-1) 産生は 61.1%、 β -lactamase は、74.1%の株が産生していた。各種抗生物質、抗菌剤との *in vitro* 併用効果の検討結果から、PIPC は *S. aureus* の penicillin binding protein (PBP) 4 を強く阻害する、flomoxef (FMOX), imipenem (IPM), meropenem (MEPM, SM-7338), cefmetazole (CMZ) 等の薬剤との間に強い相乗効果が認められた。また PIPC と IPM 併用時の作用像は強い菌体の膨潤、溶菌像が観察された。

Key words: MRSA, piperacillin, *in vitro* combination studies

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) の本体は、*Staphylococcus aureus* の penicillin binding protein の変化 (PBP 2' の新生) であり^{1,2)}、近年臨床的見地からの重大な問題点として、有効な薬剤の欠如、これに伴う治療確立の模索、そしてその病院内感染と対策が挙げられている³⁻⁶⁾。MRSA に対し単独で強い抗菌活性を示す抗生物質、抗菌剤には現在、arbekacin (ABK), vancomycin (VCM), teicoplanin, rifampicin (RFP) 等が報告されているが、使用に際し副作用や短期間の高度耐性化等の面から様々な問題や制限があるのも事実である。このため既存の抗菌剤、抗生物質での MRSA 感染症治療に関する報告のうち、最近では併用療法に関するものも多い⁴⁻⁷⁾。またこれに先立つ *in vitro* での抗菌剤、抗生物質の併用効果を検討した報告は多数ある。

そこで、近年大きな問題となっている MRSA 感染症に対する抗生物質、抗菌剤の併用療法の意義を見極めるため、これまであまり報告のないペニシリン系 β -lactam 剤と多種薬剤について *in vitro* 併用成績を検討した。

今回はペニシリン系 β -lactam 剤に piperacillin (PIP C) を選択し、これと β -lactam 剤を中心とする多数の薬剤について *in vitro* 併用成績を検討した結果、興味ある知見を得たので報告する。

I. 材料と方法

1) 使用菌株

横浜市立大学医学部附属病院中央検査部において、1991年1月から7月までに分離された methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 368株のうち、再度一定の菌株選定基準 (検査材料、検査依頼日、除外規定 [ICU 分離株、再分離株] 等) を満たした患者個別の MRSA (Ca^{2+} , Mg^{2+} 加 Mueller hinton broth (MHB) での oxacillin (MIPIC), MIC (最小発育阻止濃度) が $>4 \mu\text{g/ml}$) 169株を選定した。これよりさらに methicillin (DMPPC), $12.5 \mu\text{g/ml}$ 以上の 54株を無作為に抽出し使用した。

2) 使用菌株の性状

使用各株のコアグラージェ型別 (デンカ生研測定キッ

* 横浜市金沢区福浦 3-9

トを用い測定, 以下同), β -lactamase 産生能 (Identification stick β -lactamase [NITROCEFEN], OXOID), エンテロトキシン型別 (デンカ生研) プドウ球菌 TSST-1 (デンカ生研) を分類した。また, MRSA PBP 2' の構造遺伝子, mec A の検出を徳江ら⁸⁾ が報告した 19 塩基のプライマーを富山化学総合研究所にて合成し, polymerase chain reaction (PCR) 法にて検索した。さらに得られた PCR product について, MRSA mec A 構造遺伝子の一部であることを確認するため, 制限酵素 *Cla* I (宝酒造) を用い, 消化断片をアガロース電気泳動で確認した。

3) 使用薬剤

Piperacillin (PIPC), tosufloxacin (TFLX) (富山化学工業株式会社), arbekacin (ABK), fosfomycin (FOM) (明治製薬), cefuzonam (CZON), minocycline (MINO) (日本レダリー), amikacin (AMK), imipenem/cilastatin (IPM/CS) (萬有製薬), cefazolin (CEZ) (藤沢薬品), cefotiam (CTM) (武田薬品工業), flomoxef (FMOX), vancomycin (VCM) (塩野義製薬), cefmetazole (CMZ) (三共株式会社), rifampicin (RFP) (第一製薬), meropenem (MEPM, SM-7338) (住友製薬株式会社) を用いた。なお IPM/CS は IPM 原体換算し, 以下の薬剤感受性の測定, 平板 checker board 法による併用効果, 殺菌曲線, 形態変化の検討等に用い, 以後 IPM と示す。

4) 薬剤感受性の測定

日本化学療法学会標準法⁹⁾ にもとづき, Mueller hinton agar (MHA: 栄研化学) を用いて, 薬剤単独の抗菌力を調べた。

5) 各種抗生物質, 抗菌剤の併用効果

PIPC と FOM, MINO, ABK, AMK, TFLX, IPM, MEPM, CEZ, CTM, CZON, FMOX, CMZ, RFP, VCM の 14 薬剤との併用効果を, MHA を用いた平板 checker board 法により Fractional inhibitory concentration (FIC index) 値を算出し比較検

討した。

さらに得られた FIC index 値を 4 つの群, すなわち (1) 非常に強い併用効果が認められる ≤ 0.25 , (2) これよりは弱い, 相乗効果を示す $> 0.25 \sim \leq 0.5$, (3) 無作用の $0.5 \sim 2.0$, (4) 拮抗作用が認められる > 2.0 と 4 群に分け PIPC と各薬剤との併用で, 使用した株が各群にどのように分布するか検討した。

6) 殺菌曲線におよぼす PIPC と他剤の併用効果

平板 checker board 法での FIC index 値が < 0.25 の株が多数認められた, PIPC と IPM, あるいは PIPC と FMOX の組み合わせについて, それぞれの FIC index 値が < 0.25 で, PIPC は高度耐性 (100 $\mu\text{g/ml}$) の *S. aureus* F-1922 株, 中等度耐性 (12.5 $\mu\text{g/ml}$) の F-1895 株を用いた。Mueller hinton broth (MHB: 栄研化学) 中での薬剤作用時の殺菌曲線におよぼす PIPC と他剤の併用効果を経時的に薬剤単独, あるいは併用時について, Heart infusion agar (HIA: 栄研化学) を用いて生菌数を測定し検討した。

7) 薬剤併用時 MRSA の形態学的変化

平板 checker board 法での FIC index 値が < 0.25 の株が多数認められた PIPC と IPM 併用時, 殺菌曲線で用いた, *S. aureus* F-1922 株について, 薬剤作用時における菌体の形態を走査型電子顕微鏡 (日立 X-650) を用い, 薬剤単独の場合と比較検討し観察した。電子顕微鏡試料の作製にあたっては常法にそって行った。すなわち MHB にて震盪培養対数期の *S. aureus* に薬剤を作用させ 3 時間後, 菌体を 3,000 rpm で遠心集菌, Kelleberger buffer で洗浄の後, グルタルアルデヒド (和光純薬) で固定した。

さらに 1% オスミウム酸 (和光純薬) で 18 時間固定, アルコール脱水系-酢酸イソアミル置換の後, 臨界点乾燥を行い, 金蒸着を行って検鏡した。

II. 結 果

1) 使用菌株の性状

Fig. 1 に示したごとく, 用いた MRSA 54 株を臨床

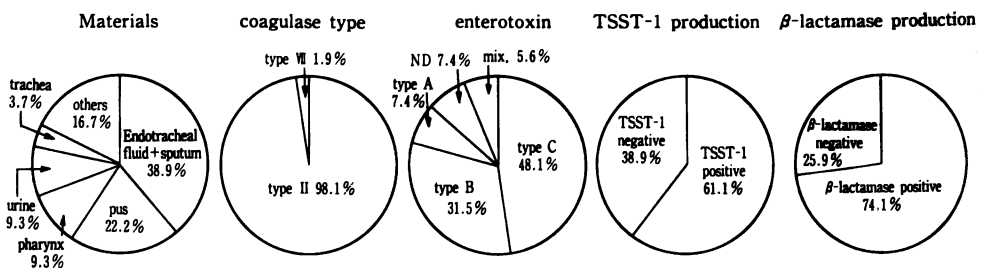


Fig. 1. Laboratory findings regarding the MRSA used.

材料別で見ると、気管内喀痰および喀痰由来がもっとも多く38.9%で、次いで膿由来が22.2%であった。コアグララーゼ型別はそのほとんど、98.1%がII型であった。エンテロトキシンはタイプCがもっとも多く48.1%、次いでタイプBでの順であった。またTSST-1は61.1%の株が産生していたが、エンテロトキシン、タイプCの株は100%、TSST-1を産生していた。 β -lactamaseについては、74.1%と多くの株が産生していた。

またFig. 2に示したように、PCR法による *mecA* 遺伝子探索の結果、用いたMRSA 54株すべてについて、徳江らが報告した1,339 bpのPCR productが認められ、*mecA* 遺伝子を保有していることが確認された。またこれらのproductを制限酵素 *Cla* Iで切断したものはFig. 3に検討した菌株の一部を示したように、すべて0.81 kb, 0.53 kbの2本のバンドに分かれた。Songら¹⁰⁾が報告したPBP2'の構造遺伝子は目的としたPCR product中の *Cla* I切断箇所は1か所であることを示しており、我々の結果もそれと一致していた。

2) 薬剤感受性

薬剤単独の抗菌力をMIC₉₀値で比較すると、Table 1に示したごとく、RFP (0.0125 μ g/ml), ABK (0.78 μ g/ml), VCM (1.56 μ g/ml)の順であった。次いでIPM, MEPMが25, 50 μ g/mlで、キノロン剤のTFLXは25 μ g/mlであった。 β -lactam剤はいずれの薬剤も抗菌力が弱く、DMPPCは>800 μ g/mlであり、多くのcephem剤はほとんど \geq 200 μ g/mlで、使用した臨床株は比較的高度なMRSAであった。 β -lactam剤の中ではCMZ, FMOXが50

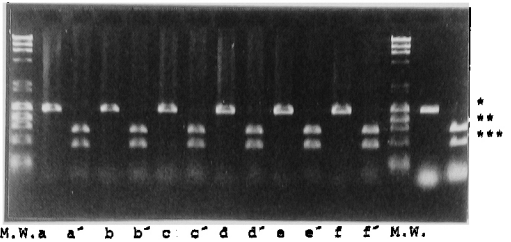


Fig. 3. Agarose gel analysis of *Cla* I-treated PCR products.

*MRSA PCR product (1.4 kb)

***Cla* I-treated (0.81 kb)

****Cla* I-treated (0.53 kb)

aa' (F-1814, F-1814 *Cla* I-treated)

bb' (F-1817, F-1817 *Cla* I-treated)

cc' (F-1817, F-1817 *Cla* I-treated)

dd' (F-1819, F-1819 *Cla* I-treated)

ee' (F-1821, F-1821 *Cla* I-treated)

ff' (F-1824, F-1824 *Cla* I-treated)

μ g/mlで、比較的MIC₉₀値が低かった。

3) 薬剤併用効果

ペニシリン系 β -lactam剤のPIPCと各薬剤との平板Checker board法における*in vitro*併用効果を14薬剤について検討し、結果をTable 2に示した。

その結果、PIPCは、IPM, MEPM, CMZ, FMOXの4剤との間に強い相乗効果が認められた。すなわちPIPCとIPMでは用いた54株中、40株(74.0%)、MEPMとは39株(72.2%)、CMZとは43株(79.6%)、FMOXとは40株(74.0%)においてFIC index \leq 0.25と強い相乗効果が認められた。

またFIC indexの範囲は、IPMでは<0.039~0.51、MEPMとは<0.078~0.625、CMZとは0.063~0.51、FMOXとは<0.039~0.78ときわめて強い併用効果であった。一方、MRSAに単独で抗菌力が期待されているABK, VCMとは強い併用効果が認められず、ABKとは7株(12.9%)、VCMとは11株(20.3%)が>0.25~ \leq 0.5のFIC index値を示したが、 \leq 0.25の強い併用効果を示す菌株は認められなかった。

またFOMとは \leq 0.5のFIC index値を示した株も、12株(22.2%)認められたが、拮抗を示す株(FIC index: >2.0)も34株(63.0%)と多数認められた。これら54株の1株毎について得られた併用効果の成績から、PIPCを25, 12.5あるいは6.25 μ g/ml添加した時、併用したIPM, FMOX, CMZに対する用いた菌株の感受性がどのように変化するか再検

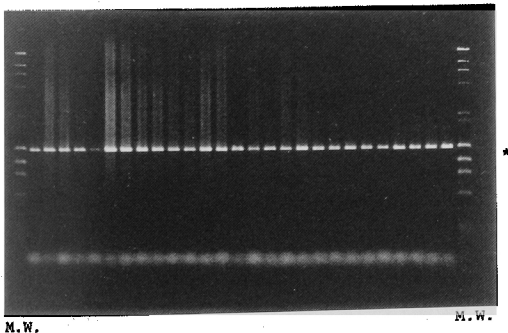


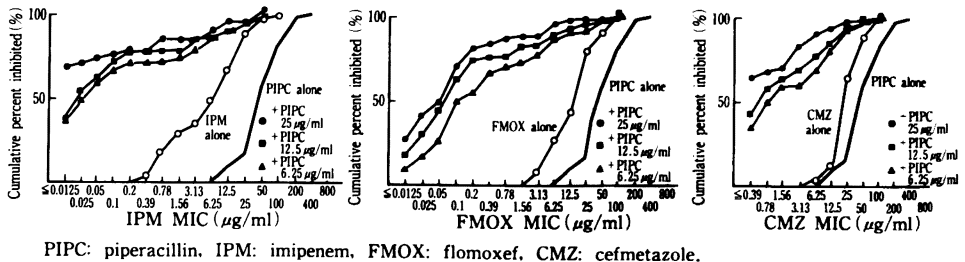
Fig. 2. Agarose gel analysis of PCR products following amplification in the 27 strains of MRSA used.

*1,339 bp, M.W.: molecular weight F-1870 (left) to F-1926 (right)

Table 1. Antibacterial activity of agents against MRSA (54 strains)

Agent	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
PIPC	12.5 - 400	50	200
DMPPC	50 - >800	200	>800
CEZ	12.5 - 400	50	200
CTM	12.5 - >800	50	200
CPZ	12.5 - >800	200	>800
CZON	12.5 - >800	200	400
CMZ	6.25 - 100	25	50
CBPZ	25 - >800	100	800
FMOX	3.13 - 100	25	50
FOM	50 - >800	>800	>800
MINO	0.1 - 50	0.39	50
ABK	0.1 - 6.25	0.39	0.78
AMK	0.78 - 25	12.5	25
TFLX	0.025 - > 25	3.13	25
RFP	0.006 - 0.0125	0.0125	0.0125
IPM	0.39 - 100	12.5	25
MEPM	0.78 - 50	25	50
VCM	0.78 - 3.13	1.56	1.56

PIPC: piperacillin, DMPPC: methicillin, CEZ: cefazolin, CTM: cefotiam, CPZ: cefoperazone, CZON: ceftazidime, CMZ: cefmetazole, CBPZ: carbenicillin, FMOX: flomoxef, FOM: fosfomicin, MINO: minocycline, ABK: arbekacin, AMK: amikacin, TFLX: tosufloxacin, RFP: rifampicin, IPM: imipenem, MEPM: meropenem, VCM: vancomycin.



PIPC: piperacillin, IPM: imipenem, FMOX: flomoxef, CMZ: cefmetazole.

Fig. 4. Antibacterial activity of imipenem, flomoxef, cefmetazole alone and in combination with piperacillin.

討した。結果は変化した後の感受性の累積で表し、Fig. 4に示した。

その結果、IPM, FMOX, CMZ, いずれの薬剤についても、薬剤単独時よりPIPCを25, 12.5あるいは6.25 μg/ml添加した時に感受性側に大きくシフトした。

4) 殺菌曲線におよぼすPIPCと他剤の併用効果
平板 Checker board 法での FIC index 値が、

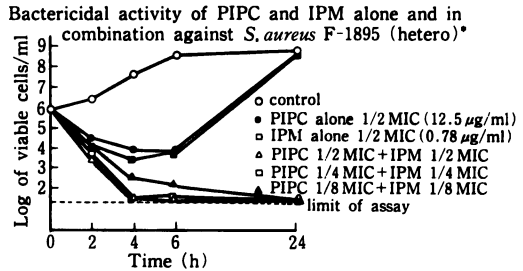
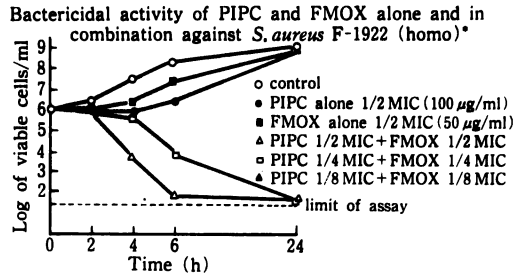
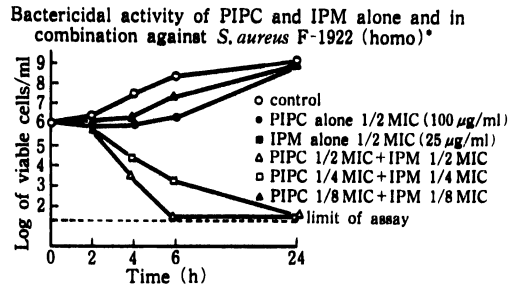
<0.25の株が多数認められた、PIPCとIPM, あるいはPIPCとFMOXの殺菌曲線におよぼす併用効果を *S. aureus* F-1922株, F-1895株を用い検討した。

その結果、Fig. 5に示したごとく、いずれの場合もそれぞれの薬剤単独1/2 MIC濃度では静菌的か、ほとんど薬剤無添加と同様な菌数推移を経るのに対し、両剤を1/2~1/4 MIC濃度で併用した場合、明らかに殺菌的な作用が薬剤作用2~4時間以降認められた。

Table 2. FIC index of 14 agents combined with piperacillin

FIC index	FOM	MINO	ABK	AMK	TFLX	RFP	IPM	MEPM	CEZ	CTM	CZON	CMZ	FMOX	VCM
≤0.25	2					3	40	39				43	40	
>0.25-≤0.5	10	7	7	9	9	15	9	10	10	12		9	12	11
>0.5-≤2	8	47	47	45	45	36	5	5	44	42	54	2	2	43
>2	34													
Mean	>1.271	>1.079	0.841	0.940	1.001	0.714	<0.199	<0.236	0.790	0.771	>1.032	<0.208	<0.183	0.591
Range	<0.16	0.38	0.38	<0.27	<0.50	<0.12	<0.039	<0.078	0.31	0.28	<0.51	0.063	<0.039	0.31

FOM: fosfomycin, MINO: minocycline, ABK: arbekacin, AMK: amikacin, TFLX: tosulfoxacin, RFP: rifampicin, IPM: imipenem, MEPM: meropenem, CEZ: ceftazidime, CTM: cefotiam, CZON: ceftiozanam, CMZ: cefmetazole, FMOX: flomoxef, VCM: vancomycin.



PIPC: piperacillin, IPM: imipenem, FMOX: flomoxef.

Fig. 5. Bactericidal activity of β-lactam alone and in combination.

特に *S. aureus* F-1895 株では、両剤の 1/8 MIC 濃度の組合せで作用 6 時間後菌数は 10^{-4} まで減少し、著しい併用効果が認められた。

5) 形態学的変化

PIPC-IPM の組合せについて強い相乗効果が認められた *S. aureus* F-1922 株を用い、走査型電子顕微鏡を用いて作用時菌体の形態学的観察を行った。その結果、Fig. 6-B, C に示したように、各薬剤 1/4 MIC+1/4 MIC の濃度では 3 時間作用後、菌は正常菌体に比べ大きく膨潤肥大しており、一部溶菌像も観察された。

その作用像は各薬剤単独 2 MIC 濃度 (未発表) よりはるかに強い作用像が認められた。また Fig. 6-C に示したように、分裂様式の異常とも考えられる形態の *S. aureus* が多数観察された。

III. 考 察

MRSA に対する各種抗生物質、抗菌剤の *in vitro*,

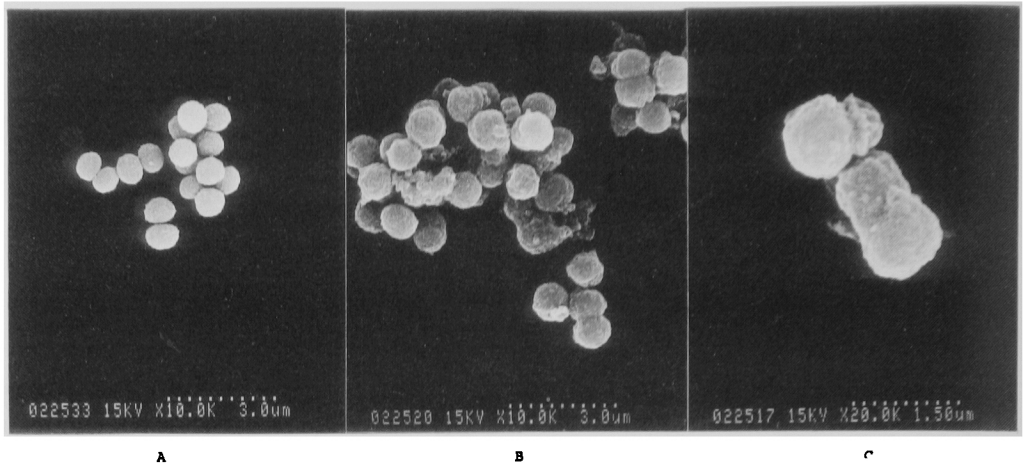


Fig. 6. Morphological alteration of *Staphylococcus aureus* F-1992 (MRSA) treated with piperacillin (PIPC) plus imipemem (IPM).

A: normal cell

B, C: PIPC 1/4 MIC+IPM 1/4 MIC

in vivo 併用の有用性については最近多くの報告がなされている⁴⁻⁷⁾。また臨床症例に対しても実際多数の検討例が紹介されつつある^{4,6)}。

我々も今回 MRSA 感染症に対する抗生物質、抗菌剤の併用療法の意義を見極めるため、 β -lactam 剤を中心とする多数の薬剤とこれまで報告の少なかったペニシリン系抗生物質について、piperacillin (PIPC) を用い *in vitro* 併用成績を検討した。その結果、用いた併用薬剤は 14 薬剤と少ないものの、興味ある成績が得られた。すなわち、1) ペニシリン系 β -lactam 剤の PIPC は特定の β -lactam 剤と強い併用効果を示すこと、2) そしてその β -lactam 剤とは IPM, MEPM, FMOX, CMZ であったこと、3) 強い併用効果を示すこれらの β -lactam 剤は、単独作用時、*S. aureus* の PBPs に対し、共通の結合親和性をもっていることである^{11,12)}。

用いた MRSA はすべて *mecA* 遺伝子を保有し、検討した多くの β -lactam 剤に比較的高度耐性を示す菌株ばかりであった。またコアグラーゼ型別は 98.1% が耐性誘導を受けやすいと報告されている¹³⁾ II 型であった。

これら菌株に対し、PIPC と上記 4 薬剤は用いた菌株の 79.6~72.2% の株が FIC index 値が ≤ 0.25 と強い相乗効果が認められた。また FIC index 値の範囲は、0.055~0.61 (4 剤平均) ときわめて強い併用効果であった。

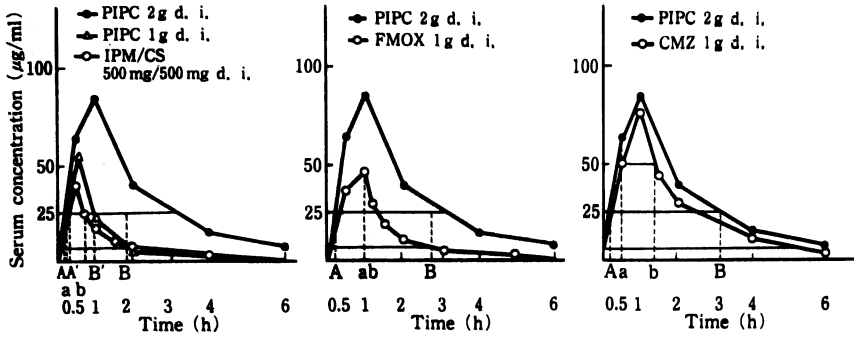
さらに臨床から分離した MRSA に対し、PIPC が

IPM, FMOX, CMZ 等と強い併用効果を示すのは、PIPC が 25~6.25 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で存在していることで十分であり、これらの併用効果の現れる濃度は Fig. 7 に示したように併用薬剤の通常の点滴時血中濃度域¹⁴⁻¹⁷⁾であった。

たとえば FMOX の場合、用いた 54 株の PIPC, FMOX の MIC₉₀ 値はそれぞれ 200 $\mu\text{g/ml}$ 以上、あるいは 50 $\mu\text{g/ml}$ なので単独での 2g, 1g 点滴下では有効血中濃度はまったく望めない。一方、PIPC の血中濃度 25 $\mu\text{g/ml}$ は本剤を 2g, 1 時間点滴時に約 2.9 時間維持できる濃度であり、Table 3 に示すように PIPC が 25 $\mu\text{g/ml}$ を維持していれば、FMOX の MIC₉₀ 値は 6.25 $\mu\text{g/ml}$ に下がっているため、PIPC が 25 $\mu\text{g/ml}$ を維持している時間と、FMOX が 6.25 $\mu\text{g/ml}$ の血中濃度を維持している時間との交点、A から B までの時間が PIPC と FMOX を併用した場合の有効血中濃度と考えることができる。同様なことが PIPC と IPM, CMZ でもうかがえる。

ペニシリン系 β -lactam 剤の PIPC がなぜ特定の β -lactam 剤、IPM, MEPM, FMOX, CMZ と強い併用効果を示すのか、現在明確な証明はされていない。ただこれらの β -lactam 剤は薬剤単独作用時、*S. aureus* の PBPs に対し、特に PBP 4 に強い親和性を持つことが共通している。

S. aureus の PBP 4 に関しては、今田が透過型電子顕微鏡を用いて、*S. aureus* の PBP 4 を選択的に阻害する cefoxitin (CFX) を用い、CFX 0.05 $\mu\text{g/ml}$ で



PIPC: piperacillin, IPM/CS: imipenem/cilastatin, FMOX: flomoxef, CMZ: cefmetazole.

Fig. 7. Serum concentrations of various β -lactam antibiotics.

A—B (A'—B'): Time above $6.25 \mu\text{g/ml}$ (MIC_{90} against MRSA used in combination with piperacillin (PIPC)) of serum levels (i. v. drip infusion) of imipenem (IPM), flomoxef (FMOX), cefmetazole (CMZ), respectively, when the serum levels of PIPC was above $25 \mu\text{g/ml}$.

(A—B: PIPC 2 g i. v. drip infusion, A'—B': PIPC 1 g i. v. drip infusion)

a—b: Time serum levels maintained above the MIC_{90} of IPM, FMOX, CMZ alone according to MRSA used.

のPBP 4の完全阻害でも形態変化がなかったことを報告している。また同じ報告で、PBP 4と他のPBP, たとえばPBP 1あるいはPBP 3が同時に阻害される場合、著しい溶菌促進作用が現れるとしている。Wykeら¹⁹⁾はPBP 4の欠落は*S. aureus*菌体のペプチドグリカンの架橋程度の著しい減少と関連していることを報告しているが以後十分な検討はされていない。今後この点に関してさらに検討を進める予定である。

実際の臨床の場合においては基礎疾患を有する患者にMRSA感染が生じる場合、MRSA単独感染より緑膿菌をはじめとするグラム陰性菌との混合感染も多くみられる。そのためMRSA感染に対する治療が単独で有効な抗生物質、抗菌剤がないこともあいまって併用による治療が行われがちである。しかし併用にあたっては、vancomycinは単独では低いMICを示すが、併用薬によっては必ずしもFIC indexがよいとは限らず¹⁹⁾、teicoplaninについても²⁰⁾同様のことが言われている。今回の検討でもvancomycinは単独では $1.56 \mu\text{g/ml}$ 程度の低いMICを示したにもかかわらず、FIC indexで見ると $0.5 \sim 2.0$ となる株が54株中43株しめており、併用にあたっては併用薬の選択についての考慮も必要であろう。

さらに、投与方法、投与順序などの検討もMRSA感染症に、より効果的に併用療法を行うに当たっては検討が必要であり、臨床場における臨床例での検

討も必要であろう。

なお本論文の要旨は第40回日本化学療法学会総会(名古屋)において報告した。

謝 辞

走査型電子顕微鏡の試料の作製にあたり、富山医科薬科大学微生物学教室 岡村昭治助教授、また同大学電子顕微鏡室 川原昌彦技官に深謝致します。

文 献

- 1) Utui Y, Yokota T: Role of Altered Penicillin-Binding Protein in Methicillin and Cephem-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob., Agents Chemother* 28: 397~403, 1985
- 2) 松橋通生, 宋 民東, 前崎繁文: MRSAの β -ラクタム耐性の機作と由来。臨床と微生物 15: 151~156, 1988
- 3) 島田 馨: 今日におけるMRSAの問題点。化学療法の領域 5: 1190~1192, 1990
- 4) 伊藤 章, 小田切繁樹, 松本文夫, 井上松久: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 感染症に対するCefazolinとImipenem併用療法の基礎的・臨床的検討。Chemotherapy 39: 174~184, 1991
- 5) 齊藤 玲, 三浦敏明, 多羅尾史明, 白鳥建二: Imipenem/cilastatin sodiumとcefotiam hydrochlorideの併用時における体内動態およびmethicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) に対する血清抗菌力の検討。Chemotherapy 40: 1018~1031, 1992
- 6) 島田 馨, 他 76名: MRSA感染症に対するIPM/

- CS と CTM の併用における臨床的検討 - 多施設共同研究 -。Chemotherapy 40: 654~672, 1992
- 7) 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
 - 8) Tokue Y, Shoji S, Stoh K, Watanabe A, Motomiya M: Antimicrob. Agents Chemother. 35: 6~9, 1992
 - 9) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
 - 10) Song M D, Wachi M, Doi M, Ishino F, Matsuhashi M: Evolution of an inducible penicillin-target protein in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* by gene fusion. FEBS LETTERS 21: 167~171, 1987
 - 11) 第 39 回日本化学療法学会, 新薬シンポジウム。SM-7338, 東京, 1991
 - 12) 西野武志, 他: 新しい Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) に関する細菌学的評価。Chemotherapy 35 (S-1): 57~75, 1987
 - 13) 田辺忠夫, 他: 黄色ブドウ球菌臨床分離株のコアグラマーゼ型別と薬剤感受性に関する解析 - IPM と他剤との比較 -。化学療法の領域 6: 1509~1516, 1990
 - 14) 第 23 回日本化学療法学会東日本支部総会, 新薬シンポジウム I。T-1220, 東京, 1976
 - 15) 中川圭一, 小山 優, 早瀬 清, 今朝洞忠孝: Imipenem (MK-0787), Cilastatin sodium (MK-0971), MK-0787/MK-0791 臨床第一相試験。Chemotherapy 33 (S-4): 329~356, 1985
 - 16) 安永幸二郎, 他: 6315-S (Flomoxef) の臨床第一相試験。Chemotherapy 35 (S-1): 494~517, 1987
 - 17) 新薬シンポジウム II。CS-1170, 岡山, 第 25 回日本化学療法学会西日本支部総会, 1977
 - 18) Wyke A W, Ward J B, Hayes M V, Curtis N A C: A Role of in vivo for Penicillin-Binding Protein-4 of *Staphylococcus aureus*. Eur. J. Biochem. 119: 389~393, 1981
 - 19) 伊藤 章: MRSA 感染症治療の最近の動向 - 複数菌感染としての MRSA と薬剤選択。Progress in Medicine 12: 763~767, 1992
 - 20) 第 39 回日本化学療法学会東日本支部総会, 新薬シンポジウム。Teicoplanin, 東京, 1992

In vitro studies of combinations piperacillin and various antimicrobial agents on MRSA

Akira Ito, Youichirou Kaminaga,
and Toshiyo Murano¹⁾

Clinical Laboratory Department School of Medicine, Yokohama City
University, Yokohama, Japan

Masahiro Takahata, Seiki Okamoto, Jun-ichi Mitsuyama,
Yoshiko Yamashiro, Shin-zaburo Minami
and Takashi Yasuda

Research laboratory, Toyama Chemical, Co., Ltd.

1) We investigated the bacteriological characteristics of 54 strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from patients in the Clinical Laboratory Department, School of Medicine, Yokohama City University between January 1991 and July 1991.

2) Coagulase type-II strains accounted for 98.1% of the isolates, and enterotoxin C was produced by 48.1%. Approximately 74% of the isolates produced β -lactamase. All strains tested possessed the *mecA* gene.

3) Combination of piperacillin (PIPC) with imipenem/cilastatin (IPM/CS), with meropenem (MEPM), with flomoxef (FMOX), and with cefmetazole (CMZ) *in vitro* yielded potent synergistic activities (FIC index: <0.25) against 74.0%, 72.2%, 74.0%, 79.6%, respectively of the isolates.

4) Based on the morphological findings, when treated with the PIPC plus IPM combination, the MRSA cells became swollen and disintegrated.

5) Although the mechanism of the synergism between PIPC and the above 4 drugs is unknown, it appears that the affinity of these drugs for *S. aureus*, PBP 4 is related to this phenomenon.