

# MRSA に対する vancomycin と $\beta$ -lactam 剤の *in vitro* 併用効果

—併用投与方法について—

長谷川裕美・江成 唯子・柴田 雄介  
菊池 賢・戸塚 恭一・清水喜八郎  
東京女子医科大学臨床中央検査部\*

(平成4年10月20日受付・平成4年12月7日受理)

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) に対する vancomycin (VCM) と  $\beta$ -lactam 剤の併用効果、および効果的な併用投与方法について、*in vitro* 実験にて検討した。

(1) 臨床分離 55 菌株に対する VCM と 4 種  $\beta$ -lactam 剤 (cefotiam; CTM, cefmetazole; CMZ, flomoxef; FMOX, imipenem; IPM) の min. FIC index は、いずれも 1 以下と優れた併用効果を示した。

(2) 投与量: MRSA 2 菌株に対して、VCM と  $\beta$ -lactam 剤 (4 種) を一方の濃度のみを変えて同時併用作用させた場合の抗菌効果 (短時間殺菌作用, postantibiotic effect [PAE]) は、併用する  $\beta$ -lactam 剤濃度に依存して増強したのに対し、併用する VCM 濃度は MIC 以上高濃度になっても抗菌効果の増強は認められず、むしろやや減弱する傾向を示した。Auto-simulation system を用い、ヒト血中濃度動態にて VCM (0.25 g, 0.5 g, または 1 g) と FMOX を同時併用投与した場合も同様に、VCM 0.25 g 併用時の短時間殺菌作用がもっとも優れた結果を示した。

(3) 併用順序: MRSA 2 菌株に対して、VCM と FMOX を、VCM 2 時間先行作用、FMOX 2 時間先行作用、および同時併用作用の 3 とおりの順序にて併用作用した場合の抗菌効果 (短時間殺菌作用, PAE) は、FMOX 単独作用にてもある程度抗菌効果が期待できる中等度耐性株で FMOX 先行時または同時併用時に、FMOX 高度耐性株で同時併用時に優れた結果を示した。一方、VCM 先行作用時の抗菌効果はいずれの場合も、他の併用順序に比べやや劣る結果を示した。また、ヒト血中濃度動態にて 2 薬剤を併用投与した場合の抗菌効果もほぼ同様の傾向を示した。

以上の結果より、MRSA に対し、VCM と  $\beta$ -lactam 剤は併用効果を認めたが、VCM の 1 回投与量の増量は、安全性ばかりでなく併用効果の点からも勧められるのではなく、常用量または場合によってはそれ以下の投与量で  $\beta$ -lactam 剤と同時併用投与することが、優れた臨床効果に結びつくものと考えられる。

**Key words:** MRSA, vancomycin,  $\beta$ -lactam 剤, 併用投与方法, *in vitro* auto-simulation system

Vancomycin (VCM) は glycopeptide 系抗生物質であり、methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 感染症の第一選択薬として欧米にて広く使用され、多くの有効報告例をみている<sup>1-3)</sup>。また、我が国においても MRSA 感染症に対する本剤の点滴静注が認可されて以来、その有用性が確認されつつある<sup>4,5)</sup>。しかし、

MRSA に対する VCM の短時間殺菌力は決して強力ではなく<sup>6-8)</sup>、臨床的にも効果発現が緩徐であることも報告されており<sup>9)</sup>、強力な殺菌効果が期待される immunocompromised host の MRSA 感染症に際しては、VCM 単剤治療での効果は楽観視できるとは限らない。また、副作用の問題<sup>10-13)</sup>、組織移行性の問題<sup>13)</sup>、混合感染時の問題等、

\* 東京都新宿区河田町 8-1

今後、臨床の場で多くの難題が起こりうることも否定できない。そこで、今回、MRSA 感染症に対して、抗菌力、および安全性の点から、VCM と併用価値が高いことが予想される  $\beta$ -lactam 剤をとりあげ、両薬剤の併用効果ならびに効果的な併用投与方法（特に投与量、投与順序）について、*in vitro* 実験にて検討した。

### I. 材料および方法

#### 1. 使用薬剤

Vancomycin (VCM, 塩野義製薬株式会社), cefotiam (CTM, 武田薬品工業株式会社), cefmetazole (CMZ, 三共株式会社), flomoxef (FMOX, 塩野義製薬株式会社), imipenem (IPM, 万有製薬株式会社) の力価の明らかな原末を用いた。

#### 2. 使用培地

寒天平板希釈法による感受性測定には感性ディスク用培地-N (ニッスイ) を、微量液体希釈法による感受性測定ならびに生菌数測定実験には感受性測定用ブイオン (ニッスイ) を、また、生菌数測定には普通寒天培地 (ニッスイ) を用いた。

#### 3. 使用菌株

VCM と各種  $\beta$ -lactam 剤の checker board 法による併用効果の検討には臨床分離 55 菌株を用いた。また、生菌数測定実験には、各種  $\beta$ -lactam 剤に対する耐性度の異なる 2 菌株 (MRSA TW 39, TW 63) を用いた。

#### 4. 薬剤感受性測定

臨床分離 MRSA 55 菌株について、VCM および各種  $\beta$ -lactam 剤 (CTM, CMZ, FMOX, または IPM) の単独時、ならびに VCM と各種  $\beta$ -lactam 剤の 2 薬剤併用時の最小発育阻止濃度 (MIC) を、日本化学療法学会標準法に準拠し寒天平板希釈法にて測定した。ただし、薬剤濃度は、VCM: 32~0.015  $\mu\text{g/ml}$ ,  $\beta$ -lactam 剤: 1,024~0.5  $\mu\text{g/ml}$  の 2 倍希釈法 (12 系列) とした。また、VCM と各種  $\beta$ -lactam 剤の併用効果は、checker board 法にて行い、下記の式より minimal fractional concentration index (min. FIC index) を求め、 $\leq 0.5$  を相乗、 $>0.51 \sim \leq 1$  を相加、 $>2 \leq$  を不関、 $>2$  を拮抗作用とし、判定した。

FIC index

$$= \frac{(\text{VCM} + \beta\text{-lactam 剤}) \text{ の VCM の MIC}}{\text{VCM の MIC}} + \frac{(\text{VCM} + \beta\text{-lactam 剤}) \text{ の FMOX の MIC}}{\beta\text{-lactam 剤 の MIC}}$$

なお、生菌数測定実験に使用した 2 菌株については、感受性測定用ブイオンを用いた微量液体希釈法による MIC, min. FIC index もあわせて測定した。ま

た、その際の接種菌量は、 $1 \sim 3 \times 10^8$  cfu/ml とした。

#### 5. 一定濃度薬剤作用時の併用効果

##### (1) 薬剤作用濃度の違いによる併用効果の比較

###### (a) 殺菌作用

MRSA TW 39, TW 63 の 2 菌株をそれぞれ感受性測定用ブイオンにて前培養し、対数増殖期の菌液を  $10^8$  cfu/ml になるよう調整し、同培地にて所要濃度となるよう溶解した VCM および各種  $\beta$ -lactam 剤 (CTM, CMZ, FMOX, または IPM) を、単独作用または 2 薬剤同時併用作用した後、37°C にて振とう培養し、経時的に生菌数を測定した。2 薬剤併用時の薬剤濃度は、①VCM (1/4 MIC) +  $\beta$ -lactam (1/8, 1/4, 1/2, 2 MIC), ②VCM (1/4, 1/2, 1, 4 MIC) +  $\beta$ -lactam (1/4 MIC) と、いずれか一方の濃度のみを変化させ、それぞれの薬剤濃度が併用作用時の殺菌作用におよぼす影響について検討した。なお、使用 2 菌株に対する各薬剤の MIC は、微量液体希釈法にて測定した値を用いた。また、生菌数測定は、普通寒天培地を用いた寒天塗抹培養法にて行った。

###### (b) postantibiotic effect (PAE)

使用 2 菌株に対して、VCM および各種  $\beta$ -lactam 剤 (CTM, CMZ, FMOX, または IPM) を 2 時間、単独作用または 2 薬剤同時併用作用した後、0.22  $\mu\text{m}$  membrane filter (Millipore, SLGS 0250 S 型) を用いて集菌後、上記液体培地にて 3 回洗浄することにより薬剤を除去し、菌液を実験開始時と同量となるよう新鮮液体培地に接種した後、生菌数を経時的に測定し、Craig らの方法<sup>14)</sup> にしたがって PAE を求めた。また、2 薬剤併用作用時の薬剤濃度は、①VCM (1/2 MIC) +  $\beta$ -lactam (1/2, 1, 4 MIC), ②VCM (1/2, 1, 8 MIC) +  $\beta$ -lactam (1/2 MIC) と、いずれか一方の薬剤濃度のみを変化させ、それぞれの薬剤濃度が、併用作用時の PAE におよぼす影響について検討した。なお、使用菌液の培養法、調整法、および生菌数測定法は 5. (1) (a) と同様の方法で行った。

##### (2) 作用順序の違いによる併用効果の比較

###### (a) 殺菌作用

使用 2 菌株に対して、VCM (1/2 MIC), FMOX (1/2 MIC), またはヒト血中濃度として存在しうる濃度である VCM (20  $\mu\text{g/ml}$ ), FMOX (60  $\mu\text{g/ml}$ ) をそれぞれ、①VCM 2 時間先行作用、②FMOX 2 時間先行作用、③同時併用作用の 3 とおりの併用順序にて作用し、その後の生菌数を経時的に測定し、併用順序が殺菌作用におよぼす影響について検討した。また、MRSA TW 63 に対して VCM または FMOX の先行時間を 1 時間、2 時間、および 4 時間と変化させた場

合の殺菌作用についても検討した。なお、使用菌液の培養法、調整法、および生菌数測定法は5. (1) (a)と同様の方法で行った。

#### (b) PAE

使用2菌株に対して、VCM (1 MIC), FMOX (1 MIC) または、VCM (20  $\mu$ g/ml), FMOX (60  $\mu$ g/ml) をそれぞれ、①VCM 2時間作用、洗浄後にFMOX 2時間作用、②FMOX 2時間作用、洗浄後にVCM 2時間作用、③2時間同時併用作用の3とおりの順序にて薬剤を作用させ、後続薬剤または2薬剤を洗浄した後の生菌数を経時的に測定し、作用順序がPAEにおよぼす影響について検討した。なお、使用菌液の培養法、調整法、生菌数測定法、およびPAEの測定法は、5. (1) (b)と同様の方法で行った。

#### 6. ヒト血中濃度動態の薬剤作用時の併用効果

*In vitro* auto-simulation system内<sup>15)</sup>にて、ヒト血中濃度動態でVCMおよびFMOXを単独または併用投与し、経時的に生菌数を測定することにより抗菌効果を検討した。抗菌効果の判定には、我々が以前より考案中である、A. max. kill. down (最大生菌数減少)、B. recovery time (薬剤作用開始時の生菌数にもどる時間、回復時間)、C. suppressive area (薬剤作用開始時の生菌数以下に抑制されていた部分の面積、抑制面積)の3項目を指標とした<sup>15,16)</sup>。なお、本実験に用いたVCMおよびFMOXの1時間点滴静注時のヒト血中濃度 simulation curve は、公表値より求めた<sup>17-19)</sup>。

#### (1) VCMの投与量の違いによる併用効果の比較

使用2菌株に対して、VCMおよびFMOXを1時

間点滴静注時のヒト血中濃度動態にて、単独投与または同時併用投与した場合の生菌数を経時的に測定した。また、その際、FMOXの投与量を一定(TW 39: 1g TW 63: 2g)にし、VCMを1g, 0.5g, 0.25gと変化させることにより、VCMの投与量が併用効果のおよぼす影響について検討した。なお、使用菌液の培養法、調整法、および生菌数測定法は5. (1) (a)と同様の方法で行った。

#### (2) 投与順序の違いによる併用効果の比較

使用2菌株に対して、VCM (0.5g) およびFMOX (TW 39: 1g TW 63: 2g) を1時間点滴静注時のヒト血中濃度動態で、①VCM 2時間先行併用投与、②FMOX 2時間先行併用投与、③同時併用投与の3とおりの順序にて投与し、併用順序が抗菌効果におよぼす影響について検討した。なお、使用菌液の培養法、調整法、および生菌数測定法は5. (1) (a)と同様の方法で行った。

## II. 結 果

### 1. FIC indexによる併用効果の判定

臨床分離MRSA 55菌株について、VCMと各種 $\beta$ -lactam剤のmin. FIC indexを求めた結果をTable 1に示した。VCMは、いずれの $\beta$ -lactam剤との併用においても、拮抗作用を認めず、85%以上の菌株が0.5以下と、優れた併用効果を示した。また、Tableには示さなかったが、VCMや $\beta$ -lactam剤のMIC値によるFIC index上の併用効果の差は認められなかった。生菌数測定実験に使用した2菌株の寒天平板希釈法ならびに微量液体希釈法により求めたMICおよびmin. FIC indexの結果をTable 2に示した。

Table 1. Distribution of minimal FIC index by vancomycin/ $\beta$ -lactam combination against 55 MRSA strains

Range of minimal FIC index	Number of strains			
	CTM/VCM	CMZ/VCM	FMOX/VCM	IPM/VCM
$\leq 0.125$	2	0	0	1
0.126-0.250	38	24	31	34
0.251-0.500	13	10	22	16
0.501-1.000	2	7	2	4
1.001-2.000	0	0	0	0
$\geq 2.001$	0	0	0	0
Total	55	55	55	55

MRSA: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

VCM; vancomycin, CTM; cefotiam, CMZ; cefmetazole, FMOX; flomoxef, IPM; imipenem.

Range of MIC ( $\mu$ g/ml): VCM 0.25-2, CTM 8-1,024<, CMZ 4-1,024, FMOX 4-512, IPM 1-256.

VCM の MIC は、両方法とも同等であったが、 $\beta$ -lactam 剤の MIC および VCM と各種  $\beta$ -lactam 剤の min. FIC index は、微量液体希釈法が寒天平板希釈法に比べ 2~4 倍高い値を示した。

## 2. 一定濃度薬剤作用時の併用効果

### (1) 薬剤作用濃度の違いによる併用効果の比較

### (a) 殺菌作用

使用 2 菌株に対して、VCM または  $\beta$ -lactam 剤のいずれか一方の濃度を变化させて他方の 1/4 MIC と同時併用作用した場合の 6 時間後の殺菌作用を Figs. 1, 2 に示した。2 薬剤併用作用時は単独作用時に比べ、優れた殺菌作用を示したが、併用する  $\beta$ -lactam

Table 2. MICs and minimal FIC indices of vancomycin and 4  $\beta$ -lactams against 2 MRSA strains

Antimicrobials	MRSA TW 39				MRSA TW 63			
	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		min. FIC index*		MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		min. FIC index*	
	A	B	A	B	A	B	A	B
VCM	1	1	-	-	2	2	-	-
CTM	256	64	0.50	0.375	1,024	256	0.375	0.313
CMZ	128	32	0.75	0.5	256	128	0.50	0.50
FMOX	64	32	0.50	0.375	256	128	0.50	0.25
IPM	64	16	0.625	0.25	128	64	0.50	0.375

A: microdilution broth method, B: agar dilution method.

MRSA: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

VCM; vancomycin, CTM; cefotiam, CMZ; cefmetazole, FMOX; flomoxef, IPM; imipenem.

\* Minimal FIC index means vancomycin/ $\beta$ -lactam combination.

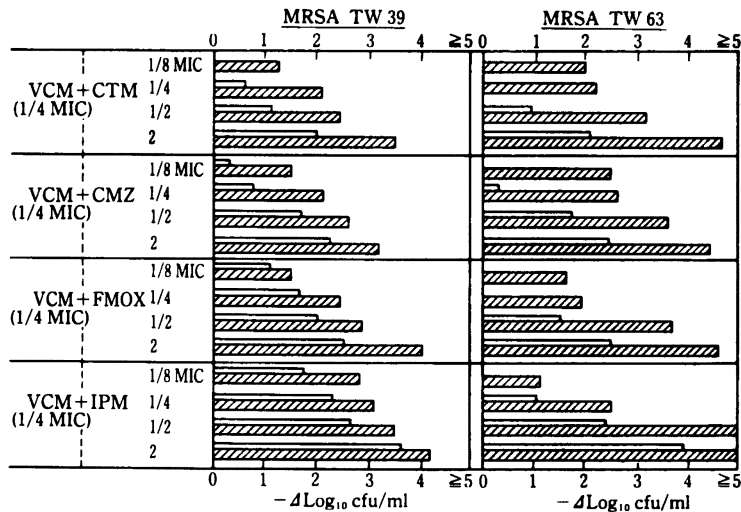


Fig. 1. Bactericidal activities of vancomycin and 4  $\beta$ -lactams (1/4 MIC) alone and in simultaneous combination against 2 MRSA strains.

Exposure time: 6 h

MRSA: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

VCM; vancomycin, CTM; cefotiam, CMZ; cefmetazole,

FMOX; flomoxef, IPM; imipenem.

□:  $\beta$ -lactam, ▨: VCM +  $\beta$ -lactam

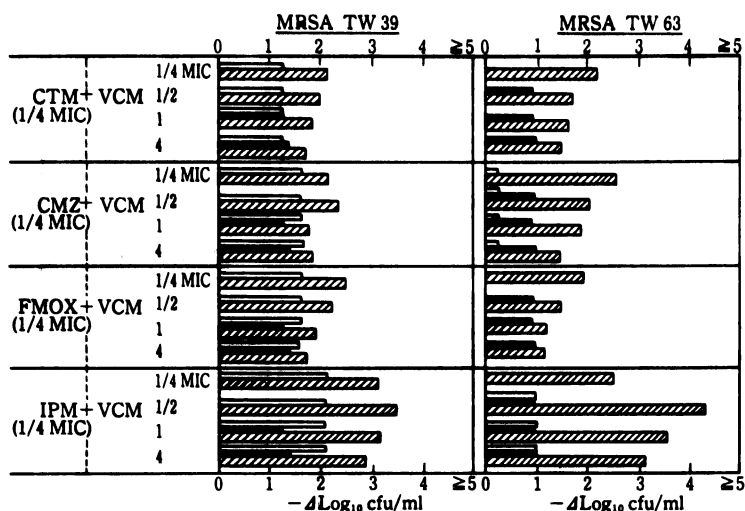


Fig. 2. Bactericidal activities of vancomycin (1/4 MIC) and 4  $\beta$ -lactams alone and in simultaneous combination against 2 MRSA strains.

Exposure time: 6 h

MRSA: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

VCM; vancomycin, CTM; cefotiam, CMZ; cefmetazole,

FMOX, flomoxef, IPM; imipenem.

■: VCM, □:  $\beta$ -lactam, ▨: VCM+ $\beta$ -lactam

剤の濃度を 1/8, 1/4, 1/2, 2 MIC と変化させた場合 (Fig. 1),  $\beta$ -lactam 剤が高濃度になるにしたがって、殺菌作用の増強を認めたのに対し、併用する VCM の濃度を 1/4, 1/2, 4 MIC と変化させた場合 (Fig. 2) では、菌株により多少の差はあるが、VCM 濃度に依存した殺菌作用の増強は認められず、むしろ VCM が MIC 以上、高濃度になるにしたがって減弱する傾向を示した。

#### (b) PAE

使用 2 菌株に対して、VCM または  $\beta$ -lactam 剤のいずれか一方の濃度を変化させて他方の 1/2 MIC と 2 時間同時併用作用した場合の PAE を Figs. 3, 4 に示した。併用する  $\beta$ -lactam 剤の濃度を 1/2, 4 MIC と変化させた場合の PAE (Fig. 3) は、 $\beta$ -lactam 剤の濃度に依存して延長したが、併用する VCM の濃度を 1/2, 1, 8 MIC と変化させた場合 (Fig. 4) では、殺菌作用の結果と同様に、VCM が MIC 以上、高濃度になるにしたがって PAE はむしろ短縮する傾向を示した。

#### (2) 作用順序の違いによる併用効果の比較

##### (a) 殺菌作用

使用 2 菌株に対して、VCM 1/2 MIC, FMOX 1/2

MIC, またはヒト血中濃度として存在しうる濃度である VCM (20  $\mu\text{g/ml}$ ), FMOX (60  $\mu\text{g/ml}$ ) を 3 とおりの併用順序にて作用させた場合の殺菌曲線を Fig. 5 に示した。いずれの菌株も 2 薬剤同時併用作用時に短時間でもっとも強力な殺菌作用を示し、優れた併用効果を認めたのに対し、VCM 先行併用作用時の殺菌作用はもっとも弱く、作用後短時間では FMOX 単独作用時の殺菌作用より弱い傾向すら認められた。また、FMOX 先行併用作用時の殺菌作用は、VCM 1/2 MIC, FMOX 1/2 MIC 作用 (Fig. 5-A) では、同時併用作用時とほぼ同等の殺菌作用を示したが、血中濃度を考慮した VCM (20  $\mu\text{g/ml}$ ), FMOX (60  $\mu\text{g/ml}$ ) 作用の場合 (Fig. 5-B), FMOX 単独作用でも殺菌効果が認められる MRSA TW 39 で、同時併用時と同等もしくはやや優れた殺菌作用を示したのに対し、FMOX 単独作用で殺菌効果を認めない MRSA TW 63 では、強力な殺菌作用を示さなかった。また、Fig. 6 に示すように、MRSA TW 63 に対して VCM または FMOX の先行時間を 1, 2, 4 時間と変化させた場合、2 薬剤が共存する時点からの殺菌率は、いずれの時間差ともほぼ同等であった。

##### (b) PAE

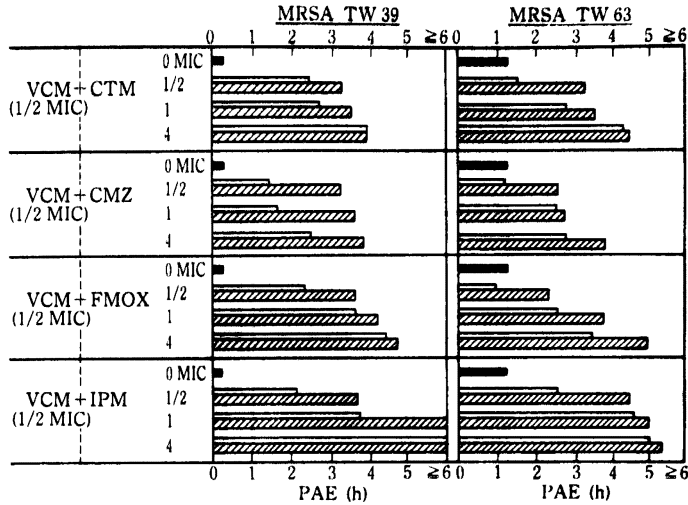


Fig. 3. Postantibiotic effects (PAEs) of vancomycin (1/2 MIC) and 4 β-lactams alone and in simultaneous combination against 2 MRSA strains.

Exposure time: 2 h

MRSA: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

VCM; vancomycin, CTM; cefotiam, CMZ; cefmetazole, FMOX; flomoxef, IPM; imipenem.

■: VCM, □: β-lactam, ▨: VCM + β-lactam

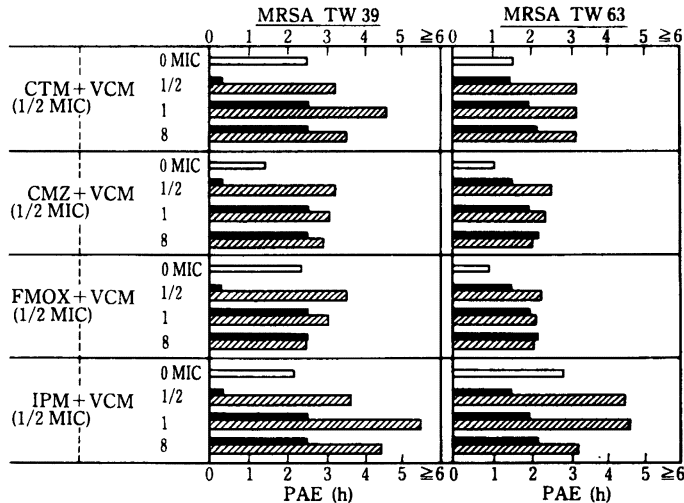


Fig. 4. Postantibiotic effects (PAEs) of vancomycin and 4 β-lactams (1/2 MIC) alone and in simultaneous combination against 2 MRSA strains.

Exposure time: 2 h

MRSA: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

VCM; vancomycin, CTM; cefotiam, CMZ; cefmetazole, FMOX; flomoxef, IPM; imipenem.

■: VCM, □: β-lactam, ▨: VCM + β-lactam

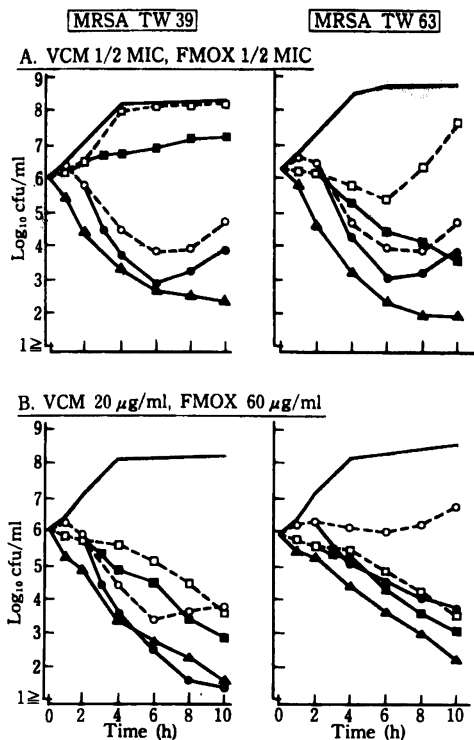


Fig. 5. Bactericidal activities of vancomycin and flomoxef alone and in combination against 2 MRSA strains.

MRSA: methicillin - resistant *Staphylococcus aureus*

VCM; vancomycin, FMOX; flomoxef.

—: control, □: VCM, ○: FMOX, ■: VCM  $\frac{20}{28}$  FMOX, ●: FMOX  $\frac{20}{28}$  VCM, ▲: VCM•FMOX

使用 2 菌株に対して、VCM (1 MIC), FMOX (1 MIC), またはヒト血中濃度として存在しうる濃度である VCM (20  $\mu$ g/ml), FMOX (60  $\mu$ g/ml) を、3 とおりの順序にて 2 時間作用させた場合の PAE を Fig. 7 に示した。VCM (1 MIC), FMOX (1 MIC) 作用では、菌株により多少の差はあるが、FMOX 先行作用時に PAE がもっとも延長したのに対し、血中濃度を考慮した VCM (20  $\mu$ g/ml), FMOX (60  $\mu$ g/ml) 作用時の PAE は、FMOX 単独では PAE がほとんど認められない MRSA TW 63 では、同時併用作用時においても、FMOX 先行作用時と同等の結果となった。また、VCM 先行作用時の PAE は他の 2 とおりの場合に比べ短く、特に MRSA TW 63 では、VCM (1 MIC), FMOX (1 MIC) 作用にて FMOX 単独作用時より短縮する傾向を示した。

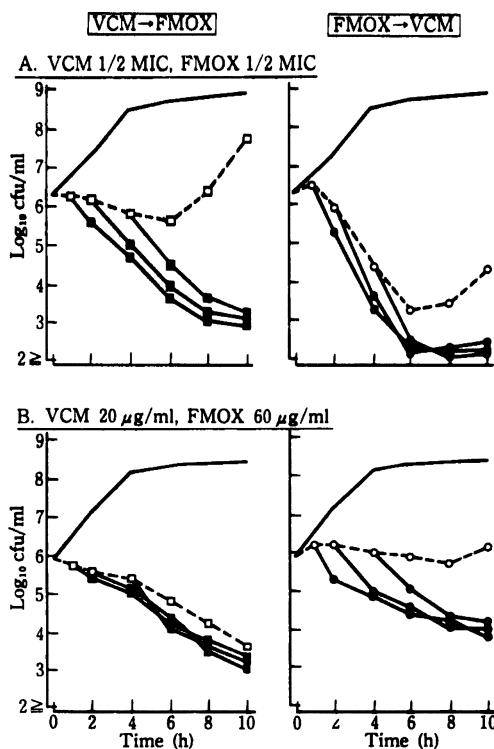


Fig. 6. Bactericidal activities of vancomycin and flomoxef alone and in alternating combination against MRSA TW 63.

MRSA: methicillin - resistant *Staphylococcus aureus*

VCM; vancomycin, FMOX; flomoxef.

—: control, □: VCM, ○: FMOX, ■: VCM  $\rightarrow$  FMOX, ●: FMOX  $\rightarrow$  VCM

以上、(a) (b) より、VCM, FMOX の併用作用では、FMOX 中等度耐性株に対しては FMOX 先行併用もしくは同時併用時に、FMOX 高度耐性株に対しては同時併用時に優れた抗菌効果が認められた。

### 3. ヒト血中濃度動態の薬剤作用時の併用効果

#### (1) VCM の投与量の違いによる併用効果の比較

*In vitro* auto-simulation system を用いて、使用 2 菌株に対して、FMOX の投与量を一定 (TW 39: 1 g, TW 63: 2 g) にし、VCM を 0.25 g, 0.5 g, 1 g と変化させ、1 時間点滴静注時のヒト血中濃度動態で単独投与または同時併用投与した場合の経時的生菌数変化ならびに同時併用投与時の抗菌効果の指標 3 項目の結果を Figs. 9, 10 に示した。それぞれの場合のヒト血中濃度 simulation curve は Fig. 8 に示すとおりである。2 薬剤併用投与は、それぞれの単独投与に比べ、

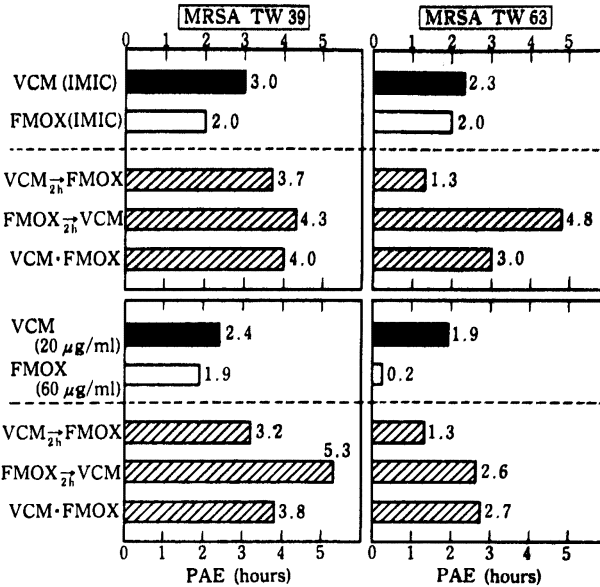


Fig. 7. Postantibiotic effects (PAEs) of vancomycin and flomoxef alone and in combination against 2 MRSA strains.

Exposure time: 2 h

MRSA: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

VCM; vancomycin, FMOX; flomoxef.

■: VCM, □: FMOX, ▨: VCM+FMOX

抗菌効果の3指標すべてに優れた値を示し、併用効果を認めた。しかし、VCM単独投与では、投与量増量によりtime-above MICが延長することによって、A. 最大生菌数減少は同等もしくはやや増強、B. 回復時間は延長、C. 抑制面積は増大を認めたのに対し、VCM、FMOXの同時併用投与では、VCMの投与量が増すにつれて、A. 最大生菌数減少はいずれの菌株とも減弱する傾向を示した。また、B. 回復時間はVCM単独の影響により延長したが、C. 抑制面積は、MRSA TW 63では、VCM 0.25 g、0.5 gおよび1 g投与時で同等、もしくはVCM 1 g投与時にやや劣る結果となった。

#### (2) 投与順序の違いによる併用効果の比較

上記systemを用いて、使用2菌株に対して、VCM (0.5 g) およびFMOX (TW 39: 1 g TW 63: 2 g) を1時間点滴静注時のヒト血中濃度動態で単独投与または3とおりの投与順序で併用投与した場合の経時的生菌数変化ならびに同時併用投与時の抗菌効果の指標3項目の結果をFigs. 12, 13に示した。それぞれの場合のヒト血中濃度simulation curveはFig. 11に示すと

おりである。いずれの順序での併用投与とも単独投与に比べ、抗菌効果の3指標すべてに優れた値を示し、併用効果を認めたが、FMOX単独投与でも抗菌効果を認めたMRSA TW 39では、抗菌効果3指標すべてにおいてFMOX先行併用投与時にもっとも優れた併用効果を認めた。また、A. 最大生菌数減少では同時併用投与時においても優れた併用効果を認めた。それに対し、FMOX単独投与ではほとんど抗菌効果を認めなかったMRSA TW 63では、2薬剤同時併用投与時に3指標すべてにおいてもっとも優れた併用効果を認めた。また、いずれの菌株とも、VCM先行併用投与時の抗菌効果は、他の併用投与順序の場合に比べて劣る結果となり、特に、MRSA TW 39では、A. 最大生菌数減少は、それぞれ単独時とほぼ同等であった。

### III. 考 察

VCMは、glycopeptide系抗生物質であり、特に、*Staphylococcus aureus*では、現在までに本薬剤に対する耐性菌は認められておらず<sup>9)</sup>、多剤耐性MRSAによる院内感染症が問題になっている我が国の現状に



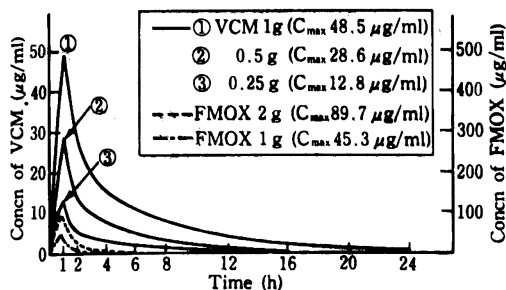
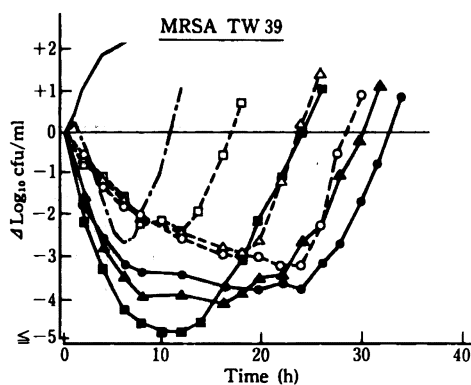
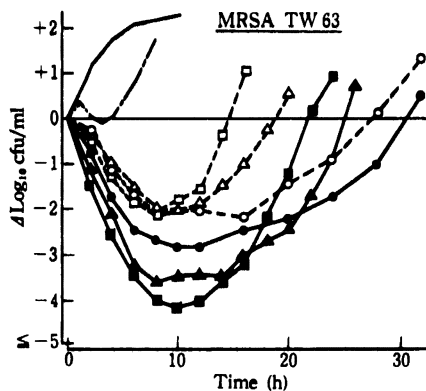


Fig. 8. Simulated concentration-time curves in human serum for vancomycin and flomoxef with 1 h-intravenous drip infusion. VCM; vancomycin, FMOX; flomoxef.



	Max. kill down ( $-\Delta\text{Log}_{10}$ cfu/ml)	Recovery time (h)	Suppressive area ( $-\Delta\text{Log}_{10}$ cfu/ml·h)
● VCM 1g	3.8	32.8	97.2
▲ VCM 0.5g	4.2	30.5	91.2
■ VCM 0.25g + FMOX 1g	4.9	24.2	78.0

Fig. 9. Antimicrobial activities of vancomycin and flomoxef 1g alone and in simultaneous combination with 1 h-intravenous drip infusion against MRSA TW 39 in auto-simulation system. MRSA: methicillin - resistant *Staphylococcus aureus*. VCM; vancomycin, FMOX; flomoxef. —: control, ---: FMOX 1g, ○: VCM 1g, △: VCM 0.5g, □: VCM 0.25g, ●: VCM 1g + FMOX 1g, ▲: VCM 0.5g + FMOX 1g, ■: VCM 0.25g + FMOX 1g



	Max. kill down ( $-\Delta\text{Log}_{10}$ cfu/ml)	Recovery time (h)	Suppressive area ( $-\Delta\text{Log}_{10}$ cfu/ml·h)
● VCM 1g	2.9	31.6	59.1
▲ VCM 0.5g	3.7	25.0	63.9
■ VCM 0.25g + FMOX 2g	4.3	21.8	61.1

Fig. 10. Antimicrobial activities of vancomycin and flomoxef 2g alone and in simultaneous combination with 1 h-intravenous drip infusion against MRSA TW 63 in auto-simulation system.

MRSA: methicillin - resistant *Staphylococcus aureus*  
 VCM; vancomycin, FMOX; flomoxef.  
 —: control, ---: FMOX 2g, ○: VCM 1g, △: VCM 0.5g, □: VCM 0.25g, ●: VCM 1g + FMOX 2g, ▲: VCM 0.5g + FMOX 2g, ■: VCM 0.25g + FMOX 2g

の殺菌力は非常に弱く、しかも、MIC 以上では、濃度に依存した殺菌作用および PAE の増強は認められなかった<sup>6)</sup>。また、最近では、臨床成績においても、VCM の治療効果は他の殺菌性の抗生物質の効果に比べ緩徐であることや<sup>9)</sup>、感染性心内膜炎の治療成績も必ずしも楽観視できないとの報告もあり<sup>7,8)</sup>、感染部位や患者の病態によっては、VCM 単独での治療効果が十分期待できないことも予想される。さらに、副作用の面からも、その使用量が制限されることもあることから<sup>10-13)</sup>、我々は、実際によく用いられ、抗菌効果および安全性の点からも併用価値が高いことが予想される  $\beta$ -lactam 剤をとりあげ、MRSA に対する VCM と  $\beta$ -lactam 剤の併用効果について検討した。その結果、今回用いた 4 種の  $\beta$ -lactam 剤は、いずれも VCM との併用で臨床分離 MRSA 55 菌株に対して優れた FIC index 値を示し、併用価値があることを示唆する結果を得た。そこで、さらに最大の治療効果

としては、非常に注目すべき薬剤である。しかし、我々が今までに行った *in vitro* 実験では、VCM は、MRSA に対して、優れた MIC 値を示したが、短時間

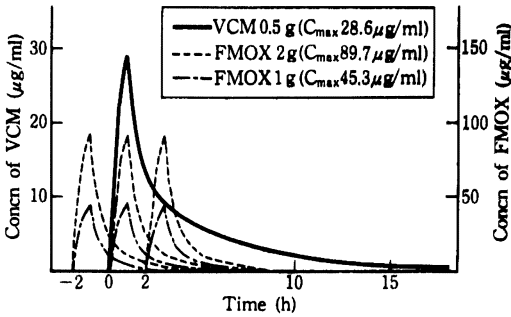
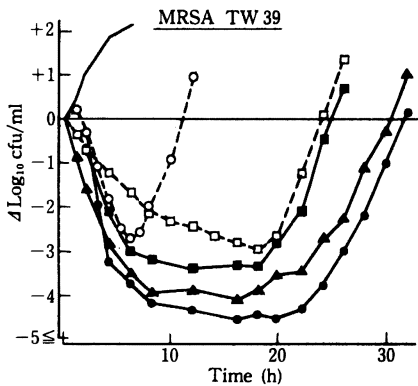


Fig. 11. Simulated concentration-time curves in human serum for vancomycin and flomoxef with 1 h-intravenous drip infusion. VCM; vancomycin, FMOX; flomoxef.



	Max. kill down (-ΔLog <sub>10</sub> cfu/ml)	Recovery time (h)	Suppressive area (-ΔLog <sub>10</sub> cfu/ml·h)
□ VCM	3.0	19.8	45.5
○ FMOX	2.7	11.0	15.2
■ VCM→FMOX	3.4	23.8	61.6
● FMOX→VCM	4.6	31.7	105.5
▲ VCM·FMOX	4.2	30.5	91.2

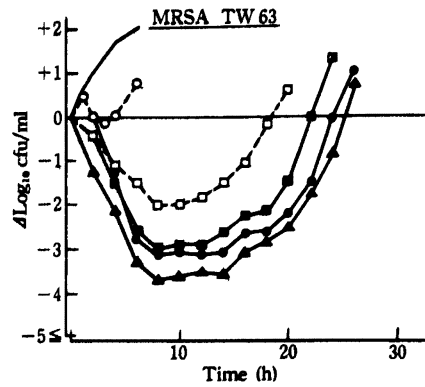
Fig. 12. Antimicrobial activities of vancomycin 0.5 g and flomoxef 1 g alone and in combination with 1 h-intravenous drip infusion against MRSA TW 39 in auto-simulation system.

MRSA: methicillin - resistant *Staphylococcus aureus*

VCM; vancomycin, FMOX; flomoxef.

—: control, □: VCM 0.5 g, ○: FMOX 1 g, ■: VCM 0.5 g → FMOX 1 g, ●: FMOX 1 g → VCM 0.5 g, ▲: VCM 0.5 g · FMOX 1 g

をあげるための投与方法について、特に投与量、投与順序の点より検討した。使用2菌株に対して、VCMと4種のβ-lactam剤をそれぞれ同時併用作用させた



	Max. kill down (-ΔLog <sub>10</sub> cfu/ml)	Recovery time (h)	Suppressive area (-ΔLog <sub>10</sub> cfu/ml·h)
□ VCM	2.0	18.5	22.9
○ FMOX	0.1	4.0	0.1
■ VCM→FMOX	3.0	22.0	43.6
● FMOX→VCM	3.1	24.0	50.5
▲ VCM·FMOX	3.7	25.0	63.9

Fig. 13. Antimicrobial activities of vancomycin 0.5 g and flomoxef 2 g alone and in combination with 1 h-intravenous drip infusion against MRSA TW 63 in auto-simulation system.

MRSA: methicillin - resistant *Staphylococcus aureus*

VCM; vancomycin, FMOX; flomoxef.

—: control, □: VCM 0.5 g, ○: FMOX 2 g, ■: VCM 0.5 g → FMOX 2 g, ●: FMOX 2 g → VCM 0.5 g, ▲: VCM 0.5 g · FMOX 2 g

ところ、殺菌効果およびPAEはいずれも、2薬剤併用により単剤に比べ優れた結果を示したが、併用するβ-lactam剤が高濃度になるにしたがって抗菌効果は増強したのに対し、菌株やβ-lactam剤の種類により多少の差はあるが、併用するVCM濃度は、MIC以上、高濃度になっても濃度に依存した抗菌効果の増強は認められず、むしろ、減弱傾向さえ認められた。また、*in vitro* auto-simulation systemを用い、ヒト血中濃度動態のVCMとFMOXを併用投与した場合も同様に、VCMの投与量を増量することにより、VCM濃度が高くなるにしたがって、最大生菌数減少、すなわち、殺菌効果が減弱する傾向を示した。このような逆転現象については、VCMの分子構造、抗菌作用機序の複雑性<sup>20-22)</sup>などが関与しているものと思われるが、詳しいメカニズムについては現時点では不明である。しかし、これらの結果より、VCMとβ-lactam剤の併用においては、特に連続投与を考慮す

ると、VCM の 1 回投与量を増量することが必ずしも併用効果増強に結びつかないばかりでなく、場合によっては抗菌効果減弱にもつながる可能性が示唆された。また、VCM と  $\beta$ -lactam 剤の併用順序に関して、併用  $\beta$ -lactam 剤として FMOX をとりあげて検討したところ、最良の併用順序は、使用菌株の FMOX に対する感受性により異なる結果となった。すなわち、FMOX 単独作用でも多少の抗菌効果が期待できる中等度以下の耐性株では、FMOX 先行併用時もしくは同時併用時に優れた結果となったのに対し、FMOX 単独作用では抗菌効果が期待できない高度耐性株では、2 薬剤同時併用時に、特に殺菌作用の点で優れた抗菌効果を示した。また、これと同様の結果がヒト血中濃度動態で 2 薬剤を併用投与した場合においても認められた。しかし、実際に問題となるのは  $\beta$ -lactam 剤高度耐性株であることより、MRSA 感染症に対する VCM と  $\beta$ -lactam 剤の併用投与順序は、同時併用がもっとも望ましいと考えられる。また、今回の検討では、VCM 先行併用時の抗菌効果が他の併用順序に比べて劣る結果となったが、この理由の 1 つには、VCM の抗菌作用機作が、細胞壁合成阻害だけではなく、RNA 合成阻害、細胞膜に対する作用と複雑であり、また、これらの作用が投与後 1 時間前後でほぼ完了するため<sup>19-23)</sup>、VCM を時間単位で先行作用させた場合には、主に細菌の増殖期に作用する  $\beta$ -lactam 剤が十分に抗菌効果を発揮しえなくなることが考えられる。以上の結果より、MRSA 感染症に対する VCM と  $\beta$ -lactam 剤の併用療法においては、VCM の 1 回投与量の増量は、安全性ばかりでなく、併用効果の点からも勧められるものではなく、常用量もしくは場合によってはそれ以下の投与量で  $\beta$ -lactam 剤と同時併用投与することが、安全性も含め、優れた臨床効果に結びつくものと考えられる。

#### 文 献

- Sorrell T C, Packham D R, Shenker S, Foldes M, Munro R: Vancomycin therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Ann Intern Med* 97: 344~350, 1982
- Klastersky J, Coppen L, Auwera P, Carpentier F M: Vancomycin therapy of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *J Antimicrob Chemother* 11: 361~367, 1983
- Bayer A S: Staphylococcal bacteremia and endocarditis. State of the art. *Arch Intern Med* 142: 1169~1177, 1982
- 島田 馨: 注射用塩酸バンコマイシン。第 38 回日本化学療法学会東日本支部総会、第 40 回日本感染症学会東日本地方会総会、合同学会、シンポジウム、札幌、1991
- 島田 馨, 花谷勇治, 目黒英典, 菅野治重: MRSA による重症感染症に対する注射用バンコマイシンの臨床研究。 *Chemotherapy* 40: 86~101, 1992
- 長谷川裕美, 清水喜八郎: MRSA 感染症に対する vancomycin の使い方—In vitro 実験における投与方法の検討—。 *臨床医* 18: 286~292, 1992
- Small P M, Chambers H F: Vancomycin for *Staphylococcus aureus* endocarditis in intravenous drug users. *Antimicrob Agents Chemother* 34: 1227~1231, 1990
- Gopal V, Bisno A L, Silverblatt F J: Failure of vancomycin treatment in *Staphylococcus aureus* endocarditis. In vivo and in vitro observation. *JAMA* 236: 1604~1606, 1976
- Levine D P, Fromm B S, Reddy B R: Slow response to vancomycin or vancomycin plus rifampin in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Ann Intern Med* 115: 674~680, 1991
- Traber P G, Levine D P: Vancomycin ototoxicity in a patient with normal renal function. *Ann Intern Med* 95: 458~459, 1981
- Rybak M J, Arbecht L M, Boike S C, Chandrasekar P H: Nephrotoxicity of vancomycin, alone and with an aminoglycoside. *J Antimicrob Chemother* 25: 679~687, 1990
- Healy D P, Sahai J V, Fuller S H, Polk R E: Vancomycin-induced histamine release and "red man syndrome"; comparison of 1- and 2-hour infusion. *Antimicrob Agents Chemother* 34: 550~554, 1990
- Moellering R C, Jr: Pharmacokinetics of vancomycin. *J Antimicrob Chemother* 14 Suppl. D: 43~52, 1984
- Craig W A, Gudmundsson S: Postantibiotic effect. In: *Antibiotics in Laboratory Medicine* 3rd. edn. (Victor Lorian V., ed.), p.403~423, Baltimore: Williams & Wilkins, 1991
- 長谷川裕美: MRSA 感染症に対する fosfomycin と flomoxef の併用投与方法の検討。—In vitro 実験における投与順序および投与量について—。 *Chemotherapy* 39: 771~780, 1991
- 菊池 賢: 緑膿菌実験感染症に対するアミノ配糖体と  $\beta$ -ラクタムの投与方法と併用療法の検討。 *感染症学雑誌* 65: 216~225, 1991
- 安永幸二郎, 他 (関西医科大学内科学第一講座, 塩野義製薬株式会社研究所): 6315-S (Flomoxef) の臨床第一相試験。 *Chemotherapy* 35 S: 494~517, 1987
- 斉藤 玲, 他 (北海道大学技術医療短期大学および 5 関連施設): 6315-S (Flomoxef) に関する研究。 *Chemotherapy* 35 S: 523~540, 1987
- Jordan D C, Mallory H D C: Site of action of vancomycin on *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 8: 489~494, 1964

- 20) Jordan D C, Inniss W E: Selective inhibition of ribonucleic acid synthesis in *Staphylococcus aureus* by vancomycin. *Nature* 184: 1894~1896, 1959
- 21) Nagarajan R: Antibacterial activities and mode of action of vancomycin and related glycopeptides. *Antimicrob Agents Chemother* 35: 605~609, 1991
- 22) 長谷川裕美, 江成唯子, 春木宏介, 柴田雄介, 菊池賢, 戸塚恭一, 清水喜八郎: MRSA 感染症に対する vancomycin (VCM) の *in vitro* における投与方法の検討 (第 5 報)。第 40 回日本化学療法学会総会, プログラム, 講演抄録 (名古屋), 1992
- 23) 長谷川裕美: MRSA 感染症に対する vancomycin の投与方法の検討。—*In vitro* 実験における投与量および投与時間について—。 *Chemotherapy* 41: 329~338, 1993

Combination effect of vancomycin and  $\beta$ -lactam against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: *In vitro* experimental study on dosing regimen

Hiroshi Hasegawa, Tadako Enari, Yusuke Shibata,  
Ken Kikuchi, Kyoichi Totsuka and Kihachiro Shimizu

Central Clinical Laboratory, Tokyo Women's Medical College, 8-1 Kawadacho  
Shinjuku-ku, Tokyo 162, Japan

This experiment was designed to study the combination effect and optimal dosing regimen of vancomycin (VCM) and  $\beta$ -lactam against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) *in vitro*. Checkerboard studies of VCM and  $\beta$ -lactam (cefotiam: CTM, cefmetazole: CMZ, flomoxef: FMOX, or imipenem: IPM) against 55 clinically isolated MRSA strains revealed synergistic or additive effects. At constant drug concentrations, the combination effect of VCM and  $\beta$ -lactam, determined by bactericidal activity and postantibiotic effect (PAE), was potentiated when the concentration of  $\beta$ -lactam was increased. On the other hand, it was unchanged or weakened when the VCM concentration was increased. Furthermore, when VCM exposure preceded  $\beta$ -lactam exposure, the combination effect was weakened, as compared with exposing the organism to the  $\beta$ -lactam first. At simulated human serum concentrations of VCM and FMOX, the combination effect, determined by max. kill. down, recovery time, and suppressive, area, showed results similar to those described above in term of dose and order. These findings suggest that in applying combination therapy with VCM and  $\beta$ -lactam to MRSA infections, effectiveness may be diminished if the VCM dose is increased or VCM is administered before the  $\beta$ -lactam.