

## MRSA と *Pseudomonas aeruginosa* との混合培養および混合感染における arbekacin と imipenem/cilastatin の併用効果

高田 利彦・高瀬由美子・高山 吉弘

折笠 義則・吉田 隆

明治製薬薬品総合研究所\*分析代謝研究所 CR 室

(平成5年11月11日受付・平成6年5月24日受理)

メチシリン耐性 *Staphylococcus aureus* と *Pseudomonas aeruginosa* との混合培養および混合感染系における arbekacin (ABK) と imipenem/cilastatin (IPM/CS) との併用効果について検討した。その結果、MRSA と *P. aeruginosa* との混合培養系における ABK の MRSA に対する殺菌効果は、MRSA 単独培養に比し減弱する傾向にあった。しかし、imipenem (IPM) との併用において優れた併用殺菌効果が認められた。一方、*P. aeruginosa* に対して ABK は、単独および混合培養系において同様の殺菌効果を示し、かつ IPM との併用において優れた併用殺菌効果が認められた。また、混合培養系において、*P. aeruginosa* の接種菌量を減少させた場合、MRSA との等量接種に比し ABK の MRSA に対する殺菌効果が増強された。ABK と IPM との併用殺菌効果は、同時併用がもっとも優れていた。また、IPM 先行添加に比し、ABK 先行添加の方が優れた併用殺菌効果を示した。電子顕微鏡による形態観察において、ABK 単独作用時では、MRSA の細胞壁の肥厚と *P. aeruginosa* の伸長化が見られるのみであったが、IPM との併用においては、MRSA の溶菌および隔壁形態の異常と *P. aeruginosa* の溶菌像が多く観察された。マウスを用いた MRSA と *P. aeruginosa* との混合感染に対する治療効果において、種々の接種混合比により検討したところ、ABK と IPM/CS との併用により各単剤での治療効果に比し優れた治療効果を示した。

**Key words:** MRSA, *Pseudomonas aeruginosa*, 混合培養, arbekacin, imipenem/cilastatin

現在、臨床上基礎疾患を有する患者や術後患者に対する MRSA 感染症が問題となっている。MRSA 感染症においては、MRSA 単独感染のみならず種々の細菌との混合感染も多く見られ、そのうち特に緑膿菌や肺炎桿菌などのグラム陰性桿菌との混合感染がかなり多く、治療上問題が投げ掛けられている。この様な現状において、臨床場において種々の薬剤による併用療法が行われ、また、基礎的にも研究が進められている<sup>1)</sup>。そこで今回我々は、MRSA と緑膿菌との混合感染症を想定し、これに対する arbekacin (ABK) と imipenem/cilastatin (IPM/CS) との併用効果を殺菌効果を指標とした *in vitro* 試験および白血球減少マウスを用いた感染治療実験での *in vivo* 効果について検討し、若干の知見を得たので報告する。

### I. 実験材料および実験方法

#### 1. 使用菌株

当研究室保存の *Staphylococcus aureus* 1371 (MRSA

1371) 株, *Staphylococcus aureus* 1936 (MRSA 1936) 株, *Pseudomonas aeruginosa* No. 52 株, *Pseudomonas aeruginosa* E-2 株の MRSA 2 株と *P. aeruginosa* 2 株を使用した。

#### 2. 使用薬剤

arbekacin (ABK, 699  $\mu\text{g}/\text{mg}$ , 明治製薬) および imipenem/cilastatin (IPM/CS, IPM として 441  $\mu\text{g}/\text{mg}$ , 萬有製薬) のいずれも力価の明らかなものを使用した。

#### 3. 感受性測定法

前培養に Mueller-Hinton broth (BBL), 感受性測定用培地に Mueller-Hinton agar (BBL) を用い、日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法<sup>2)</sup> に従って行った。

#### 4. 殺菌効果の検討

Mueller-Hinton broth に前培養した各使用菌株を

\* 横浜市港北区師岡町 760

同培地で希釈し、振盪培養を行った。2時間後の対数期途中の菌に種々の濃度の薬剤を作用させ、1, 2, 4, 6, 8時間後に生菌数の測定を行った。なお、混合培養系の接種菌量として MRSA: *P. aeruginosa* = 1:1 および 1:0.01 の2通りの混合比を用いた。また、添加順序および添加間隔の検討では、ABK 先行添加の場合は、ABK を添加し、その1, 2, 3時間後に IPM を添加した。IPM 先行添加の場合は、IPM を添加し、その1, 2, 3時間後に ABK を添加した。なお、MRSA 分離用培地として tobramycin 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  含有の heart-infusion agar, 緑膿菌分離用培地として vancomycin 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  含有の heart-infusion agar を使用した。なお、使用した MRSA に対する tobramycin の MIC は、いずれも 800  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以上であり、また使用した緑膿菌に対する vancomycin の MIC は、いずれも 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以上であった。さらに、分離用培地として使用した各薬剤含有平板における生菌数と薬剤無添加における生菌数との間に差は、認められなかった。

#### 5. 形態学的検討

走査型および透過型電子顕微鏡により、ABK と IPM との同時併用時における形態を各単剤での形態と比較検討した。すなわち、対数増殖期の菌に、ABK (0.78  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) と IPM (0.78  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) を2時間作用後グルタルアルデヒド (最終濃度 2.5%) およびオスミウム酸 (最終濃度 1.0%) で二重固定した。さらに、アルコールで段階脱水 (50%~100%) し、臨海点乾燥後、金蒸着した。このサンプルを走査型電子顕微鏡 (Akashi DS-130) により観察した。なお、透過型電子顕微鏡のサンプルは、上記脱水後、Epon 812 で包埋し、LKB 2088 ultrome V で薄切した。この切片を酢酸ウランで染色後、透過型電子顕微鏡 (Hitachi H-600) で観察した。

#### 6. マウス実験的感染症に対する治療効果

SLC-ICR 系雄マウス (4週齢, 体重  $22 \pm 1\text{g}$ ) 1群 8匹を用い、MRSA および *P. aeruginosa* それぞれ単独感染および混合感染系で検討した。白血球減少マウスの作成には、cyclophosphamide を 200 mg/kg を感染4日前に1回腹腔内投与することにより行った。また、接種菌液は、ムチンを最終濃度として 2.5% 添加したものを使用し、その 0.5 ml をマウス腹腔内に接種した。各菌株の MLD は、MRSA 1372 株で  $2.5 \times 10^4$ , MRSA 1936 株で  $5.2 \times 10^5$ , *P. aeruginosa* No. 52 株で  $6.1 \times 10^1$  および *P. aeruginosa* E-2 で  $8.0 \times 10^1$  CFU/mouse であった。薬剤は、菌接種2時間後に 0.2 ml を1回皮下に投与した。併用時における薬剤投与量比は、臨床投与可能な投与比を基準に設定し

た。菌接種より7日目の生存率から probit 法により ED<sub>50</sub> 値 (mg/kg) および 95% 信頼限界値を算出して治療効果として示した。併用効果の判定は、FED index として示した。なお、FED index は、下記の計算式により求めた。

$$\text{FED index} = \frac{\text{併用時の ABK の ED}_{50} \text{ 値}}{\text{ABK 単独の ED}_{50} \text{ 値}} + \frac{\text{併用時の IPM/CS の ED}_{50} \text{ 値}}{\text{IPM/CS 単独の ED}_{50} \text{ 値}}$$

## II. 実験結果

### 1. 使用菌株に対する MIC 測定

使用菌株に対する ABK と IPM それぞれの MIC を Table 1 に示した。MRSA 1371 株および MRSA 1936 株に対する ABK および IPM の MIC は、それぞれ 0.39, 0.78 および 50, 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であり、*P. aeruginosa* No. 52 および *P. aeruginosa* E-2 に対する ABK および IPM の MIC は、それぞれ 3.13, 1.56 および 1.56, 1.56  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であった。

### 2. 殺菌効果の検討

#### (a) 単独培養における ABK の殺菌効果

MRSA 1371 および *P. aeruginosa* No. 52 に対する

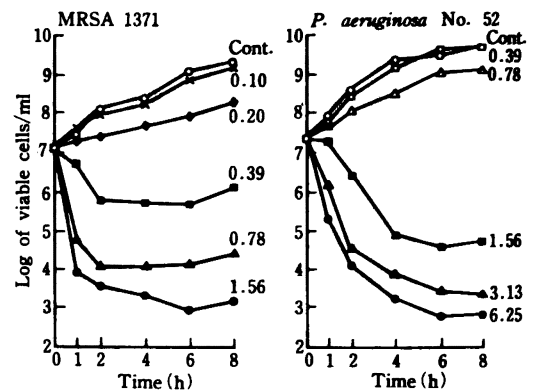


Fig. 1. Bactericidal action of arbekacin against MRSA 1371 and *Pseudomonas aeruginosa* No. 52.

Table 1. MICs of Arbekacin and Imipenem against MRSA and *Pseudomonas aeruginosa*

Strain	Arbekacin	Imipenem
MRSA 1936	0.78	100
MRSA 1371	0.39	50
<i>P. aeruginosa</i> No. 52	3.13	1.56
<i>P. aeruginosa</i> E-2	1.56	1.56

( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )

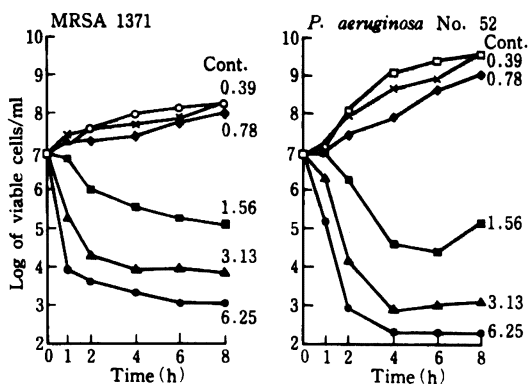


Fig. 2. Bactericidal action of arbekacin against the mixed cultures of MRSA 1371 and *Pseudomonas aeruginosa* No. 52.

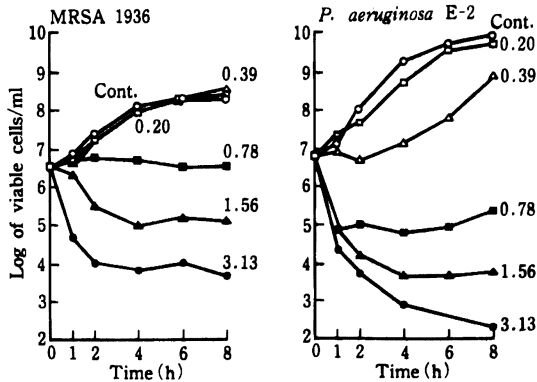


Fig. 3. Bactericidal action of arbekacin against mixed culture of MRSA 1936 and *Pseudomonas aeruginosa* E-2.

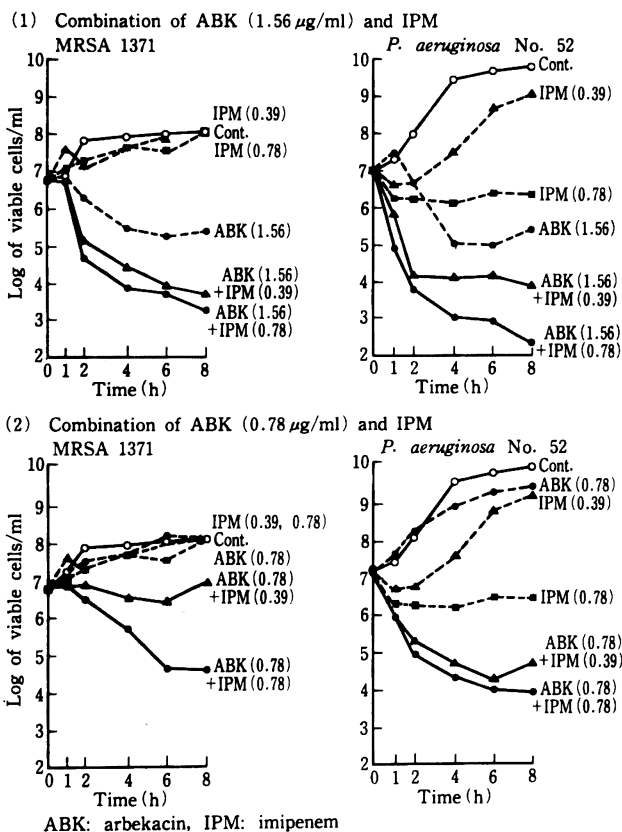


Fig. 4. Synergistic activity of combination of arbekacin and imipenem/cilastatin against mixed culture of MRSA 1371 and *Pseudomonas aeruginosa* No. 52.

ABK の殺菌効果を Fig. 1 に示す。MRSA 1371 に対し ABK は、MIC (0.39  $\mu\text{g/ml}$ ) 以上の濃度において作用濃度に依存した殺菌作用を示し、*P. aeruginosa* No.52 に対しては、1/2 MIC (1.56  $\mu\text{g/ml}$ ) 以上の濃度において作用濃度および作用時間に依存した殺菌作用を示した。

(b) 混合培養における ABK の殺菌効果

MRSA 1371 と *P. aeruginosa* No. 52 との混合培養系および MRSA 1936 と *P. aeruginosa* E-2 の混合培養系における ABK のそれぞれの菌株に対する殺菌効果を Fig. 2 および Fig. 3 に示した。MRSA 1371 と *P. aeruginosa* No.52 との混合培養系において ABK は、MRSA 1371 に対し、4 MIC (1.56  $\mu\text{g/ml}$ ) 以上の濃度において作用濃度に依存した殺菌作用を示し、*P. aeruginosa* No. 52 に対しては、1/2 MIC (1.56  $\mu\text{g/ml}$ ) 以上の濃度において薬剤添加 4 時間後まで作用

濃度および作用時間に依存した殺菌作用を示した。

一方、MRSA 1936 と *P. aeruginosa* E-2 との混合培養系において ABK は MRSA 1936 に対し、MIC (0.78  $\mu\text{g/ml}$ ) 濃度において静菌的に作用し、2 MIC (1.56  $\mu\text{g/ml}$ ) 以上の濃度において作用濃度に依存した殺菌作用を示し、*P. aeruginosa* E-2 に対しては、1/2 MIC (0.78  $\mu\text{g/ml}$ ) 以上の濃度において薬剤添加 1 時間以後まで優れた殺菌作用を示し、その後、1.56  $\mu\text{g/ml}$  以上の濃度において作用濃度に依存した殺菌作用が認められた。

(c) 混合培養における ABK と IPM との併用殺菌効果

MRSA 1371 と *P. aeruginosa* No. 52 との混合培養系および MRSA 1936 と *P. aeruginosa* E-2 の混合培養系における ABK と IPM との併用殺菌効果を Fig. 4 および Fig. 5 に示した。

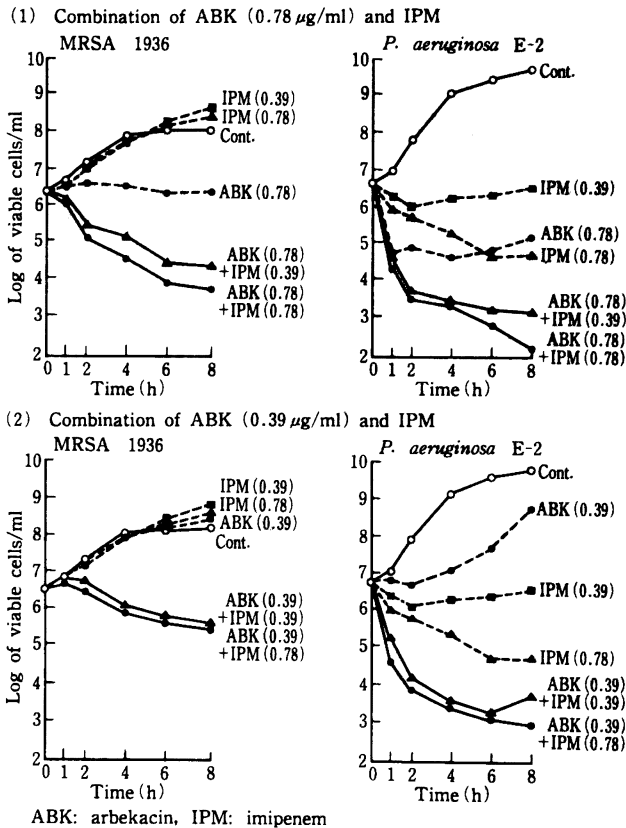


Fig. 5. Synergistic activity of combination of arbekacin and imipenem/cilastatin against mixed culture of MRSA 1936 and *Pseudomonas aeruginosa* E-2.

MRSA 1371 と *P. aeruginosa* No. 52 との混合培養系において ABK 1.56 および 0.78  $\mu\text{g/ml}$  と IPM 0.78 および 0.39  $\mu\text{g/ml}$  との併用において、いずれの菌株に対しても、各単剤の殺菌効果に比較し、優れた殺菌効果が認められた。

一方、MRSA 1936 と *P. aeruginosa* E-2 との混合培養系において ABK 0.78 および 0.39  $\mu\text{g/ml}$  と IPM 0.78 および 0.39  $\mu\text{g/ml}$  との併用において、いずれの菌株に対しても、各単剤の殺菌効果に比較し、優れた殺菌効果が認められた。

(d) 接種混合比の違いによる殺菌効果

MRSA 1371 と *P. aeruginosa* No. 52 との混合培養系において、MRSA 1371: *P. aeruginosa* No. 52 =  $10^7$  CFU/ml:  $10^5$  CFU/ml (1:0.01) の比で接種した場合の ABK と IPM との併用殺菌効果を Fig. 6 に示した。

ABK 1.56  $\mu\text{g/ml}$  作用時においては、単独で両菌株に対して優れた殺菌効果を示し、IPM との併用との効果の差は認められなかったが、ABK 0.78  $\mu\text{g/ml}$  作用時においては、IPM (0.78 または 0.39  $\mu\text{g/ml}$ ) との併用において併用殺菌効果が認められた。

3. 添加順序および添加間隔の検討

MRSA 1371 と *P. aeruginosa* No. 52 との混合培養系において、ABK 1.56  $\mu\text{g/ml}$  と IPM 0.78  $\mu\text{g/ml}$  との併用時および ABK 0.78  $\mu\text{g/ml}$  と IPM 0.78  $\mu\text{g/ml}$  併用時における殺菌効果を、その添加順序および添加間隔の違いにより検討した。その結果を、Fig. 7 および Fig. 8 に示した。

いずれの組み合わせにおいても、同時併用がもっとも優れた併用殺菌効果を示したが、ABK を先行添加した方が IPM 先行添加に比較し、優れた併用殺菌効果が認められた。

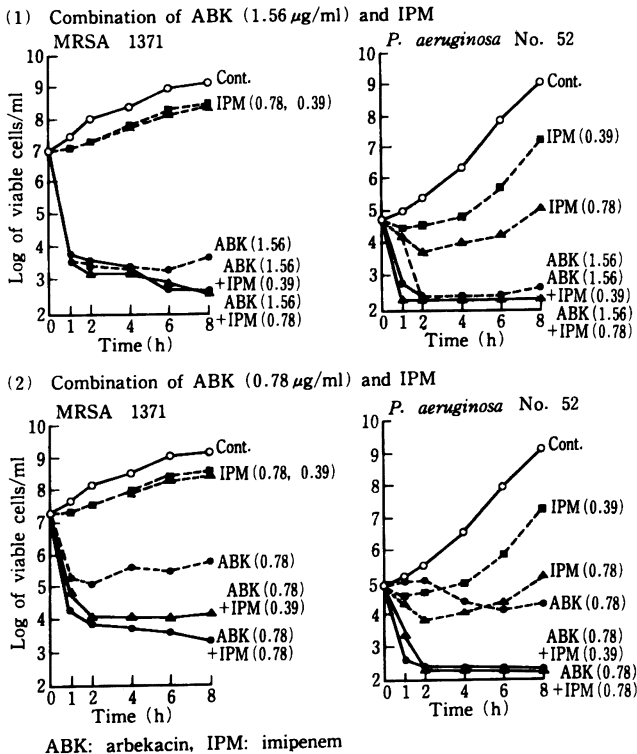


Fig. 6. Synergistic activity of combination of arbekacin and imipenem/cilastatin against mixed culture of MRSA 1371 and *Pseudomonas aeruginosa* No. 52. —Synergistic activity according to the difference in inoculum size (MRSA: *P. aeruginosa* = 1:0.01) —

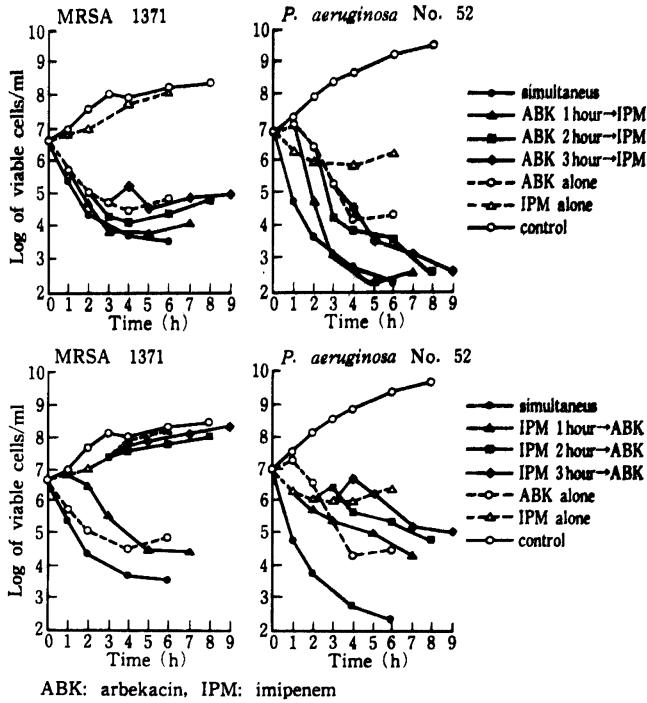


Fig. 7. Synergistic activity of combination of arbekacin and imipenem/cilastatin against mixed culture of MRSA 1371 and *Pseudomonas aeruginosa* No. 52.

—Synergistic activity according to the order and interval of ABK and IPM/CS treatment—  
(Concentrations of ABK and IPM/CS are  $1.56 \mu\text{g/ml}$  and  $0.78 \mu\text{g/ml}$ , respectively)

また、ABKを先行添加した場合での添加間隔の検討では、MRSA 1371に対し、IPMの添加時間が遅れるほど併用殺菌効果が減弱した。一方、*P. aeruginosa* No. 52に対しては、IPMの添加時間に関係なく優れた併用殺菌効果が認められた。

#### 4. 電子顕微鏡による形態学的検討

MRSA 1371と*P. aeruginosa* No. 52との混合培養系におけるABKとIPMとの併用効果を走査型および透過型電子顕微鏡により形態学的に検討した(Figs. 9~11)。

その結果、ABK  $0.78 \mu\text{g/ml}$ 単独作用時では、MRSA 1371の細胞壁の肥厚と*P. aeruginosa* No. 52の伸長化がみられるのみであったが、IPM  $0.78 \mu\text{g/ml}$ を同時併用すると、MRSA 1371の溶菌および隔壁形成の異常と*P. aeruginosa*の溶菌像が多く観察された。

5. 白血球減少マウスを用いた実験的感染症に対するABKとIPM/CSとの併用治療効果

#### (a) 単独感染に対する各薬剤の治療効果

MRSA 1371および*P. aeruginosa* No. 52に対するABKおよびIPM/CSそれぞれ単剤での治療効果をTable 2に示した。

いずれの薬剤も接種菌量の増加に伴い、治療効果が減弱し、特に、MRSA 1371に対するIPM/CSの治療効果は、接種菌量を約 $10^8 \text{CFU/mouse}$ 以上にするともまったく認められなかった。MRSA 1371に対してABKは、IPM/CSに比較して優れた治療効果を示した。また、*P. aeruginosa* No. 52に対しては、IPM/CSの方がABKに比較し優れた治療効果を示した。

(b) 混合感染系におけるABKとIPM/CSとの併用治療効果

MRSA 1371と*P. aeruginosa* No. 52との混合感染

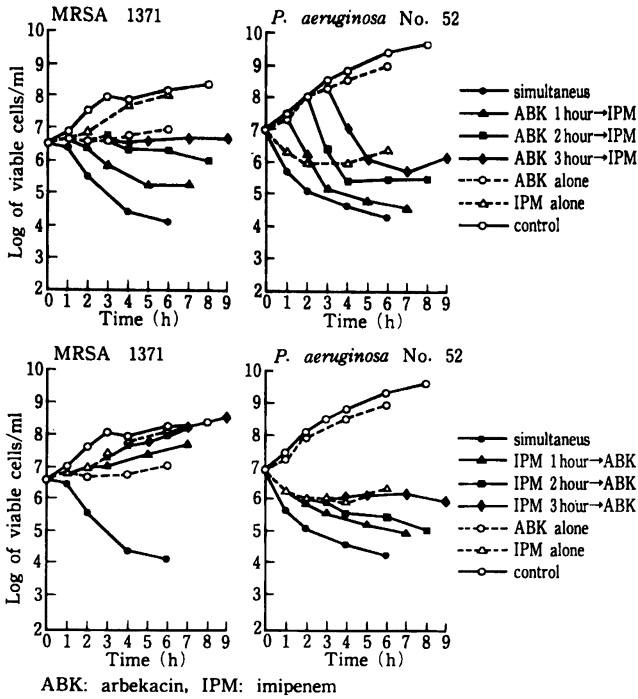


Fig. 8. Synergistic activity of combination of arbekacin and imipenem/cilastatin against mixed culture of MRSA 1371 and *Pseudomonas aeruginosa* No. 52. —Synergistic activity according to the order and interval of ABK and IPM/CS treatment— (Concentrations of ABK and IPM/CS are 0.78  $\mu\text{g/ml}$  and 0.78  $\mu\text{g/ml}$ , respectively)

Table 2. Protective effects of arbekacin and imipenem/cilastatin against systemic infection caused by MRSA or *Pseudomonas aeruginosa* alone in mice

(neutropenic mice)

Strain	Inoculum size (CFU/mouse)	ED <sub>50</sub> [95% confidence limits] (mg/kg)	
		ABK	IPM/CS
MRSA 1371	5.08 × 10 <sup>6</sup> (200MLD)	71.7 [46.8 - 117 ]	> 200
	3.20 × 10 <sup>5</sup> ( 13MLD)	8.35 [ 3.55 - 20.1 ]	> 100
	5.08 × 10 <sup>4</sup> (2.0MLD)	4.48 [ 2.05 - 9.64]	5.10 [2.50 - 10.2 ]
<i>P. aeruginosa</i> No. 52	6.10 × 10 <sup>3</sup> (100MLD)	80.3 [55.5 - 199 ]	5.33 [2.95 - 12.3 ]
	3.10 × 10 <sup>2</sup> (5.21MLD)	40.5 [19.2 - 90.5 ]	1.86 [1.05 - 2.55]

ABK: arbekacin, IPM/CS: imipenem/cilastatin

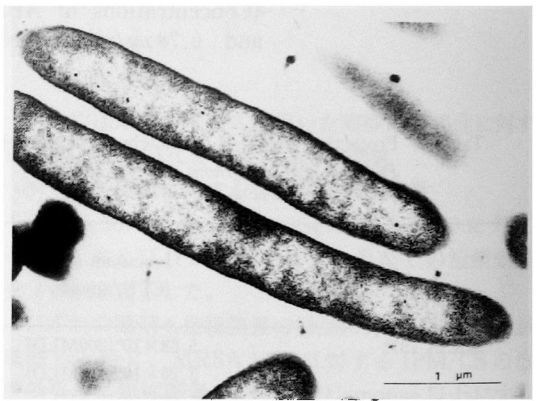
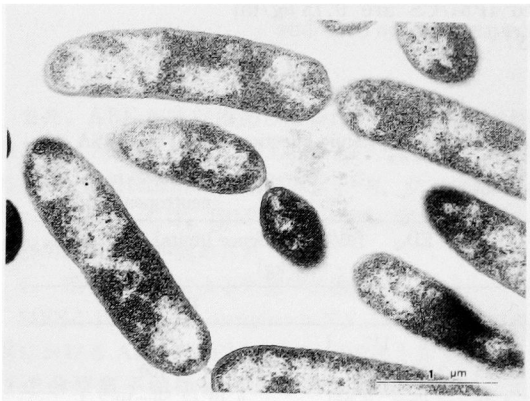
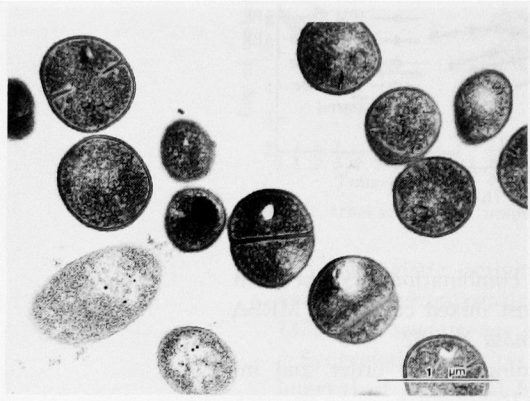
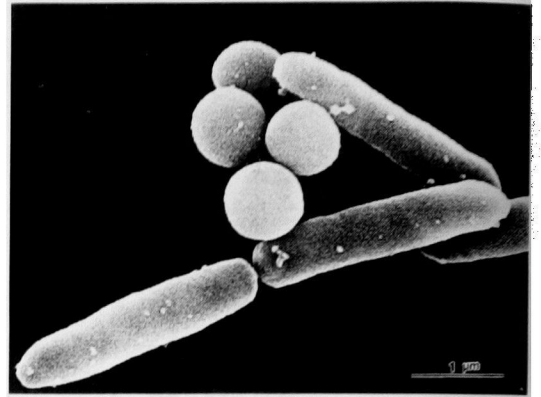
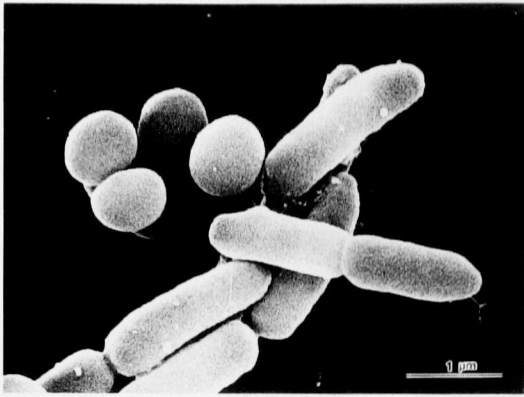


Fig. 9. Morphological observations by electron microscopy of untreated cells.

Fig. 10. Morphological observations by electron microscopy after treatment with arbekacin (0.78 μg/ml) alone.



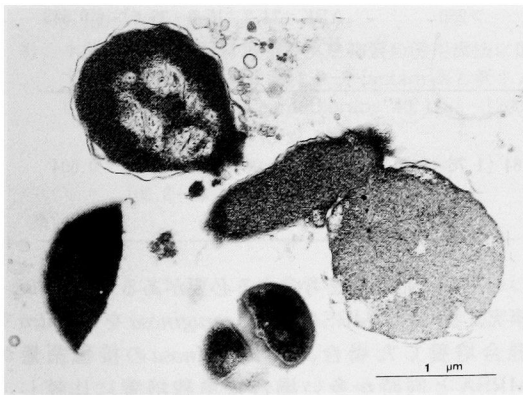
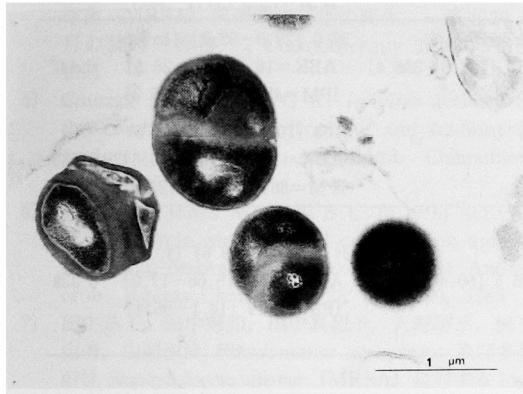
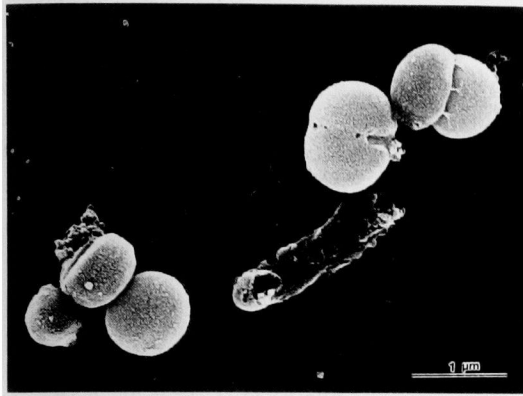


Fig. 11. Morphological observations by electron microscopy after treatment with a combination of arbekacin (0.78  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) and imipenem/cilastain (0.78  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ).

系および MRSA 1936 と *P. aeruginosa* E-2 との混合感染系における ABK と IPM/CS との併用治療効果を Table 3 に示した。

臨床投与比の違いによる併用効果を検討したところ、いずれの組み合わせの系においても投与比が ABK:IPM/CS=1:2.5 の場合がもっとも優れた FED index を示し、他の投与比と比較し、優れた併用治療効果が認められた。すなわち、MRSA 1371 と *P. aeruginosa* No. 52 との混合感染系では、ABK:IPM/CS=1:2.5 の投与比の場合、その FED index は、0.534 であり、MRSA 1936 と *P. aeruginosa* E-2 との系では、0.447 であり他の投与比と比較し優れた併用効果が認められた。

また、MRSA 1371 と *P. aeruginosa* No. 52 との混合感染系において、*P. aeruginosa* No. 52 の接種量を 10 倍減少させた場合、その FED index が 0.534 から 0.338 になり併用治療効果の増強が認められた。一方、MRSA 1371 の接種菌量の違いにおける併用治療効果については、一方の方向性は認められなかった。

### III. 考 察

現在、基礎疾患を有する患者特に compromised host に対する MASA や *P. aeruginosa* による感染症が臨床問題視されている。

さらに、MRSA や *P. aeruginosa* に対して各種薬剤の耐性化が進み<sup>3,4)</sup>これらの菌は、難治性感染症の原因菌として重要な位置を占めている。

これらの菌に対し、FOM と各種薬剤との併用<sup>5,6)</sup>をはじめとして種々の併用療法が臨床的あるいは基礎的に試みられ、その有用性が認められている<sup>7-9)</sup>。

また、これらの菌は、単独菌感染症のみならず、複数菌感染症としても多く認められ、特に MRSA 感染症における *P. aeruginosa* との複数菌感染症は、その頻度も多く井上<sup>10)</sup>、林らは MRSA 感染症における複数菌感染中 *P. aeruginosa* の感染が約 30% ともっとも多いと報告している。また、近年このような複数菌感染症を考えた基礎的な併用療法の報告がみられる<sup>11,12)</sup>。そこで、今回我々は、MRSA と *P. aeruginosa* の複数菌感染症を想定し、これに対し、MRSA 感染症の治療薬として現在使用されその有用性が認められている ABK<sup>13)</sup> と *P. aeruginosa* を始めとして広い抗菌スペクトラムを有し、臨床の場において幅広く使用されている IPM/CS<sup>14)</sup> との併用効果を殺菌作用を指標とした *in vitro* 試験および白血球減少マウスを用いた感染治療実験での *in vivo* 効果について検討した。その結果、*in vitro* および *in vivo* において両薬剤間に優れた併用殺菌効果が認められた。

Table 3. Protective effects of the combination of arbekacin and imipenem/cilastatin against mixed infection caused by MRSA and *Pseudomonas aeruginosa* in mice

(neutropenic mice)

Strain	Inoculum size (CFU/mouse)	ED <sub>50</sub> [95% confidence limits] (mg/kg)			FED index
		ABK	IPM/CS	ABK+IPM/CS (ABK: IPM/CS)	
MRSA 1371 +	4.21 × 10 <sup>8</sup> (17MLD)			129.3 [72.7-361] (1: 5) ABK=21.6 [12.1-60.2]	0.935
<i>P. aeruginosa</i> No. 52	9.38 × 10 <sup>8</sup> (156MLD)	93.1 [63.7-142]	150.4 [92.2-275]	IPM=105.7 [60.6-300.8]	
				70.9 [36.6-110] (1: 2.5) ABK=20.3 [10.5-31.4] IPM=50.6 [26.1-78.6]	0.534
				79.8 [18.8-182] (1: 10) ABK=7.25 [1.71-16.5] IPM=72.6 [17.1-167]	0.554
MRSA 1936 +	5.7 × 10 <sup>8</sup> (11MLD)	55.7 [31.8-103.6]	264.4 [184.6-386.4]	57.0 [29.9-92.7] (1: 2.5) ABK=16.3 [8.5-26.5] IPM=40.7 [21.4-66.2]	0.447
<i>P. aeruginosa</i> E-2	6.5 × 10 <sup>8</sup> (8.0MLD)			103 [70.5-152.8] (1: 5) ABK=17.2 [11.8-25.5] IPM=86.1 [58.7-127.3]	0.635
MRSA 1371 +	6.01 × 10 <sup>8</sup> (24MLD)			34.8 [19.8-59.6] (1: 2.5) ABK=9.94 [5.66-17.0] IPM=24.9 [14.1-96.4]	0.338
<i>P. aeruginosa</i> No. 52	7.75 × 10 <sup>8</sup> (13MLD)	70.7 [51.9-96.3]	126.3 [60.4-260]		
MRSA 1371 +	5.36 × 10 <sup>8</sup> (214MLD)			84.6 [52.5-135] (1: 2.5) ABK=24.2 [15.0-38.6] IPM=60.4 [37.5-96.4]	<0.648
<i>P. aeruginosa</i> No. 52	1.10 × 10 <sup>9</sup> (18MLD)	59.6 [36.6-91.8]	>250		
MRSA 1371 +	8.75 × 10 <sup>8</sup> (3.5MLD)			3.16 [2.07-4.62] (1: 2.5) ABK=0.90 [0.59-1.32] IPM=2.26 [1.48-3.30]	0.604
<i>P. aeruginosa</i> No. 52	9.00 × 10 <sup>8</sup> (15MLD)	54.6 [37.0-80.9]	3.84 [1.76-8.41]		

併用療法において、その投与順序および投与間隔の検討については、併用効果をより強く引き出すための重要な要因である<sup>15)</sup>。今回我々の実験において、MRSAと*P. aeruginosa*との複数菌感染に対しては、IPMを先行添加するよりABKを先行添加する方が強い併用殺菌効果が認められた。また、MRSA感染症に対するFOMとβ-ラクタム剤との併用においても、FOMを先行添加した方がより強い併用効果が認められたという報告もある<sup>16)</sup>。さらに、混合感染系を考えた場合、菌間での相互作用(各菌株の単独での増殖パターンと混合系での増殖パターンとの違い等)に

についても併用効果を考慮する必要があると思われる。事実、我々は、MRSAと*P. aeruginosa*を*in vitro*で混合培養した場合、*P. aeruginosa*の接種菌量がMRSAと同時に多い場合に単独培養に比較し、MRSAの増殖が抑制されるという所見を得ている。

併用療法の大きな効果の1つとして、他剤の抗菌力を補うことが上げられる。今回の報告においても、ABKのMRSAに対する殺菌効果は、MRSA単菌に対する作用に比較し、MRSAと*P. aeruginosa*の混合培養におけるMRSAに対して減弱する傾向にあった。つまり、MRSA 1371に対するABKの殺菌効果

は、単独培養の場合は  $0.39 \mu\text{g/ml}$  以上の濃度において認められるが、*P. aeruginosa* の混合培養系の場合には、 $1.56 \mu\text{g/ml}$  以上の濃度でないと認められない。しかし、IPM との併用において、優れた併用殺菌効果が認められ、この観点においても MRSA と *P. aeruginosa* の混合培養における ABK と IPM/CS との併用療法は、十分に意義のある方法であると考えられる。

#### 文 献

- 1) 菅野治重: MRSA に対する抗菌剤の併用効果。臨床と微生物 15: 168~173, 1988
- 2) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改正について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 3) 出口浩一, 他: 臨床分離株のニューキノロン耐性菌, 多剤耐性菌の経年的推移に関する検討。グラム陰性桿菌 その 3。Chemotherapy 38: 1033~1038, 1990
- 4) 青木泰子, 柏木平八郎: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) 抗菌薬感受性の変化。—最近 20 か月の経時的推移—。Chemotherapy 39: 570~576, 1991
- 5) Courcol R J, Martin G R: *in vitro* activity of the combination of ceftraxone and fosfomycin against *staphylococci*. J. Antimicrob Chemother. 19: 276~278, 1987
- 6) Alvare S, Jones M, Berk S L: *in vitro* activity of fosfomycin alone in and combination against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemother. 28: 689~690, 1985
- 7) 田中恭子, 田中輝和, 田中真紀子, 入野昭三, 根ヶ山清, 山岡源治: *Pseudomonas aeruginosa* 及び多剤耐性 *Staphylococcus aureus* (MRSA) に対する Imipenem と Amikacin の併用効果。化学療法の領域 5: 100~106, 1989
- 8) 水間良裕: 緑膿菌に対する抗生物質の併用療法に関する基礎的研究 (第 3 報)。— $\beta$ -lactam 薬と新キノロン薬について—。Chemotherapy 40: 1188~1200, 1992
- 9) 福地邦彦, 武田憲三, 高木 康, 五味邦英: MRSA と *Pseudomonas aeruginosa* に対する imipenem と arbekacin の併用効果。Chemotherapy 40: 780~787, 1992
- 10) 四方田幸恵, 高橋綾子, 倉林良幸, 福村幸仁, 小林功, 井上松久: 群馬大学附属病院におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の分離状況。—第 2 報 MRSA 分離検体中の同時分離菌種に関する検討—。Chemotherapy 40: 879~884, 1992
- 11) 長岐為一郎: MRSA と緑膿菌の混合感染モデルにおける Vancomycin と Ceftazidime の併用治療効果。第 40 回日本化学療法学会西日本支部総会講演抄録 p.73, 1992
- 12) 飯沢祐史: メチシリン耐性 *S. aureus* (MRSA) と *P. aeruginosa* の実験的混合感染に対する vancomycin と cefsulodin の併用効果。第 27 回緑膿菌感染症研究会抄録 p.40, 1993
- 13) 山下直子, 生方公子, 野々口律子, 後藤 朗, 松下真理, 紺野昌俊: アミノ配糖体薬に耐性のブドウ球菌に対する ABK の抗菌作用。Chemotherapy 34 (S-1): 33~40, 1986
- 14) Mitsuhashi S: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of imipenem against alinical isolates of bacteria. J. Antimicrob. Chemother. 12 (Supplement D): 53~64, 1983
- 15) 石川信男, 谷 佳郎, 山口東太郎, 東 芳典, 谷村弘, 大河内則仁, 青木洋三: 実験的腹腔内混合感染マウスにおける抗菌剤の投与時期および投与経路の治療効果におよぼす影響。Chemotherapy 40: 1032~1038, 1992
- 16) 長谷川裕美: MASA 感染症に対する fosfomycin と flomoxef の併用投与法の検討。—*in vitro* 実験における投与順序および投与量について—。Chemotherapy 39: 771~778, 1991

Synergistic activity of combination of arbekacin and imipenem/cilastatin against mixed culture and mixed infection of MRSA and *Pseudomonas aeruginosa*

Toshihiko Takata, Yumiko Takase, Yoshihiro Takayama,  
Yoshinori Orikasa and Takashi Yoshida

Meiji Seika Kaisha, Ltd. Pharmaceutical Research Center,  
760 Morooka-cho, Kohoku-ku, Yokohama 222, Japan

The synergistic activities of a combination of arbekacin (ABK) and imipenem/cilastatin (IPM/CS) against mixed cultures of MRSA and *Pseudomonas aeruginosa* were examined. The bactericidal effect of ABK against MRSA in the mixed culture was decreased as compared with that in the culture of MRSA alone. A good synergistic effect was observed with the combination of ABK and IPM in the mixed culture. On the other hand, the bactericidal effect of ABK against *P. aeruginosa* in the mixed culture was similar to that in the culture of *P. aeruginosa* alone, and a good synergistic effect was observed with combinations of ABK and IPM in the mixed culture. The bactericidal effect of ABK against MRSA was increased when the inoculum size of *P. aeruginosa* was decreased in the mixed culture. Synergistic activity was the greatest under simultaneous treatment with ABK and IPM. Greater synergistic activities were obtained by treatment with ABK precedence as compared with the treatment with IPM precedence. In morphological observations with an electron microscope, the thickening of the cell wall of MRSA and filamentous formation in *P. aeruginosa* were observed after treatment with ABK alone. On the other hand, with the combination of ABK and IPM, the lysis of cells of MRSA and *P. aeruginosa* as well as abnormal septum formation in MRSA were observed. Finally, with respect to the protective effects on mixed infection of MRSA and *P. aeruginosa*, the combination of ABK and IPM/CS was more potent than ABK or IPM/CS alone.