

【原著・基礎】

緑膿菌およびメチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症に 対する抗菌薬併用療法に関する基礎的研究

中田 勝久・荒川 創一・守殿 貞夫

神戸大学医学部泌尿器科学教室*

(主任: 守殿貞夫教授)

(平成8年12月27日受付・平成9年1月20日受理)

緑膿菌および Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) に対する sparfloxacin (SPFX) と fosfomycin (FOM) との併用効果を *in vitro* および *in vivo* 実験系を用いて検討した。*In vitro* 併用効果は checkerboard 法および time-killing 曲線により, *in vivo* 感染防御効果は実験の白血球減少マウスを用いた上行性腎盂腎炎および全身感染モデルで検討した。緑膿菌 22 株および MRSA 32 株に対する SPFX と FOM の FIC index は 0.127~1.0 で相乗または相加効果を示した。Time-killing 曲線の結果から, SPFX と FOM の併用は緑膿菌 4 株および MRSA 3 株に対して著明な殺菌作用を示し, 両剤の *in vitro* 相乗効果が確認された。白血球減少マウスにおける *in vivo* 感染防御実験では両薬剤の経口投与で以下の成績を得た。キノロン耐性 *Pseudomonas aeruginosa* KP-62 および MRSA K-1 株の実験的腎盂腎炎においては, 単独投与ではほとんど効果の認められない SPFX 12.5 mg/kg と FOM 3.13 mg/kg との併用で両菌株共に 70% の菌消失率を示し, 有効性が認められた。両菌株による全身感染実験では, 上述の投与量の併用でやはり単独投与では効果の乏しかったのに対し, 両者同時投与では *P. aeruginosa* P-62 モデルは 70%, MRSA K-1 モデルは 60% のマウスが生存し, 併用は有効であった。SPFX の *P. aeruginosa* KP-62 および MRSA K-1 の菌体内への取り込み実験では SPFX と FOM の同時添加および FOM 2 時間前処理後に SPFX を添加した場合, SPFX 単独処理に比べ, 高濃度の SPFX が菌体内へ取り込まれていた。以上, SPFX と FOM の *in vitro* および *in vivo* 併用に関する基礎的研究において優れた有効性が示されたことにより, ヒトでのキノロン耐性株を含む緑膿菌および MRSA 感染症に対し, 本併用療法を応用できることが示唆された。

Key words: Combination therapy of antimicrobial agents, *P. aeruginosa*, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), Experimental infection in mice

近年, 広い抗菌スペクトルと強い抗菌力をもつ多くの β -ラクタム薬やニューキノロン薬が開発され, 日常臨床に使用できるようになってきた。それらの単独投与で多くの感染症が治癒に至るが, 耐性獲得などにより抗菌薬単独投与では十分な効果が発揮できない場合もみられる。特に, 全身的な易感染状況 (坦癌状態, 抗癌化学療法中, 外科手術後, 糖尿病患者など) あるいは臓器局所の基礎疾患を背景に起こってくる日和見感染症は, 感染抵抗性の減弱した宿主条件の故に, 通常の抗菌化学療法では十分な治療効果が得られないいわゆる難治感染症となり, 対応に苦慮することが少なくない。その代表的なものに緑膿菌および MRSA による感染症がある¹⁻⁶⁾。緑膿菌は外膜透過性の問題などから, 本来優れた抗菌力を有するものがきわめて少ないことに合わせて, 無計画な化学療法剤の使用が耐性菌を助長したこともあまって, 難治性本菌感染症が多くみられるようになった。MRSA については黄色ブドウ球菌に比較的抗菌力の弱い第 3 世代のセ

フェム系抗生物質が臨床の場で多く用いられてきたことがその増加の一因であると考えられている。これら緑膿菌および MRSA 感染症の場合, 単独で有効な薬剤が限られているので, 十分な治療効果を得るためには抗菌薬の併用などが 1 つの方策と考えられる。すでに, 緑膿菌に対する β -ラクタム薬とアミノ配糖体薬, ならびに MRSA に対する β -ラクタム薬同士, β -ラクタム薬とキノロン薬, fosfomycin (FOM) あるいは minocycline (MINO) などとの併用に関する多くの報告がみられる⁷⁻¹⁰⁾。しかし, キノロン薬と FOM との併用効果についての報告は少ない¹⁰⁾。

今回, 緑膿菌および MRSA 感染症に対する新しい治療法の 1 つとして作用機序の異なるフルオロキノロン薬 (DNA gyrase 阻害剤) と FOM (ペプチドグライカン合成阻害剤¹¹⁾) との併用効果を *in vitro* および *in vivo* 感染モデルを用いて検討した結果新たな知見を得たので報告する。

I. 材料および方法

1. 被検抗菌薬

Ofloxacin (OFLX), levofloxacin (LVFX), enoxacin (ENX), fleroxacin (FLRX), sparfloxacin (SPFX), ^{14}C -sparfloxacin (specific activity: $7.5 \mu\text{Ci}/\text{mg}$, ^{14}C -SPFX), temafloxacin (TMFX), OPC-17116, imipenem (IPM), MINO, ceftazidime (CAZ), FOM, arbekacin (ABK), gentamicin (GM) および vancomycin (VCM) を用いた。

2. 使用菌株

緑膿菌は神戸大学医学部附属病院および協力病院の尿路感染症患者より 1991 年に分離された株 34 株および教室保存株を用いた。MRSA は同附属病院の各科領域より 1991 年に分離された株 97 株と京都薬科大学微生物学教室、東京大学医学部分院中央検査室およびエビゾム研究所より分与された株を用いた。

3. 薬剤感受性測定

抗菌薬の感受性測定は日本化学療法学会標準法に準じて行った²⁰⁾。

4. 緑膿菌および MRSA に対するフルオロキノロン剤と FOM の *in vitro* 併用効果

上記検討で緑膿菌および MRSA 両菌に対し、被検フルオロキノロン 5 種のなかで、もっとも優れた MIC 分布を示した SPFX を選択し、緑膿菌 22 株および MRSA 32 株に対する SPFX と FOM との併用効果を、checkerboard 法により検討した¹³⁾。SPFX と FOM の 2 倍希釈系列をたがいに組み合わせ、各 plate に入れ、その上に Mueller Hinton 寒天培地を加え、混合後、 10^6 CFU/ml に調整した菌液を、各々の plate 上に one spot ($10 \mu\text{l}$) 接種し、 37°C で 18 時間培養後、各薬剤の単独および併用時の MIC から最小の Fractional Inhibitory Concentration (FIC) を次式より算出し、 ≤ 0.5 を相乗効果、 $>0.5 \sim \leq 1.0$ を相加効果、 $> 1.0 \sim \leq 2.0$ を不問、 >2.0 を拮抗とした。

$$\text{FIC index} = \frac{\text{併用時の薬剤 A の MIC}}{\text{単独時の薬剤 A の MIC}} + \frac{\text{併用時の薬剤 B の MIC}}{\text{単独時の薬剤 B の MIC}}$$

5. *In vitro* 殺菌作用

緑膿菌 4 株および MRSA 3 株のそれぞれを別々に Mueller Hinton broth に一白金耳植え、 37°C で一夜培養後、さらに同じ培地に植え変え、 $10^4 \sim 10^5$ CFU/ml まで増殖させた。その時点で SPFX および FOM の単独あるいは両剤を添加、 37°C で振盪培養し、3, 6 および 24 時間目に生菌数を測定して増殖曲線を求め殺菌作用を調べた。

6. 実験的白血球減少マウスの作製

臨床での日和見感染をマウス感染実験で再現できる

モデルとして、白血球減少マウスを作製した。実験動物は ICR 系雌マウス (5~6 週齢, 体重 23~25 g) を使用した。白血球減少マウスは cyclophosphamide を滅菌蒸留水に溶解し、マウス腹腔内に $300 \text{ mg}/\text{kg}$ 1 回投与により作製した。投与 4 日目には末梢血の白血球数は最低値、すなわち $500 \text{ cells}/\text{mm}^3$ 前後となり正常値の 1/10 以下に減少した。白血球数はその後急速に回復し、8 日目にはほぼ正常レベルまで回復した。

7. 薬剤の感染防御効果

1) 腎盂腎炎モデルでの防御効果

マウス実験的腎盂腎炎に用いた菌株は *P. aeruginosa* No. 12 (キノロン感受性株), *P. aeruginosa* KP-62 (キノロン耐性株), MRSA GP-32 (キノロン感受性株) および MRSA K-1 (キノロン耐性株) である。これらが 100% のマウス腎に上行性腎盂腎炎を惹起する菌量を予備実験で見だし、その菌量を白血球減少マウスの膀胱内に接種した。すなわち菌接種は白血球数が最低値となる cyclophosphamide 投与 4 日目に、それぞれ *P. aeruginosa* No. 12 では 1×10^2 CFU (100 ID_{50}), *P. aeruginosa* KP-62 では 1×10^2 CFU (100 ID_{50}), MRSA GP-32 では 1×10^3 CFU (100 ID_{50}) および MRSA K-1 では 1×10^3 CFU (100 ID_{50}) 経尿道的にマウス膀胱内に接種 (1 群 5~10 匹), 尿道口を 5 時間クランプし、感染を惹起させた。菌接種後 3, 8, 24, 30, 48 および 54 時間目に SPFX と FOM をそれぞれ単独および同時に併用投与した。投与法はキノロン薬および FOM は経口投与、その他の薬剤は皮下注射した。感染 5 日目に両側腎を摘出し、その断面を緑膿菌では NAC (栄研) 寒天培地に、MRSA では *Staphylococcus* medium 110 (Difco) 寒天培地にスタンプし、一夜培養後、菌の発育の有無を観察した。ED₅₀ 値は 50% のマウス腎で菌消失が得られる薬剤投与量とし、各投与群別に Probit 法²¹⁾ により、その 95% の信頼限界を Litchfield と Wilcoxon 法²²⁾ で求め感染防御効果を判定した。

2) 全身感染モデルでの防御効果

実験的全身感染症は *P. aeruginosa* KP-62 および MRSA K-1 が 100% のマウスを死亡せしめる菌量として、それぞれ 3×10^5 CFU および 3×10^8 CFU (10 LD_{50}) をマウス尾静脈内に接種 (1 群 5~10 匹) し、菌接種後 0, 6, 24 および 30 時間目に SPFX および FOM をそれぞれ単独または同時併用投与し、感染 7 日目にマウスの生死を観察し、生存マウス数から薬効を判定した。

併用効果は、腎盂腎炎モデルでは併用群の腎からの菌消失率が、全身感染モデルでは併用群の生存率が、各々の単独群のそれらの和より大きい場合を相乗効果、同等の場合は相加効果、下回った場合を拮抗と判定した²³⁾。

8. 病理組織学的所見

上記の尿路感染防御実験すなわち, *P. aeruginosa* KP-62 株および MRSA K-1 株による実験的腎盂腎炎マウスに SPFX および FOM 単独または両剤の併用投与を感染3時間目より1日2回3日間行い, 感染5日目に腎を摘出し, 常法に従ってパラフィン切片を作成し, H. E. 染色後光学顕微鏡で観察した。

9. *P. aeruginosa* KP-62 および MRSA K-1 の菌体内への ^{14}C -SPFX の取り込み

キノロン耐性の *P. aeruginosa* および MRSA に対する SPFX と FOM との併用効果の機序を明らかにするため, *P. aeruginosa* KP-62 および MRSA K-1 を用いて ^{14}C -SPFX (specific activity: $7.5 \mu\text{Ci}/\text{mg}$) の菌体内への取り込みを調べた。*P. aeruginosa* KP-62 および MRSA K-1 株を 37°C で一夜培養後, その菌液の 2 ml をそれぞれ 30 ml の Mueller Hinton Broth に接種, 37°C で 4 時間培養した。その菌液を 1 ml ずつ eppendorf tube に分注し, ^{14}C -SPFX の $1,000 \mu\text{g}/\text{ml}$ の溶液を $10 \mu\text{l}$ 単独添加し, 濃度 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ とした。他方, ^{14}C -SPFX と FOM いずれも $1,000 \mu\text{g}/\text{ml}$ の溶液をそれ

ぞれ $10 \mu\text{l}$ 同時添加する群と同様の添加量の FOM で 2 時間処理後に SPFX を添加する群を設けた。これらをそれぞれ 37°C の Water bath で培養し, 5, 10, 20 および 30 分後にそれぞれ培養菌液を採取し, $12,000 \text{rpm}$, 5 分間遠沈後, 上清を吸引除去, 菌沈渣に 2% の SDS を 0.5ml 加えた。サーモミキサーで良く攪拌し, 菌体を溶解後, 放射活性 (RI 値) を測定し, 菌体内に取り込まれた ^{14}C -SPFX 量を定量した。

II. 結 果

1. 薬剤感受性試験

緑膿菌 34 株に対し, いずれのキノロン薬も MIC $12.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の耐性株が 40~50% 認められた (Fig. 1)。CAZ および GM ではそれぞれ 10% および 20% の耐性株を認めたが, IPM では耐性株を認めなかった。各科領域の臨床材料より分離された MRSA 97 株に対する各抗菌薬の MIC 累積百分率 (Fig. 2) において VCM および ABK では $12.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の耐性株を認めなかった。SPFX では $12.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の耐性株は 1% に, その他のキノロン薬および IPM では 10~30% に認めた。

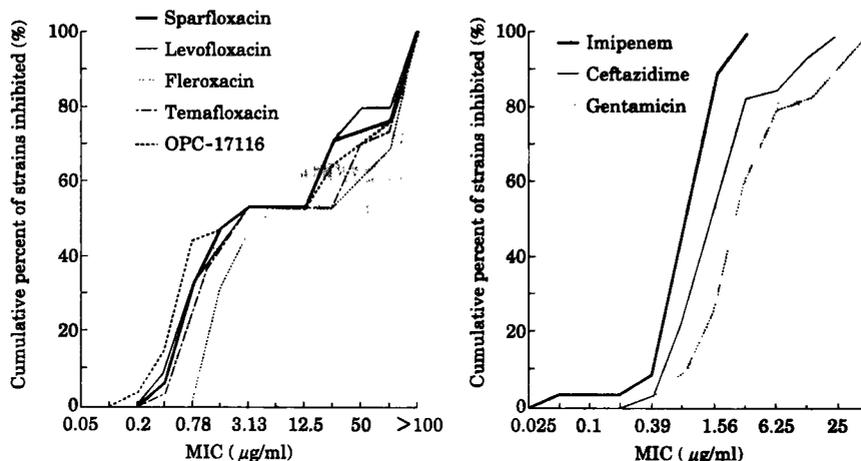


Fig. 1. Sensitivity distribution of clinical isolates of 34 strains of *Pseudomonas aeruginosa*.

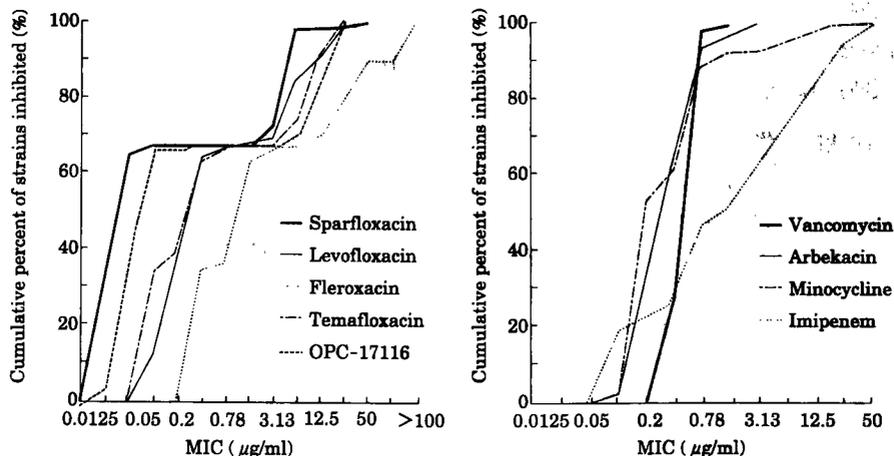


Fig. 2. Sensitivity distribution of clinical isolates of 97 strains of MRSA.

Table 1. Combined effect of sparfloxacin with fosfomycin on *Pseudomonas aeruginosa*

Organism	No. of strains used	No. of strains (%)		FIC index
		≤0.5	>0.5~≤1	
<i>P. aeruginosa</i>	22	13 (59)	9 (41)	

Strain no.	MIC (μg/ml)			
	SPFX alone (A)	FOM alone (B)	SPFX/FOM combination (A/B)	FIC index
PAO 505 (sensitive)	1.56	50	0.2 / 6.25	0.253
PAO 515 (gyr A)	12.5	50	3.13/12.5	0.500
PAO 505 Q 1 (gyr A)	12.5	50	3.13/ 6.25	0.375
PAO 505 Q 2 (nal B)	6.25	50	1.56/ 3.13	0.313
PAO 505 Q 3 (nfx B)	12.5	50	3.13/ 6.25	0.375
PAO 6002 (nal B)	6.25	50	1.56/ 6.25	0.375
T-653	0.78	25	0.39/ 6.25	0.625
T-656	0.78	100	0.0125/50	0.516
T-661	0.78	3.13	0.025/ 0.78	0.282
T-668	0.78	100	0.0125/50	0.516
T-670	1.56	50	0.0125/25	0.500
T-671	3.13	50	0.2/25	0.560
T-674	0.78	50	0.2/12.5	0.506
T-675	1.56	50	0.2/12.5	0.378
T-676	0.78	50	0.0125/12.5	0.266
T-678	0.78	100	0.1/12.5	0.253
T-680	1.56	100	0.2/25	0.378
T-683	0.78	25	0.39/ 0.78	0.531
T-684	0.39	50	0.1/12.5	0.506
T-686	3.13	50	0.0125/25	0.504
T-698	0.78	100	0.2/25	0.506
KP-62	6.25	25	0.39/ 6.25	0.312

SPFX: sparfloxacin, FOM: fosfomycin

2. SPFX と FOM の *in vitro* 併用効果

緑膿菌 22 株中両剤の併用で相乗効果 (FIC index: ≤ 0.5) を 13 株 (59%), 相加効果 (FIC index: >0.5 ~ ≤1.0) を 9 株 (41%) に認めた (Table 1)。すなわち全株で、両剤の併用効果が認められた。*P. aeruginosa* PAO 515, *P. aeruginosa* PAO 505 Q 1 の gyr A 変異株および *P. aeruginosa* PAO 505 Q 2, *P. aeruginosa* PAO Q 3 ならびに *P. aeruginosa* PAO 6002 の透過性変異株に対する両剤併用による FIC index は 0.313~0.5 の範囲に分布し、キノロン耐性株に対しても良好な併用効果を示した。一方、臨床分離の MRSA 32 株に対する SPFX と FOM の FIC index は 0.127~1.0 に分布し、相乗効果を 14 株 (44%), 相加効果を 18 株 (56%) に認め (Table 2), 緑膿菌でのそれと同様に、全株で両剤の併用効果が認められた。

3. *In vitro* 殺菌作用

P. aeruginosa PAO 505 (感受性株), PAO 505 Q 1 (gyr A), PAO 505 Q 2 (nal B) および KP-62 (キノ

Table 2. Combined effect of sparfloxacin with fosfomycin on MRSA

Organism	No. of strains used	No. of strains (%)		FIC index
		≤0.5	>0.5~≤1	
<i>S. aureus</i> (MRSA)	32	14 (44)	18 (56)	

Strain no.	MIC (μg/ml)			
	SPFX alone (A)	FOM alone (B)	SPFX/FOM combination (A/B)	FIC index
K-1	12.5	6.25	0.025 / 3.13	0.502
K-2	12.5	25	1.56 / 3.13	0.250
K-6	6.25	100	0.0125/ 50	0.502
K-10	6.25	12.5	1.56 / 3.13	0.500
K-13	25	50	6.25 / 12.5	0.500
K-15	6.25	25	1.56 / 6.25	0.500
K-17	6.25	6.25	0.025 / 3.13	0.504
K-19	12.5	100	6.25 / 12.5	0.625
K-20	12.5	12.5	1.56 / 6.25	0.625
K-23	6.25	100	3.13 / 25	0.725
K-25	0.05	100	0.0125/ 50	0.750
K-28	1.56	100	0.39 / 12.5	0.375
K-29	12.5	25	0.39 / 12.5	0.531
KO-13	3.13	200	0.39 / 50	0.375
KO-15	6.25	25	0.0125/ 12.5	0.502
KO-40	6.25	6.25	1.56 / 1.56	0.500
KO-43	6.25	200	0.39 / 50	0.312
KO-48	6.25	50	1.56 / 12.5	0.500
KO-52	6.25	100	0.2 / 50	0.532
KO-54	6.25	200	1.56 /100	0.750
KO-72	0.05	100	0.025 / 12.5	0.625
KO-80	6.25	100	0.0125/ 12.5	0.127
KO-90	6.25	6.25	0.39 / 1.56	0.313
N-2	0.1	800	0.05 / 50	0.563
N-5	0.1	50	0.025 / 3.13	0.313
N-7	6.25	100	0.2 / 50	0.532
N-8	6.25	50	3.13 / 6.25	0.625
N-9	6.25	25	1.56 / 12.5	0.750
N-10	12.5	50	0.0125/ 25	0.501
N-14	0.1	800	0.025 /200	0.275
GP-6	0.025	25	0.0125/ 12.5	1.000
GP-7	0.05	25	0.0125/ 3.13	0.375

SPFX: sparfloxacin, FOM: fosfomycin

ロン耐性株) に対し、SPFX および FOM の 1/2 MIC 濃度をそれぞれ単独または同時併用後、3, 6 および 24 時間後に生菌数を測定した (Fig. 3)。*P. aeruginosa* PAO 505 株に対して SPFX (1/2 MIC) 単独では 3 時間で 1 オーダー生菌数が減少し、その後 24 時間まではほぼ同レベルの生菌数であった。FOM (1/2 MIC) 単独では 6 時間目までは生菌数はやや減少したが、その後菌数が増加し、24 時間では Control と差はなかった。両剤の併用では 6 時間目で生菌は検出されなくなり著明な殺菌作用を認めた。

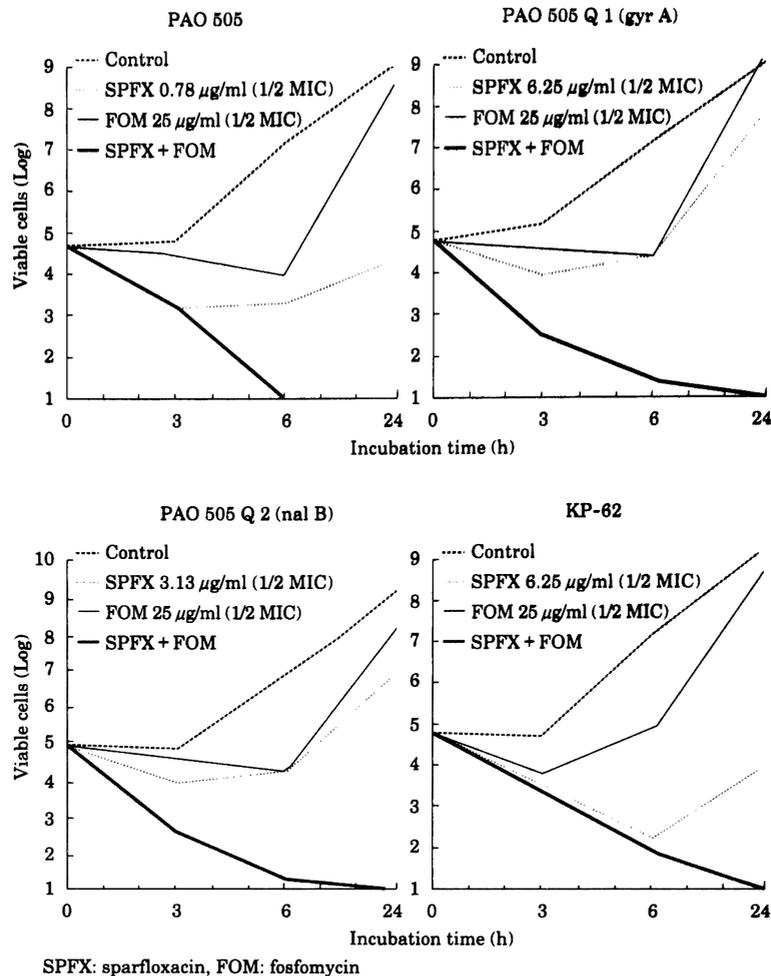


Fig. 3. Time-killing curves for sparfloxacin and fosfomicin alone and in combination against *Pseudomonas aeruginosa*.

P. aeruginosa PAO 505 Q 1 (gyr A) では SPFX (1/2 MIC) および FOM (1/2 MIC) 単独では 6 時間目までは菌の増殖を抑制したが、その後、時間経過と共に増殖し、24 時間では生菌数は Control とほぼ同レベルに達した。併用群では Control に比し、3 時間で 2 オーダー、6 時間でさらに減少し、24 時間では検出されなくなり著明な殺菌作用を認めた。

P. aeruginosa 505 Q 2 (nal B) は *P. aeruginosa* PAO Q 1 と同様に SPFX と FOM の 1/2 MIC 濃度の併用で殺菌作用の増強が認められた。

P. aeruginosa KP-62 (*in vivo* 感染防御試験用キノロン耐性株) に対して SPFX (1/2 MIC) 単独では 6 時間で Control に比べて 2 オーダー生菌数が減少したが、24 時間では薬剤添加時のレベルまで菌が増殖し、再増殖が認められた。FOM (1/2 MIC) 単独では 3 時間で生菌が 1 オーダー低下したが、その後、増殖し、24 時間では Control と同レベルに達した。両剤の 1/2 MIC 濃度の併用では時間経過と共に生菌数の減少が認められ、24 時間では生菌数は検出されなくなり、著明な殺菌作用が認められた。

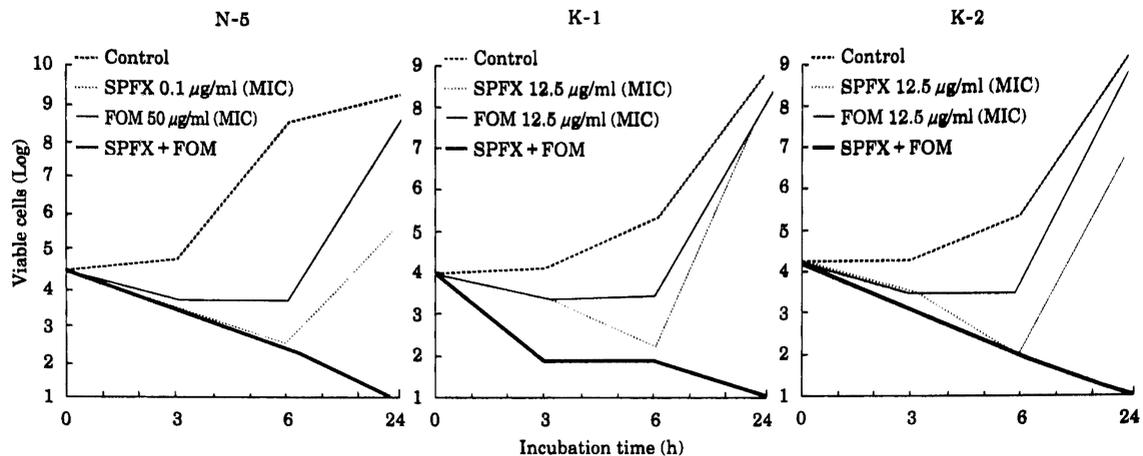
MRSA N-5 (キノロン感受性株), K-1 (*in vivo* 感染防御試験用キノロン耐性株) および K-2 (キノロン耐性株) に対する検討 (Fig. 4) では、SPFX および FOM の 1 MIC 濃度単独ではいずれの菌株でも 6 時間まで生菌が減少したが、その後は再増殖した。両剤の 1 MIC 濃度の併用では全株において 24 時間後、生菌数は検出されなくなり、著明な殺菌作用が認められた。

4. *In vivo* 感染防御効果

Table 3. Effect of sparfloxacin and reference drugs against the ascending pyelonephritis caused by *Pseudomonas aeruginosa* No. 12 in leukopenic mice

Drug	ED ₅₀ (95% confidence limit) (mg/kg/dose)	MIC (μ g/ml)
Sparfloxacin ^a	2.2 (1.1- 4.4)	0.39
Ciprofloxacin ^a	1.8 (1.1- 3.0)	0.1
Ofloxacin ^a	6.5	0.78
Enoxacin ^a	4.5 (2.8- 7.1)	0.78
Fosfomicin ^a	10.4 (5.7-17.7)	25
Gentamicin ^b	3.4	0.78
Imipenem ^b	2.9 (1.5- 5.3)	0.78

^a Orally, ^b Subcutaneously



SPFX: sparfloxacin, FOM: fosfomycin

Fig. 4. Time-killing curves for sparfloxacin and fosfomycin alone and in combination against MRSA.

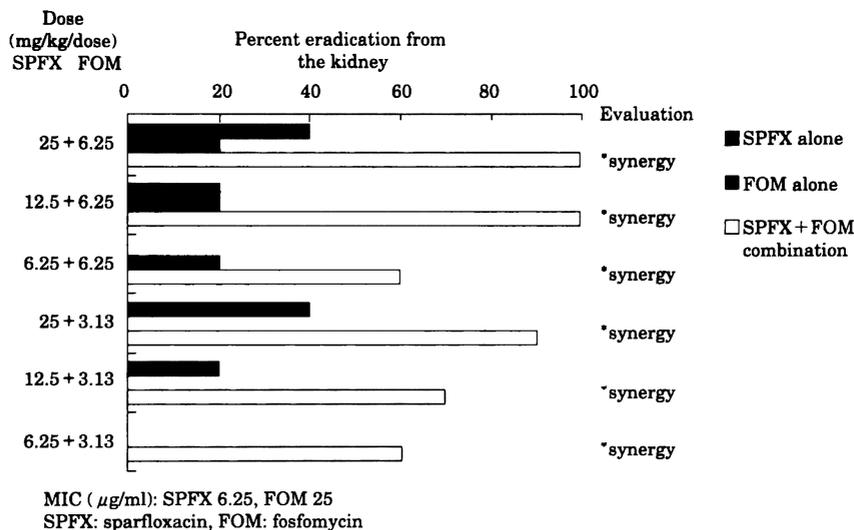


Fig. 5. Combined effect of sparfloxacin and fosfomycin against ascending pyelonephritis with *Pseudomonas aeruginosa* KP-62 (quinolone resistant strain) in leukopenic mice. Asterisk shows that the combined rate of eradication in kidneys is significantly different from the sum of the eradication rate in kidneys of each single agent with a P value of 0.05 by the Fisher exact method.

1) マウス尿路感染モデル

(1) *P. aeruginosa* No. 12 株に対するキノロン薬の ED₅₀ 値 (Table 3)

P. aeruginosa No. 12 (感受性株) によるマウス実験的腎盂腎炎に対する SPFX, CPFX, OFLX, ENX, FOM, GM および IPM の ED₅₀ はそれぞれ 2.2, 1.8, 6.5, 4.5, 10.4, 3.4 および 2.9 mg/kg であり, いずれの薬剤も低用量で有効性が認められ, 特に CPFX, SPFX および IPM が優れた感染防御効果を示した。

(2) *P. aeruginosa* KP-62 株に対する SPFX と FOM との併用効果

① 菌回収からみた成績 (Fig. 5)

P. aeruginosa KP-62 (キノロン耐性株) によるマウス実験的腎盂腎炎における SPFX 25, 12.5 および 6.25

mg/kg 単独投与でのマウス腎からの菌の消失率はそれぞれ 40, 20 および 0% であった。FOM 6.25 および 3.13 mg/kg 単独投与での菌消失率はそれぞれ 20 および 0% であった。SPFX, FOM の単独投与では十分な効果が得られなかった。一方, SPFX 25, 12.5 および 6.25 mg/kg と FOM の 6.25 mg/kg との併用でそれぞれ 100, 100 および 60% の菌消失率が得られた。SPFX 25, 12.5 および 6.25 mg/kg と FOM の 3.13 mg/kg との併用でそれぞれ 90, 70 および 60% の菌消失率が得られ, SPFX と FOM のいずれの組み合わせにおいても相乗効果が得られた。

② 腎の病理組織学的所見 (Fig. 6)

感染対照群の腎では腎盂, 髓質, 皮質にかけて膿瘍形成を伴う壊死が認められ, 典型的な腎盂腎炎像を示

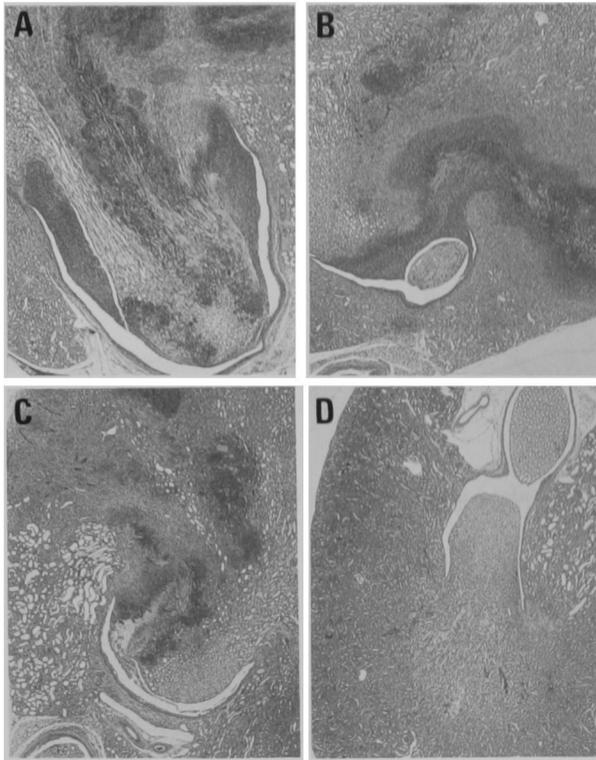


Fig. 6. Histopathological changes in kidney tissues from mice infected with *Pseudomonas aeruginosa* KP-62. Kidney sections were stained with hematoxylin and eosin. (A) A kidney section from infected-untreated mice on day 5 after infection. (B) A kidney section from infected sparfloracin (SPFX) (25 mg/kg)-treated mice on day 5 after infection. (C) A kidney section from infected fosfomycin (FOM) (3.13 mg/kg)-treated mice on day 5 after infection. (D) A section kidney from infected SPFX (25 mg/kg) + FOM (3.13mg/kg)-treated mice on day 5 after infection. magnification, $\times 28$.

している。SPFX (25 mg/kg) および FOM (3.13 mg/kg) の単独投与群の腎においては腎盂から皮質にかけて多数の膿瘍形成が見られ感染防御効果は得られなかった。両剤併用群の腎には著明な病変はなく、併用効果が認められた。

(3) MRSA GP-32 (感受性株) に対する抗菌薬の ED₅₀ 値 (Table 4)

SPFX, FOM, ABK および VCM の ED₅₀ はそれぞれ 2.5, 13.6, 4.4 および 8.8 mg/kg でいずれの薬剤も有効性を示したが、特に SPFX および ABK が低用量で感染防御効果が認められた。

(4) MRSA K-1 株に対する SPFX と FOM との併用効果

① 菌回収からみた成績 (Fig. 7)

MRSA K-1 (キノロン耐性株) に対する SPFX 25, 12.5 および 6.25 mg/kg 単独投与での菌消失率はそれぞれ 20, 0 および 0% であった。FOM 6.25 および 3.13 mg/kg 単独投与での菌消失率はそれぞれ 40 および 20% で、いずれも単独投与では十分な効果が得られな

Table 4. Effect of sparfloracin and reference drugs against ascending pyelonephritis caused by MRSA GP-32 in leukopenic mice

Drug	ED ₅₀ (95% confidence limit) (mg/kg/dose)	MIC (μ g/ml)
Sparfloracin ^a	2.5 (1.4- 2.6)	0.05
Fosfomycin ^a	13.6 (5.0- 37.0)	12.5
Arbekacin ^b	4.4 (2.1- 5.9)	0.39
Vancomycin ^b	8.8 (3.7- 10.3)	0.78

^a Orally, ^b Subcutaneously

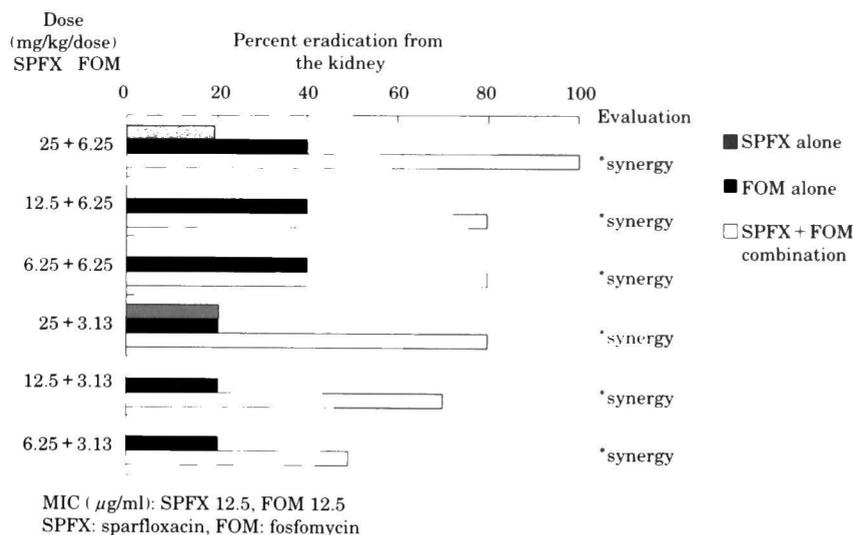


Fig. 7. Combined effect of sparfloracin and fosfomycin against ascending pyelonephritis with MRSA K-1 (quinolone resistant strain) in leukopenic mice. Asterisk shows that the combined rate of eradication in kidneys is significantly different from the sum of the eradication rate in kidneys of each single agent with a P value of 0.05 by the Fisher exact method.

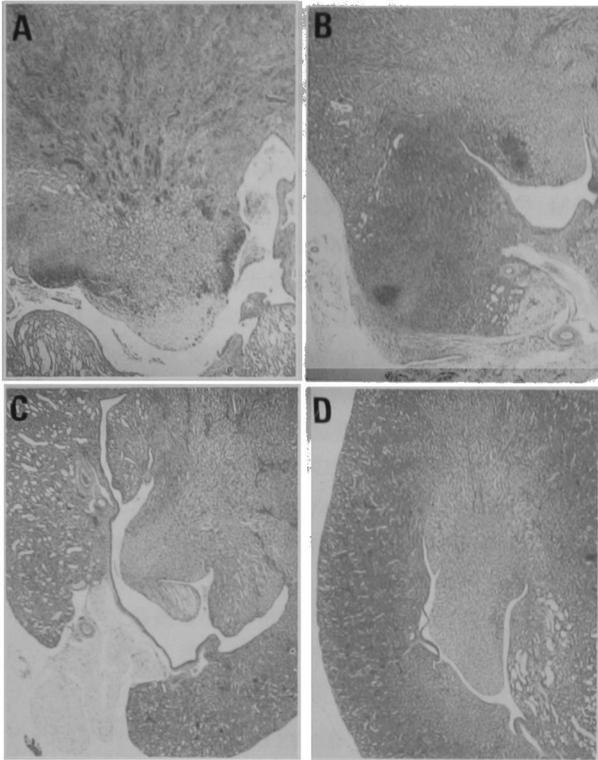


Fig. 8. Histopathological changes in kidney tissues from mice infected with MRSA K-1. Kidney sections were stained with hematoxylin and eosin. (A) A kidney section from infected-untreated mice on day 5 after infection. (B) A section kidney from infected sparfloxacin (SPFX) (25 mg/kg)-treated mice on day 5 after infection. (C) A kidney section from infected fosfomycin (FOM) (3.13 mg/kg)-treated mice on day 5 after infection. (D) A kidney section from infected SPFX (25mg/kg) + FOM (3.13mg/kg)-treated mice on day 5 after infection, magnification, $\times 28$.

かった。SPFX 25, 12.5 および 6.25 mg/kg と FOM 6.25 mg/kg との併用での腎からの菌消失率はそれぞれ 100, 80 および 80% であった。また, SPFX 25, 12.5 および 6.25 mg/kg と FOM 3.13 mg/kg との併用でそれぞれ 80, 70 および 50% の菌消失率を示し, いずれの組み合わせでも併用効果を認めた。

2) 腎の病理組織学的所見 (Fig. 8)

対照の感染群の腎では腎盂, 髄質, 皮質にかけて膿瘍形成を伴う壊死が認められ, 典型的な腎盂腎炎像を示している。SPFX (25 mg/kg) あるいは FOM (3.13 mg/kg) の単独投与群の腎においては腎盂から皮質にかけて化膿性腎盂腎炎の像が見られ感染防御効果は得られなかった。両剤の併用群の腎には明らかな病変はなく, 併用効果が認められた。

2) マウス全身感染モデル

(1) *P. aeruginosa* KP-62 株接種群での SPFX と FOM の併用効果

P. aeruginosa KP-62 (キノロン耐性株) 感染モデルにおける SPFX 25, 12.5 および 6.25 mg/kg 単独投与での生存率はそれぞれ 60, 30 および 10% であった。FOM 6.25 および 3.13 mg/kg 単独投与ではそれぞれ 10 および 0% であった。一方, SPFX 25, 12.5 および 6.25 mg/kg と FOM 6.25 mg/kg との併用ではそれぞれ 100, 80 および 50% の生存率を示した。また, SPFX 25, 12.5 および 6.25 mg/kg と FOM の 3.13 mg/kg との併用でそれぞれ 80, 70 および 50% の生存率を示し, いずれの併用群においても各々の単独投与の生存率の和よりも大きく, 相乗効果が得られた (Fig. 9)。

(2) MRSA K-1 株接種群での SPFX と FOM の併用効果

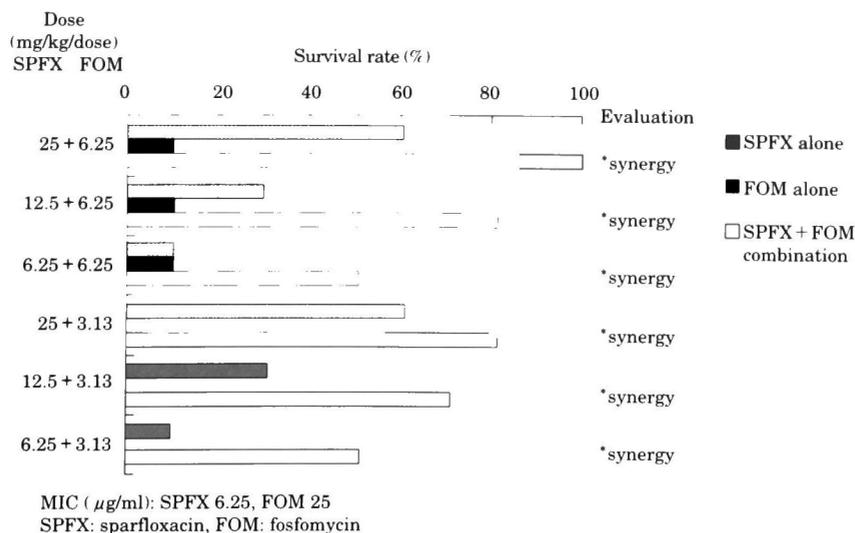


Fig. 9. Combined effect of sparfloxacin and fosfomycin against systemic infection with *Pseudomonas aeruginosa* KP-62 (quinolone resistant strain) in leukopenic mice. Asterisk shows that the survival rate with a combination of the two drugs was significantly different from the sum of the survival rates with each agent alone with a P value of 0.05 by the Fisher exact method.

MRSA K-1 (キノロン耐性株) に対する SPFX 50, 25, 12.5 および 6.25 mg/kg 単独投与での生存率はそれぞれ 80, 40, 0 および 0% であった。FOM 3.13 および 1.56 mg/kg 単独投与ではそれぞれ 20 および 0% であった。一方, SPFX 50, 25, 12.5 および 6.25 mg/kg と FOM の 3.13 mg/kg との併用でそれぞれ 100, 80, 60 および 50% の生存率を示した。また, SPFX 50, 25, 12.5 および 6.25 mg/kg と FOM 1.56 mg/kg との併用でそれぞれ 90, 60, 40 および 0% の生存率を示した。SPFX 50 mg/kg と FOM の 3.13 mg/kg および SPFX 6.25 mg/kg と FOM 1.56 mg/kg との併用を除き, 両剤のいずれの併用群もそれぞれの単独投与での生存率の和より大きく相乗効果が認められた (Fig. 10)。

5. *P. aeruginosa* KP-62 および MRSA K-1 の菌体

内への ^{14}C -SPFX の取り込み

P. aeruginosa KP-62 株に ^{14}C -SPFX (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) を単独に添加した場合, ^{14}C -SPFX は菌体内へ 5 分後に 162 pmol/cell 取り込まれ, その後, わずかに増え 30 分後で 210 pmol に達した。 ^{14}C -SPFX (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) と FOM (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) を同時に添加した場合, 5 分後の取り込み量は 224 pmol, 10~30 分後には 280 pmol 前後に達した。FOM で 2 時間処理後に ^{14}C -SPFX を添加した場合, 5, 10, 15 および 30 分後にはそれぞれ 214, 299, 281 および 320 pmol が菌体内へ取り込まれていた。 ^{14}C -SPFX と FOM の同時添加および FOM で前処理した場合, いずれの測定時点においても SPFX 単独に比べて, 菌体内への ^{14}C -SPFX の取り込み量は多かった (Fig. 11)。

MRSA K-1 株においては, SPFX (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 単独

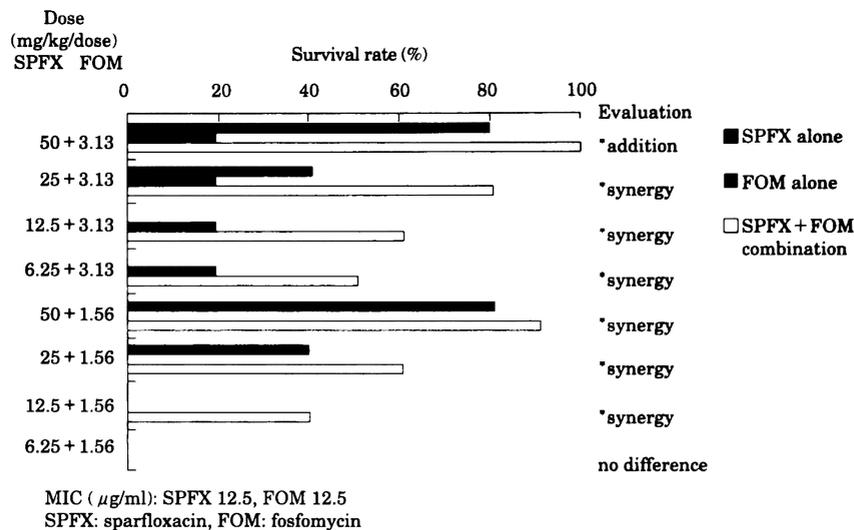


Fig. 10. Combined effect of sparfloxacin and fosfomycin against systemic infection with MRSA K-1 (quinolone resistant strain) in leukopenic mice. Asterisk shows that the survival rate with the drug combination significantly different from the sum of the survival rates with each agent alone with a P value of 0.05 by the Fisher exact method.

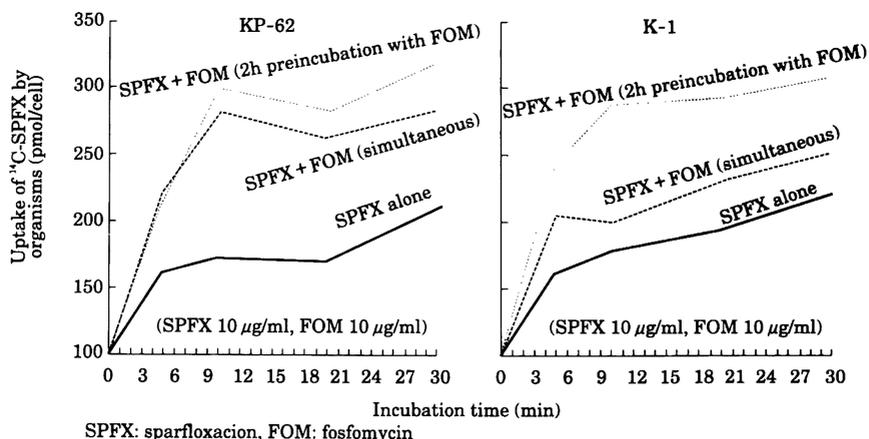


Fig. 11. Uptake of ^{14}C -Sparfloxacin by *Pseudomonas aeruginosa* KP-62 or MRSA K-1.

添加では 5 分後に 172 pmol/cell 取り込まれ、その後、時間の経過と共に菌体内への ^{14}C -SPFX の取り込み量が増加し、30 分後には 244 pmol 取り込まれた。SPFX (10 $\mu\text{g/ml}$) と FOM (10 $\mu\text{g/ml}$) の同時添加では 5 分後の取り込み量は 226 pmol で、30 分後には 283 pmol に達した。また、FOM で 20 分前処理後に ^{14}C -SPFX を添加した場合、5, 10, 20 および 30 分後の菌体内への取り込み量はそれぞれ 271, 326, 334 および 352 pmol であった。MRSA K-1 の場合も、*P. aeruginosa* KP-62 の場合と同様に、SPFX 単独よりも FOM を同時および 2 時間前に添加した場合の方が ^{14}C -SPFX の菌体内への取り込みが明らかに高かった (Fig. 11)。

III. 考 察

近年、抗菌力が強く、かつ抗菌スペクトルの広いフルオロニューキノロン薬が数多く開発され、種々の感染症の治療に広く用いられ、その優れた治療効果により、経口抗菌薬として重要な位置を占めるようになった。その反面、キノロン薬が多く使用されるにしたがってキノロン耐性菌の出現頻度が年々高くなりつつあるという問題が生じてきている。とりわけキノロン耐性の緑膿菌や MRSA は各科領域において明らかに増加している^{6,26)}。緑膿菌と MRSA は、現在各科領域において、易感染宿主 (immunocompromised host) での日和見感染としてもっとも頻度が高く、かつ、難治性感染症を引き起こすことから問題となっている。これらの患者における感染治療に際しては、その感染防御能の改善を図ることが肝要であり、低蛋白血症の補正、血糖の是正といった全身管理や、尿路感染では尿流障害の解消を目的に腎ろう造設を施すなど、基礎疾患の治療がきわめて重要である。その上に立って抗菌化学療法を施し、その効果をあげるように工夫しなければならない。これら耐性菌による感染症に対して単独で有効な抗菌薬として前者では IPM, CAZ, GM, TOB など、後者に対する治療薬として VCM や ABK などが挙げられるが、実際の臨床の場でこれらが単独で十分な有効性を示し、かつ安全性を確保できるかという点では限界がある。そこで、これら緑膿菌などによる難治傾向の高い感染症には抗菌薬の併用療法が 1 つの手段となっており、実際種々の組み合わせが検討されてきた。

抗菌薬の併用療法においては薬物の相互作用、併用時の薬物動態面の挙動、有効性や安全性について詳細な検討が必要である。臨床的には緑膿菌感染症に対しては GM+PIPC, GM+CBPC などの併用療法が、MRSA 感染症に対しては FOM+CMZ, IPM/CS+CEZ の併用療法の有用性が報告されている^{8,19)}。しかし、これらはいずれも注射薬を主体とする組み合わせであり、外来治療を想定した経口薬での併用については、十分な検討はまだなされていない。上記課題にアプローチ

するために、キノロン薬と経口抗生物質との適切な併用療法を探索する目的で予備実験 (データ省略) を行ったところ、抗生物質として FOM がキノロン薬ともっとも優れた併用効果を示した。そこでキノロン薬の選定のために、緑膿菌、MRSA の臨床分離株および教室保存株に対する 5 種のフルオロキノロン薬の MIC 分布を検討した。また、注射用抗生物質についても、緑膿菌では 3 種、MRSA では 4 種について、その MIC 分布を検討した。その結果、尿路由来の緑膿菌に対して、開発中のニューキノロン薬でもすでに MIC が 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性株が約 50% を占め、耐性化が進んでいることが明らかとなった。抗生物質の中では耐性菌の占める割合が比較的低かったのは IPM, CAZ および GM でそれぞれ 0, 10 および 20% であった。一方、MRSA においては 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性株は SPFX ではほとんどみられなかったが、他のキノロン薬では 5~25% 認められ、キノロン薬のなかでも薬剤間で差が認められた。すなわち本検討で、フルオロキノロンの中では SPFX は両菌いずれにも優れた抗菌力を有することが示された。そこで、キノロン薬として、SPFX を選択し、FOM との併用効果を基礎的に検討することにした。まず、*in vitro* 実験として、SPFX と FOM の併用効果 checkerboard 法で検討した結果、緑膿菌 22 株および MRSA 32 株に対し、両者との併用は相乗または相加作用を示した。さらに、細菌増殖曲線におよぼす影響を緑膿菌 4 株および MRSA 3 株について検討したところ、両剤の 1/2 MIC あるいは 1 MIC 濃度の併用で著明な殺菌作用が認められた。臨床分離の緑膿菌および MRSA に対するキノロン剤と FOM の *in vitro* 併用効果については林らが、NFLX と FOM との組み合わせで相乗あるいは相加効果を報告している²⁰⁾。そして、多剤耐性の緑膿菌および MRSA による呼吸器感染症に同様の薬剤の併用療法を行ったところ、10 例中 9 例が有効であったことを確認している。林らのこの報告には、基礎的検討としては checkerboard 法のみの成績が記載され、著者らのように増殖曲線における検討はなされていない。著者らはまた、過去に報告が見られない新しい研究として、緑膿菌あるいは MRSA を感染菌とする尿路および全身感染モデルにおいて、*in vitro* での SPFX と FOM との相乗または相加効果が、*in vivo* に反映されるか否かを実験的白血球減少マウスを用いて検討した。本実験では、キノロン耐性株を用いた。その結果、SPFX および FOM の単独投与で十分な効果の得られなかったのに対し、両者併用で明らかな感染防御効果の増強が確認された。この成績から、臨床的にも両薬剤が経口投与で併用効果を発揮することが推定され、しかも、感染防御能の低下した背景において耐性菌感染を起こしているという劣悪な条件下で優れた結果を得ることが期待される。最後に、

これら併用効果の機序を明らかにすることを目的にキノロン耐性の *P. aeruginosa* KP-62 および MRSA K-1 における ¹⁴C-SPFX の菌体内への取り込みを検討した。SPFX と FOM を同時添加した場合、SPFX を単独で添加した場合に比し、いずれの菌株でも菌体内への ¹⁴C-SPFX の取り込み量は明らかに高かった。林らは緑膿菌の菌体内への NFLX の取り込み実験で ¹⁴C-NFLX 作用 2 時間前に FOM を作用させた場合、¹⁴C-NFLX 単独作用時に比べて、約 1.5 倍量の ¹⁴C-NFLX が菌体内へ取り込まれるが、NFLX と FOM を同時に作用させた場合は NFLX 単独とほぼ同レベルの取り込みであったと報告している²⁰⁾。今回の著者らの成績でも MRSA K-1 株では SPFX と FOM の同時添加より FOM を 2 時間前に添加した方が SPFX の取り込み亢進の程度は強かった。しかし、*P. aeruginosa* KP-62 株では、両薬剤同時添加しても 2 時間前に FOM を処理しても、SPFX の取り込みには差はなく、また、MRSA K-1 株で同時添加した場合でも、SPFX 単独添加に比べると明らかにその取り込みは高かった。これらの成績に、マウス感染防御実験で両剤同時投与で優れた併用効果を示した事実を考え合わせると、この併用療法を臨床に適用する場合には、同時投与を原則としておいて差しつかえないものと思われる。

FOM は細菌の peptidoglycan 合成の第一過程 (UDP-N-acetylglucosamine-pyruvate transferase) を阻害することが知られている。今回の結果は、FOM の作用により緑膿菌および MRSA の細胞壁が障害を受け、SPFX の菌体内への透過性が亢進したことを推測させ、このことが相乗効果を示すメカニズムの 1 つと推察される。著者らの検討では、感染マウスでの SPFX 10 mg/kg 経口投与における血中濃度はピーク濃度で 0.95 μg/ml、AUC_{0-4h} は 2.0 h、μg/ml であり、これら測定値は非感染マウスのそれぞれ 1.6 倍および 1.4 倍であった (詳細なデータ省略)。この感染マウスでの血中濃度はヒトでの SPFX 常用量 (1 日 1 回 200 mg) 連投時の血中濃度 (ピーク濃度: 1.2 μg/ml) に近似している²¹⁾。このことから、今回の実験系で臨床での効果を予測するものに足りうるものであるといえ、SPFX に中等度耐性の緑膿菌および MRSA によるヒトの感染症に、SPFX と FOM との併用が有効であることが示唆された。

一般的には、緑膿菌や MRSA は immunocompromised host で重篤な感染症を引き起こしやすいことはよく知られている。今回の cyclophosphamide 処理による白血球減少マウスでは健常マウスに比べて、白血球数は約 1/10 に減少しており、典型的な易感染宿主モデルといえる。本モデルにおいて、SPFX と FOM との併用が緑膿菌および MRSA による実験的尿路あるいは全身感染症に対して良好な効果を示したことより、両

菌種のみならず、その他の菌や複数菌等による難治性感染症の治療にも両剤の併用療法は試みる価値のある治療法と推測される。これら、両薬剤はいずれも経口投与でマウスに良好な併用効果を示したことから外来での内服治療に応用できる点でも有用性は高いものと期待される。今後臨床に応用し、さらに検討をすすめたいと考えている。

謝 辞

稿を終えるにあたり、貴重な御助言を賜りました国立神戸病院泌尿器科梅津敬一博士ならびに大日本製薬株式会社取締役副会長清水當尚博士、同常務取締役関根豊博士に、また、研究遂行にあたり御指導、御助言を戴きました同取締役創薬第二研究所所長中村信一博士ならびに同微生物研究部部長服部宏昭氏に深謝いたします。

文 献

- 1) Dasgupta M K, Bettcher K B, Ulan R A, et al.: Relationship of adherent bacterial biofilm to peritonitis in chronic ambulatory peritoneal dialysis. *Peritoneal Dialysis Bull.* 7: 168~173, 1987
- 2) Nichols W W, Evans M J, M P E Slack, et al.: The penetration of antibiotics into aggregates of mucoid and non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Gen. Microbiol.* 135: 1291~1303, 1989
- 3) 紺野昌俊: MRSA 感染症の問題点。感染症 18: 137~144, 1988
- 4) 松本慶蔵, 工藤和治, 宇塚良夫, 他: 本邦における最近の病原性の明確な黄色ブドウ球菌 第 2 報。β-lactam 剤以外の抗生物質感受性および他剤耐性菌の現況と治療への考察。Chemotherapy 32: 517~526, 1984
- 5) 松橋通生, 宋浪東, 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
- 6) 山口恵三, 大野 章: MRSA の発生と現代化学療法の反省。日本臨床 50: 923~931, 1992
- 7) 高橋公毅, 菅野治重: 緑膿菌に対するピペラシリン, セフォペラゾン, セフスロジン, ホスホマイシン, トブラミシンの合併による併用効果。Chemotherapy 32: 966~971, 1984
- 8) Utsui Y, Ohya S, Magaribuchi T, et al.: Antibacterial activity of cefmetazole alone and in combination with fosfomycin against methicillin and cephem-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39: 917~922, 1986
- 9) 井上松久, 橋本 一, 松井初枝, 他: 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
- 10) 渡辺正人, 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
- 11) Hallander H O, Dornbusch K, Jacoson K, et al.: Synergism between aminoglycosides and cephalosporins with Antipseudomonas activity: Interaction index and killing curve method. *Antimicrob. Agents Chemother.* 22: 743~752, 1982
- 12) 島田 剛: 緑膿菌に対する化学療法の基礎的検討, 併

- 用効果について。Chemotherapy 35: 889~902, 1987
- 13) Haller B: Comprehensive evaluation of ciprofloxacin with β -lactam antibiotics against *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Arzneim-Forsch/Drug Res.* 36: 266~229, 1989
 - 14) Bustamante C I, Wharton R C, Wade J C: *In vitro* Activity of ciprofloxacin in combination with ceftazidime, aztreonam and azlocillin against multiresistant isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 34: 1814~1815, 1990
 - 15) 松田耕二, 原田文吾, 柴田兼良, 他: MRSA 感染症に対する imipenem/cilastatin sodium と cefotiam の併用療法。Chemotherapy 40: 789~798, 1992
 - 16) Basso J A, Saxon B A, Matsen J M: Comparative activity of cefepime alone, in combination, against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas cepacia* from cystic fibrosis patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35: 783~784, 1991
 - 17) Sugimura A, Jono K, Kono T et al.: The effect of combination of cefotiam and other antibiotics on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus in vitro*. *J. Antimicrob. Chemother.* 28: 707~717, 1991
 - 18) 島田甚五郎, 斎藤 篤, 柴 孝也, 他: 実験的緑膿菌感染症に対する Latamoxef と Tobramycin の併用効果。Chemotherapy 31: 1102~1107, 1983
 - 19) 伊藤 章, 小田切繁樹, 松本文夫, 他: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 感染症に対する ceftazidim と imipenem 併用療法の基礎, 臨床的検討。Chemotherapy 39: 174~184, 1991
 - 20) Hayashi I: Intermittent norfloxacin administration following intensive chemotherapy against recurrent respiratory tract infection caused by multi-drug resistant pathogens. 17th international congress of chemother. abstr. no.1814, 1991
 - 21) 小原康治, 橋本 一: 臨床分離株を中心としたホスホマイシンの耐性機構。Jap. J. Antibiotics 49: 533~543, 1996
 - 22) 日本化学療法学会 MIC 測定法改訂委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
 - 23) Miller L C, Tainter M L: Estimation of the ED50 and its error by means of logerithmic-probit graph paper. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 57: 261~264, 1944
 - 24) Litchfield J T, Wilcoxon F: A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 96: 99~113, 1949
 - 25) 内田智子, 長幡武光, 荒川昌亨, 他: 新規 cytarabine 誘導体 YNK 01 の他抗癌剤との実験的併用効果。癌と化学療法 17: 1351~1356, 1990
 - 26) 後藤 元, 後藤美恵子, 岡 慎一, 他: 本邦における多剤耐性黄色ブドウ球菌の現況, 1986 年から 1988 年にかけての分離状況と 18 薬剤に対する感受性。Chemotherapy 37: 1334~1341, 1989
 - 27) 原 耕平, 河田幸道: 第 37 回日本化学療法学会西日本支部総会。新薬シンポジウム (2), Sparfloxacin (AT-4140), 岐阜, 1990

Combination therapy with antimicrobial agents of experimental *Pseudomonas aeruginosa* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections

Katsuhisa Nakata, Soichi Arakawa and Sadao Kamidono

Department of Urology, Kobe University School of Medicine (Director: Prof. Sadao Kamidono),
7-5-2, Kusunoki-cho, Chuo-ku, Kobe 650, Japan

We investigated the combined effect of sparfloxacin (SPFX) and fosfomicin (FOM) against *Pseudomonas aeruginosa* and MRSA *in vitro* and *in vivo*. The *in vitro* combined effect of SPFX and FOM was examined by the checkerboard method and analyzed using time-killing curves. The FIC index of this combination against 22 strains of *P. aeruginosa* and 32 strains of MRSA ranged from 0.253-0.625 and 0.127-1.0, respectively. From the time-killing experiments, the effect of SPFX and FOM on 4 strains of *P. aeruginosa* and 3 strains of MRSA was shown to be synergistic. The effect of SPFX and FOM *in vivo* against quinolone-resistant *P. aeruginosa* KP-62 and MRSA K-1 was examined in ascending pyelonephritis or systemic infections in leukopenic mice. Both SPFX alone at a dose of 12.5 mg/kg and FOM alone at 3.13 mg/kg in the ascending pyelonephritis or systemic infection models with *P. aeruginosa* KP-62 and MRSA K-1 showed only a slight or no effect. However, the combined use of SPFX and FOM at the same dose levels showed remarkable synergistic effects, exhibiting 70% bacterial eradication in the kidney of ascending pyelonephritis mice, and a survival rate of 70% for *P. aeruginosa* KP-62 and 60% for MRSA K-1 in systemic infections. The uptake of ¹⁴C-SPFX by *P. aeruginosa* and the MRSA after concurrent incubation with FOM or 2-hour preincubation with FOM was higher than without FOM. These results suggest that the combined use of SPFX and FOM may be clinically useful in the treatment of *P. aeruginosa* and MRSA infections.