

Serratia marcescens に対する Penicillin 系抗生剤と ピリドンカルボン酸系抗菌剤の併用効果

藤巻 一雄・池田 靖・高畑 正裕
室 和美・保田 隆・才川 勇
富山化学工業株式会社総合研究所

(昭和 61 年 5 月 22 日受付)

臨床分離の *Serratia marcescens* に対する penicillin 系抗生剤とピリドンカルボン酸系抗菌剤の併用効果を *in vitro*, *in vivo* で検討した。

Checkerboard-dilution-method で行なった *in vitro* 併用効果の検討では Norfloxacin, Ofloxacin は Piperacillin, Mezlocillin と強い相乗効果を示した。また、殺菌曲線における検討では、Piperacillin と Norfloxacin はいずれの株に対しても相乗的に作用したが Ofloxacin では相乗的な効果を示さない株も認められた。Piperacillin と Norfloxacin の相乗作用は形態学的にも認められた。さらに、実験的マウス腹腔内感染系を用い、Piperacillin と Norfloxacin の併用効果を検討したところ *in vitro* と同様に両薬剤間に併用効果が認められた。

Penicillin 系薬剤は、その優れた選択毒性あるいは広い抗菌スペクトラムにより頻用されており、また Piperacillin などの penicillin 系は *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* などいわゆる日和見感染症の起原菌となる弱毒菌にまでその抗菌スペクトラムを拡げた。また、このような感染症に対して penicillin 系はしばしば他の抗生剤との併用が行なわれており、とりわけ作用機作を異にするアミノ配糖体系抗生剤との併用に関して、その有用性を示唆する報告は多い¹⁻³⁾。

一方、近年開発されたピリドンカルボン酸系抗菌剤は、従来の Nalidixic acid 系抗菌剤に比べて抗菌力を増強し、アミノ配糖体系抗生剤に匹敵する抗菌力を有するに至った。しかしながら penicillin 系薬剤とピリドンカルボン酸系薬剤との併用に関する報告は極めて少なく興味深いところでもある⁴⁾。著者らは、ピリドンカルボン酸系薬剤のこの優れた抗菌力に注目し、penicillin 系薬剤との併用を *in vitro* および *in vivo* において試み、興味ある知見を得たので報告する。

I. 実験材料および方法

1) 使用薬剤

Piperacillin (PIPC, 富山化学工業)
Mezlocillin (MZPC, 武田薬品工業)
Ampicillin (ABPC, 富山化学工業)
Carbencillin (CBPC, 藤沢薬品工業)
Ticarcillin (TIPC, ビーチャム薬品)
Norfloxacin (NFLX, 杏林製薬)

Ofloxacin (OFLX, 第一製薬)

2) 使用菌株および各薬剤の MIC (Minimum Inhibitory Concentration) の測定

富山化学工業総合研究所保存の臨床分離、*S. marcescens* 41 株を用いた。各薬剤の MIC 測定にあたっては日本化学療法学会標準法⁵⁾に基づいて行なった。すなわち Mueller Hinton Broth (MHB, Difco) に一夜培養した菌液の 10^{-2} 希釈液 (10^4 CFU/ml) を Mueller Hinton Agar (MHA, 栄研化学) に接種し、37°C, 18 時間培養し、各薬剤の MIC を測定した。

3) Penicillin 系薬剤とピリドンカルボン酸系抗菌剤の *in vitro* 併用効果の検討

MOELERING & KROGSTAD⁶⁾ の方法に基づき、Checkerboard dilution 法により行なった。すなわち penicillin 系薬剤およびピリドンカルボン酸系薬剤の各濃度の 2 倍希釈系列を互いに組み合わせた系を MHA 平板を用いて作製し、MHB で一夜培養した菌液の 10^{-2} 希釈液 (10^4 CFU/ml) を 1 白金耳接種し、37°C, 18 時間培養後、各薬剤単独および併用時の各薬剤の MIC を測定した。併用効果は各薬剤の MIC と 2 剤併用した際の MIC から Fractional Inhibitory Concentration index (FIC index = 併用時の A 剤の MIC/A 剤単独の MIC + 併用時の B 剤の MIC/B 剤単独の MIC) を求めて ZINNER⁷⁾ の方法に従い 1 より小さい場合を相乗効果、2 より大きい場合を拮抗作用とした。

4) 殺菌曲線に及ぼす併用効果

PIPC と NFLX および OFLX の併用に関し、*S. marcescens* W-58, W-61, W-139, W-150 の4株について検討を行なった。Heart Infusion Broth (HIB, 栄研化学) で一夜培養した菌液を HIB に接種後、菌数が約 10^8 CFU/ml になったとき、PIPC 1/2 MIC および NFLX, OFLX 1/4 MIC, 1/8 MIC 濃度を組み合わせて添加し、37°C で振とう培養 1, 3, 5 時間後にそれぞれ生菌数を Heart Infusion Agar (HIB, 栄研化学) を用いて測定した。

5) β -lactamase 活性測定法

S. marcescens W-58, W-61, W-139, W-150 の4株を集菌洗浄後、超音波破砕し、破砕後の遠心上清 ($10,000 \times g$, 30 分間) を粗酵素液とした。 β -lactamase 活性はマイクロド法¹⁾で測定した。酵素活性を unit で表わし 1 unit は buffer (pH 7.0) 中 30°C 1 分間に 1 μ mol の基質 (Penicillin G) を加水分解するのに必要な酵素量とした。

6) NFLX による β -lactamase の活性阻害

S. marcescens W-58, W-139 株を用いた log phase (10^8 CFU/ml) の HIB 菌液 10 ml に NFLX を各株の 1/2, 1/4, 1/8 MIC 添加し、2 時間作用させた後の β -lactamase 活性を 1 mg protein あたりの β -lactamase 活性を NFLX 無添加の場合と比較した。

7) 培養液中での PIPC 残存活性に及ぼす NFLX の影響

S. marcescens W-58, W-139 株を用いた log phase (10^8 CFU/ml) の HIB 菌液に NFLX を各菌株の 1/4, 1/8 MIC 添加し、2 時間まで作用させたときの PIPC 残存活性を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にて測定した。HPLC の condition は次の通りである。

Elution buffer

= Acetonitrile : 1 M 酢酸 Na buffer : 1 M 酢酸
= 220 : 20 : 1

Column : Nucleosil RP-18 C₁₀

流速 : 1.5 ml/min

detection : 254 nm

8) 位相差顕微鏡による観察

S. marcescens W-139 株を用い、PIPC と NFLX の併用に関して行なった。スライドガラス上に単独および併用させた場合の薬剤含有フィルム寒天培地 (HIA) を作製、対数期途上の菌液の 1 白金耳をカバーガラスに塗抹し、寒天上加えてパラフィンで周囲を封入した。この標本を倒立位相差顕微鏡 (日本光学) で観察した。

9) マウス腹腔内感染に対する併用効果

SLC/ICR 雄雑性マウス、4 週齢、 19 ± 1 g を 1 群 15 匹で用いた。*S. marcescens* W-58, W-139 株を感染菌に用い、PIPC と NFLX の *in vivo* 併用効果を検討した。HIB で一夜培養した感染菌を 5% Gastric Mucin (半井化学) に懸濁し、*S. marcescens* W-58 株は 2.6×10^7 cells/mouse (4.0 MLD)、W-139 株は 5.0×10^7 cells/mouse (18 MLD) をマウスに腹腔内接種した。治療は感染 1.3 時間後に、PIPC は背部皮下投与、NFLX は 0.5% CMC 懸濁液にて経口投与とし、それぞれ単独あるいは PIPC と NFLX を 10:1 に併用する治療群を設けた。治療 7 日後のマウス生存率から ED₅₀ および信頼限界を LITCHFIELD-WILCOXON²⁾ 法により算出した。両剤の併用効果は KAWAKAMI³⁾ の方法に従い相乗比 (synergic ratio) を次式で求め示した。

$$\text{相乗比} = \frac{D_a}{D_d} = \frac{1}{\frac{R_1}{D_1} + \frac{R_2}{D_2}}$$

$$R_1 = \frac{C_1}{C_1 + C_2} \quad R_2 = \frac{C_2}{C_1 + C_2}$$

D_a : 併用効果が相加的であるとして求めた ED₅₀ の計算値

D_d : 併用時の ED₅₀ の実験値

D_1, D_2 : 薬剤単剤の ED₅₀

C_1, C_2 : 併用時の 2 薬剤の比率

併用効果は相乗比が 1.0 の時は相加作用、1.0 以上であれば相乗作用、1.0 以下であれば拮抗作用とした。

II. 実験結果

1) 各薬剤に対する *S. marcescens* の感受性

Table 1 Comparable activities of antibacterial agents against *S. marcescens* (41 strains)

Antibacterial agents	MIC (μ g/ml)		
	Range	50% inhibition	90% inhibition
PIPC	0.39- 6,400	9.0	2,100
MZPC	0.78- \geq 6,400	18.5	3,000
ABPC	1.56- \geq 6,400	\geq 3,200	\geq 6,400
CBPC	1.56- \geq 6,400	\geq 3,200	\geq 6,400
TIPC	1.56- \geq 6,400	\geq 3,200	\geq 6,400
NFLX	0.05- 25	0.19	7.7
OFLX	0.1 25	0.33	3.8

Table 1 に各薬剤の *S. marcescens* に対する抗菌力を薬剤の MIC 分布, MIC₉₀ および MIC₅₀ 値で示した。MIC₅₀ 値についてみると penicillin 系抗生剤では, PIPC, MZPC がそれぞれ, 9.0 µg/ml, 18.5 µg/ml と優れた値を示したが ABPC, CBPC および TIPC は 3,200 µg/ml 以上で耐性であった。また, ビリドンカルボン酸系抗生剤の NFLX, OFLX はそれぞれ 0.19 µg/ml, 0.33 µg/ml を示し PIPC, MZPC より優れた抗菌力を示した。

2) *in vitro* 併用効果

Penicillin 系抗生剤とビリドンカルボン酸系抗生剤を併用した際の, FIC index および相乗作用を示した株数を Table 2, 3 に示した。Table 2 に示した NFLX と penicillin 系抗生剤との検討の中では PIPC が FIC index の平均値が 0.84 以下, 相乗作用を示した株数の割合で 63.4% と最も強い相乗作用を示し, 次に MZPC, ABPC の順であった。Table 3 に示した OFLX と penicillin 系抗生剤との検討では, NFLX との併用の際よりもその協力作用は弱かった。しかし, PIPC, MZPC, ABPC で併用効果のあった株が多く認められた。なお, 表中には示さなかったが, penicillin 系抗生剤とビリドンカルボン酸系抗生剤との併用で拮抗作用を示した株はなかった。

3) 殺菌曲線に及ぼす併用効果

S. marcescens W-58, W-61, W-139, W-150 の4菌株に対する PIPC, NFLX, OFLX 単独および併用時の

殺菌作用を Fig. 1, 2 に示した。また, この4株に対する PIPC, NFLX, OFLX の MIC 値および β -lactamase 活性を Table 4 に示した。NFLX, OFLX を単独で 1/4 MIC, 1/8 MIC 濃度で作用させた場合はどの菌株においてもほとんど殺菌作用を示さなかった。また PIPC 単独で 1/2 MIC 濃度で作用させた場合はどの菌株でも静菌的に作用した。一方, PIPC と NFLX を作用させた場合, いずれの菌株においても菌数の著しい減少が認められ, 併用による相乗効果が認められた (Fig. 1)。また, PIPC と OFLX の併用では, W-58, W-150 に併用効果が認められたが, W-61, W-139 では効果が認められなかった (Fig. 2)。

4) NFLX による β -lactamase の活性阻害

NFLX を添加しない場合と NFLX を 1/2, 1/4, 1/8 MIC 添加した場合の β -lactamase 活性の比率を Fig. 3 に示した。*S. marcescens* W-58, W-139 いずれも MIC 濃度以下の NFLX で約 30~60% 活性の減少が認められた。

5) 培養液中での PIPC 残存活性に及ぼす NFLX の影響

NFLX を添加しない場合と NFLX を 1/4, 1/8 MIC 添加した場合の残存活性を Fig. 4 に示した。*S. marcescens* W-58 の場合, NFLX を加えないで2時間作用させたときの PIPC 残存活性は約 78% であったが, 1/4 MIC 濃度の NFLX を併用すると約 90% と残存率が高かった。*S. marcescens* W-139 株の場合も同様の傾

Table 2 Combination effect of antibacterial agents and NFLX against *S. marcescens* (41 strains)

Antibacterial agents	FIC index		No. (%) of strains showed synergism
	Mean	Range	
PIPC	≤0.84	≤0.19-2.0	26 (63.4)
MZPC	≤0.96	≤0.31-2.0	23 (56.1)
ABPC	≤1.20	≤0.38-2.0	25 (61.0)
CBPC	≤1.85	0.51-2.0	2 (4.9)
TIPC	≤1.56	≤0.38-2.0	8 (19.5)

An FIC index of <1 represents synergism.

Table 3 Combination effect of antibacterial agents and OFLX against *S. marcescens* (41 strains)

Antibacterial agents	FIC index		No. (%) of strains showed synergism
	Mean	Range	
PIPC	1.15	0.38-2.0	21 (51.2)
MZPC	1.12	0.38-2.0	22 (53.7)
ABPC	1.12	0.50-2.0	19 (46.3)
CBPC	1.53	≤0.38-2.0	12 (29.3)
TIPC	1.50	0.51-2.0	9 (22.0)

An FIC index of <1 represents synergism.

Fig. 1 Bactericidal effect of PIPC alone and in combination with NFLX against *S. marcescens*

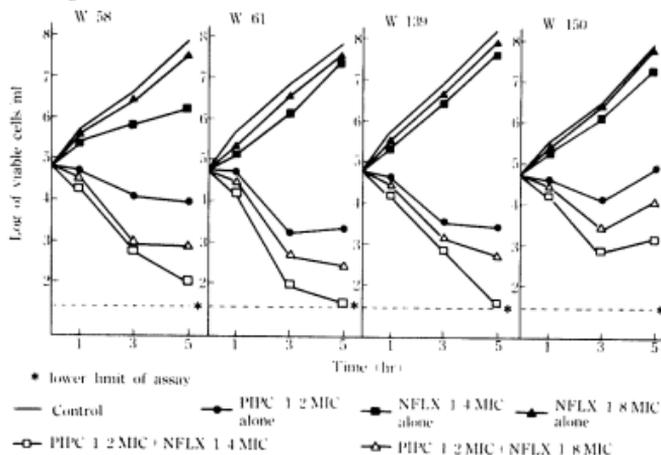


Fig. 2 Bactericidal effect of PIPC alone and in combination with OFLX against *S. marcescens*

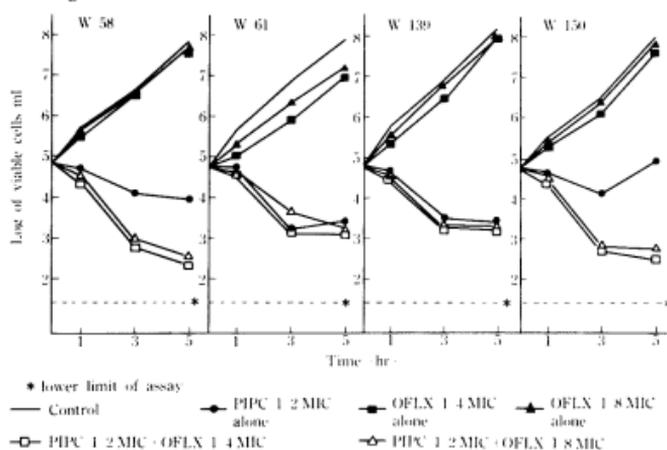


Table 4 Antibacterial activities of drugs against *S. marcescens* and activities of β lactamase

No. of strain	MIC* ($\mu\text{g/ml}$)			Activities of β lactamase (unit/ng protein)
	PIPC	NFLX	OFLX	
W- 58	400	6.25	0.78	14.2
W- 61	50	3.13	0.39	1.18
W-139	200	0.39	0.2	10.5
W-150	50	0.39	0.2	1.50

* 10^4 cells/ml

Fig. 3 Effect of NFLX against β -lactamase of *S. marcescens*

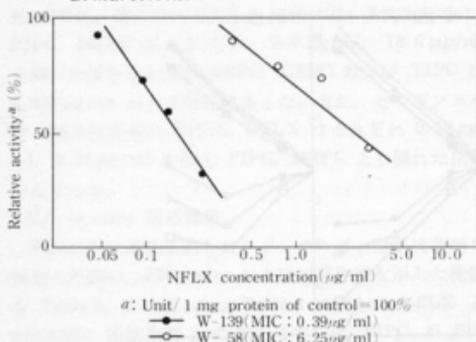
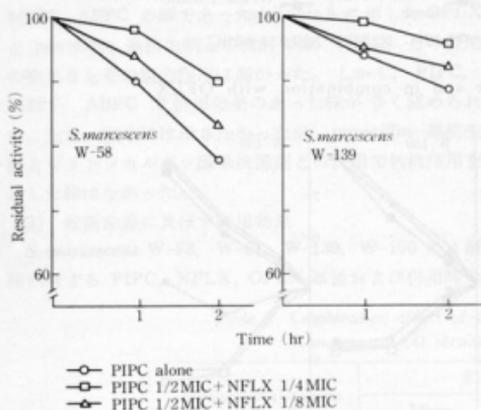


Fig. 4 The relative rate of residual activities of PIPC alone or in combination with NFLX



向を示した。

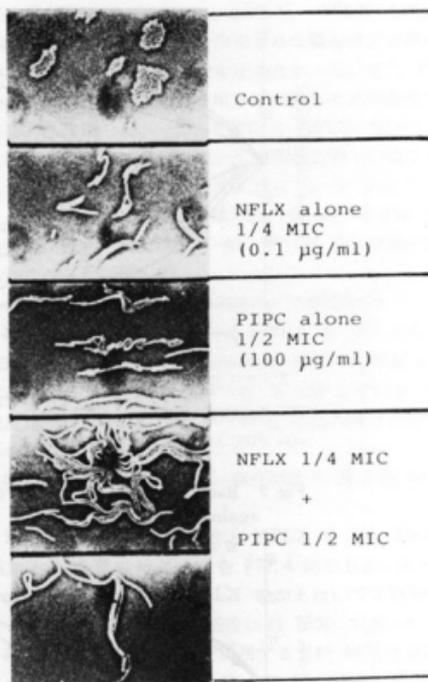
6) 位相差顕微鏡による観察

in vitro で PIPC と NFLX が相乗効果を示した *S. marcescens* W-139 株を用いた。この株に NFLX 1/4 MIC 単独, PIPC 1/2 MIC 単独, あるいは両剤を併用して 5 時間作用させたときの形態学的な変化を観察 Fig. 5 に示した。NFLX 単独では短くフィラメント化した像が見られるが, すでに再増殖した細胞も認められた。PIPC 単独でもフィラメント化の程度は NFLX より若干強いが, 一部に再増殖した細胞が観察された。一方, この 2 薬剤を併用した場合には, さらにフィラメント化した細胞や膨化した細胞あるいはすでに溶解した細胞などが観察され, 形態学的にも併用効果が認められた。

7) マウス腹腔内感染に対する併用効果

in vitro で認められた NFLX と PIPC の併用効果をマウス腹腔内感染において検討した。*S. marcescens* W-

Fig. 5 Morphological change of *S. marcescens* W-139



58 感染マウスに対する PIPC, NFLX の単独投与群の ED₅₀ は各々 4.6 mg/mouse, 0.17 mg/mouse であった (Table 5)。

また, 両剤併用時の ED₅₀ を求めたところ 0.46 mg/mouse であった。*S. marcescens* W-139 感染マウスに対しても同様に PIPC, NFLX 単独投与群, あるいは両剤併用群の ED₅₀ を求めたところ, それぞれ 14.2 mg/mouse, 0.58 mg/mouse, 2.02 mg/mouse であった (Table 6)。

また, Table 7 に KAWAKAMI の方法によって算出したこれらの相乗比を示した。*S. marcescens* W-58, W-139 に対する PIPC と NFLX 併用時の相乗比はそれぞれ 2.91, 2.24 と相乗的であり, *in vitro* と同様に *in vivo* においても併用効果を示した。

III. 考 察

ビリドンカルボン酸系抗菌剤は, 強い抗菌活性を有する重要な化学療法剤群である¹¹⁾。一方, PIPC などの penicillin 系抗生剤は他の β -lactam 剤の cephalosporin, cephamycin 系抗生剤と同様, その安全性や抗菌作用, 幅広い抗菌スペクトラムより, 現在化学療法剤の主

Table 5 Combination effect of PIPC and NFLX on intraperitoneal infection with *S. marcescens* W-58 in mice

Group	Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Combination ratio	Determined ED ₅₀ (mg/mouse)	Confidence limit (P=0.05)
1	PIPC	400	—	4.6	(2.7-7.9)
2	NFLX	6.25	—	0.17	(0.10-0.26)
3	PIPC+NFLX	—	10:1	0.46	(0.26-0.80)

Challenge dose; 2.6×10^7 cells/mouse. (4.0 MLD)

Therapy; PIPC, sc. injection at 1 and 3 hr. after infection.

NFLX, po. administration at 1 hr. after infection.

Table 6 Combination effect of PIPC and NFLX on intraperitoneal infection with *S. marcescens* W-139 in mice

Group	Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Combination ratio	Determined ED ₅₀ (mg/mouse)	Confidence limit (P=0.05)
1	PIPC	200	—	14.2	(9.8-20.1)
2	NFLX	0.39	—	0.58	(0.41-0.83)
3	PIPC+NFLX	—	10:1	2.02	(1.4-2.9)

Challenge dose; 5.0×10^7 cells/mouse. (18 MLD)

Therapy; PIPC, sc. injection at 1 and 3 hr. after infection.

NFLX, po. administration at 1 hr. after infection.

Table 7 Synergistic ratio of therapeutic effect of combined antibiotics

Strain	Combination ratio	Hypothetical ED ₅₀ (mg/mouse) (D_s)	Confidence limit (P=0.05)	Synergistic ratio (D_s/D_d)	Confidence limit (P=0.05)
<i>S. marcescens</i> W-58	PIPC+NFLX (10:1)	1.34	(0.83-2.2)	2.9	(1.4-6.0)
<i>S. marcescens</i> W-139	PIPC+NFLX (10:1)	4.53	(3.2-6.4)	2.2	(1.4-3.7)

Hypothetical ED₅₀ in which additive effect of combined assumed.

流を占めている¹²⁾。さて、抗生剤と抗菌剤の併用は臨床的にもしばしば行なわれており、 β -lactam 剤に関しては、aminoglycoside 系抗生剤との併用に関する臨床的あるいは実験的報告は多い^{13,14)}。ところが、penicillin 系抗生剤とピリドンカルボン酸系抗菌剤との併用に関する報告はほとんどない。そこで著者らは、この penicillin 系抗生剤とピリドンカルボン酸系抗菌剤の併用効果について、臨床分離の *S. marcescens* を用いて *in vitro*, *in vivo* で検討した。

その結果、*in vitro* においては、PIPC, MZPC, ABPC が NFLX, OFLX と併用効果を示しやすく、TIPC や CBPC はその効果が弱かった。また PIPC と NFLX の併用時における殺菌作用に対する効果も認められ形態学的にもその併用効果は観察された。また、培養液中の PIPC の残存活性は NFLX によって高められており、同時にこのとき、MIC 濃度以下の NFLX により、*S. marcescens* の β -lactamase 活性は抑えられてい

た。さらに、マウス腹腔内感染における *in vivo* 併用効果も認められた。

ところで、NFLX^{15,16)}, OFLX は DNA Gyrase の subunit A の inhibitor であり、DNA の supercoiling 活性に影響を与え、DNA の replication や transcription を阻害する薬剤である。事実、この NFLX, OFLX は強い抗菌活性を有しており、用いた *S. marcescens* に対しての MIC₉₀ は、各々 7.7 $\mu\text{g/ml}$, 3.8 $\mu\text{g/ml}$ であった。一方、penicillin 系抗生剤 5 剤は、その化学構造上から分類すると ABPC とその ureid 誘導体である PIPC, MZPC 群と TIPC, CBPC 群に分けられる。溶菌像からみると、前群が比較的 MIC 付近で filament-lysis を示すのに対し、後群は spheroplast 像をとりやすい。また、*S. marcescens* は GNR (グラム陰性桿菌) であり、CSase を産生するが、多くが他に plasmid 性の PCase (PCase type I) を同時に産生するといわれ¹⁵⁾、この β -lactamase は、TIPC, CBPC を分解し

く、ABPC, MZPC, PIPC を分解しやすいものであった。*in vitro* における併用効果が、TIPC, CBPC で弱く ABPC, MZPC, PIPC で強く現われることの原因として、ピリドンカルボン酸系薬剤が酵素産生量を抑え、ABPC などの分解を妨げることによるとも考えられる。また事実、我々が行った実験においては NFLX が β -lactamase の活性を抑制し、PIPC の分解を妨げる作用が認められた。

形態学的には、位相差顕微鏡下で薬剤単独作用時には現われない溶菌像が薬剤併用時に観察された。これら併用の機作については、1) β -lactam 剤によりピリドンカルボン酸系薬剤がとりこまれやすくなるため、2) ピリドンカルボン酸系薬剤による膜透過性の変化¹⁴⁾、3) 併用による β -lactamase 量の変化、3) あるいは 1)~3) が同時に起きる場合などが推察され今後の検討課題である。さらには、一部の菌株に対して NFLX と penicillin 系抗生剤では併用効果が出やすく、OFLX とは出にくいこと、あるいはその逆の場合の理由として、両剤の透過性の違い、薬剤の作用点に対する親和性の差異などが考えられるが詳細は不明である。

さて、*in vivo* においても PIPC と NFLX は併用効果が認められた。投与量は PIPC : NFLX を 10 : 1 としたが、これは臨床上の投与量に近似している。しかし、penicillin 剤や NFLX の体内動態や感染菌による有効濃度のことを考慮すると、他の配合比の検討も必要であろうと考えられた。いずれにしても、臨床重要な *Enterobacteriaceae* のうち *S. marcescens* に penicillin 系抗生剤と NFLX の間に拮抗作用がなく、併用効果が認められたことは有意な知見であり、今後、他の菌種や薬剤間の併用についても検討する必要があると思われた。

文 献

- HOOTON, T. M.; A. D. BLAIR, M. TURCK & G. W. COUNTS : Synergism at clinically attainable concentrations of aminoglycoside and β -lactam antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* 26 : 535~538, 1984
- GIAMARELLOU, H.; N. P. ZISSIS, G. TAGARI & J. BOUZOS : *In vitro* synergistic activities of aminoglycosides and new β -lactams against multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 25 : 534~536, 1984
- 才川 勇, 保田 隆, 田井 賢, 高畑正裕, 津田久嗣, 中川三千子 : *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* に対する T-1220 と Gentamicin の併用効果。 *Chemotherapy* 25 : 797~800, 1977
- 荒川創一 : 一次医療における感染症の診断と治療, 泌尿器科例より。第 33 回日本化学療法学会西日本支部総会, イヴニングカンファレンス (大阪), 1985
- 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
- MOELERING, R. C. & D. J. KROGSTAD : Combination of antimicrobial agents, mechanisms of interaction against bacteria. In "Antibiotics in Laboratory Medicine" Ed., V. LORIAN, 298~341, 1980
- ZINNER, S. H.; J. KLASTERSKY, H. GAYA, C. BERNARD, J. C. RYFF & The Eorte Antimicrobial Therapy Project Group : *In vitro* studies of three antibiotic combinations against gram-negative bacteria and *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 20 : 463~469, 1981
- NOVICK, R. P. : Micro-iodometric assay for penicillinase. *Biochem. J.* 83 : 236~240, 1962
- LITCHFIELD, J. T. & F. WILCOXON : A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. & Exp. Ther.* 96 : 99~113, 1949
- KAWAKAMI, M.; Y. NAGAI, S. SHIMIZU & S. MITSUHASHI : Antimicrobial effect of combination of colistin methanesulfate and chloramphenicol. I. *In vitro* effect. *J. Antibiotics* 24 : 884~891, 1971
- BARRY, A. L.; R. N. JONES, C. THORNSBERRY, L. W. AYERS, E. H. GERLACH & H. M. SOMMERS : Antibacterial activities of ciprofloxacin, norfloxacin, oxolinic acid, cinoxacin, and nalidixic acid. *Antimicrob. Agents Chemother.* 25 : 633~637, 1984
- 上田 泰, 松本文夫 : 臨床からみた抗菌薬の変遷。 *日本臨床* 42 : 2~6, 1984
- COZZARELLI, N. R. : DNA gyrase and the supercoiling of DNA. *Science* 207 : 953~960, 1980
- CRUMPLIN, G. C.; M. KENWRIGHT & T. HIRST : Investigations into the mechanism of action of the antibacterial agent norfloxacin. *J. Antimicrob. Chemother.* 13(Suppl. B) : 9~23, 1984
- 澤井哲夫 : β -Lactam 系抗菌剤に対する耐性機構。 *臨床と細菌* 6 : 245~252, 1979
- DOUGHERTY, T. J. & J. J. SAUKKONEN : Membrane permeability changes associated with DNA gyrase inhibitors in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 28 : 200~206, 1985

COMBINATION EFFECT OF PENICILLINS AND
PYRIDONE CARBOXYLIC ACIDS AGAINST
SERRATIA MARCESCENS

KAZUO FUJIMAKI, YASUSHI IKEDA, MASAHIRO TAKAHATA,
KAZUMI MURO, TAKASHI YASUDA and ISAMU SAIKAWA
Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.

The *in vitro* and *in vivo* combined antibacterial action of penicillins and pyridone carboxylic acids against clinical isolates of *Serratia marcescens* were studied. The combination of norfloxacin or ofloxacin and piperacillin or mezlocillin exhibited synergistic activity in checkerboard dilution method

The combination of piperacillin and norfloxacin showed markedly synergistic bactericidal activity. This synergism was conformed to the phase-contrast microscopic observation. The synergistic activity of piperacillin and norfloxacin was also observed in protective effect against experimental infection in mice.