

実験的緑膿菌感染に対する Latamoxef と Tobramycin の併用効果

嶋田甚五郎・斎藤 篤・柴 孝也・山路武久・井原裕宣

北条 敏夫・加地正伸・三枝幹文・宮原 正

東京慈恵会医科大学第2内科

三和 秀明・堀 賢司・松浦 真三

塩野義製薬株式会社研究所

(昭和 58 年 6 月 9 日受付)

緑膿菌に対する Latamoxef (LMOX) と Tobramycin (TOB) の併用効果について主として *in vivo* 実験の立場から検討を行なった。

臨床分離の緑膿菌 4 株に対する試験管内併用試験を種々の実験条件で検討した結果、液体希釈法で高菌量接種の場合に、より強い併用効果を示す傾向を示し、これら 4 菌株に対して相乗効果が認められた。

上記 4 株を接種菌とするマウス腹腔内感染症に対する両剤の併用効果を LMOX : TOB = 10 : 1 で検討した結果、いずれの菌株による感染においても優れた相乗効果を示した。また、腹腔内生菌数の経時的追跡結果からも併用投与による殺菌作用の増強が認められた。

併用効果に及ぼす諸因子の影響を検討した結果、薬剤投与の時期が遅れても効果が認められること、接種菌量には影響されないこと、および、それぞれ単独の ED_{50} 付近の組み合わせを中心に広範囲の配合比において相乗効果を示すことが確認された。

Cyclophosphamide 処理による白血球減少マウスを用いた感染系においても、両剤の有意な相乗効果が認められた。

緑膿菌は白血病患者をはじめとする各種免疫能低下症例に重篤な感染症をひき起こす起炎菌として注目されている。臨床においてはこれらの感染症に対して、 β -lactam 系抗生物質と Aminoglycoside 系抗生物質の併用療法が賞用されており、また、緑膿菌に対する両抗生物質の *in vitro*¹⁻³⁾ および *in vivo*⁴⁻⁸⁾ 併用効果に関する報告は数多くなされている。今回、我々は β -lactam 剤として LMOX, Aminoglycoside 剤として TOB を選び、緑膿菌に対する両剤の併用効果について主としてマウスの腹腔内感染系を用いて検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

1) 使用動物：SLC-ICR の 5 週齢、雌マウス、体重 19~23 g を用いた。

2) 使用薬剤：Latamoxef (LMOX；塩野義製薬) および Tobramycin (TOB；塩野義製薬) を用いた。

3) 使用菌株：研究室保存の臨床分離由来緑膿菌の中からマウスの腹腔内感染に対して病原性が確認された *Pseudomonas aeruginosa* PS-24, PA-2, PA-20 および PA-116 の 4 菌株を使用菌として選択した。

4) *In vitro* 併用効果の測定：Heart infusion agar

(HIA；栄研) を用いた寒天平板希釈法ならびに Heart infusion broth (HIB；栄研) を用いた液体希釈法により MIC を求めた。0.4% KNO_3 を含む Trypto-soy broth (TSB；栄研) を増菌用培地として 37°C、一夜培養した菌液を、寒天平板希釈法では HIB で 10^8 および 10^4 CFU/ml に調整し、その一白金耳を薬剤の倍数希釈濃度を含む平板に接種した。いっぽう、液体希釈法では 10^8 および 10^4 CFU/ml に調整して薬剤希釈液と等量混合し、37°C、18 時間培養後 MIC を求めた。LMOX と TOB の併用効果は両薬剤の希釈系列を種々の組み合わせで混合する。いわゆる Checker board titration 法を採用し、ELION ら⁹⁾の方法に従って Fractional inhibitory concentration (FIC) index を次式によって求め、その値が ≤ 0.5 の場合に相乗効果ありと判定した。

$$FIC \text{ index} = \frac{\text{併用時の LMOX の MIC}}{\text{単独時の LMOX の MIC}}$$

$$+ \frac{\text{併用時の TOB の MIC}}{\text{単独時の TOB の MIC}}$$

5) 感染および治療試験

i) 正常マウス：緑膿菌を 5% ムチン (ICN Phar-

maceuticals Inc.) に懸濁し、その 0.5 ml を腹腔内に接種した。なお、接種菌量は Table 2 に示す通りである。併用治療の際は、投与直前に LMOX と TOB を混合した。1 群 5 匹のマウスを使用し、3 ないし 4 回の繰返し実験を行ない、接種 7 日後の生存率より Probit 法で 50 % 有効量 (ED₅₀) を算出し、前述の FIC index の計算を応用して次式により Fractional effective dose (FED) index を求め、その値が ≤0.7 の場合相乗効果ありと判定した。

FED index =
$$\frac{\text{併用時の LMOX の ED}_{50}}{\text{単独時の LMOX の ED}_{50}} + \frac{\text{併用時の TOB の ED}_{50}}{\text{単独時の TOB の ED}_{50}}$$

ii) 白血球減少マウス：Cyclophosphamide (エンドキサン：塩野義製薬) 250 mg/kg を腹腔内に投与して血液内白血球が最低値に達する 4 日目を緑膿菌接種時期に選んだ。この場合に限り、菌液はムチンを添加せずに腹腔内に接種した。治療試験ならびに効果の判定は、前述の正常感染と同様に行なった。

6) 腹腔内生菌数の測定：1 群 5 匹のマウスを使用し、腹腔内接種 1 時間後に薬剤を投与したのち、経時的にマウスを屠殺し、HIB 2.5 ml を腹腔内に注入して洗浄後、回収した洗浄液について 1% にスキムミルクを含む HIA 培地を用いて定量培養を行ない生菌数を求めた。

II. 実験成績

1. In vitro 併用効果

液体希釈法ならびに寒天平板希釈法を用いて測定した場合の使用菌に対する LMOX と TOB の MIC、および Checker board titration の結果から求められた最小 FIC index を Table 1 に示した。緑膿菌 4 菌株に対する TOB 単独の MIC は assay 方法あるいは接種菌量の多寡にかかわらず常に 0.78~1.56 μg/ml を示したが、これに対して LMOX の MIC は、接種菌量の影響を受けやすく、特に液体希釈法では著明であった。両剤を併用すると、いずれかの方法においては、すべての菌に対して FIC index が ≤0.5 となり相乗効果が認められた。このうち、PA-116 を除いた各菌株に対する FIC index は液体希釈法で高菌量を接種した場合に最小となり優れた相乗効果を示した。これに反して PA-116 に対する相乗効果は寒天平板希釈法の場合に優れており、しかもいずれの assay 法でも接種量に影響されなかった。

2. 各菌株に対する in vivo 併用効果

前述の in vitro 併用試験に用いられた 4 菌株をそれぞれマウスの腹腔内に接種したのち、1 時間後に両剤の単独または混合液を 1 回皮下投与して得られた ED₅₀ 値ならびに FED index を Table 2 に示した。併用比は両剤の臨床常用量より LMOX：TOB=10：1 に定めた。各感染系に対する FED index は PS-24；0.38, PA-2；0.49, PA-20；0.46, PA-116；0.37 を示し、いずれの感染系に対しても in vitro 同様に優れた相乗効果を示した。

3. 腹腔内生菌数の消長

感染菌として PS-24 を用い、LMOX, TOB 各単独あ

Table 1 In vitro synergistic effect of LMOX and TOB against four strains of *P. aeruginosa*

Strain	Broth dilution				Agar dilution			
	Inoculum size (CFU/ml)	MIC (μg/ml)		Minimum FIC index	Inoculum size (CFU/ml)	MIC (μg/ml)		Minimum FIC index
		LMOX	TOB			LMOX	TOB	
PS-24	10 ⁴	12.5	0.78	0.56	10 ⁶	12.5	0.78	0.63
	10 ⁶	50	1.56	0.31	10 ⁸	25	0.78	0.50
PA-2	10 ⁴	12.5	0.78	0.50	10 ⁶	12.5	0.78	0.50
	10 ⁶	100	0.78	0.25	10 ⁸	25	0.78	0.50
PA-20	10 ⁴	12.5	0.78	0.75	10 ⁶	6.25	0.78	1.00
	10 ⁶	800	1.56	0.09	10 ⁸	12.5	1.56	0.56
PA-116	10 ⁴	25	0.78	0.50	10 ⁶	12.5	1.56	0.38
	10 ⁶	50	1.56	0.50	10 ⁸	50	1.56	0.38

FIC (fractional inhibitory concentration) index

=
$$\frac{\text{MIC of LMOX in combination}}{\text{MIC of LMOX in single}} + \frac{\text{MIC of TOB in combination}}{\text{MIC of TOB in single}}$$

Table 2 Synergistic effect of LMOX and TOB against intraperitoneal infections with four strains of *P. aeruginosa* in mice

Strain	Challenge dose (CFU/mouse)	Challenge LD ₅₀	Mucin	ED ₅₀ (mg/kg)			FED index
				LMOX	TOB	LMOX+TOB (10:1)	
PS-24	3×10 ⁴	110	+	38.9	1.53	4.21+0.42	0.38
PA-2	1×10 ⁶	80	+	852	2.46	10.9+1.09	0.49
PA-20	4×10 ⁵	110	+	76.1	5.72	16.0+1.60	0.46
PA-116	7×10 ⁶	140	+	257	12.5	30.7+3.07	0.37

Antibiotics were administered subcutaneously at 1 hr. after infection.

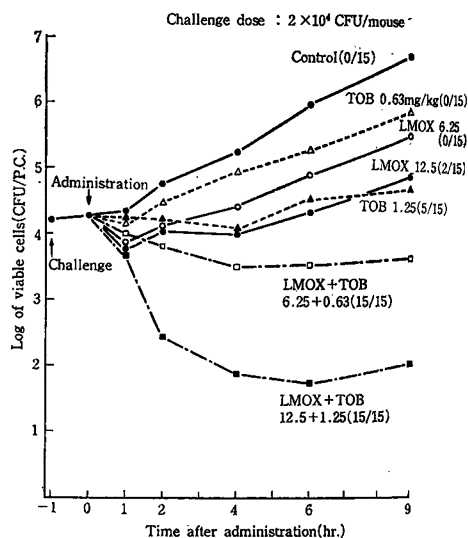
FED (fractional effective dose) index

$$= \frac{\text{ED}_{50} \text{ of LMOX in combination}}{\text{ED}_{50} \text{ of LMOX in single}} + \frac{\text{ED}_{50} \text{ of TOB in combination}}{\text{ED}_{50} \text{ of TOB of single}}$$

るいは併用投与後の腹腔内生菌数を経時的に測定し、その成績を Fig. 1 に示した。TOB 0.63 mg/kg 単独投与では、投与1時間後まで静菌的に作用するが、その後対照群と同様に増殖し全例死亡した。TOB 1.25 mg/kg 投与では、9時間まで静菌的に作用するが、その後は、菌が増殖するマウスと減少するマウスに分かれ、感染7日後の生存率は33%であった。いっぽう、LMOX 6.25, 12.5 mg/kg 単独投与では、それぞれ投与後4, 6時間まで静菌的に作用するが、その後菌は再増殖し、マウスの生存率はそれぞれ0, 13%であった。このような、単独投与で静菌作用を示す濃度の組み合わせで両剤を併用すると強い殺菌作用が認められ、特に LMOX+TOB=12.5+1.25 mg/kg の併用では投与4時間後までに、10 CFU/ml のレベルにまで菌数が減少し、生存率は100%であった。さらに、LMOX+TOB=6.25+0.63 mg/kg と投与量を減少させても4時間後には 10³ CFU/ml のレベルに菌数が減少し、その後同様の菌数を維持して全例生存した。

4. 併用効果に及ぼす諸因子の影響

1) 投与時期の影響：*P. aeruginosa* PS-24 感染系を用い、菌接種1, 2あるいは6時間後に1回投与して併用効果に及ぼす投与時期の影響について検討した成績を Table 3 に示した。LMOX 単独投与では、投与時期が遅れるに従って治療効果は低下し、6時間後投与の ED₅₀ 値は 565 mg/kg で1時間後投与に比べ約 15 倍上昇した。これに対して TOB 単独の ED₅₀ 値は投与時期にかかわらず 1.48~2.24 mg/kg と変動がわずかであった。いっぽう両剤の併用では、1, 2あるいは6時間後投与の FED index はそれぞれ 0.38, 0.34 および 0.47 を示し、いずれの投与時期においても相乗効果が認められた。

Fig. 1 Bactericidal activity of LMOX and TOB against *P. aeruginosa* PS-24 in peritoneal cavity of mice

Numbers in parentheses indicate the survival ratio at 7th day after infection (survival/treated).

2) 接種菌量の影響：前述の *in vitro* 試験において、高菌量接種の際に併用効果 (FIC) が改善される傾向を認めたので、PS-24 および PA-20 を感染菌に選び、併用効果に及ぼす接種菌量の影響について検討し、その成績を Table 4 に示した。LMOX 単独の治療効果は接種菌量の増加に伴って大きく影響され、PS-24 では 1/20, PA-20 では 1/60 に低下した。これに対して、TOB の効果は影響が少なく、両感染系とも高々 1/3 の低下にとどまった。いっぽう両剤を併用すると、高菌量接種の場合の FED index は PS-24 ; 0.67, PA-20 ; 0.59 となり、

Table 3 Effect of administration time on synergistic action of LMOX and TOB against *P. aeruginosa* PS-24 in mice

Administration time (hr)	ED ₅₀ (mg/kg)			FED index
	LMOX	TOB	LMOX+TOB (10 : 1)	
1	38.9	1.53	4.21+0.42	0.38
2	59.6	1.48	4.02+0.40	0.34
6	565	2.24	10.2+1.02	0.47

Mice were infected intraperitoneally with 3×10^4 CFU/mouse of *P. aeruginosa* PS-24 in 5% mucin.

Table 4 Effect of challenge dose on *in vivo* synergistic action of LMOX and TOB

Strain	Challenge dose (CFU/mouse)	ED ₅₀ in single		ED ₅₀ in combination	FED index
		LMOX	TOB	LMOX+TOB	
PS-24	2×10^4	66.1	1.47	4.86+0.49	0.41
	2×10^6	1180	4.02	26.1+2.61	0.67
PA-20	1×10^5	35.2	3.53	10.5+1.05	0.60
	1×10^7	2250	10.7	59.8+5.98	0.59

Mice were infected intraperitoneally with test organism 5% mucin. Antibiotics were administered subcutaneously at 1 hr. after infection. ED₅₀ value was expressed in mg kg.

Table 5 Effect of combination ratio on *in vivo* synergistic action of LMOX and TOB

Combination ratio	ED ₅₀ (mg/kg)	FED index
LMOX : TOB	LMOX+TOB	
Single	54.0	
Single	1.29	
2.5 : 1	2.14+0.86	0.71
5 : 1	3.72+0.74	0.64
10 : 1	4.91+0.49	0.47
20 : 1	7.46+0.37	0.43
40 : 1	14.1+0.35	0.53
80 : 1	17.7+0.22	0.50
160 : 1	23.1+0.14	0.54
320 : 1	32.4+0.10	0.68

Mice were infected with *P. aeruginosa* PS-24 in 5% mucin.

Antibiotics were administered subcutaneously at 1 hr. after infection.

低菌量接種時の 0.41, および 0.60 に比べ併用効果の増強は特に認められず, *in vitro* の成績とは必ずしも平行しなかった。

3) 併用比の影響: 感染菌として PS-24 を用い, 併用効果に及ぼす両剤の併用比について, LMOX : TOB = 2.5 : 1 から 320 : 1 の範囲で検討し, その結果を Table 5 に示した。用いたほとんど総ての併用比でも有意の相乗効果を示し, 特に両剤の単独 ED₅₀ の比である 40 : 1 を中心とした 5 : 1 から 320 : 1 の範囲では 0.7 以下の FED index を示して強い相乗効果が認められた。

5. 白血球減少マウスにおける併用効果

Cyclophosphamide 250 mg/kg で 4 日前に前処理したマウスに, PS-24 の 2×10^3 および 2×10^4 CFU をムチン非添加で腹腔内に接種したのち, 1 時間後に LMOX : TOB = 10 : 1 の併用比で皮下投与し, 白血球減少マウスの感染に対する併用効果を検討した。その成績を Table 6 に示す。LMOX 単独の治療効果はその ED₅₀ 値に見られるように, 正常感染のそれに比べて著

Table 6 Synergistic effect of LMOX and TOB against intraperitoneal infection with *P. aeruginosa* PS-24 in cyclophosphamide treated mice

Challenge dose (CFU/mouse)	Mucin	ED ₅₀ (mg/kg)			FED index
		LMOX	TOB	LMOX+TOB (10:1)	
2×10 ³	—	1290	1.70	10.8+1.08	0.64
2×10 ⁴	—	>2000	3.76	25.2+2.52	<0.68

Cyclophosphamide (250 mg/kg) was administered at 4 days before infection.

Antibiotics were administered subcutaneously at 1 hr. after infection.

しく低下するが、両剤の併用では FED index が 0.64, 0.68 の値を示し、接種菌量の多寡にかかわらず有意の相乗効果が認められた。

III. 考 察

臨床由来の緑膿菌 4 菌株に対する LMOX と TOB の併用効果について *in vitro* では Checker board titration で、*in vivo* では正常マウスあるいは白血球減少マウスを用いた腹腔内感染系によって検討を行なった。

緑膿菌に対する β -lactam 剤と Aminoglycoside 剤の *in vitro* 併用効果に関しては古くから CBPC+GM 等の組み合わせで数多く報告され、また、最近 LMOX についても TOB¹¹⁾ あるいは GM¹²⁾ との組み合わせで相乗効果が報告されている。今回我々は液体希釈法あるいは寒天平板希釈法を用い接種菌量を変えて併用効果を検討した結果、assay 方法ならびに接種菌量により FIC index が変動することを見出した。即ち、PA-116 を例外とすれば、液体希釈法で高菌量を接種した場合に、より優れた相乗効果を認めた。MOELLERING ら¹⁰⁾も測定法の差異による併用効果の discrepancy について報告しているが、*in vitro* 併用効果の測定に際しては、何らかの基準設定を考慮する必要があると思われる。

in vivo 併用効果に関しても CBPC+GM をはじめとしていくつかの報告がなされている⁴⁻⁸⁾。我々は *in vitro* で併用効果が認められた緑膿菌 4 菌株を用い、マウス腹腔内感染に対する LMOX+TOB の併用効果を検討した結果、いずれの菌株に対しても FED index は 0.5 以下を示し、*in vitro* 同様 *in vivo* 試験においても両剤は優れた相乗効果を示すことが確認された。PS-24 感染系について腹腔内生菌数の消長を検討した結果、各々単独では静菌的にしか作用しない投与量を併用すると強い殺菌作用が認められ、このことが両剤の相乗効果の発現に大きく関与するものと思われる。

感染条件ならびに投与条件を種々に変えて、*in vivo*

併用効果に及ぼす諸因子の影響を観察した成績から、LMOX+TOB の併用効果は、投与開始時期が遅れても十分に認められること、接種菌量にあまり影響されないこと、ならびに LMOX と TOB のそれぞれ単独 ED₅₀ の比を中心として極めて広範囲の併用比において相乗効果が認められ、臨床常用比の 10:1 でも十分に併用効果を期得し得ることが確認された。

緑膿菌は元来弱毒菌であるが、癌患者や白血病患者のような immuno-compromised host に重篤な感染をひき起す、いわゆる opportunistic infection の原因菌である。今回の Cyclophosphamide 前処理によって白血球数を正常の約 1/5 以下に減少せしめたマウスでの感染に対し、LMOX と TOB の併用は正常マウスの感染に比べれば若干その効果は劣るとはいえ、FED index から見て有意の相乗効果を示したことは、このような難治性疾患に対しても両剤の併用が効果的であることを示唆するものと考えられる。SCOTT ら¹¹⁾は白血球減少ラットの緑膿菌感染で CBPC+GM の相乗効果を報告し、また、SANDE ら¹²⁾は白血球減少マウスを用いた治療実験で immuno-compromised host では、薬剤の殺菌作用がその効果を左右すると報告しているところから、LMOX+TOB の有効性は、緑膿菌に対する LMOX の静菌的作用が TOB との併用によって殺菌作用に移行することに起因するものであり、臨床での併用効果もまた十分に期待されるものと考えられる。

日本化学療法学会感受性測定法¹³⁾を用いた吉田ら¹⁴⁾の報告によれば、低菌量接種時に LMOX の緑膿菌に対する MIC 値は臨床分離 112 株中 102 株 (91%) が 50 μ g/ml 以下であり、その peak は 25 μ g/ml である。今回の実験に用いられた緑膿菌 4 株に対する LMOX の MIC 値は寒天平板希釈、10⁶ CFU/ml 接種で 6.25~12.5 μ g/ml であることからすべてこの範囲に入り、したがってこの範囲の MIC 値を示す緑膿菌に対しては併用

効果が十分に期待しうるものと考えられる。

文 献

- 1) LAWRENCE, M. & W. LAWRENCE DREW : Comparative synergistic activity of cefoperazone, cefotaxime, moxalactam, and carbenicillin, combined with tobramycin, against *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents & Chemother. 19 : 332~334, 1981
- 2) SKALOVA, R.; D. HAJSIG & S. SMERDEL : Interaction of moxalactam and gentamicin : *in-vitro* study with strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. J. Antimicrob. Chemother. 9 : 103~109, 1982
- 3) PEREA, E. J.; M. C. NOGALES, J. AZNAR, E. MARTIN & M. C. IGLESIAS : Synergy between cefotaxime, cefsulodin, azlocillin, mezlocillin and aminoglycosides against carbenicillin resistant or sensitive *Pseudomonas aeruginosa*. J. Antimicrob. Chemother. 6 : 471~477, 1980
- 4) GORDON, A. & F. R. FEKETY, JR : Experimental endocarditis due to *Pseudomonas aeruginosa*. II. Therapy with carbenicillin and gentamicin. J. Infect. Dis. 136 : 327~335, 1977
- 5) ANDRIOLE, V. T. : Synergy of carbenicillin and gentamicin in experimental infection with *Pseudomonas*. J. Infect. Dis. 124 (Suppl) : S 46~S 55, 1971
- 6) ANDRIOLE, V. T. : Antibiotic synergy in experimental infection with *Pseudomonas*. II. The effect of carbenicillin, cephalothin, or cephanone combined with tobramycin or gentamicin. J. Infect. Dis. 129 : 124~133, 1974
- 7) COMBER, K. R.; M. J. BASKER, C. D. OSBORNE & R. SUTHERLAND : Synergy between ticarcillin and tobramycin against *Pseudomonas aeruginosa* and Enterobacteriaceae *in vitro* and *in vivo*. Antimicrob. Agents & Chemother. 11 : 956~964, 1977
- 8) KHAKOO, R. A. & R. M. KLUGE : Effectiveness of gentamicin and carbenicillin in a rat model against infections with *Pseudomonas aeruginosa* resistant to gentamicin or gentamicin and carbenicillin. J. Antimicrob. Chemother. 5 : 53~59, 1979
- 9) ELION, G. B.; S. SINGER & G. H. HITCHINGS : Antagonists of nucleic acid derivatives. J. Biol. Chem. 208 : 477~488, 1954
- 10) MOELLERING, R. C., JR. : Antimicrobial synergism-an elusive concept. J. Infect. Dis. 140 : 639~641, 1979
- 11) SCOTT, R. E. & H. G. ROBSON : Synergistic activity of carbenicillin and gentamicin in experimental *Pseudomonas* bacteremia in neutropenic rats. Antimicrob. Agents & Chemother. 10 : 646~651, 1976
- 12) SANDE, M. A. & J. W. OVERTON : *In vivo* antagonism between gentamicin and chloramphenicol in neutropenic mice. J. Infect. Dis. 128 : 247~250, 1973
- 13) MIC 測定法改訂委員会 : 最小発育阻止濃度(MIC)測定法改訂について。Chemotherapy 22 : 1126~1128, 1974
- 14) 吉田 正, 亀田康雄, 元川清司 : Oxacephem系抗生物質の *in vitro* 抗菌作用。Chemotherapy 28 (S-7) : 86~131, 1980

SYNERGISTIC ACTIVITY OF LATAMOXEF WITH TOBRAMYCIN AGAINST EXPERIMENTAL PSEUDOMONAL INFECTION IN MICE

JINGORO SHIMADA, ATSUSHI SAITO, KOHYA SHIBA, TAKEHISA YAMAJI,
HIRONOBU IHARA, TOSHIO HOJO, MASANOBU KAJI, MOTOFUMI SAEGUSA
and TADASHI MIYAHARA

The Second Department of Internal Medicine,
The Jikei University School of Medicine

HIDEAKI MIWA, KENJI HORI and SHINZO MATSUURA
Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.

The activity of latamoxef (LMOX) and tobramycin (TOB) alone and in combination against four clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* was examined *in vitro* and in intraperitoneal infection mice. In *in vitro* Checker board studies, the combination of LMOX and TOB produced synergism against all isolates tested, and the broth dilution method or higher inoculum size tended to enhance the synergistic activity of these antibiotics.

In experimental infection mice with above four *P. aeruginosa*, a excellent synergistic effect was also observed with the fixed combination of LMOX and TOB in the ratio of 10:1.

In *in vivo* experiments using *P. aeruginosa* PS-24, the combination therapy of LMOX and TOB was more effective than a single therapy in reducing bacterial counts in peritoneal cavity of mice, and its synergistic activity appeared to be independent of the challenge dose or the dosing schedule. In addition, the combination of these antibiotics was found to be synergistic in a wide range of combination ratios (LMOX:TOB=5:1~320:1).

In neutropenic mice induced by cyclophosphamide, the combination therapy of LMOX and TOB also revealed synergistic activity against intraperitoneal infection with *P. aeruginosa* PS-24.