

カルバペネム系抗菌薬 doripenem とアミノグリコシド系 薬剤及び ciprofloxacin との *Pseudomonas aeruginosa* に対する *in vitro* 併用効果

阿南（黒田）直美・鳥羽晋輔・伊藤暁信・中村理緒・辻 雅克
塩野義製薬株式会社創薬・疾患研究所

（2011年5月2日受付）

全国の16医療施設で2004年に臨床分離された *Pseudomonas aeruginosa* 92株を用い、カルバペネム系抗菌薬 doripenem (DRPM) とアミノグリコシド系薬 tobramycin (TOB), amikacin (AMK), あるいは DRPM とフルオロキノロン系薬 ciprofloxacin (CPFX) との *in vitro* 併用効果について CLSI の推奨する微量液体希釈法に準じたチェッカーボード法で検討し、この併用効果を他のカルバペネム系抗菌薬である imipenem (IPM), meropenem (MEPM), biapenem (BIPM) と TOB, AMK, CPFX との併用効果と比較した。DRPM は TOB や AMK, CPFX との併用により 90% 以上の臨床分離株において相乗あるいは相加効果を示した。特に、IPM 低感受性及び耐性株に対して DRPM とアミノグリコシド系薬との併用は、他のカルバペネム系抗菌薬との併用時に比べ、強い併用効果を示した。以上、IPM 低感受性および耐性株を含む *P. aeruginosa* 感染症に対しても DRPM はアミノグリコシド系薬との併用が有効な選択肢になり得ることが示唆された。

Pseudomonas aeruginosa は、自然環境中に存在する代表的な常在菌の一種であり、感染防御能力の低下した患者や院内感染の原因菌として分離頻度が高い菌のひとつである。*P. aeruginosa* は多くの抗菌薬に対して自然耐性を示すため、選択できる抗菌薬が少ない。緑膿菌感染症の治療には、主に抗緑膿菌活性を有するカルバペネム系抗菌薬やニューキノロン系薬、アミノグリコシド系薬が選択されている。さらに、単剤で治療効果が得られないような場合には、他の抗菌薬との併用も選択されてきた。抗菌薬同士の併用療法としては多剤耐性緑膿菌 (Multi-Drug Resistant *P. aeruginosa*: MDRP) に対する治療例が報告されており、tobramycin (TOB) と colistin (CL) を使用する場合

や¹⁾、モノバクタム系薬 aztreonam (AZT) とアミノグリコシド系薬 amikacin (AMK) などが挙げられる²⁾。メタロ- β -ラクタマーゼ産生株の場合にはモノバクタム系薬に感受性を残していることがあるため、相乗効果を期待して、モノバクタム系薬とアミノグリコシド系薬の併用が治療の選択肢とされている^{2~5)}。

Doripenem (DRPM) は塩野義製薬研究所で創製されたカルバペネム系抗菌薬で、構造上4位に methyl 基と3位に sulfamoylaminomethyl 置換 pyrrolidinylthio 基を有しており、その特徴としてグラム陽性菌から *P. aeruginosa* を含むグラム陰性菌に対して広範で強い抗菌活性が挙げられる⁶⁾。薬剤感受性サーベイランスの成績から、*P. aerug-*

*inosa*を含む*in vitro*抗菌活性についてDRPMでは経年的な変動はみられないものの、他のカルバペネム系薬を含む抗緑膿菌活性を有する抗菌薬に対しては、感受性が低下した菌株の存在が報告されている⁷⁾。このような感受性の低下した*P. aeruginosa*に対する治療対策としては、常用量からの用法用量変更の必要性や抗菌薬の併用投与が挙げられる。これまで、DRPMと他の抗菌薬の併用効果について検討された報告例はほとんどなく、新たな治療法を考える上で重要であると考えられる。今回、*P. aeruginosa*臨床分離株を用い、DRPMとアミノグリコシド系薬あるいはフルオロキノロン系薬との*in vitro*併用効果を検討したので報告する。

I. 実験材料及び方法

1. 使用抗菌薬

カルバペネム系抗菌薬 doripenem (DRPM), imipenem (IPM), meropenem (MEPM), biapenem (BIPM)及びアミノグリコシド系薬 tobramycin (TOB), amikacin (AMK) 及びフルオロキノロン系薬 ciprofloxacin (CPFX) の力価の明らかな標準品を使用した。

2. 使用菌株

感受性測定には、2004年に全国16医療施設において、種々の臨床材料から分離された*P. aeruginosa* 92株を使用した。なお、精度管理株として*P. aeruginosa* ATCC27853を用いた。

3. 感受性測定法

各種抗菌薬の最小発育阻止濃度(MIC)はClinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)に準じた微量液体希釈法で行った^{8,9)}。感受性測定用培地としてcation-adjusted Mueller Hinton broth (CAMHB)を用い、接種菌量は約 5×10^4 CFU/well

で行った。培養条件は好気培養35°Cで16~20時間培養を行った。判定では、対照に用いた薬剤不含有培地における菌の発育を確認した後、菌の発育が認められないwellの最小薬剤濃度をMICとした。

4. 各種抗菌薬の併用効果

各種抗菌薬の併用効果はチェッカーボード法によりFractional inhibitory concentration (FIC) indexを求めた⁸⁻¹⁰⁾。抗菌薬の組み合わせはカルバペネム系抗菌薬とアミノグリコシド系薬あるいはカルバペネム系抗菌薬とフルオロキノロン系薬の合計12種の組み合わせ(DRPM+TOB, DRPM+AMK, DRPM+CPFX, IPM+TOB, IPM+AMK, IPM+CPFX, MEPM+TOB, MEPM+AMK, MEPM+CPFX, BIPM+TOB, BIPM+AMK, BIPM+CPFX)で検討した。FIC indexの算出は計算式(FIC index = 併用時の主剤のMIC値/単独時の主剤のMIC値 + 併用時の配合剤のMIC値/単独時の配合剤のMIC値)により実施した。併用効果の判定はFIC index ≤ 0.5 : 相乗, $0.5 < \text{FIC index} \leq 1$: 相加, $1 < \text{FIC index} \leq 2$: 不関, $2 < \text{FIC index}$: 拮抗とした。菌の発育を阻止した各々の抗菌薬濃度の組み合わせにおけるFIC indexを計算し、菌の発育パターンから相加・相乗・不関効果を示すものはFIC indexの最小値を、拮抗効果を示すものはFIC indexの最大値を併用FIC indexとした。なお、FIC indexは小数点以下4桁目を四捨五入して小数点以下3桁で表記し、最小FIC indexが同値となるポイントが複数存在する場合にはカルバペネム系抗菌薬のMIC値がより低下するポイントを採用した。各薬剤の測定濃度範囲はDRPM: 64~0.008 $\mu\text{g/mL}$, IPM, MEPM, BIPM: 128~0.008 $\mu\text{g/mL}$, TOB: 64~0.063 $\mu\text{g/mL}$, AMK: 32~0.031 $\mu\text{g/mL}$, CPFX: 64~0.008 $\mu\text{g/mL}$ とした。本研究で用いた菌株は薬剤感受性サーベイランスにおいて用いた菌株と同一であることから、薬剤

の測定濃度範囲の設定は、既に報告されている MIC 値に基づいて測定範囲を決定した⁷⁾。併用する場合は上記濃度を組み合わせて併用効果を確認した。

5. 低感受性及び耐性株の出現頻度計算

低感受性及び耐性株の頻度は、MIC を測定後に各カルバペネム系抗菌薬の MIC が $\geq 8 \mu\text{g/mL}$ を示す株数の割合 (%) で示した。

6. 有意差検定

ノンパラメトリックの多重調整法である Steel の検定を行った。特定群は DRPM とし、有意水準は 0.05 とした。

II. 結果

1. 臨床分離株に対する感受性分布

P. aeruginosa 92 株に対するカルバペネム系抗菌薬 (DRPM, MEPM, IPM, BIPM) とアミノグリコシド系薬 (TOB, AMK), フルオロキノロン系薬 (CPFX) との併用時に対する感受性分布を Table 1 に示した。カルバペネム系抗菌薬で最も抗菌活性が強かったのは DRPM であり、MIC₉₀ は $8 \mu\text{g/mL}$, MIC range は $0.031 \sim >64 \mu\text{g/mL}$ であった。MEPM の MIC₉₀ は $16 \mu\text{g/mL}$ で MIC range は $0.016 \sim >128 \mu\text{g/mL}$, IPM の MIC₉₀ は $16 \mu\text{g/mL}$ で MIC range は $0.25 \sim >64 \mu\text{g/mL}$ を示した。BIPM の MIC₉₀ は $16 \mu\text{g/mL}$ で MIC range は $0.125 \sim >64 \mu\text{g/mL}$ であった。

カルバペネム系抗菌薬と TOB, AMK, CPFX を併用した場合に最も強い協力作用を示したのは DRPM で、DRPM+TOB, DRPM+AMK, DRPM+CPFX の組み合わせにおいて MIC₉₀ は $2 \mu\text{g/mL}$ を示し、他のカルバペネム系抗菌薬とアミノグリコシド系薬またはフルオロキノロン系薬との併用での MIC₉₀ は $4 \sim 16 \mu\text{g/mL}$ であった。

カルバペネム系抗菌薬単独時と併用時での抗菌活性の変化を比較すると、DRPM では TOB, AMK, CPFX いずれを併用した場合においても単独時 (MIC₉₀: $8 \mu\text{g/mL}$) から併用時 (MIC₉₀: $2 \mu\text{g/mL}$) に 4 倍の抗菌活性の改善が認められたが、他の併用の組み合わせでは、4 倍の活性改善が確認されたのは MEPM+TOB, MEPM+AMK, BIPM+CPFX のみであった。

2. 低感受性及び耐性株出現頻度

測定した *P. aeruginosa* 92 株に対する各薬剤の低感受性及び耐性株出現頻度は、DRPM 単独の場合、14.1% と最も低く、次いで MEPM の 22.8%, BIPM (23.9%), IPM (28.3%) の順であった (Table 2)。カルバペネム系抗菌薬とアミノグリコシド系薬、あるいはフルオロキノロン系薬を併用した場合、耐性株の頻度は DRPM+TOB で 2.17%, DRPM+AMK で 3.26%, DRPM+CPFX で 4.35% と DRPM 単独時に比べて 1/6~1/3 に低下した。また、DRPM とアミノグリコシド系薬を併用した際の耐性株の頻度は MEPM (+TOB: 7.61%, +AMK: 9.78%) や IPM (+TOB: 18.5%, +AMK: 16.3%) の場合に比べて明らかに低かった。

3. 併用効果発現率

併用効果を最小 FIC index で示し、全株を 100% とした場合の FIC index の各割合を Fig. 1, 2 で示した。*P. aeruginosa* 92 株に対する FIC index の割合は、DRPM+TOB の併用時は相乗効果が 17.4%, 相加効果が 78.3% であった。同様に、MEPM+TOB 併用時の相乗効果は 10.9%, 相加効果が 83.7% であった (Fig. 1)。IPM+TOB, BIPM+TOB 併用時の相乗効果はそれぞれ 3.3%, 2.2% と低く、相加効果が 77.2% と 72.8%, 不関が 19.6%, 25.0% であった。

AMK 併用時は相乗効果が DRPM+AMK で

Table 1. Variations in susceptibility of 92 *Pseudomonas aeruginosa* to carbapenems alone and combined with aminoglycoside or ciprofloxacin.

Antibacterial agents	MIC ($\mu\text{g/mL}$)													90%				
	≤ 0.008	0.016	0.031	0.063	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32		64	>64	>128	50%
Alone																		
DRPM			2	6	18	16	8	17	4	8	10		1	1	1		0.5	8
MEPM	1		6	5	21	13	11	5	9	5	11	2	1		2		0.5	16
IPM					4	10	39	10	3	7	15	2	1	1			1	16
BIPM				3	22	27	10	4	4	12	6	2	2		2		0.5	16
Combination																		
DRPM	6	7	5	17	14	11	8	14	7	1	1		1				0.125	2
AMK	1	8	14	17	7	11	15	6	8	2		2		1			0.125	2
CPFX	2	6	17	10	11	11	14	4	10	3	2	1		1			0.125	2
MEPM	2	1	7	11	18	14	11	11	3	7	2	2	1		2		0.25	4
AMK	4	3	10	12	14	10	14	4	5	7	5	1	1		1	1	0.25	4
CPFX	1	4	12	5	16	13	11	6	8	6	3	4	1	1	1		0.25	8
IPM			5	5	8	8	31	10	4	4	6	8	2	1			0.5	16
AMK					4	10	27	22	9	5	7	5	2		1		1	8
CPFX	2	3	7	2	5	15	27	8	7	6	9	1					0.5	8
BIPM			1	6	16	35	6	8	2	8	6	2	2				0.25	8
AMK				3	15	26	16	7	5	4	12	1	2		1		0.5	8
CPFX	2	4	9	4	23	13	9	9	8	5	3	1	1				0.25	4

The table shows the number of strains at each minimum inhibitory concentration.

Table 2. Low susceptibility and resistance rate in 92 *Pseudomonas aeruginosa* to carbapenems alone and combined with aminoglycoside or ciprofloxacin.

Antibacterial agents		No. of strains (MIC \geq 8 μ g/mL)	Low susceptibility and resistance rate
			%
Alone			
	DRPM	13	14.1
	MEPM	21	22.8
	IPM	26	28.3
	BIPM	22	23.9
Combination			
DRPM	TOB	2	2.17
	AMK	3	3.26
	CPFX	4	4.35
MEPM	TOB	7	7.61
	AMK	9	9.78
	CPFX	10	10.9
IPM	TOB	17	18.5
	AMK	15	16.3
	CPFX	10	10.9
BIPM	TOB	10	10.9
	AMK	16	17.4
	CPFX	6	6.52

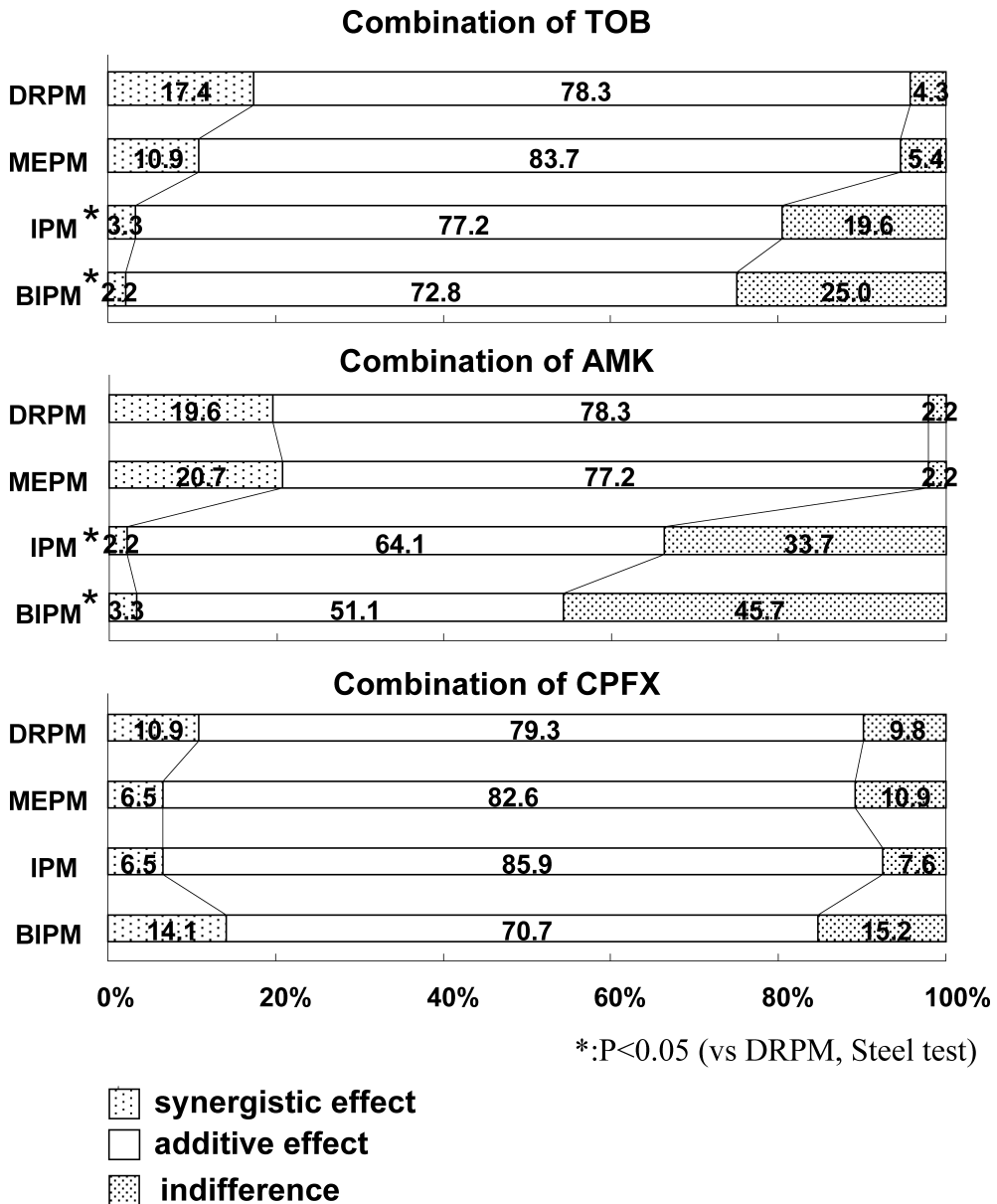
19.6%, MEPM+AMK で 20.7% であった。一方で IPM+AMK, BIPM+AMK では相乗効果が 2.2%, 3.3% にとどまり, 不関が 33.7%, 45.7% と相乗・相加効果と比べると高い頻度を示した。

CPFX 併用時は各カルバペネム系抗菌薬間で大きな差はなく, DRPM+CPFX では相乗・相加効果を示したのは 90.2%, MEPM+CPFX では 89.1%, IPM+CPFX では 92.4%, BIPM+CPFX では 84.8% であった。DRPM とアミノグリコシド系薬及びフルオロキノロン系薬との併用効果は, 相乗効果が TOB で 17.4%, AMK で 19.6%, CPFX で 10.9% であったため, 相加効果を加えると, それぞれ 95.7%, 97.8%, 90.2% の高頻度であることが判明

した。

次に IPM 耐性株に対する併用効果の発現率を示した (Fig. 2)。今回測定した臨床分離株 92 株中 IPM に MIC \geq 8 μ g/mL を示す耐性株は 26 株であった。この IPM 耐性株に対して, DRPM+TOB, DRPM+AMK の併用時に相乗効果は 46.2%, 42.3% と高い頻度であった。次いで, MEPM+TOB, MEPM+AMK 併用時に 23.1%, 19.2% の頻度であった。一方, IPM+TOB, IPM+AMK, BIPM+AMK の併用時には不関を示す株の頻度が 34.6%, 26.9%, 34.6% と高くなることが確認された。

Fig. 1. The combined effects as fractional inhibitory concentration (FIC) index of carbapenems with tobramycin (TOB), amikacin (AMK), ciprofloxacin (CPFX) against 92 *P. aeruginosa* strains.

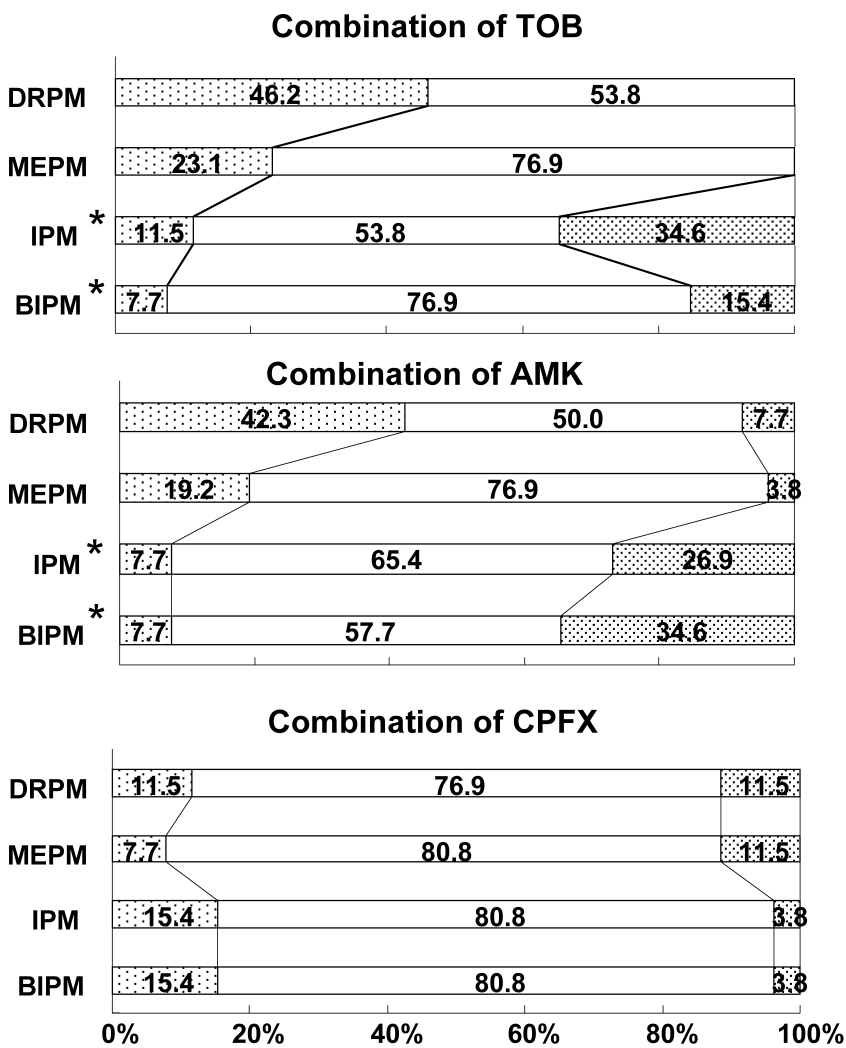


4. 各カルバペネム系薬における単剤及び併用時の感受性相関

各カルバペネム系抗菌薬にアミノグリコシド系薬及びフルオロキノロン系薬を併用した際の感受性相関を示した (Table 3)。いずれの抗菌薬におい

ても、単剤と併用時を比較すると、併用時に強い抗菌活性を示していた。*P. aeruginosa* に対する耐性は MIC \geq 16 μ g/mL のときであるが、カルバペネム系抗菌薬とアミノグリコシド系薬である TOB を併用した場合には、IPM との併用時に耐性を示す

Fig. 2. The combined effects as FIC index of carbapenems with TOB, AMK, CPFX against 26 strains imipenem-resistant *P. aeruginosa*.



*:P<0.05 (vs DRPM, Steel test)

- synergistic effect
- additive effect
- indifference

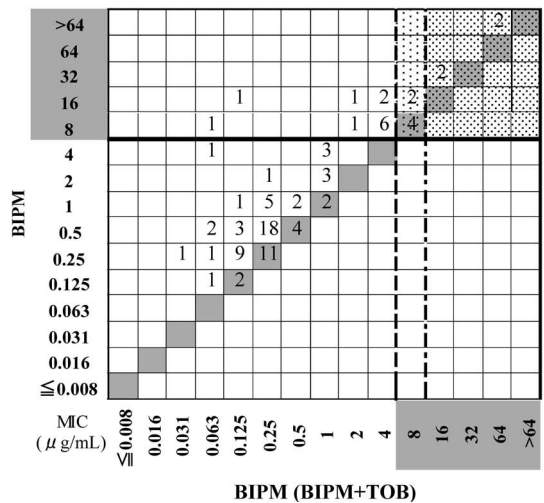
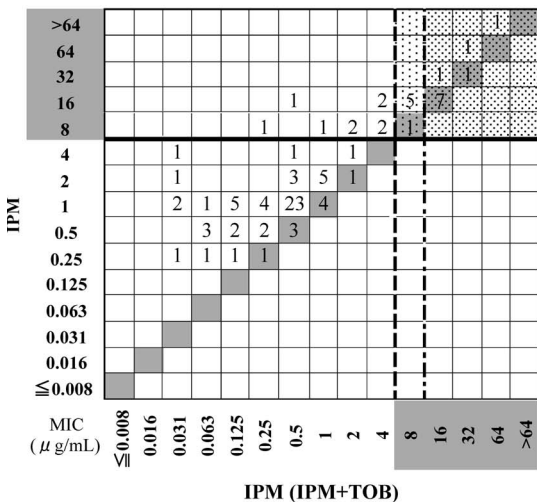
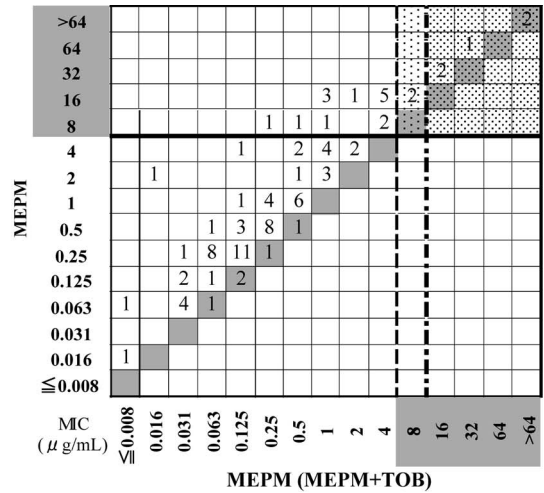
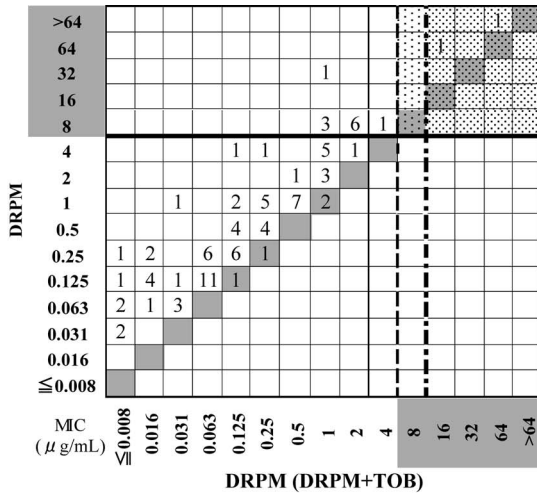
株数 (11 株) が多くなっており、DRPMの場合がもっとも耐性株 (2 株) の出現が抑えられていた。次いでBIPM (6 株)、MEPM (7 株) の順に耐性株の出現率は抑えられていた。AMKを併用

した場合は、DRPM+AMKで抗菌活性の上昇が顕著であることが示され、耐性株の出現も3株までに抑えられており、DRPMは単独時だけでなく、併用時にも非常に有効であることが確認され

Table 3. Relationship between the *in vitro* activities of carbapenems combined with TOB, AMK, CPFX against 92 *Pseudomonas aeruginosa* clinically isolated in Japan.

The number plotted in each square shows the number of strains with MIC (minimum inhibitory concentrations) of carbapenems combined TOB, AMK, CPFX on the x-axis and carbapenems on the y-axis:

(A) carbapenems and carbapenems combined with TOB



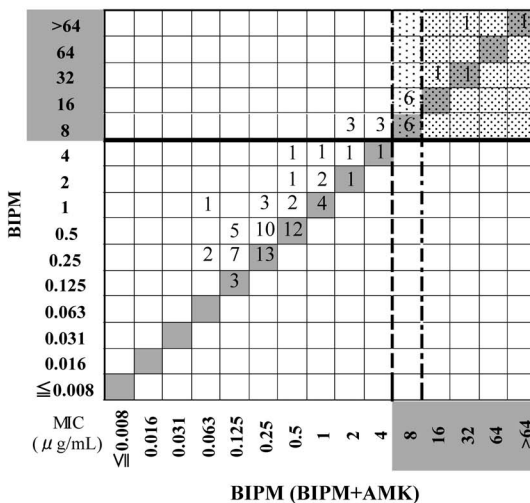
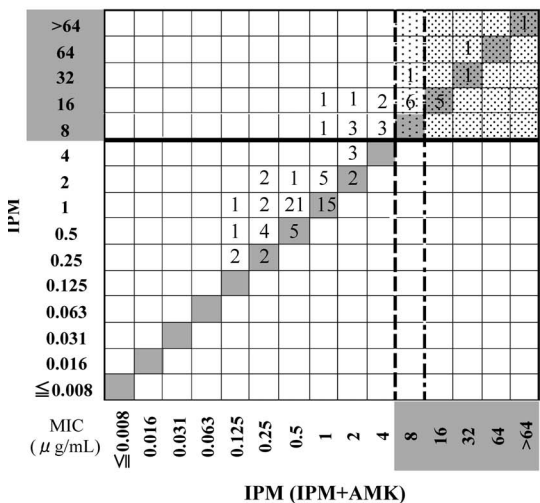
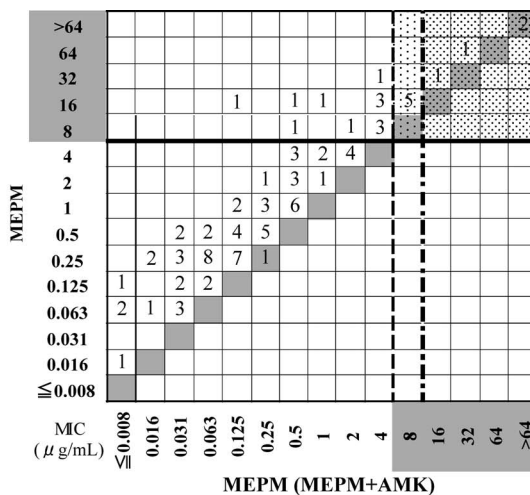
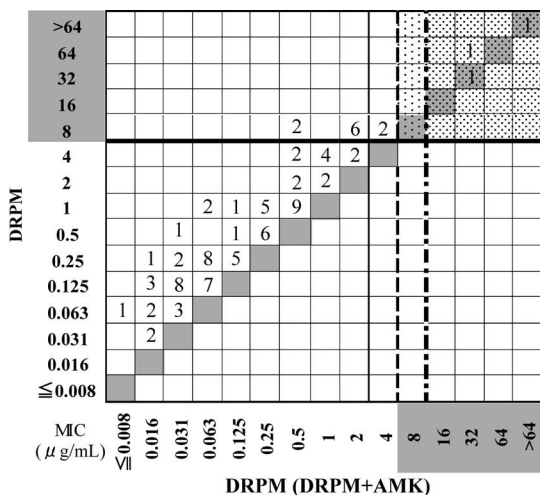
た。次いでMEPM+AMKの併用効果が高く、IPM+AMK、BIPM+AMKの併用時では単独時と同程度の抗菌活性を示す株が多数存在した。CPFX併用時にも、他のカルバペネム系抗菌薬と

同様にDRPMにおいて強い併用効果が見られていた。

また、DRPMとアミノグリコシド系薬、フルオロキノロン系薬の併用時にMIC \leq 0.008 μ g/mLの

Table 3. (Continued).

(B) carbapenems and carbapenems combined with AMK

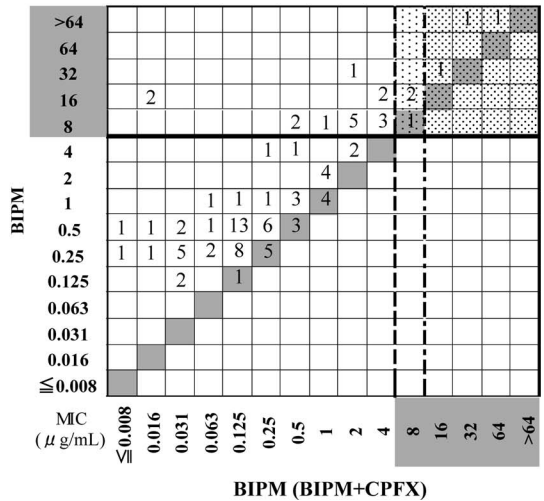
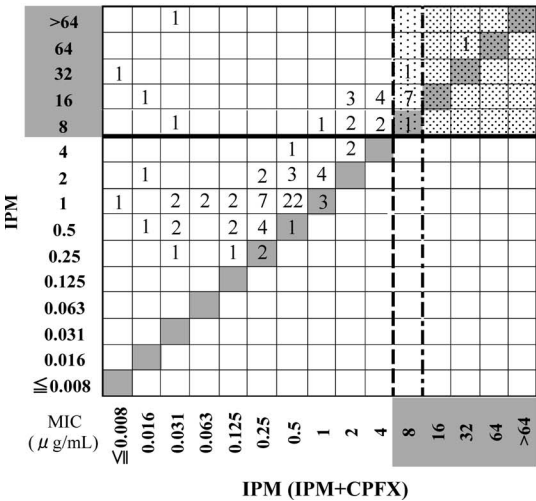
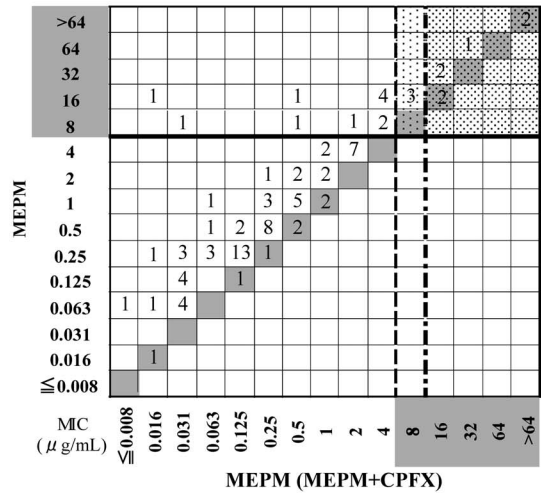
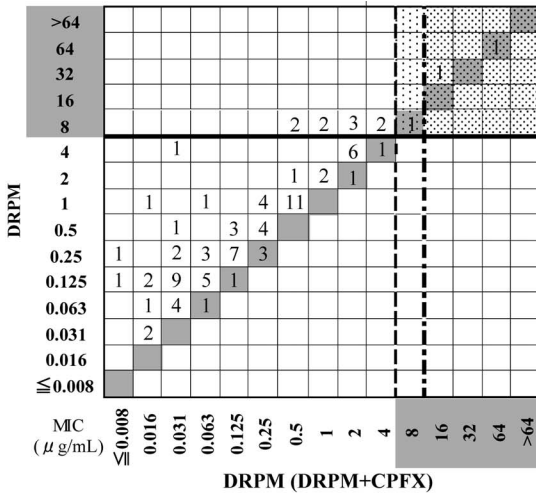


強い抗菌活性を示した株について検討したところ、DRPM+TOB時に MIC \leq 0.008 μ g/mLを示した株は6株であったが、これらの株でMEPM+TOB併用時に MIC \leq 0.008 μ g/mLを示した株は2株で、残りは0.031~0.25 μ g/mLであった。IPM+TOB併用時には0.063~1 μ g/mL、BIPM+TOB併用時には0.125~0.5 μ g/mLでありDRPM+TOBと比較すると弱いものであった。同様に、AMK併用時

のDRPM+AMKでは、MIC \leq 0.008 μ g/mLを示した株は1株存在したが、MEPM+AMK、IPM+AMK、BIPM+AMK時にはそれぞれMIC 2 μ g/mLと弱い抗菌活性であった。CPFX併用時のDRPM+CPFXではMIC \leq 0.008 μ g/mLを示した株は2株で、これらの株はMEPM+CPFX時には0.125~0.25 μ g/mL、IPM+CPFX時には0.5~1 μ g/mL、BIPM+CPFX時には0.031~0.125 μ g/mLと

Table 3. (Continued).

(C) carbapenems and carbapenems combined with CPFX



DRPMとの併用時程度の活性改善は確認されなかった。

今回試験に用いた *P. aeruginosa* の中で、メタロ-β-ラクタマーゼ産生株は2株存在し、そのうちの1株はMDRPであった。メタロ-β-ラクタマーゼ産生緑膿菌を用いて検討した結果、DRPM+AMKを併用した場合にMICが低下したが、その効果は他の *P. aeruginosa* の場合に比べ弱かった。他の

カルバペネム系抗菌薬 (IPM, MEPM, BIPM) と AMKとの併用によりMICは低下していたが、DRPM+AMK 併用群と同程度であった。一方、MDRPを用いて検討した結果、DRPM+CPFXあるいはIPM+CPFXの併用で相加・相乗作用が確認された。一方、MEPMはいずれの組み合わせにおいてもMICはほとんど変動しなかった。

III. 考察

*P. aeruginosa*は弱毒性の菌であり健常者が発症することは稀であるが、薬剤耐性緑膿菌がこれだけ問題視されるのには、病院内で院内感染として拡大しやすいところにある。現在、薬剤耐性緑膿菌の中でも特にMDRPに対しては国内で上市されている抗菌薬のうち単独投与で有効な治療効果を示す抗菌薬はないのが現状であるが、国内でも最近になってMDRPの分離率が増加したため、*in vitro*での有効性がすでに確認されているCLの使用が再検討され始めている。CLはグラム陰性菌の細胞膜の透過性を高めるため、単独投与だけでなく他の抗菌薬との併用でも効果が期待されるが、過急性尿細管壊死による蛋白尿やクレアチニンの上昇による腎障害や神経毒性が副作用として懸念されており、また臨床における効果も7割程度との報告もある^{11,12)}。

近年、*P. aeruginosa*における薬剤耐性株の分離頻度が高くなっており、薬剤感受性サーベイランスでも問題視されている。IPM耐性*P. aeruginosa*の分離頻度は、2000年以降、18.7~34.4%と高い頻度を維持している⁶⁾。辻らの報告でも、2001年に主な大学病院から分離された*P. aeruginosa* 3233株の薬剤感受性を検討した結果、2.8%にあたる89株が薬剤耐性緑膿菌であった¹³⁾。しかし、*P. aeruginosa*に対するDRPMの抗菌力は強く、TRACZEWSKIらの報告でもIPM耐性株に対してもMICが4 µg/mL以下を示すことが報告されている¹⁴⁾。DRPMに関しては、単剤でも耐性株に対して有効な殺菌力を有することが示されているが、薬剤耐性株の分離頻度の増加を考慮すると、今後、より有効な緑膿菌治療方法の確立が必要ではないかと考えられる。

今回、*P. aeruginosa*に対するより有効な治療方法を検討する目的で、DRPMを含むカルバペネム系抗菌薬とアミノグリコシド系薬、フルオロキノ

ロン系薬との*in vitro*併用効果について、チェックボード法で検討した。その結果、DRPMはアミノグリコシド系薬やフルオロキノロン系薬と併用した場合に強い協力作用を示し、中でもTOBとの併用時の協力作用が最も強く、次いでAMK、CPFXの組み合わせ時の順に協力作用が強かった。DRPMと他のカルバペネム系抗菌薬を用いた場合の併用効果において大きく異なった点は、薬剤耐性株の出現頻度である。DRPMとアミノグリコシド系薬を併用した場合には耐性株の出現頻度も数%程度(92株中2~3株)であったのに対し、MEPMなど他のカルバペネム系抗菌薬を用いた併用時には耐性株出現頻度がDRPMのときと比べて3倍以上高くなることが示された。近年問題となっているMDRPに対して、DRPMとフルオロキノロン系薬を併用することにより協力作用を示すという点は、他の*P. aeruginosa*と同様の成績であったことから、これらの組み合わせによる併用療法が有効な選択肢の一つになると示唆された。本研究において、これら薬剤耐性菌を用いた検討は評価した菌株数が少ないため、さらなる検討が必要と考えられた。

カルバペネム系抗菌薬と他の抗菌薬との併用効果に関する検討についてはこれまでも種々報告されている。臨床分離*P. aeruginosa*もしくはMDRPを用いてのMEPM+AMK、MEPM+CPFX、あるいはIPM+AMK、IPM+CPFXとの*in vitro*併用効果についての報告では、感性株に対する相乗・相加効果の割合は本研究で得られた結果と大きな違いは見られなかった^{15~17)}。メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)に対するカルバペネム系抗菌薬とグリコペプチド系抗菌薬との併用効果を検討した報告では、IPMやBIPMに比べMEPMがteicoplaninと著しい相乗効果を示すことが報告されている¹⁸⁾。このメカニズムとしてMEPMが他のカルバペネム系抗菌薬と比べpenicillin-binding protein 3 (PBP3)に対する親和性が高く、この蛋

白結合率の相違が併用効果の差にも影響していると考えられている。また、DRPMとlevofloxacin (LVFX), AMK, CLとの併用効果について試験管内殺菌力を指標に用いて検討した報告では¹⁹⁾, DRPMに耐性を示した*P. aeruginosa*に対しても, AMK, CLを併用することで相乗作用を示し, DRPMが有効であることが確認されている。このとき, sub-MIC濃度のDRPMとAMK両薬剤を作用させてから12時間後以降に最も相加効果を示す割合が高くなっており, 本試験で得られたDRPMとAMKの併用時の相乗, 相加効果を示すFICの割合ともおおむね一致していた。

抗菌薬の相互作用に関するメカニズムについては元来よりJAWETZの理論²⁰⁾が知られており, 殺菌作用を示す薬剤同士では相乗あるいは相加, 静菌作用を示す薬剤同士では相加作用と, 殺菌作用と静菌作用を示す薬剤の併用では拮抗作用を示すものが多いと報告されている。臨床現場では, 相乗, 相加効果が期待される薬剤の組み合わせとして, β -ラクタム系抗菌薬とアミノグリコシド系薬の併用が一般的に多く用いられ, この併用方法は*P. aeruginosa*のみならず, 腸球菌などの多くの菌種に対して相乗効果が報告されている。これは, 細胞壁合成阻害薬である β -ラクタム系抗菌薬が細胞壁に障害を与え, アミノグリコシド系薬が細胞質内に入り込み作用することで強い抗菌活性を示すためであり, 主には感染性心内膜炎や好中球減少時敗血症などの重症感染症時に用いられている。

抗菌薬同士の併用を行う理由としては抗菌スペクトラムの拡大や抗菌薬同士の協力作用, 副作用の軽減, また耐性菌出現の抑制などが挙げられる。本研究においてDRPMとアミノグリコシド系抗菌薬との併用により協力作用を示すことが示されたが, 同時に協力作用を示した組み合わせでは, IPM耐性株の発現率が低下しており, 耐性菌出現の抑制効果があることが明らかとなった。

DRPMは*P. aeruginosa*に対して, MEPMよりも耐性変異株の出現頻度が低いことがディスク法により示されている²¹⁾。このメカニズムとして, 両薬剤で何らかの作用機序の差が存在するためにDRPMとMEPMではカルバペネム耐性変異株出現頻度が異なり, その結果, 耐性化率が異なったのではないかと考えられている²¹⁾。カルバペネム系抗菌薬の中でもDRPMとMEPMはIPMとは異なり, PBP3への強い結合力を持つ。PBPへの結合親和性において, DRPMとMEPMではほぼ同程度の結果を示すが, 最も注目されるのは外膜蛋白であるMexAB-OprMであり, DRPMとMEPMの*P. aeruginosa*耐性株に対する抗菌力の差がこれら外膜蛋白の発現率によって左右されるのではないかと考えられる。DRPMがMEPM, IPMと同様にOprDの形成する孔を介して外膜を通過すること, またDRPMがMEPM同様MexAB-OprM排出タンパクにより排出されることが報告されている²²⁾, OprDの欠損及びMexAB-OprMの高産生によるDRPMの抗菌活性の低下がMEPMに比べると小さいため, 排出タンパクの薬剤認識機構に差が生じていると考えられる。

臨床現場におけるカルバペネム系抗菌薬の併用についてはMRSA感染症²³⁾, 血液疾患における感染症²⁴⁾, 呼吸器感染症における併用療法²⁵⁾が報告されている。このうち, 宍戸らは緑膿菌について臨床例でIPM/cilastatinとAMKに関する検討を実施しており, *in vitro*試験で相乗効果を示した組み合わせで, 臨床においても有効例であったことを確認していた²⁵⁾。DRPMは*P. aeruginosa*に対してTOBやAMKとの併用によって強い協力作用を示していることから, IPM耐性緑膿菌に対しても臨床においてもこれらの組み合わせで併用療法が行われることが期待される。

カルバペネム系抗菌薬は幅広い抗菌スペクトルを有しており, 切り札的に使われることも多い。したがって重症感染症であるcompromised hostに

使用されることも多く、実際の治療の場では併用療法が行われている場合もある。DRPMとアミノグリコシド系抗菌薬あるいはフルオロキノロン系薬との組み合わせにおいて協力作用が観察されていることから、今後必要に応じて適正な併用が行われることが望まれる。

引用文献

- 1) 遠藤理香, 石黒信久, 菊田英明: 多剤耐性緑膿菌による慢性気管支炎の増悪に静注用コリスチン製剤が有効であった嚢胞性繊維症の1例. 感染症学雑誌 79: 945~950, 2009
- 2) 荒岡秀樹, 馬場 勝, 他: 好中球減少患者の多剤耐性緑膿菌敗血症に対し薬剤併用療法が奏功した1例. 感染症学雑誌 82: 466~470, 2009
- 3) ANTON, Y. P.; F. CLARE, M. B. JAN, *et al.*: Dissemination of metallo- β -lactamase gene blaIMP-4 among Gram-negative pathogens in a clinical setting in Australia. Clin. Infect. Dis. 41: 1549~1556, 2005
- 4) BELLAIS, S.; O. MIMOZ, S. LEOTARD, *et al.*: Efficacy of β -lactams for treating experimentally induced pneumonia due to a carbapenem-hydrolyzing metallo- β -lactamase-producing strain of *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents Chemother. 6: 2032~2034, 2002
- 5) 野口 薫, 後藤直正: 緑膿菌の多剤耐性化の機序. 日本臨床 65 (増刊号 2): 457~462, 2007
- 6) FUJIMURA, T.; N. ANAN, G. SUGIMORI, *et al.*: Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Japan to doripenem and other antipseudomonal agents. Int. J. Antimicrob. Agents 34: 523~528, 2009
- 7) 吉田 勇, 藤村享滋, 伊藤喜久, 他: 各種抗菌薬に対する2004年臨床分離好気性グラム陰性菌の感受性サーベイランス. 日本化学療法学会雑誌 56: 562~579, 2008
- 8) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Sixteenth informational supplement (CLSI M100-S16, 2006)
- 9) Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard—seventh edition (CLSI M7-A7, 2006)
- 10) Clinical microbiology procedures handbook; second edition (ASM, 2004)
- 11) KALLEL, H.; M. BAHLOUL, L. HERGAFI, *et al.*: Colistin as a salvage therapy for nosocomial infections caused by multidrug resistant bacteria in the ICU. Int. J. Antimicrob. Agents 28: 366~369, 2006
- 12) GIAMARELLOU, H.: Treatment options for multidrug-resistant bacteria. Expert Rev. Anti-Infect. Ther. 4: 601~618, 2006
- 13) TSUJI, A.; I. KOBAYASHI, T. OGURI, *et al.*: An epidemiological study of the susceptibility and frequency of multiple-drug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated at medical institutes nationwide in Japan. J. Infect. Chemother. 11: 64~70, 2005
- 14) TRACZEWSKI, M. M. & S. D. BROWN: *In vitro* of doripenem against *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* isolates from both cystic fibrosis and non cystic fibrosis patients. Antimicrob. Agents Chemother. 50: 819~821, 2006
- 15) ERMERTCAN, S.; M. HOŞGÖR, Ö. TÜNGER, *et al.*: Investigation of synergism of meropenem and ciprofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* strains isolated from intensive care unit infections. Scand. J. Infect. Dis. 33: 818~821, 2001
- 16) ERDEM, I.; J. KAYNAR-TASCIOLU, B. KAYA, *et al.*: The comparison of *in vitro* effect of imipenem or meropenem combined with ciprofloxacin or levofloxacin against multi-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains. Int. J. Antimicrob. Agents 20: 384~386, 2002
- 17) 田坂勝視, 石田明人, 鎮西忠信: 近年分離緑膿菌に対するカルバペネム薬の抗菌活性およびカルバペネム薬とアミノ配糖体の *in vitro* 併用効果に関する検討. Jpn. J. Antibiotics 55:

- 181~186, 2002
- 18) 本田順一, 吉無田太郎, 他: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌に対する teicoplanin と各種抗菌薬の *in vitro* 併用効果。日本化学療法学会雑誌 52: 270~272, 2004
- 19) PANKUCH, G. A.; H. SEIFERT & P. C. APPELBAUM: Activity of doripenem with and without levofloxacin, amikacin, and colistin against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 67: 191~197, 2010
- 20) GUNNISON, J. B.; M. C. SHEVKY, J. A. BRUFF, *et al.*: Studies on antibiotic synergism and antagonism: The effect *in vitro* of combinations of antibiotics on bacteria of varying resistance to single antibiotics. *J. Bacteriol.* 66: 150~158, 1953
- 21) SAKYO, S.; H. TOMITA, K. TANIMOTO, *et al.*: Potency of carbapenems for the prevention of carbapenem-resistant mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Antibiot.* 59: 220~228, 2006
- 22) 三和秀明, 木村美司, 他: Doripenem の抗緑膿菌活性。日本化学療法学会雑誌 53 (S-1): 80~91, 2005
- 23) 橋本敦郎, 大坪孝和, 朝野和典, 他: MRSA 感染症に対する Arbekacin と Imipenem/Cilastatin との併用療法に関する検討。 *Jpn. J. Antibiotics* 47: 804~819, 1994
- 24) ROLSTON, K. V.; P. BERKEY, G. P. BODEY, *et al.*: A comparison of imipenem to ceftazidime with or without amikacin as empiric therapy in febrile neutropenic patients. *Arch. Intern. Med.* 152: 283~291, 1992
- 25) 穴戸晴美, 他: 呼吸器感染症に対する imipenem/cilastatin sodium と amikacin の併用療法に関する研究—*in vitro* 相乗効果ならびに臨床的有用性について—。 *Chemotherapy* 41: 1113~1124, 1993

In vitro combination effects of doripenem with aminoglycoside or ciprofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa*

NAOMI ANAN, SHINSUKE TOBA, AKINOBU ITO, RIO NAKAMURA and MASAKATSU TSUJI
Medicinal Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd.

This study evaluated the *in vitro* activity of combinations of doripenem (DRPM) with aminoglycosides (tobramycin or amikacin) or fluoroquinolone (ciprofloxacin) against 92 isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from 16 clinical facilities in 2004 in Japan. We also tested combination effect of other carbapenems (imipenem (IPM), meropenem, biapenem) with aminoglycosides or fluoroquinolone by checkerboard dilution methods. DRPM showed synergistic or additive effects with the aminoglycosides or the fluoroquinolone against 90% of the isolates. The combination of DRPM and aminoglycosides showed the strongest synergistic effects against IPM-intermediate resistant and IPM resistant strains among the tested combinations. These results suggested that combination of DRPM with aminoglycosides would be useful for the treatment of infections caused by *P. aeruginosa* including IPM-resistant strains.