

顆粒球減少時における細菌感染症治療の基礎的検討

坪井千洋・外山圭助

東京医科大学内科学教室*

(平成4年11月12日受付・平成4年12月24日受理)

血液疾患合併顆粒球減少患者の血中由来臨床分離4菌種, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* に対して, アミノ配糖体 tobramycin (TOB) と β -ラクタム剤 imipenem (IPM), ceftazidime (CAZ) を用いて, 顆粒球減少患者の感染症治療法の確立を目的としたマウス感染モデルにおける 50% effective dose (ED_{50}) と, 各種抗生物質の6時間 minimal lethal concentration (6時間 MLC) について検討した。いずれの場合も, 顆粒球減少マウスは正常マウスに比して ED_{50} が著しく増加したが, TOB は, IPM, CAZ に比べて正常マウスに対する顆粒球減少マウスの ED_{50} の増加率が少なく, すぐれた効果が認められた。また, 抗生物質併用投与においては, TOB+CAZ はすべてのグラム陰性菌感染に対して相乗作用を示した。TOB+IPM は *P. aeruginosa* 感染に対して相乗作用を示した。一方, 6時間 MLC では, グラム陰性菌において, *S. aureus* に比べて, 短時間殺菌効果を得るために, 高濃度の抗生物質を必要とした。また, 6時間 MLC, いわゆる短時間殺菌力は, IPM, CAZ に比べて, TOB がもっとも効果的であった。顆粒球減少マウスに感染前 granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) を投与したところ, 顆粒球数は増加し, G-CSF 非投与顆粒球減少マウスに比べて ED_{50} が有意に減少した。しかし, 顆粒球減少マウスに対し, 感染後 G-CSF を投与した場合には, G-CSF 非投与顆粒球減少マウスに比べて ED_{50} の有意な減少が認められなかった。このことから, G-CSF は顆粒球減少患者には感染前に投与すべきであることが示唆された。

Key words: 顆粒球減少, 6時間 MLC (minimal lethal concentration), 短時間殺菌力, 併用療法, G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor)

血液患者に合併する顆粒球減少時における感染症, いわゆる compromised host における感染症の治療は, いまだに困難なものとしてされている。また, これら血液疾患の血中分離菌の時代的推移をみると, 近年はグラム陰性菌では *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, グラム陽性菌では *Staphylococcus* 属が多いという特徴を示している¹⁾。このためこれらの菌に感受性のある抗生物質の併用療法, 大量療法あるいは最近開発されたヒト granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) の併用等が行われ, それぞれ効果はあげているものの, 臨床成績の検討はその評価が難しく, 今後の研究課題でもある。特に *in vitro* での抗生物質の併用効果の成績は, 実際の *in vivo* での治療における併用効果とは必ずしも一致した成績が得られないこともあり, 併用療法の意義に対する基礎的解析が十分検討されるに至っていない。今回, 顆粒球減少時における細菌感染症の治療法を確立するため, 頻

度の多い前記4菌種の血中由来臨床分離株 (*Staphylococcus* 属は *Staphylococcus aureus*) を用い, *in vitro* および, *in vivo* の基礎的検討を行い, 若干の知見を得たので報告する。

I. 材料と方法

1. 実験動物

ICR の4週齢雄性マウスを用いた。

2. 薬剤

Tobramycin (TOB: 塩野義製薬), imipenem (IPM: 萬有製薬), ceftazidime (CAZ: 田辺製薬), cyclophosphamide (CY: 塩野義製薬), recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF, 大腸菌使用のもの: キリン株式会社) を用いた。

3. 菌株

東京医科大学病院入院血液疾患顆粒球減少患者の血

* 東京都新宿区西新宿 6-7-1

中由来の分離4菌種, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, 各1株を用いた。

4. *In vitro*における薬剤感受性実験

接種菌量 10^6 CFU/ml で日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法²⁾ に準じて行った。

さらに, 倍数希釈した抗生物質含有液体培地 trypticase soy broth (TSB) 1 ml に分離菌 $N \times 10^6$ CFU/ml をそれぞれ加え, 6時間および24時間静菌培養後, 抗生物質の含まない寒天平板培地に $N \times 10^3$ CFU/inoculum (0.001 ml) ずつ再播種し, 一夜培養後, 平板表面に生じた各被検菌集落数と接種菌数との比から99.9%殺菌濃度 minimal lethal concentration (MLC)³⁻⁴⁾ を求めた (Fig. 1)。

5. マウス感染モデルによる *in vivo* の実験

(1) 正常マウス

分離菌を trypticase soy broth (TSB) で 37°C 一夜培養後, 適宜希釈し, 10% ムチン懸濁液とし, 1群6匹のマウスを用いて, 腹腔内に接種, 感染させた。抗生物質は感染1時間後に各濃度に希釈後皮下投与した。6日間観察後の生存率より50% effective dose (ED_{50}) を算出した。併用の場合の各抗生物質は, 併用比を臨床投与量に近似させ, TOB:IPM=1:5, TOB:CAZ=1:10とした。併用効果の判定は, fractional effective dose index (FED index) として: 併用時のA剤の $\text{ED}_{50} \div$ 単独のA剤の ED_{50} + 併用時のB剤の $\text{ED}_{50} \div$ 単独のB剤の ED_{50} : にて算出し, 1以

下を相乗作用, 1~2を作用なし, 2以上を拮抗作用とした。

(2) 顆粒球減少マウス

① CYのみ処置マウス (以下CYマウス)

菌接種4日前にCY 200 mg/kgを腹腔内投与した。以下上記同様の処置をした。

② CY処置後, 感染前G-CSF投与マウス (以下CY+G-CSFマウスA)

上記同様CY投与後, 翌日からG-CSF 100 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ を4日間連続で皮下投与し, 最終日はG-CSF投与4時間後に菌を接種した⁵⁻⁷⁾。

③ CY処置後, 感染後G-CSF投与マウス (以下CY+G-CSFマウスB)

上記同様CY投与後, 菌接種30分後よりG-CSF 200 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ を2日間連続で皮下投与した。

II. 結 果

In vitro の実験では, β -lactam系抗生物質はいずれの菌に対しても6時間MLCはMICよりも高かった。特にグラム陰性菌では6時間MLCはMICの数倍から10倍以上と高値を示した。これに比してグラム陽性菌である *S. aureus* では6時間MLCはMICの1~2倍と低値であった。また, *P. aeruginosa* においては6時間MLCでも24時間MLCでも同程度のきわめて高値を示した。しかし各抗生物質の比較では, TOBはすべての菌に対して6時間MLCとMICとの差がもっとも小さかった (Table 1)。

In vivo の実験では, CAZは *P. aeruginosa*, *S. aur-*

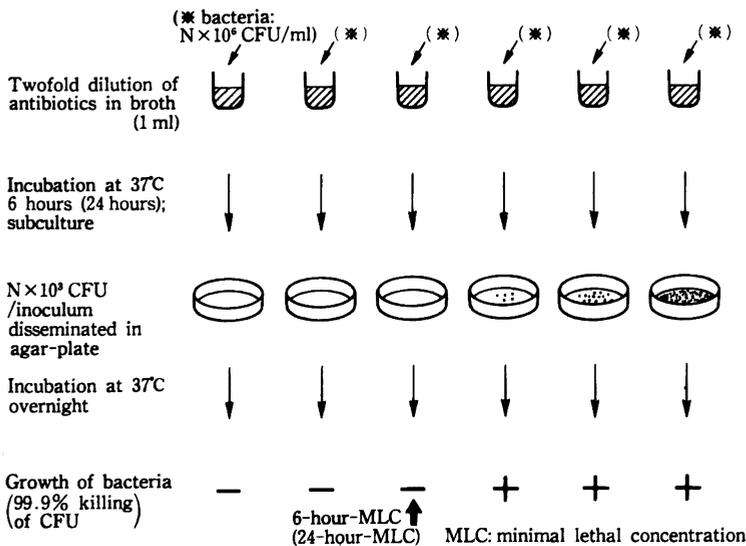


Fig. 1. The procedures for determination of 6-hour and 24-hour-MLC.

Table 1. 6-hour and 24-hour-MLC of antibiotics

	MIC	6-hour-MLC	24-hour-MLC
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
TOB	3.13	2 MIC (6.25)	2 MIC (6.25)
IPM	6.25	16 MIC (100)	16 MIC ↑ (100 ↑)
CAZ	6.25	16 MIC ↑ (100 ↑)	16 MIC ↑ (100 ↑)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>			
TOB	6.25	8 MIC (50)	1 MIC (6.25)
IPM	1.56	8 MIC (12.5)	2 MIC (3.13)
CAZ	0.4	16 MIC (6.25)	1 MIC (0.4)
<i>Escherichia coli</i>			
TOB	12.5	1 MIC (12.5)	2 MIC (25)
IPM	0.8	4 MIC (3.13)	4 MIC (3.13)
CAZ	0.4	4 MIC (1.56)	1 MIC (0.4)
<i>Staphylococcus aureus</i>			
TOB	6.25	1 MIC (6.25)	2 MIC (12.5)
IPM	0.1	2 MIC (0.2)	2 MIC (0.2)
CAZ	12.5	2 MIC (25)	2 MIC (25)

TOB, tobramycin; IPM, imipenem; CAZ, ceftazidime.

(unit: µg/ml)

MLC: minimal lethal concentration

aus 感染における結果のように MIC が 6.25, 12.5 とある程度高くなると, ED₅₀ が正常マウスでも 38, 35 と大きく上昇したが, TOB は 4 菌種とも比較的高い MIC に比し, 低い ED₅₀ を示し, 特に *E. coli* 感染においては, MIC 12.5 にもかかわらず ED₅₀ 0.17 と効果的であった。また, IPM は *P. aeruginosa* 感染において MIC 6.25 で ED₅₀ 0.9 と効果的であった。いずれの場合も顆粒球減少マウス (CY マウス) は正常マウスに比して ED₅₀ が著しく増加した。しかし, IPM, CAZ は CY マウスの ED₅₀ が正常マウスの 4~10 倍またはそれ以上の上昇がみられたが, TOB は 2 倍弱 (*E. coli* のみ約 8 倍) の上昇にとどまった。

併用投与においては, *P. aeruginosa* 感染では TOB+IPM, TOB+CAZ とともに相乗作用がみられた。*K. pneumoniae* および *E. coli* 感染においては, TOB+CAZ が相乗作用を示した。

抗生物質非投与時マウスが全身感染をおこし, 6 日以内に 100% 死亡する最小致死菌量は CY マウスが正常マウスの 1/100,000~1/100 (顆粒球数は感染当日 1/100 以下, 翌日 1/50 以下) に比し, CY+G-CSF マウス A は正常マウスとほぼ同量 (顆粒球数は感染当日 1/10, 翌日ほぼ正常) というように顆粒球数との相関が認められた (Table 2~6)。

P. aeruginosa における CY+G-CSF マウス A 感染実験では, 単独では IPM が CY マウスの ED₅₀ の約 1/4 に減少し, 併用でも TOB+CAZ および TOB+IPM で, CY マウスの ED₅₀ の約 1/2 および約 1/3 に減少した。CY+G-CSF マウス B 感染実験では, CY マウスと CY+G-CSF マウス B では抗生物質の単独, 併用ともに ED₅₀ において差を認めなかった (Table 2)。

III. 考 察

血液疾患治療においては, しばしば原病そのものや治療によって, 重篤な顆粒球減少症を惹起し, その結果敗血症のような重篤な感染症の発生をみる。今回我々は実験的顆粒球減少マウスに敗血症を起こさせ, このマウスに各種抗生物質を単独および併用で, また G-CSF も併用し, ED₅₀ よりその治療効果を観察した。本研究では血液疾患に認められる敗血症の原因として頻度の高い *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. aureus* などの菌を対象とした¹⁾。

In vivo の実験では TOB は, IPM, CAZ と比べて, ある程度 MIC が高くても, 比較的低い ED₅₀ を示し, 特に CY マウスの感染に対してすぐれた効果を示した。これらより, アミノ配糖体である TOB は, MIC による細菌感受性がたとえ低くても, 臨床的治療効果

Table 2. ED₅₀ of antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* infection in mice

antibiotics (MIC µg/ml)	ED ₅₀ (mg/kg)			
	normal	CY	CY+G-CSF A	CY+G-CSF B
TOB (3.13)	4.7	10.0	10.4	9.6
IPM (6.25)	0.9	12.5	3.1	11.8
CAZ (6.25)	38.0	100 ↑	100 ↑	100 ↑
combination (proportions)				
TOB+IPM (1:5)	0.11+0.56 <0.64>	0.63+ 3.13 <0.31>	0.23+0.17 <0.40>	0.60+3.00 <0.32>
TOB+CAZ (1:10)	0.55+5.5 <0.26>	2.5 +25.0 <0.25~0.5>	1.25+12.5 <0.12~0.25>	2.4+24.0 <0.25~0.49>

Bacteria challenge dose

normal	1.4×10 ⁶ CFU/mouse (1~2 MLD)
CY	1.4×10 ⁸ CFU/mouse (2~4 MLD)
CY+G-CSF A	1.4×10 ⁶ CFU/mouse (2~4 MLD)
CY+G-CSF B	1.4×10 ⁸ CFU/mouse (2~4 MLD)

< > : FED (fractional effective dose) index = $\frac{\text{ED}_{50} \text{ of drug A in combination}}{\text{ED}_{50} \text{ of drug A alone}} + \frac{\text{ED}_{50} \text{ of drug B in combination}}{\text{ED}_{50} \text{ of drug B alone}}$
synergism < 1, antagonism > 2

antibiotics: subcutaneous injection 1 hour after onset of infection

observation: 6 days after challenge

ED₅₀: 50% effective dose

TOB, tobramycin; IPM, imipenem; CAZ, ceftazidime

MLD: minimal lethal dose

normal:	normal mice
CY:	cyclophosphamide-administered mice
CY+G-CSF:	CY-plus granulocyte colony-stimulating factor-administered mice
(A:	G-CSF administration prior to infection
B:	G-CSF administration after onset of infection)

Table 3. ED₅₀ of antibiotics against *Klebsiella pneumoniae* infection in mice

antibiotics (MIC µg/ml)	ED ₅₀ (mg/kg)	
	normal	CY
TOB (6.25)	0.25	0.45
IPM (1.56)	0.45	5.2
CAZ (0.4)	0.07	0.55
combination (proportions)		
TOB+IPM (1:5)	0.21+1.05 <3.17>	0.75+3.75 <2.39>
TOB+CAZ (1:10)	0.006+0.06 <0.88>	0.02+0.20 <0.40>

Bacteria challenge dose

normal	1.1×10 ⁶ CFU/mouse (1~2 MLD)
CY	2.2×10 ⁸ CFU/mouse (1~2 MLD)

abbreviation see Table 2.

が期待しうると考えられた。β-ラクタム剤の中でも IPM は比較的高い MIC に比して、特に *P. aeruginosa* 感染に対して低い ED₅₀ を示しており、β-ラクタム剤の中でも広スペクトルを有し、単独でもかなり

効果が期待できる抗生物質と考えられた⁸⁾。しかし、これら抗生物質による較差はあるものの、顆粒球減少マウスの ED₅₀ は正常マウスに比して著しく増加した。

Table 4. ED₅₀ of antibiotics against *Escherichia coli* infection in mice

antibiotics (MIC µg/ml)	ED ₅₀ (mg/kg)	
	normal	CY
TOB (12.5)	0.17	1.4
IPM (0.8)	0.10	1.8
CAZ (0.4)	0.08	0.43
combination (proportions)		
TOB+IPM (1:5)	0.036+0.18 <2.0>	0.5+2.5 <1.75>
TOB+CAZ (1:10)	0.002+0.02 <0.26>	0.011+0.11 <0.27>

Bacteria challenge dose

normal	1.2×10 ⁸ CFU/mouse (1~2 MLD)
CY	1.2×10 ⁸ CFU/mouse (4~8 MLD)

abbreviation see Table 2.

Table 5. ED₅₀ of antibiotics against *Staphylococcus aureus* infection in mice

antibiotics (MIC µg/ml)	ED ₅₀ (mg/kg)	
	normal	CY
TOB (6.25)	0.8	1.56
IPM (0.1)	0.1	0.4
CAZ (12.5)	35	100 ↑
combination (proportions)		
TOB+IPM (1:5)	0.056+0.28 <2.87>	0.75+3.75 <9.86>
TOB+CAZ (1:10)	1.01+10.1 <1.55>	3.7+37 <2.37~2.74>

Bacteria challenge dose

normal	1.2×10 ⁸ CFU/mouse (1~2 MLD)
CY	1.2×10 ⁸ CFU/mouse (2~4 MLD)

abbreviation see Table 2.

Table 6. WBC counts and granulocyte percentage in mice

	normal	CY	CY+G-CSF A
day 0	3,400 (22%)	250 (1% ↓)	700 (12%)
day 1		650 (2%)	2,700 (48%)
day 3		1,050 (14%)	3,200 (60%)

day 0: bacteria challenge

(unit: /µl)

(): granulocyte percentage

WBC: white blood cell

normal: normal mice

CY: cyclophosphamide-administered mice

CY+G-CSF: CY-plus granulocyte colony-stimulating factor-administered mice

A: G-CSF administration prior to infection

通常は抗生物質の菌に対する MIC を参考にして抗生物質を選択, 使用することが多い。しかし, 特に顆粒球減少時における感染症の目安に MIC が使用し得

るであろうか。顆粒球減少時の感染症の治療には, 顆粒球の助けがないので, 抗生物質のみで菌を殺す方法が必要と考えられ, この意味で MLC が参考になるよ

うに考えられる。しかし、これは24時間菌を抗生物質にさらした場合の殺菌濃度である。この点で、より体内の状態に類似した短時間殺菌作用なる殺菌方法が考案されている³⁻⁴⁾。

今回の6時間MLCの結果より、*P. aeruginosa*等のグラム陰性菌では、*S. aureus*に比して、抗生物質の短時間作用による殺菌のためには、MICの10数倍というような高濃度が必要であることが判明した。したがって血液疾患合併感染症において頻度の高いグラム陰性菌の治療対策として、顆粒球減少症を伴う場合は、*in vivo*の動物実験のデータと合わせても大量の抗生物質の投与が必要であることを示している。各抗生物質間の比較においてはすべての菌に対して6時間MLC、いわゆる短時間殺菌力は、MICと比較して、アミノ配糖体であるTOBがもっとも効果的であり、 β -ラクタム剤のなかではIPMがCAZより殺菌力が強かった。

6時間MLCはpostantibiotic effect (PAE)との相関が予想された。すなわち本実験において、*S. aureus*に対しては、アミノ配糖体、 β -ラクタム剤ともに大差ない強い短時間殺菌効果を示したが、両抗生物質ともグラム陽性菌に対しては、PAEを有する。一方、グラム陰性菌に対しては、TOBは強い短時間殺菌効果を示したが、他の β -ラクタム剤では弱かった。実際グラム陰性菌に対してアミノ配糖体はPAEをもっているが、 β -ラクタム剤はかなり弱い。しかしIPMはグラム陰性菌に対してもCAZより強い殺菌効果がみられた。このことはIPMは、 β -ラクタム剤の中でも唯一、グラム陰性菌に対してもPAEをもっているとされる報告と一致する⁹⁾。これらより6時間MLCとPAEとの強い相関が示唆された。

併用療法の有効性については従来、細胞壁を障害する β -ラクタム剤の投与後に、細胞内に作用し、蛋白合成を障害するアミノ配糖体を投与するのが効果的であると考えられていた¹⁰⁻¹¹⁾。しかし、グラム陰性菌に関しては、臨床成績より近年再検討されつつある。清水ら¹²⁾は*P. aeruginosa*に対し、TOBとticarcillin (TIPC)を用いた*in vivo*の実験でアミノ配糖体 \rightarrow β -ラクタム剤あるいは同時に投与した方が、細菌減少に効果的であると報告した。このことは、アミノ配糖体は短時間殺菌力が強く、グラム陰性菌にも強いPAEを有するため、先行投与し、菌数を減少させた後、 β -ラクタム剤を投与した方が相乗作用が出現しやすいとの考えに基づく。これは戸塚¹³⁾のいうinoculum effect、いわゆる β -ラクタム剤は細菌数が増加すると、その作用が低下するため、殺菌力の強い

アミノ配糖体を先行投与し、細菌数を減少させた状態で、 β -ラクタム剤を作用させた方が有効であるという報告にも一致する。

我々の実験においても、併用療法の抗生物質の組み合わせにおいて、短時間殺菌力の強いものいわゆるMICと6時間MLCとの比が小さいものと、そうでないものとの組み合わせが、殺菌力に差のないものの組み合わせより、効果的な相乗作用が認められた。*P. aeruginosa*感染においてはTOB+IPM、TOB+CAZ、ともに相乗作用を示し、*K. pneumoniae*および*E. coli*感染においてはTOB+CAZが相乗作用を示した。しかし、一部にFED index上では拮抗作用を示す場合もあるが、これは併用した一方の抗生物質に対して菌がきわめて高い感受性を示すためである。CYマウスの*P. aeruginosa*感染において、単独ではED₅₀ 100 mg/kg以上と治療効果がまったくみられなかったCAZをTOBと併用することにより25 mg/kgまでED₅₀の減少がみられ(TOBは10 \rightarrow 2.5)、IPMにおいてはTOBとの併用によって12.5 \rightarrow 3.13と減少する(TOBは10 \rightarrow 0.63)ことが観察された。同様のことが*S. aureus*感染におけるTOB+CAZにおいても認められる(CAZ 100 \uparrow 37)。これらの量は臨床の場合において十分使用しうる量であり、顆粒球減少時の感染症におけるempiric therapyとしての併用療法に実際には問題がないと考えられる。

抗生物質非投与時マウスが全身感染をおこし、6日以内に100%死亡する最小致死菌量 minimal lethal dose (MLD)は、CYマウスでは、*E. coli*で正常の1/100 (10⁴ \rightarrow 10²)であるが、*S. aureus*にいたっては1/100,000 (10⁸ \rightarrow 10³)まで菌量をおとさなければならなかった。これらを感染当日および翌日の顆粒球数と比較すると、明らかに相関が認められ、顆粒球減少が感染に対する大きなリスク因子であることが確認された。

また、前述のごとく顆粒球減少時の感染症においては抗生物質の効果が少ない。この対策として顆粒球の増加を謀ることが重要である。最近顆粒球増加の作用を有するヒトG-CSFがクローニングされ製剤として利用されるようになった。

今回我々は顆粒球減少症において、抗生物質の効果が著しく低下を認めた*P. aeruginosa*感染に対してG-CSFを投与した実験を行った。G-CSFを感染前投与したA法では単独ではIPMがCYマウスのED₅₀の約1/4に減少し、併用ではTOB+IPMがCYマウスのED₅₀の約1/3、TOB+CAZが約1/2に減少した。しかし、実際の臨床においては、顆粒球減少時に

感染症が発症した後に G-CSF を使用する例が多いことを考え、B 法として、CY 投与による顆粒球減少を起こさせたマウスに感染させ、その後、G-CSF を投与した実験 B 法を行った。その結果、*P. aeruginosa* 感染において、抗生物質の単独および併用ともに CY マウスと CY+G-CSF マウス B に ED₅₀ の有意な差は認められなかった。このことは、感染が発生した後に G-CSF を使用することは、予防投与に比べ劣っていることを示している。いわゆる、G-CSF は顆粒球減少症患者には感染前に投与すべきであることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるに臨み、本研究に御協力いただいた東京医科大学微生物学教室 金兌貞前教授、水野文雄教授、小池直人博士、エーザイ株式会社研究開発本部 佐藤勝氏に感謝致します。

文 献

- 1) 外山圭助, 坪井千洋, 川西慶一, 矢口 誠: 感染症の対策。日常診療と血液 1: 23~29, 1991
- 2) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 3) 増田剛太, 矢島太郎, 中村毅志夫, 柳下徳雄, 山崎悦子: 静菌および殺菌レベルでみた低濃度 tobramycin と β -lactam 抗生剤の併用効果。Jap. J. Antibiotics 32: 1189~1195, 1979
- 4) 外山圭助, 内田 博, 増田剛太: 血液疾患合併敗血症における臨床効果と *in vitro* 短時間薬剤作用時殺菌・静菌効果とに関する検討。Chemotherapy 35: 262, 1987
- 5) 横田 健, 生田 真, 松本雅彦, 田村政彦, 松原秀三, 松野 隆, 尾野雅義: 顆粒球コロニー刺激因子 (rG-CSF) I. 実験的顆粒球減少症マウスにおける緑膿菌感染防御効果。Chemotherapy 37: 673, 1989
- 6) 横田 健, 松本雅彦, 生田 真, 松原秀三, 松野隆, 尾野雅義: 顆粒球コロニー刺激因子 (rG-CSF) II. 抗生物質との併用療法。Chemotherapy 37: 673, 1989
- 7) Matsumoto M, Matsubara S, Yokota T: Effect of combination therapy with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rG-CSF) and antibiotics in neutropenic mice unresponsive to antibiotics alone. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 28: 447~453, 1991
- 8) Auwera P, Klastersky J, Lagast H, Husson M: Serum bactericidal activity and killing rate for volunteers receiving imipenem, imipenem plus amikacin, and ceftazidime plus amikacin against *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agent Chemother 30: 122~126, 1986
- 9) Bustamante C I, Drusano G L, Tatem B A, Standiford H C: Postantibiotic effect of imipenem on *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agent Chemother 26: 678~682, 1984
- 10) Scudamore R A, Goldner M: Penetration of the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* by synergistic combination of beta-lactam and aminoglycoside antibiotics. Antimicrob Agent Chemother 21: 1007~1010, 1982
- 11) 斎藤正人, 吾妻共子, 西野武志, 谷野輝雄: *Escherichia coli*, *Serratia marcescens* 及び *Pseudomonas aeruginosa* に対する sisomicin, dibekacin と cefotetan, cefotaxime, latamoxef, cefsulodin 間の併用に関する細菌学的研究。Jap. J. Antibiotics 36: 2833~2843, 1983
- 12) 清水喜八郎, 戸塚恭一, 熊田徹平, 片平潤一: 感染症—抗生物質療法の新しい考え方。Medicina 25: 1344~1349, 1988
- 13) 戸塚恭一: 併用療法とその考え方。Modern Physician 11: 559~563, 1991

Experimental studies of treatment of bacterial infections in granulocytopenic patients

Chihiro Tsuboi and Keisuke Toyama

Department of Internal Medicine, Tokyo Medical College, 6-7-1 Nishishinjuku,
Shinjuku-ku, Tokyo 160, Japan

Four clinical isolates from the blood of granulocytopenic patients (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*) were used to determine the 50% effective dose (ED₅₀) of experimental infections in mice, as well as the 6 hours minimal lethal concentration (6-hour-MLC). In all cases, the ED₅₀ in the mice with cyclophosphamide (CY)-induced granulocytopenia was markedly increased as compared with normal mice. Concerning the ED₅₀ of the granulocytopenic mice, tobramycin (TOB) showed much better results than β -lactam antibiotics [imipenem (IPM), ceftazidime (CAZ)]. In combined administration, TOB+CAZ showed synergistic effects against all gram-negative bacteria. TOB+IPM showed synergistic effects against *P. aeruginosa*. Concerning 6-hour-MLC, higher doses of antibiotics were required to sterilize gram-negative bacteria than to sterilize *S. aureus*. TOB showed much better results in sterilizing bacteria during a short period of time than did IPM or CAZ. When granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) was administered prior to infection in the granulocytopenic mice, the ED₅₀ was less than in the mice receiving only CY (administration). When G-CSF was administered after onset of infection in the granulocytopenic mice, the ED₅₀ of the mice did not significantly decrease compared to the mice receiving only CY. These findings suggest that in infected granulocytopenic patients, G-CSF administration after onset of infection would be less effective than administration prior to infection.