

## AN *IN VITRO* STUDY OF AURAL INSTILLATION OF COMBINED ANTIBIOTICS FOR CHRONIC PURULENT OTITIS MEDIA

### — EVALUATION OF THE COMBINED USE OF FOSFOMYCIN AND DIBEKACIN FOR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND *PSEUDOMONOUS AERUGINOSA*—

Hisao Tanaka and Akio Imai

Department of Otolaryngology, Niigata University School of Medicine (Director; Y. Nakano, M. D.)

The combined use of fosfomycin (FOM) and dibekacin (DKB) was evaluated by the checkerboard titration method in seven strains of *Staphylococcus aureus* and eight strains of *Pseudomonous aeruginosa* isolated from otorrhea in chronic purulent otitis media. The combined antibiotics were markedly in 11 of 15 strains, with an FIC index was 0.344 for *S. aureus* and 0.320 for *P. aeruginosa*, showing a greater efficacy in the latter. The mean MIC in strains with an FIC index of more than 0.5 was 11.72 $\mu$ g/ml for FOM and 0.27 $\mu$ g/ml for DKB, whereas the corresponding values were 87.50 $\mu$ g/ml and 15.92 $\mu$ g/ml in

strains with an FIC index of less than 0.5. Thus, the combined use of the two antibiotics was pertinent, demonstrating a greater efficacy in clinically troubling, resistant strains. When MICs of 25 $\mu$ g/ml or more and 6.25 $\mu$ g/ml or more were regarded as representing resistance to FOM and DKB, respectively, seven strains were found to be resistant to both antibiotics. However, four of the seven (57%) became sensitive to both after combined administration.

Further study may include application in other topical treatment techniques (nebulizers, etc.).

## 慢性化膿性中耳炎に対する抗生物質併用点耳 療法のin vitroでの研究 (黄色ブドウ球菌および緑膿菌に対するホス ホマイシン、ジベカシン併用療法の評価)

新潟大学医学部耳鼻咽喉科学教室(主任 中野雄一教授)

田 中 久 夫・今 井 昭 雄

緒 言

全身的な抗生物質の併用療法は広く臨床に

応用されているが、局所での抗生物質の併用療法は、ほとんど行なわれていない。

併用療法の有用性から、局所治療の代表的な方法である慢性化膿性中耳炎に対する点耳療法にこれを応用することにより、より効果的な治療が期待できると考えられる。本論文ではその第一段階として慢性化膿性中耳炎の代表的な検出菌である黄色ブドウ球菌と緑膿菌を用いて、ホスホマイシン（以下FOMと略す）とジベカシン（以下DKBと略す）の併用効果をin vitroで評価した。なお、これは、DKBなどのアミノ配糖体系抗生物質は以前より臨床につかわれていたこと、FOMの点耳液も最近評価が定まり商品化が勧められている事を前提とした。

**対象および方法**

最近の慢性化膿性中耳炎の耳漏から検出された黄色ブドウ球菌7株、緑膿菌8株を用いた。

checkerboard titration methodを使い、FOMとDKBの併用効果を測定した。

checkerboard titration methodは抗生物質の併用効果を評価する標準的な方法であるが、黄色ブドウ球菌の症例1を例にその評価法を説明する（図1）。

**図1 黄色ブドウ球菌の症例1**

		FOM $\mu\text{g/ml}$														
		200	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.20	0.10	0.05	単独MIC	FOM
FOM	200	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--		6.25 $\mu\text{g/ml}$	
	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--		DKB	
	50	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	FOM FIC	0.25	
	25	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	DKB FIC	0.25	
	12.5	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	FIC index	0.50	
	6.25	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	この時のFOM	1.56 $\mu\text{g/ml}$	
	DKB	3.13	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	DKB	0.10 $\mu\text{g/ml}$	
DKB	1.56	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--				
	0.78	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--				
	0.39	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--				
	0.20	--	--	--	--	--	--	--	++	++	++	++				
	0.10	--	--	--	--	--	--	+	+	+	+	+				
0.05	--	--	--	--	--	--	+	+	+	+	+					

まずFOMとDKB単独でのMICを測定し、同時に両者併用時の発育阻止範囲をcheckerboard上に記録する。症例ではFOM単独のMICは6.25 $\mu\text{g/ml}$ 、DKB単独のMICは、0.39 $\mu\text{g/ml}$ であった。両者併用によりあらたに菌の発育が阻止されたところはcheckerboard上に太線で囲んで示してある。この部

分の各薬剤のMICを単独使用時のMICで割った値をFIC (fractional inhibitory concentration) といひ、FOMとDKBのFICを、FOM-FIC、DKB-FICとして計算によって求める。

(FOM-FIC)+(DKB-FIC)を各条件下で算出し、この値が最も小さくなる時、その値をFIC indexといひ、図ではその目を⊖で示す。FIC indexの判定基準は一般的に表1のごとくである。

**表1 FIC index と併用効果**

- FIC index  $\geq 1$  .....併用効果を認めず
- $1 > \text{FIC index} \geq 0.5$  .....弱い併用効果
- $0.5 > \text{FIC index} \geq 0.2$  .....強い併用効果
- $0.2 > \text{FIC index}$  .....非常に強い併用効果

図1の症例では併用によりあらたに菌の発育が阻止されたます目のうち、⊖で示したます目が最良の条件でFICが最も小さくなっている。この時FOM濃度は1.56 $\mu\text{g/ml}$ でDKB濃度は0.10 $\mu\text{g/ml}$ であった。したがって(FOM-FIC)=1.56/6.25=0.25、(DKB-FIC)=0.10/0.39=0.25、FIC index=0.5と計算される。表1の基準からして、弱い併用効果が認められると判定される。

**結 果**

黄色ブドウ球菌7株と緑膿菌8株の結果を、表2a, bにまとめた。おのおの単独使用でのMIC、併用時最も有効なおのおの濃度とFIC、FIC indexを示した。表1の判定基準に従い併用効果を表3にまとめた。どの株もFIC indexは1.0以下で併用効果を認めた。FIC indexが、1.0未満0.5以上のものが4株、0.5未満0.2以上が6株、0.2未満が5株であった。すなわちFIC index 0.5未満の強い併用効果をもつものは15株中11株(73%)であった。FIC index 0.5の黄色ブドウ球菌の症例1のcheckerboardは図1に示したので、強い併用効果を示した。

表2 a 黄色ブドウ球菌

	MIC(単独)		MIC(FICindex)		FIC		FICindex
	FOM	DKB	FOM	DKB	FOM	DKB	
1 23♂ L	6.25	0.39	1.56	0.1	0.25	0.25	0.50
2 74♀ R	3.13	0.1	0.78	0.05	0.25	0.50	0.75
3 56♀ R	6.25	0.78	0.78	0.10	0.125	0.125	0.25
4 49♀ R	50	6.25	12.5	0.38	0.25	0.063	0.313
5 62♂ L	100	12.5	12.5	0.78	0.125	0.063	0.188
6 58♀ L	200	25	25	3.13	0.125	0.125	0.25
7 48♂ R	200	100	25	3.13	0.125	0.031	0.156

表2 b 緑膿菌

	MIC(単独)		MIC(FICindex)		FIC		FICindex
	FOM	DKB	FOM	DKB	FOM	DKB	
1 54♀ L	12.5	0.39	3.13	0.10	0.25	0.25	0.50
2 43♂ R	50	0.78	6.25	0.20	0.125	0.25	0.375
3 61♀ R	200	12.5	25	0.20	0.125	0.016	0.141
4 29♂ R	50	12.5	6.25	0.78	0.125	0.063	0.188
5 32♀ L	6.25	3.13	1.56	0.05	0.25	0.125	0.375
6 48♂ R	50	6.25	3.13	0.10	0.063	0.016	0.078
7 72♂ R	50	0.39	1.56	0.10	0.031	0.25	0.281
8 68♀ R	25	0.20	3.13	0.10	0.50	0.125	0.625

表3

$FICindex \geq 1$  ..... 0株  
 $1 > FICindex \geq 0.5$  ..... 4株  
 $0.5 > FICindex \geq 0.2$  ..... 6株  
 $0.2 > FICindex$  ..... 5株  
  
 $0.5 > FICindex$  ..... 11株  
 (73%)

FIC index 0.25の黄色ブドウ球菌の症例3と、非常に強い併用効果を示したFIC index 0.078の緑膿菌の症例6を図2, 図3に例示する。図3の症例ではFOM, DKB 単独ではいずれのMICも高くこの緑膿菌はどちらにも耐性株である。しかし、併用により菌の発育は大きく阻止され、最良の条件での抗生物質濃度はFOM 3.13  $\mu\text{g/ml}$ , DKB 0.10  $\mu\text{g/ml}$ とどちらの抗生物質にも臨床的に感受性を示している。菌の種類別の併用効果を比較してみると、黄色ブドウ球菌のFIC indexの平均が0.344,

緑膿菌の平均が0.320となり、緑膿菌のほうがやや併用効果が強い傾向にあった。

FIC indexが0.5以上の株(黄色ブドウ球菌症例1,2,緑膿菌症例1,8)のFOMおよびDKBの単独のMICの平均は、それぞれ11.72  $\mu\text{g/ml}$ と0.27  $\mu\text{g/ml}$ であった。一方、0.5未満の株(黄色ブドウ球菌症例3,4,5,6,7,緑膿菌症例2,3,4,5,6,7)は、87.50  $\mu\text{g/ml}$ と15.92  $\mu\text{g/ml}$ であった。すなわち臨床的に問題となる耐性の株ほど、併用効果が大きい。

図2 黄色ブドウ球菌の症例3

	FOM $\mu\text{g/ml}$											単独のMIC	FOM	DKB	FIC	DKB FIC
	200	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.20					
200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.25 $\mu\text{g/ml}$	6.25	0.125	
100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.78 $\mu\text{g/ml}$	0.78	0.125	
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.125	0.125	0.125	
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.063	0.063	0.188	
12.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.031	0.031	0.281	
6.25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.016	0.016	0.625	
DKB 3.13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.10 $\mu\text{g/ml}$	0.10	0.125	
1.56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.05 $\mu\text{g/ml}$	0.05	0.125	
0.78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
0.39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
0.20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
0.10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

図3 緑膿菌の症例6

	FOM $\mu\text{g/ml}$											単独のMIC	FOM	DKB	FIC	DKB FIC
	200	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.20					
200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50 $\mu\text{g/ml}$	50	0.063	
100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.25 $\mu\text{g/ml}$	6.25	0.016	
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.063	0.063	0.016	
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.031	0.031	0.078	
12.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.016	0.016	0.625	
6.25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.10 $\mu\text{g/ml}$	0.10	0.125	
DKB 3.13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.05 $\mu\text{g/ml}$	0.05	0.125	
1.56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
0.78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
0.39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
0.20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
0.10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

考 察

(a) 併用療法によるMICの変化  
 FOMは、臨床的效果よりも実際のMICが高くなる事が知られている。つまり、MICが少々高くても臨床的には有効なものが多い。緑膿菌、黄色ブドウ球菌のFOMのMICは、3.13-12.5  $\mu\text{g/ml}$ に入るものが多い。DKBは、アミノ配糖体系抗生物質に属し、毒性の問題により高濃度の使用は限界がある。  
 このような理由で、各抗生物質で耐性と感受性を決めるMIC値は異なる。一般的には、

FOMは25 $\mu$ g/ml, DKBは6.25 $\mu$ g/mlを耐性株の基準とする。この基準を用いれば, 単独MICでは耐性株はFOMで10株, DKBで7株であったことになる。FOMとDKBの併用した最適条件では, 耐性株はFOMで3株, DKBで1株となった。つまり, FOMで7株, DKBで6株が感受性の株となった。しかも, 単独では両者が耐性のであった7株(黄色ブドウ球菌症例4,5,6,7, 緑膿菌症例3,4,6)についてみると, 併用により両者が感受性となったもの4株(57%), 片方が感受性となったもの2株であった。つまり, デスク法でFOM(-), DKB(-)とでも, この併用療法では50%以上で有効となると考えられる。

#### (b) FOMとDKBの併用療法について

抗生物質の併用療法を行う際に, 理想的な抗生物質の組合せとしては,

- (1) 相乗または相加的な併用効果があること
  - (2) お互いに耐性の移行がないこと
  - (3) 両者を混ぜても反応しないこと
  - (4) 毒性を軽減すること
  - (5) 抗菌スペクトラムが広がること
  - (6) 耐性菌に対して抗菌力が増すこと
- などが考えられる。

FOMとDKBはすでに全身投与で併用効果があることは知られている<sup>1)2)3)4)5)</sup>。また, FOMその分子構造が特異的で, 耐性のメカニズムもこれまでの抗生物質とは全く異なり, 他の抗生物質と交叉耐性はないといわれている<sup>6)</sup>。しかも両者は非常に安定な物質で混ぜてもほとんど反応は見られず, 長時間水解した状態でも使用可能と思われる。アミノ配糖体系抗生物質の腎毒性が, FOMを併用することにより軽減されることは知られている<sup>7)</sup>。最近では, 聴器毒性も軽減する可能性があることが動物実験で示唆されてきた<sup>8)</sup>。しかし, 直接的な内耳に対する作用なのか, 腎を介した二次的作用なのかは, 不明である。以上FOMと

組合せは, 併用療法としては理想的な組合せDKBのといえる。

#### (c) 局所療法について

局所療法剤としての理想的な条件としては,

- (1) 高頻度に検出される菌に対して有効であること
- (2) 局所の刺激性がないこと
- (3) 長時間溶解した状態でも安定であること
- (4) 内耳毒性が低いこと

などである。

DKBは, 内耳毒性に問題があるが, その他の点では本条件に適合しており, すでに臨床で使用されている。前に述べたように, FOMと併用することにより併用効果が大きければ, DKBの濃度を下げることが可能と思われる。DKBのFOM併用による内耳毒性の軽減作用が, もしも内耳に対する直接的な作用であれば, さらに毒性の軽減が可能となろう。

FOMは, 点耳液としてわずかな局所刺激性のほかは, 局所療法剤として問題はなく, 点耳液として商品化も進められている。この局所刺激性も, FOMの分子量の低さからくる浸透圧に起因すると言われており, 溶媒の工夫や使用濃度などを考えれば解決されよう。

### ま と め

慢性化膿性中耳炎より検出された黄色ブドウ球菌および緑膿菌について, FOMとDKBのcheckerboard titration methodを使ってのin vitroで検討した結果, 大きな併用効果を認めた。

とくに, FOM, DKB共に臨床的に耐性の7株では, 併用により4株(57%)に両者の臨床使用濃度で発育を阻止できた。併用薬としても, 局所療法薬としてもDKBの内耳毒性の他には両者に問題は少なく, 多剤耐性の難治性症例の増加している今日では, 利用すべき治療法と言えよう。今後さらにFOMとDKBの最適な濃度を検討した上で, DKBの内耳毒性

を考えたとき併用効果により使用濃度下げられても、当面は経口抗生物質が効きにくい、多剤耐性、難治性の症例を選択し臨床応用を計りたい。

本方法は、それほど内耳毒性を考慮しなくてもよい、ネブライザーなどの他の局所療法にも応用も考えております。更に、今回は薬剤の水解時の安定性、保存性を重視しDKBとの併用を考えたが、FOMは他のほとんどの抗生物質と併用効果があるといわれており、やや安定性にかけるが内耳毒性の少ないセフェム系やペニシリン系抗生物質との組合せでも効果が期待でき応用できそうである。

#### 文 献

- 1) 大久保晃他：FosfomycinとDibekacinとの併用療法の臨床的検討，基礎と臨床，15：143～150，1981
- 2) 河田幸道他：複雑性尿路感染症に対するFosfomycinとDibekacinの併用投与の検討，泌尿紀要，28：973～980，1982
- 3) 青沼清一他：FosfomycinとDibekacinの各種病原細菌に対するin vitro併用効果および呼吸器感染症に対する臨床的検討，CHEMOTHERAPY，30：781～785，1981
- 4) 川口広他：化学療法剤の併用に関する研究(特にFosfomycinとDibekacinの併用について)，CHEMOTHERAPY，29：1073，1981
- 5) 川村芳秋他：小児感染症に対する静注用Fosfomycin-NaとPanimycinの併用療法の効果，基礎と臨床，15：271～275，1981
- 6) 藤井良知：所謂広域抗菌剤を中心として(第30回日本化学療法学会総会 記念シンポジウム)，CHEMOTHERAPY，31：2～6，1983
- 7) 中野修道他：泌尿器疾患に対するFosfomycin，アミノ配糖体の単独および併用による腎機能への影響—特にパラメータとしてのNAG活性値について—，西日本泌尿器科，46：815～824，1984
- 8) 大槻好正他：アミノ配糖体系抗生剤による聴器障害に対するFosfomycinの軽減作用とその機序に関する研究，日耳鼻，86：1487～1496，1983