

Fig. 4 Combination effect of T-1220 or CBPC and GM against *S. marcescens* W-24

		T-1220 ($\mu\text{g/ml}$)								CBPC ($\mu\text{g/ml}$)									
		12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.2	0.1	0	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0
GM ($\mu\text{g/ml}$)	6.25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3.13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fig. 5 Combination effect of T-1220 or CBPC and GM against *S. marcescens* W-25

		T-1220 ($\mu\text{g/ml}$)								CBPC ($\mu\text{g/ml}$)									
		800	400	200	100	50	25	12.5	6.25	0	800	400	200	100	50	25	12.5	6.25	0
GM ($\mu\text{g/ml}$)	6.25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3.13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fig. 6 Bactericidal effect of GM and T-1220 or CBPC singly and in combination against *P. aeruginosa* S-68

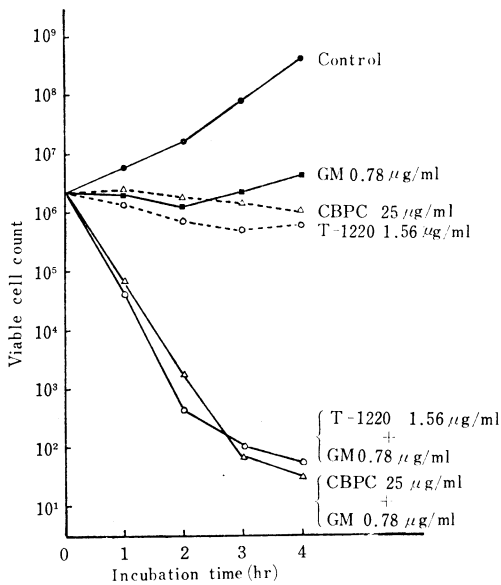
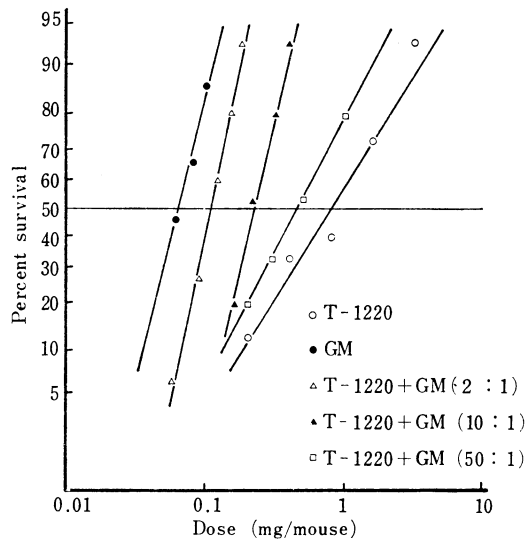


Fig. 7 Survival rate of *P. aeruginosa* S-68 infected mice treated with T-1220 and GM singly or in combination



10^5 個 (9.2 LD_{50}) の菌を 1 群 15 匹の SLC/ICR 系マウス (体重 $19 \pm 1 \text{ g}$) に腹腔内接種した。T-1220 の場合は、菌接種後 1 時間および 2 時間の 2 回分割、GM の場合は、菌接種後 2 時間に 1 回背部皮下投与を行ない、7 日間マウスの生死を観察し、生存率から ED_{50} および信頼限界を LITCHFIELD-WILCOXON の方法により算出した⁹⁾。

II. 実験結果および考察

1. 抗菌力による併用効果の検討

T-1220 に対する感受性の異なる *P. aeruginosa* および *S. marcescens* のそれぞれ 25 株を用いて、Chequer board 法により、T-1220 と GM の併用効果を CBPC と GM の

併用効果と比較検討した。薬剤の最高濃度は、T-1220、CBPC は $800 \mu\text{g/ml}$ 、GM は $200 \mu\text{g/ml}$ とした。

Fig. 2, 3 に *P. aeruginosa* の T-1220 感受性および非感受性の 2 株の結果を示した。

T-1220 感受性である *P. aeruginosa* S-68 では T-1220、CBPC とともに GM との協力作用が認められたが、T-1220 は CBPC の $1/8$ の濃度で同程度の協力作用を示した。他の感受性菌でも同様な結果が得られた。いっぽう、T-1220 非感受性の *P. aeruginosa* S-21 の場合は、T-1220 のみに協力作用が認められ、CBPC は MIC が $800 \mu\text{g/ml}$ 以上であり、協力作用も認められなかった。T-1220 の

MICが100 μ g/ml以上の他の3株においても、T-1220では協力作用が認められたのに対し、CBPCではすべてMICが800 μ g/ml以上であり、協力作用は認められなかった。25株中顕著な協力作用が認められた株はT-1220で18株(72%)、CBPCで11株(44%)であった。

Fig. 4, 5に*S. marcescens*のT-1220の感受性および非感受性の2株の結果を示した。T-1220は*S. marcescens* W-24およびW-25の両株にGMとの協力作用が認められたのに対し、CBPCではW-24にのみ協力作用が認められ、W-25では拮抗作用がみられた。他の感受性菌ではT-1220, CBPCともに協力作用が認められた。いっぽう、T-1220のMICが100 μ g/ml以上の13株では、T-1220のみに協力作用が認められ、CBPCはすべてMICが800 μ g/ml以上で協力作用は認められず、拮抗作用のみみられた株が8株あった。25株中顕著な協力作用の認められた株は、T-1220では11株(44%)、CBPCでは4株(16%)であった。

2. 殺菌力による併用効果の検討

Fig. 6にT-1220, CBPC, GMの単独および併用時の*P. aeruginosa* S-68に対する殺菌曲線を示した。単独では菌的に作用する濃度でも、T-1220とGMを併用することにより殺菌的に作用した。CBPCでも同様の併用効果が認められたが、その濃度は25 μ g/mlでありT-1220の32倍を必要とした。

3. マウス実験的感染症に対する併用効果

T-1220, GMの単独および併用のマウス実験的感染症に対する治療効果についてFig. 7に生存率、Table 1にED₅₀を示した。併用効果が相加的であるか、相乗的であるかを検討するため、川上ら⁹⁾の方法によって相乗比およびその信頼限界を計算し、その結果をTable 2に示した。相乗比が1以上であれば相乗効果、1であれば相加効果であると考えられる。T-1220とGMの比を2:1および10:1にした場合、95%の信頼度で、相乗比は1以上で相乗効果が認められた。T-1220とGMの比を50:1にした場合は、相加ないしは相乗効果であると考えられる。以上のように*in vitro*と同様、マウス実験的感染症に対してもT-1220とGM間に協力作用が認められた。

Table 1 Protective effect of T-1220, GM and combinations on *P. aeruginosa* S-68 infection in mice

Groups	Antibiotics	Combination ratio	Determined ED ₅₀ (D _d) (mg/mouse)	Confidence limits (P=0.05)
1	T-1220		0.82	1.27 ~0.53
2	GM		0.064	0.080~0.051
3	T-1220+GM	2:1	0.11	0.13 ~0.10
4	T-1220+GM	10:1	0.21	0.24 ~0.18
5	T-1220+GM	50:1	0.46	0.64 ~0.33

Table 2 Synergistic ratio of therapeutic effect of combined antibiotics

Combination ratio of T-1220 and GM	Hypothetical ED ₅₀ (D _a)* (mg/mouse)	Confidence limits (P=0.05)	Synergistic ratio (D _a /D _d)	Confidence limits (P=0.05)
2:1	0.16	0.20~0.13	1.5	2.0 ~1.2
10:1	0.46	0.55~0.29	1.9	2.7 ~1.3
50:1	0.67	1.0 ~0.45	1.5	2.5 ~0.89

*Hypothetical ED₅₀ in which additive effect of combined antibiotics assumed

結 論

T-1220とGMの併用効果について、*P. aeruginosa*, *S. marcescens*を用いて*in vitro*および*in vivo*において検討した。*in vitro*抗菌力では他の合成ペニシリンと同様、GMとの間に協力作用が認められ、*P. aeruginosa*では72%、*S. marcescens*では44%の株に顕著な協力作用がみられた。対照として用いたCBPCでは、同様の協力作用の認められた株は*P. aeruginosa*で44%、*S. marcescens*では16%であった。T-1220は*P. aeruginosa*に対する殺菌力においてもGMとの間に協力作用を示し、その濃度はCBPCの1/16であった。*P. aeruginosa*を用いたマウス実験的感染症に対しても、T-1220はGMとの間に顕著な協力作用を示した。

稿を終わるにあたり、貴重な菌株を分与していただいた富山市民病院研究検査科、高柳尹立博士ならびに岩城護先生に心から御礼申し上げます。

文 献

- 1) MITSUHASHI, S.; I. SAIKAWA & T. YASUDA: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities on a new synthetic penicillin T-1220. 16th Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemoth. Abstr. 349, 1976, Chicago
- 2) SMITH, C. G.; P. E. DANS, J. N. WILFERT & M.

- FINLAND: Use of gentamicin in combinations with other antibiotics. *J. Infect. Dis.* 119 : 370~377, 1969
- 3) SONNE, M. & E. JAWETZ: Combined action of carbenicillin and gentamicin on *Pseudomonas aeruginosa* *in vitro*. *Appl. Microbiol.* 17: 893~896, 1969
 - 4) EICKHOFF, T. C. : *In vitro* effect of carbenicillin combined with gentamicin or polymixin B against *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Microbiol.* 18 : 469~473, 1969
 - 5) ANDRIOL, V. T. : Synergy of carbenicillin and gentamicin in experimental infection with *Pseudomonas*. *J. Infect. Dis.* 124 : 46~55, 1971
 - 6) YUCE, K. & C. E. van ROOYEN : Carbenicillin and gentamicin in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Canad. Med. Assoc. J.* 105: 919~922, 1971
 - 7) NAKAZAWA, S.; T. NISHINO, M. OTSUKI, M. NAKANO & T. NOMURA : Bacteriological studies on the combined action of aminoglycoside antibiotics and synthetic penicillins against *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Antibiotics* 27: 989~991, 1974
 - 8) LITCHFIELD, J. T. & F. WILCOXON : A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. & Exp. Therp.* 96 : 99~113, 1949
 - 9) KAWAKAMI, M.; Y. NAGAI, S. SHIMIZU & S. MITSUHASHI : Anti-microbial effect of combinations of colistin methanesulfonate and chloramphenicol. I. *In vitro* effect. *J. Antibiotics* 24 : 884~891, 1971

COMBINED ACTION OF T-1220 AND GENTAMICIN AGAINST *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* AND *SERRATIA MARCESCENS*

ISAMU SAIKAWA, TAKASHI YASUDA, MASARU TAI,
MASAHIRO TAKAHATA, HISATSUGU TSUDA, and MICHIKO NAKAGAWA
Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.

The combination of T-1220 and Gentamicin enhanced the antibacterial activity *in vitro* against clinically isolated strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens*. Bactericidal activity against *P. aeruginosa* S-68 was enhanced by combining the two antibiotics.

Synergistic activity of the two antibiotics was also observed in protective effect against experimental infection in mice by *P. aeruginosa* S-68.