

緑膿菌に対する化学療法の基礎的検討

—併用療法について—

島 田 剛

鹿児島大学医学部泌尿器科

(主任：大井好忠教授)

(昭和62年8月21日受付)

尿路分離 *P. aeruginosa* 54 株の MIC を測定し、27 株について *in vitro* でのアミノ配糖体薬 (AGs) と β -lactam 剤の併用効果を検討した。また、 β -lactamase 阻害剤 (Clavulanic acid ; CVA, Sulbactam ; SBT) を添加した時の抗菌力に及ぼす影響についても検討した。

P. aeruginosa 54 株の 10^8 cells/ml 接種時の MIC は AGs では Gentamicin, β -lactam 剤では Ceftazidime が最も優れ MIC₉₀ は各 3.13 μ g/ml であった。

AGs 3 剤 (Gentamicin, Amikacin, Micronomicin) と β -lactam 剤 8 剤 (Piperacillin, Cefoxitin, Latamoxef, Cefoperazone, Cefmenoxime, Ceftizoxime, Ceftazidime, Cefsulodin) を互いに組み合わせた系列を作製し、checkerboard 法により minimum FIC index を求め併用効果を検討した。各組み合わせにおける平均 minimum FIC index はすべて 1.0 以下の値を示したが、Cefoperazone と Amikacin の併用効果が最も優れ、平均 minimum FIC index は 0.4567 で相乗効果を示した株は 19 株 (70.4%) であった。Amikacin 3.13 μ g/ml の併用により全株が Cefoperazone に対し 3.13 μ g/ml 以下の感受性側への移行がみられた。振盪培養を用いた細菌増殖曲線における検討では FIC index の低いものが発育阻止作用が強く、FIC index 値と相関した結果が得られた。

第3世代 β -lactam 剤 6 剤 (Ceftazidime, Cefoperazone, Latamoxef, Ceftizoxime, Cefmenoxime, Carumonam) に β -lactamase 阻害剤 (CVA, SBT) を 1:1 で添加し MIC の推移を検討した。 β -lactam 剤単独の場合に比し、阻害剤添加により MIC が2管以上低下した株は Cefoperazone と CVA の併用で6株 (22.2%) にみられた。MIC が2管以上上昇した株は Ceftizoxime と CVA の併用で多く認められ 15 株 (55.6%) であった。また AGs と β -lactam 剤の併用に、さらに CVA, SBT を添加して minimum FIC index の変動を検討した。Gentamicin と Cefoperazone に CVA を加えた場合、Amikacin と Cefoperazone に CVA を併用した場合には FIC index の軽度の低下がみられた。しかし、Gentamicin と Ceftizoxime に CVA を併用した場合、平均 minimum FIC index は 0.6410 から 0.8872 となった。2 剤併用時には 10 株 (37.0%) が相乗作用を示したが、CVA 添加により FIC index 0.5 以下の株は 1 株 (3.7%) のみとなった。Ceftizoxime と CVA の併用は抗菌活性の低下をきたすことが示唆された。

P. aeruginosa による感染症は宿主の抵抗力が減弱した状態、あるいは基礎疾患のある患者に発症しやすく、その薬剤耐性と相まって難治性である。近年、いわゆる第3世代 cephem 剤をはじめとする抗菌薬の目覚ましい進歩がみられ、一方 β -lactamase の研究の進歩にもない β -lactamase 阻害剤に関する研究開発も行なわれるようになった。しかし、*P. aeruginosa* に対して併用のみの効果は絶対的なものでなく、臨床で種々の併用療法が行なわれているのが現状である¹⁾。無計画な化

学療法剤の併用は化学療法剤の乱用につながり、耐性菌増加の誘因となる可能性がある。安全でより適切な化学療法剤の併用を確立することは臨床きわめて有意義なことと思われる。

P. aeruginosa に対しては、1967年 BRUMFITT²⁾ により Carbenicillin (CBPC) と Gentamicin (GM) の *in vitro* 協作用が確認されて以来、 β -lactam 剤と AGs の協作用に関する研究は数多く報告されている³⁻⁵⁾。しかし、検討された株数、薬剤数はまだ充分

とはいえない。今回、*P. aeruginosa* に対する合理的な併用療法を検討する目的で、現在市販されている薬剤に開発中の薬剤も加えて β -lactam 剤と AGs 剤、および β -lactamase 阻害剤を用いた以下の実験を行ない、いささかの知見を得たので報告する。

I. 材料と方法

1) 使用菌株

尿路感染症患者から分離された教室保存の *P. aeruginosa* で緑膿菌診断用免疫血清（デンカ生研）による血清型別可能な 54 株を使用した。

2) 使用薬剤

以下に示す β -lactam 系薬剤 10 剤、AGs 4 剤、 β -lactamase 阻害剤 2 剤で力価の明らかなものを使用した。

β -lactam 剤としては Piperacillin (PIPC, 富山化学工業), Ticarcillin (TIPC, ビーチャム薬品), Latamoxef (LMOX, 塩野義製薬), Cefoxitin (CFX, 萬有製薬), Cefoperazone (CPZ, 富山化学工業), Cefmenoxime (CMX, 武田薬品工業), Cefizoxime (CZX, 藤沢薬品工業), Ceftazidime (CAZ, 田辺製薬), Cefsulodin (CFS, 武田薬品工業), Carumonam (CRMN, 武田薬品工業) を用いた。

AGs としては Gentamicin (GM, エッセクス日本), Amikacin (AMK, 萬有製薬), Micronomicin (MCR, 協和肥田工業), HAPA-B (東洋醸造) を使用した。

β -lactamase 阻害剤は Sulbactam (SBT, 台糖ファイザー), Clavulanic acid (CVA, ビーチャム薬品) を用いた。

3) 薬剤感受性測定

日本化学療法学会標準法⁶⁾ に準じた寒天平板希釈法を用いて測定した。被験菌を Trypto soy broth (榮研 pH 7.0) で 37°C 一夜培養した菌液を 10^8 cells/ml に生食水で希釈し、ミクロプランター（佐久間製作所）を用いて接種した。測定用培地には Müller-Hinton 寒天培地を用い、37°C 一夜培養後、被験菌の発育が認められない濃度を minimum inhibitory concentration (MIC) とした。

4) 併用効果の検討

AGs は 0.1~100 μ g/ml, β -lactam 剤は 0.1~400 μ g/ml, あるいは 0.1~1,600 μ g/ml に段階希釈し、互いに組み合わせた系列を作製し、寒天平板とした。栗田口ら⁷⁾の方法に準じ、Table 1 に示す checkerboard 法により minimum Fractional inhibitory concentration (FIC) index を求めた。FIC index が ≤ 0.5 を相乗作

Table 1 Combined effect of chemotherapy

12.5	---	---	---	---	---	---	---	---	Synergy or addition
6.25	⊕	⊕	⊕	---	---	---	---	---	
3.13	⊕	⊕	⊕	⊕	---	---	---	---	Antagonism
1.56	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	---	---	---	
0.78	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	---	
0.39	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	---	
0.2	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	---	
0.1	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	---	
0	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	---	
Drug B / Drug A	0	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	(μ g/ml)

⊕ Growth
--- No growth

Checkerboard method

$$\text{FIC index} = \frac{a}{a_0} + \frac{b}{b_0} = \begin{cases} \leq 0.5 & \text{Synergy} \\ > 0.5 < 1.0 & \text{Partial synergy} \\ = 1.0 & \text{Addition} \\ > 1.0 & \text{Antagonism} \end{cases}$$

a_0 : MIC of drug A

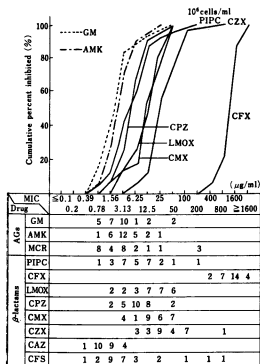
a: MIC of drug A in combination with drug B

b_0 : MIC of drug B

b: MIC of drug B in combination with drug A

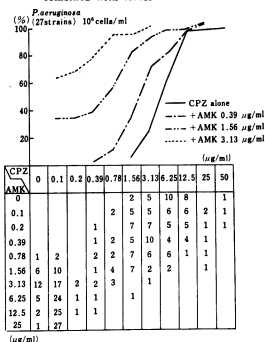
Table 2 MICs of AGs and β -lactams against *P. aeruginosa* (54 strains)

Drug		10 ⁶ cells/ml (μ g/ml)										
		MIC	≤ 0.1	0.39	1.56	6.25	25	100	400	1600		
			0.2	0.78	3.13	12.5	50	200	800	≥ 1600		
AGs	GM		10	13	23	3	2	2	1			
	AMK		1	11	21	16	2	1				
	HAPA-B		10	19	23	1	1					
β -lactams	PIPC		2	5	18	11	12	4	1	1		
	TIPC		3	1		5	7	25	7	4		
	CFX								3	16	28	7
	LMOX				3	3	9	15	18	6		
	CPZ		1	1	6	9	25	10	2			
	CMX			2	4	5	23	11	9			
	CZX				1	3	8	21	7	13		
	CAZ		5	13	16	19	1					
	CRMN		1	3	2	5	11	19	3			

Fig. 1 MICs of AGs and β -lactams against *P. aeruginosa* (27 strains)

用, $>0.5 < 1.0$ を部分的相乗作用, 1.0 を相加作用, >1 を拮抗とした。また希釈段階以上で発育の認められたものを不関とした。AGs と β -lactam 剤, および β -

Fig. 2 Sensitivity distribution of CPZ alone or combined with AMK



lactamase 阻害剤を用いた実験では β -lactam 剤 : β -lactamase 阻害剤 = 1 : 1 とした。

5) 細菌増殖曲線に及ぼす影響

細菌の増殖曲線に及ぼす影響を Biophotometer (Jasco, Bio-log II) を用いて検討した。Tryptoy soy broth で

Table 3 Combined effect of AGs and β -lactams against *P. aeruginosa* (27 strains)

Drug combination			Number of strains (%)				
AGs	β -lactams	Mean FIC index	Synergy (≤ 0.5)	Partial synergy ($>0.5 < 1.0$)	Addition ($= 1.0$)	Antagonism (> 1.0)	Indifference
GM	PIPC	0.5845	11 (40.7%)	13 (48.1%)	3 (11.1%)		
	CFX	0.5251	11 (40.7%)	9 (33.3%)		1 (3.7%)	6 (22.2%)
	LMOX	0.5472	11 (40.7%)	15 (55.6%)		1 (3.7%)	
	CPZ	0.6179	12 (44.4%)	14 (51.9%)		1 (3.7%)	
	CMX	0.5938	12 (44.4%)	12 (44.4%)		3 (11.1%)	
	CZX	0.6410	10 (37.0%)	13 (48.1%)		4 (14.8%)	
	CAZ	0.6041	10 (37.0%)	16 (59.3%)		1 (3.7%)	
	CFS	0.5544	16 (59.3%)	11 (40.7%)			
AMK	PIPC	0.5453	14 (51.9%)	10 (37.0%)	1 (3.7%)	2 (7.4%)	
	CFX	0.6230	8 (29.6%)	11 (40.7%)	3 (11.1%)	1 (3.7%)	4 (14.8%)
	LMOX	0.5206	13 (48.1%)	13 (48.1%)	1 (3.7%)		
	CPZ	0.4567	19 (70.4%)	7 (25.9%)		1 (3.7%)	
	CMX	0.5307	17 (63.8%)	8 (29.6%)	1 (3.7%)	1 (3.7%)	
	CZX	0.5344	11 (40.7%)	15 (55.6%)		1 (3.7%)	
	CAZ	0.6134	11 (40.7%)	14 (51.9%)		2 (7.4%)	
	CFS	0.6215	8 (29.6%)	18 (66.7%)	1 (3.7%)		
MCR	PIPC	0.5683	14 (51.9%)	11 (40.7%)	2 (7.4%)		
	CFX	0.6355	9 (33.8%)	13 (48.1%)	1 (3.7%)		4 (14.8%)
	LMOX	0.5925	8 (29.6%)	19 (70.4%)			
	CPZ	0.7547	8 (29.6%)	10 (37.0%)	6 (22.2%)	3 (11.1%)	
	CMX	0.5920	11 (40.7%)	15 (55.6%)		1 (3.7%)	
	CZX	0.6253	9 (33.3%)	14 (51.9%)	1 (3.7%)	3 (11.1%)	
	CAZ	0.6256	8 (29.6%)	18 (66.7%)	1 (3.7%)		
	CFS	0.6646	9 (33.3%)	13 (48.1%)	1 (3.7%)	4 (14.8%)	

37°C 一夜培養した菌を 10^{4-5} cells/ml, あるいは 10^{6-7} cells/ml に調整し, 薬剤を添加した後 20 時間目まで菌数の経時的変化を観察した。

6) 位相差顕微鏡による菌の形態変化の観察

細菌の振盪培養時に菌液を 1 cc 採取し, 滅菌水にて遠沈洗浄を 3 回くり返し, スライドグラスに 1 滴落とし自然乾燥後, 位相差顕微鏡 (オリンパス, BH-2) にて形態を観察した。

II. 実験成績

1) 使用菌株の薬剤感受性

P. aeruginosa 54 株 10^8 cells/ml 接種時の MIC 分布を Table 2 に示した。MIC₅₀ で比較すると, AGs では GM が 3.13 μ g/ml, AMK, HAPA-B が 6.25 μ g/ml であった。 β -lactam 剤 9 剤における MIC₅₀ は CAZ が 3.13 μ g/ml で最も優れており, PIPC, CPZ, CRMN が 6.25 μ g/ml, LMOX が 12.5 μ g/ml, TIPC, CMX が 12.5 μ g/ml, CZX が 100 μ g/ml, CFX は 1,600 μ g/ml 以上であった。

2) AGs と β -lactam 剤の併用効果

併用効果の検討には 54 株から MIC 分布に片寄りがないようにして選んだ 27 株を使用した。各薬剤の MIC 分布と累積百分率を Fig. 1 に示した。GM, AMK, MCR と 8 種類の β -lactam 剤の併用における minimal FIC index を平均値として求め Table 3 に示した。この 24 通りの組み合わせにおける平均 FIC index はすべて 1.0 以下の値を示したが, CPZ と AMK の併用効果が最も優れた成績を示し, 平均 FIC index は 0.4567 であり, 19 株 (70.4%) が相乗作用を示した。拮抗は 1 株 (3.7%) にみられた。CPZ 単独および AMK との併用における MIC 分布と累積百分率を Fig. 2 に示した。0.39 μ g/ml 以下の AMK の併用では, CPZ の MIC の低い菌株で感受性の増強がみられるが, MIC 値の高い菌株では併用効果は明らかではなかった。AMK 3.13 μ g/ml の併用により全株が CPZ に対し 3.13 μ g/ml 以下の感受性側への移行がみられた。0.39 μ g/ml 以下の低濃度の AGs との併用効果を β -lactam 剤の MIC₅₀ で検討すると, Table 4 に示すように GM と CMX, AMK と CZX で 2 段階の感受性移行を認めたが, 他の組み合わせ

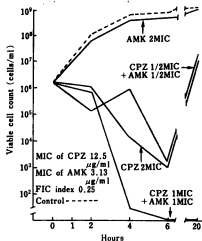
Table 4 MICs of β -lactams or combined with AGs against *P. aeruginosa* (27 strains)10⁸ cells/ml

Drug combination		MICs of β -lactams (μ g/ml)			
AGs	β -lactams	β -lactams alone	with AGs 0.1	with AGs 0.2	with AGs 0.39
GM	PIPC	12.5	6.25	6.25	6.25
	CFX	>1,600	>1,600	>1,600	>1,600
	LMOX	50	50	25	25
	CPZ	12.5	12.5	12.5	12.5
	CMX	50	25	25	12.5
	CZX	100	50	50	50
	CAZ	1.56	1.56	1.56	1.56
	CFS	6.25	3.13	3.13	3.13
AMK	PIPC	12.5	6.25	6.25	6.25
	CFX	>1,600	>1,600	>1,600	>1,600
	LMOX	50	25	25	25
	CPZ	12.5	12.5	12.5	6.25
	CMX	50	25	25	25
	CZX	100	50	50	25
	CAZ	1.56	1.56	1.56	1.56
	CFS	6.25	3.13	3.13	3.13
MCR	PIPC	12.5	12.5	12.5	12.5
	CFX	>1,600	>1,600	>1,600	>1,600
	LMOX	50	25	50	50
	CPZ	12.5	6.25	6.25	6.25
	CMX	50	25	25	25
	CZX	100	50	50	50
	CAZ	1.56	1.56	1.56	1.56
	CFS	6.25	6.25	6.25	3.13

せでは 1 段階以下の変動であった。同様に低濃度の β -lactam 剤の併用効果を AGs の MIC₉₀ で検討すると、Table 5 に示したように AMK と PIPC, LMOX, CPZ, CAZ, MCR と CAZ の組み合わせで 1 段階の MIC₉₀ 値の低下が認められた。FIC index を β -lactam 剤の MIC が 6.25 μ g/ml 以下の株と 12.5 μ g/ml 以上の株に分けて両群を比較した (Table 6)。GM と CZX, CPZ, PIPC, AMK と CZX の組み合わせを除き、株数に片寄りはあるが 12.5 μ g/ml 以上の菌株の FIC index の数値が小であった。

3) 増殖曲線に及ぼす影響 (β -lactam 剤と AGs)

相乗効果の認められた菌株 (No. 17) とみられなかった菌株 (No. 20) について増殖曲線に及ぼす影響をみた。Fig. 3 に CPZ と AMK の併用を示した。FIC index は 0.25 である。AMK 2 MIC ではほぼコントロール群と同様のカーブを示し殺菌作用は明らかではない。CPZ 1/2 MIC と AMK 1/2 MIC の併用で CPZ 2 MIC と同等の発育阻止作用がみられた。CPZ 1 MIC と AMK 1 MIC では殺菌作用は著明で 20 時間目でも再増殖はみられな

Fig. 3 Killing curves of CPZ combined with AMK against *P. aeruginosa* (No. 17)

かった。Fig. 4 に同一菌株での CPZ と GM の殺菌曲線を示した。FIC index は 0.75 である。CPZ 1/2 MIC と

Table 5 MIC₅₀ of AGs alone or combined with β -lactams against *P. aeruginosa* (27 strains)10⁸ cells/ml

Drug combination		MIC ₅₀ of AG (μ g/ml)			
AGs	β lactams	AGs alone	with β -lactams 0.1	with β -lactams 0.2	with β -lactams 0.99
GM	PIPC	3.13	6.25	6.25	3.13
	CFX	3.13	3.13	3.13	3.13
	LMOX	3.13	6.25	6.25	3.13
	CPZ	3.13	6.25	6.25	6.25
	CMX	3.13	6.25	6.25	6.25
	CZX	3.13	6.25	6.25	6.25
	CAZ	3.13	3.13	3.13	3.13
	CFS	3.13	3.13	3.13	3.13
AMK	PIPC	6.25	6.25	6.25	3.13
	CFX	6.25	6.25	6.25	6.25
	LMOX	6.25	6.25	6.25	3.13
	CPZ	6.25	6.25	3.13	3.13
	CMX	6.25	6.25	6.25	6.25
	CZX	6.25	6.25	6.25	6.25
	CAZ	6.25	6.25	3.13	3.13
	CFS	6.25	3.13	3.13	3.13
MCR	PIPC	6.25	12.5	6.25	6.25
	CFX	6.25	12.5	12.5	12.5
	LMOX	6.25	6.25	6.25	6.25
	CPZ	6.25	6.25	6.25	6.25
	CMX	6.25	6.25	6.25	6.25
	CZX	6.25	12.5	6.25	6.25
	CAZ	6.25	6.25	3.13	3.13
	CFS	6.25	6.25	6.25	6.25

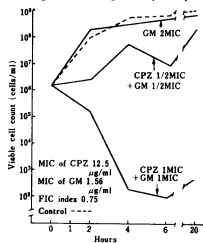
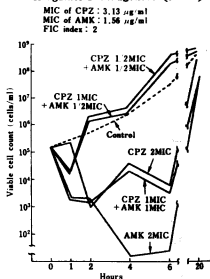
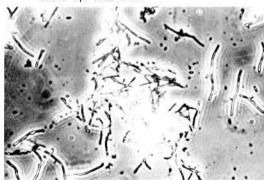
Fig. 4 Killing curves of CPZ combined with GM against *P. aeruginosa* (No. 17)Fig. 5 Killing curves of CPZ combined with AMK against *P. aeruginosa* (No. 20)

Table 6 Growth inhibitory potentiation of β lactams in combination with AGs (*P. aeruginosa*, 27 strains)

Drug combination		Mean FIC index	10^8 cells/ml	
AGs	β lactams		MIC of β lactams	
			$\geq 8.25 \mu\text{g/ml}$	$\leq 12.5 \mu\text{g/ml}$
GM	PIPC	0.5847 (27)	0.5820 (16)	0.5881 (11)
	CFX	0.5251 (27)		0.5251 (27)
	LMOX	0.5472 (27)	0.6563 (5)	0.5224 (22)
	CPZ	0.6197 (27)	0.5752 (16)	0.6847 (11)
	CMX	0.5938 (27)	0.6652 (5)	0.5782 (22)
	CZX	0.6410 (27)	0.5208 (3)	0.6560 (24)
	CAZ	0.6042 (27)	0.6042 (27)	
	CFS	0.5544 (27)	0.5586 (24)	0.5208 (3)
AMK	PIPC	0.5435 (27)	0.5498 (16)	0.5343 (11)
	CFX	0.6230 (27)		0.6230 (27)
	LMOX	0.5206 (27)	0.6375 (5)	0.4941 (22)
	CPZ	0.4567 (27)	0.4923 (16)	0.4049 (11)
	CMX	0.5307 (27)	0.85 (5)	0.4581 (22)
	CZX	0.5344 (27)	0.4857 (3)	0.5438 (24)
	CAZ	0.6134 (27)	0.6134 (27)	
	CFS	0.6215 (27)	0.6345 (23)	0.5469 (4)
MCR	PIPC	0.5663 (27)	0.6036 (19)	0.4844 (8)
	CFX	0.6335 (27)		0.6335 (27)
	LMOX	0.5925 (27)	0.6652 (7)	0.5672 (20)
	CPZ	0.7647 (27)	0.8355 (19)	0.5966 (8)
	CMX	0.5920 (27)	0.6518 (7)	0.5711 (20)
	CZX	0.6253 (27)	0.7604 (3)	0.6084 (24)
	CAZ	0.6256 (27)	0.6256 (27)	
	CFS	0.6646 (27)	0.6935 (22)	0.5375 (5)

Fig. 6 *P. aeruginosa* (No. 17) CPZ 2 MIC 6 hr.

GM 1/2 MIC の併用効果は CPZ 2 MIC の殺菌効果より劣っている。CPZ 1 MIC と GM 1 MIC の併用でも 20 時間目には再増殖の傾向が認められた。Fig. 5 に No. 20 株の増殖曲線を示した。FIC index は 2.0 である。CPZ 1 MIC と AMK 1/2 MIC の併用でも 2 時間日以降はコントロール群と同様の発育カーブを示している。CPZ 1

Fig. 7 *P. aeruginosa* (No. 17) CPZ 1/2 MIC + AMK 1/2 MIC 4 hr.

MIC と AMK 1 MIC でも CPZ 2 MIC と同様の発育曲線を示し、併用効果は明らかではなかった。

4) 位相差顕微鏡による観察 (β -lactam 剤と AGs)
No. 17 株に CPZ 2 MIC 単独, CPZ 1/2 MIC + AMK 1/2 MIC をそれぞれ 6 時間, 4 時間作用させた時の菌株

Table 7 MICs of β -lactams or combined with β -lactamase inhibitor against *P. aeruginosa* (27 strains)

Drug	MIC	10 ⁶ cells/ml								
		≥ 0.1	0.39	1.56	6.25	25	100	400	1600	
		0.2	0.78	3.13	12.5	50	200	800	>1600	
CAZ			4	10	9	4				
CAZ/CVA		1	1	6	8	6	5			
CAZ/SBT			3	8	10	6				
CPZ			1	4	7	7	4	1		
CPZ/CVA		2		6	6	5	6			
CPZ/SBT				5	10	5	4	3		
LMOX			1	2	2	5	7	6	3	1
LMOX/CVA			1	3	3	4	4	6	4	2
LMOX/SBT			1	2	2	5	9	6	1	
CZX			2	1	3	4	10	4		
CZX/CVA		1			1	2	3	8	5	2
CZX/SBT			2	1	3	2	11	3	5	
CMX		1	1	1	3	3	8	3	7	
CMX/CVA		1		1	1	4	6	5	5	3
CMX/SBT		2	1	1	4	6	4	6	3	
CRMN		1	2	4	7	5	5	2	1	
CRMN/CVA		4	2	1	9	6	4	1		
CRMN/SBT		3	1	2	3	10	5	2		
CVA							6	13	8	
SBT							1	3	3	13
								4	3	

β -lactam : β -lactamase inhibitor = 1 : 1

Table 8 No. of strains tested ; combined effect of β -lactams and β -lactamase inhibitor against *P. aeruginosa* (27 strains)

Drug	10 ⁶ cells/ml	
	Strains showing an MIC less than 2-fold	Strains showing an MIC of more than 2-fold
CAZ/CVA	2 (7.4%)	0
CAZ/SBT	0	0
CPZ/CVA	6 (22.2%)	2 (7.4%)
CPZ/SBT	2 (7.4%)	0
LMOX/CVA	0	3 (11.1%)
LMOX/SBT	0	0
CZX/CVA	0	15 (55.6%)
CZX/SBT	0	1 (3.7%)
CMX/CVA	0	2 (7.4%)
CMZ/SBT	0	1 (3.7%)
CRMN/CVA	4 (14.8%)	0
CRMN/SBT	1 (3.7%)	1 (3.7%)

β -lactam : β -lactamase inhibitor = 1 : 1

Table 9 Combined effect of AGs and β -lactams with β -lactamase inhibitor against *P. aeruginosa* (27 strains) 10^6 cells/ml

Drug combination			Number of strains (%)			
AGs	β -lactams or inhibitor	Mean FIC index	Synergy (≤ 0.5)	Partial synergy ($>0.5 < 1.0$)	Addition (=1.0)	Antagonism (>1.0)
GM	CPZ	0.6197	12 (44.4)	14 (51.9)		1 (3.7)
	CPZ/CVA	0.4572	16 (59.3)	10 (37.0)		1 (3.7)
	CPZ/SBT	0.5534	12 (44.4)	13 (48.1)	1 (3.7)	1 (3.7)
	CAZ	0.6041	10 (37.0)	16 (59.3)		1 (3.7)
	CAZ/CVA	0.6551	6 (22.2)	18 (66.7)	2 (7.4)	1 (3.7)
	CZX	0.6410	10 (37.0)	13 (48.1)		4 (14.8)
AMK	CZX/CVA	0.8872	1 (3.7)	13 (48.1)	4 (14.8)	9 (33.3)
	CZX/SBT	0.5330	14 (51.9)	12 (44.4)	1 (3.7)	
	CPZ	0.4567	19 (70.4)	7 (25.9)		1 (3.7)
	CPZ/CVA	0.4280	20 (74.1)	7 (25.9)		
	CPZ/SBT	0.5926	10 (37.0)	15 (55.6)	1 (3.7)	1 (3.7)
	CAZ	0.6134	11 (40.7)	14 (51.9)		2 (7.4)
	CAZ/CVA	0.6238	9 (33.3)	16 (59.3)		2 (7.4)
	CZX	0.5344	11 (40.7)	15 (55.6)		1 (3.7)
	CZX/CVA	0.6583	7 (25.9)	17 (63.0)		3 (11.1)
CZX/SBT	0.6908	6 (22.2)	18 (66.7)	1 (3.7)	2 (7.4)	

β -lactam : β -lactamase inhibitor = 1 : 1

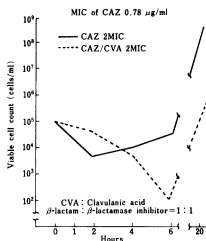
の形態変化を Fig. 6, Fig. 7 に示した。CPZ 単独では著明なフィラメントの伸長を認めるが、併用では bulge 形成や溶菌像、菌体の小分節化がみられ、フィラメントの伸長は制限されているが増殖阻止作用は同等であった。

5) β -lactam 剤と β -lactamase 阻害剤の併用

Table 7 にいわゆる第3世代 β -lactam 剤 (CAZ, CPZ, LMOX, CZX, CMX, CRMN) 単独と β -lactamase 阻害剤 (CVA, SBT) を 1 : 1 に混合した時の MIC 分布を示した。MIC₉₀ で比較すると、CAZ, CRMN が 3.13 μ g/ml, CPZ 6.25 μ g/ml, LMOX, CZX, CMX が 25 μ g/ml であった。Table 8 は β -lactam 剤単独時の MIC と比較して MIC が 2 管以上低下した株数と 2 管以上上昇した株数を示した。MIC が 2 管以上低下した株数は CPZ と CVA の併用で最も多く 6 株 (22.2%) にみられた。MIC が 2 管以上上昇した株数は CZX と CVA の併用で 15 株 (55.6%) にみられた。

6) β -lactam 剤と AGs および β -lactamase 阻害剤の併用

Table 9 に AGs と β -lactam 剤に β -lactamase 阻害剤を加えた時の平均 FIC index 値を示した。0.5 以下の平均 FIC index を示したのは GM, CPZ, CVA の併用および AMK, CPZ, CVA の併用であった。GM と CZX に CVA を併用した場合は平均 FIC index は

Fig. 8 Killing curves of CAZ combined with clavulanic acid against *P. aeruginosa* (No. 2)

0.6410 から 0.8872 と上昇し、相乗効果を示した株は GM, CZX の 2 剤併用時の 10 株 (37%) から 1 株 (3.7%) のみに減少した。

7) 増殖曲線に及ぼす影響 (β -lactam 剤と β -lactamase 阻害剤)

Fig. 8~Fig. 12 に β -lactam 剤と CVA の併用におけ

Fig. 9 Killing curves of CPZ combined with clavulanic acid against *P. aeruginosa* (No. 10)

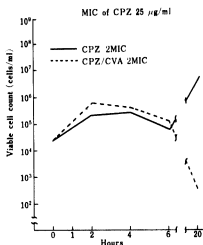


Fig. 10 Killing curves of CPZ combined with clavulanic acid against *P. aeruginosa* (No. 27)

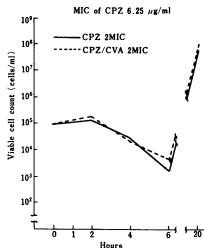


Fig. 11 Killing curves of CZX combined with clavulanic acid against *P. aeruginosa* (No. 6)

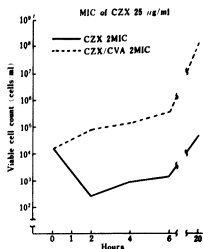
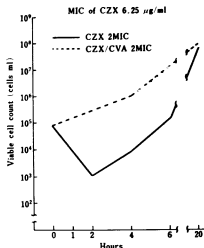


Fig. 12 Killing curves of CZX combined with clavulanic acid against *P. aeruginosa* (No. 8)



る発育曲線を示した。No. 2 株に対しては CAZ と CVA の併用時には 6 時間まで菌数の減少がみられた (Fig. 8)。No. 10 株における CPZ と CVA の併用では 2 時間以降 20 時間まで菌数の減少がみられた (Fig. 9)。No. 27 株では CVA の併用は CPZ の発育曲線に影響を及ぼさなかった (Fig. 10)。No. 6 株における CZX と CVA の併用では、CZX 単独添加時には 2 時間まで菌数が減少しているが、CVA を添加しても増殖は抑制されない (Fig. 11)。No. 8 株においても CZX に CVA を添加す

る増殖阻止作用が弱くなる結果が得られた (Fig. 12)。
9) 位相差顕微鏡による観察 (β -lactam 剤と β -lactamase 阻害剤)

Fig. 13 は No. 6 株に CZX 2 MIC を 4 時間作用させた時の形態変化を示す。Fig. 14 は CZX と CVA 各 2 MIC を 4 時間作用した後の形態変化である。AGs 併用時に比し、菌体には著明な変化はみられなかった。

III. 考 察

1952 年 JAWETZ ら⁹⁾によりはじめて併用療法に関する

Fig. 13 *P. aeruginosa* (No. 6) CZX 2 MIC 4 hr.Fig. 14 *P. aeruginosa* (No. 6) CZX/CVA 2 MIC 4 hr.

理論的な概念が提唱された。この論文において殺菌性抗生物質 (Penicillin: PC, Streptomycin: SM) 同士の併用は相乗的、静菌性抗生物質 (Tetracycline: TC, Chloramphenicol: CP) の併用は相加的、殺菌性抗生物質と静菌性抗生物質の併用では主として拮抗作用が発現するとされた。しかし、殺菌性抗生物質同士でも PC 剤と他の PC 剤、あるいは Cephalosporin (CEP) 剤との併用で拮抗現象が起こることが 1975 年 ACAR ら⁹⁾ により報告されて以来、 β -lactam 剤間の拮抗^{10,11)} が問題となり、併用療法の主流は β -lactam 剤と AGs との組み合わせとなっている。両剤の協力的作用の機序は β -lactam 剤による細胞外膜損傷による spheroplast の誘導、AGs の菌体内への透過性と ribosome への影響^{12,13)} が主な要因と考えられている。また、SCUDAMORE ら¹⁴⁾ は *P. aeruginosa* を用いた実験から、相乗作用はペプチドグリカン合成阻害が AGs の能動輸送に関与していると推論している。このような理由から、 β -lactam 系薬剤と AGs の併用はその相乗作用を期待して、*in vitro*, *in vivo* あるいは臨床的に種々の検討がなされてきた。古くは *Streptococcus* に対する PC と SM¹⁵⁾, *P. aeruginosa* に対して CBPC と GM¹⁶⁾, AMK¹⁷⁾, *Serratia* に対する CFX と AMK¹⁸⁾, 肺炎桿菌に対する PIPC と Dibekacin (DKB)¹⁹⁾, 変形菌に対する CEP 系抗生物質と AGs の併用²⁰⁾ の有用性が示されている。

併用療法の主目的菌は 1962 年以後、院内感染²¹⁾ の主体となっているグラム陰性桿菌が対象であった。しかし、多くの第 3 世代 β -lactam 剤が開発されるようになり、ほとんどのグラム陰性桿菌も monotherapy で治療可能となったが、*P. aeruginosa* 感染症は宿主の抵抗力が減弱した患者に発症することが多く、難治性であり、1 剤だけの抗菌力には限界があり、*P. aeruginosa* は併用療法の対象菌種と考えられている。

今回、*P. aeruginosa* に対してどの薬剤の組み合わせ

が抗菌力からみてより合理的であるかを検討する目的で本実験を行なった。

尿路感染症患者から分離した *P. aeruginosa* 54 株に対する各薬剤の抗菌力を比較すると、 β -lactam 剤では CAZ の MIC₉₀ が 3.13 μ g/ml で最も優れていた。しかし臨床例における本剤の *P. aeruginosa* の除菌率は各科領域で 50~90%²²⁾ であり monotherapy の困難さが示唆される。 β -lactam 剤 8 剤と AGs 3 剤における平均 FIC index の検討では、CPZ と AMK の組み合わせが優れた成績を示した。相乗効果を示した株は 19 株 (70.4%) であり併用効果が最も期待できる薬剤と思われる。各 AGs と使用した β -lactam 剤の平均 FIC index で比較すると、GM 群が 0.5835, AMK 群が 0.5557, MCR 群が 0.6323 で AMK 群の平均 FIC index が最小であった。SCRIBNER ら²³⁾ は呼吸器感染症から分離した 60 株の *P. aeruginosa* について併用効果を検討した結果、AMK と Azlocillin の併用効果が最も優れ 65% の菌株に対して相乗作用がみられたという。しかし β -lactam 剤間の併用では相乗作用はほとんどみられていない。XIMENES ら²⁴⁾ は 44 株の *P. aeruginosa* に対して AMK, GM または Tobramycin (TOB) と CBPC の併用効果を検討しているが、AMK の併用が最も優れ 65.9% に相乗効果がみられたと報告している。これらの結果と AMK の低毒性²⁵⁾, および血清中あるいは β -lactam 剤との併用での不活化は AMK が最も少ない^{26,27)} ことを考慮すると *P. aeruginosa* に対する β -lactam 剤との併用は AMK が最も適していると考えられる。

β -lactam 剤の MIC が 6.25 μ g/ml 以下の菌株と 12.5 μ g/ml 以上の菌株について併用効果を検討した成績では、12.5 μ g/ml 以上の菌株の FIC index が小さく併用の臨床的合理性が示唆された。殺菌能における検討でも FIC index の小さい組み合わせでより強い増殖阻

止作用がみられ、*in vivo* に反映する可能性が示唆された。限ら²⁸⁾は *P. aeruginosa* 呼吸器感染症において、*in vitro* での FIC index と臨床効果には相関が認められたと報告し、FIC index の測定はきわめて有意義であると述べている。一方、藤井ら²⁹⁾は FIC index の濃度が体内で実現する可能性はきわめて低いとし、FIC index が臨床に反映することに疑問を投げ掛けている。しかし血中、尿中あるいは組織内の濃度比は動的なものであり、ある至適濃度比が感染病巣における細菌に及ぼす影響としては、FIC index は無視できないものであろう。一方、*P. aeruginosa* に対して抗菌力が認められない CFX と AMK の併用でも平均 FIC index は 0.6230 と部分的相乗作用を示した。作用機序を考慮するとこの併用が臨床的に有用であるとは考え難い。FIC index はあくまでも MIC を基準としての相対的な数値を表現しているものであり、各薬剤の MIC 値を無視しては FIC index を比較する意義は少ないと思われた。また FIC index 値は β -lactam 剤の感受性より AGs の感受性に左右されることが示唆された。KRUZ ら³⁰⁾は PIPC と LMOX、CPZ、Cefotaxime (CTX) の併用では相乗作用は 18~25% の菌株にしかみられなかったが、AMK の併用により約 80% に相乗作用がみられたとし、*in vitro* の相乗作用は AMK の感受性によると報告している。

細菌の β -lactam 剤耐性の主たる原因が β -lactamase であることから、新しい併用療法として、近年 β -lactamase 阻害剤が臨床的に使用されてきた。CVA は放線菌の代謝産物から発見され、SBT は有機合成的に得られた β -lactamase の不可逆的阻害剤である。現在、CVA と Amoxicillin (AMPC)³¹⁾、SBT と Ampicillin (ABPC)³²⁾、CPZ³³⁾ との合剤が使用されている。第 3 世代 β -lactam 剤と SBT あるいは CVA を 1:1 に混合し、各 β -lactam 剤の MIC を測定した結果、MIC が 2 管以上低下した菌株は CPZ と CVA の併用で 6 株 (22.2%) にみられたが、他の組み合わせでは抗菌活性の増強は認められなかった。また β -lactamase 阻害剤を添加することにより、逆に MIC が 2 管以上上昇した株、すなわち β -lactam 剤の抗菌力が低下した株が CZX と CVA の併用で 15 株 (55.6%) にみられたことは興味深い。両剤における細菌増殖曲線の検討でも、CZX 単独に比し CVA 添加時の方が増殖阻止作用が弱くなるのが観察された。この両剤間に干渉的作用があることが示唆された。

位相差顕微鏡における形態変化では両者に差異が認められないことから、CZX と CVA の薬剤間の拮抗が示唆された。 β -lactam 剤と AGs に β -lactamase 阻害剤を加えて FIC index を検討したが、CPZ に CVA を加えた場合に軽度の FIC index の低下がみられたのみであ

った。したがって *P. aeruginosa* 感染症において β -lactam 剤または同剤と AGs との併用に β -lactamase 阻害剤を併用した場合、抗菌力に及ぼす影響は軽微であり、臨床的有用性は少ないと考えられた。*P. aeruginosa* の β -lactamase は主に誘導的に産生されるものであり³⁴⁾、Richmond type 1d に属し cephalosporinase 型が主である³⁵⁾。SBT、CVA は Richmond type 1 の酵素に対する作用が弱く type 2~5 に強い阻害作用を有することが認められている^{36,37)}。今回の検討はこれらの基礎的検討を反映する成績であった。

日常臨床では重症感染症あるいは難治性の感染症治療にあたって、抗生剤の併用は安易にかつ at random に行なわれている傾向がみられる。monotherapy で無効の場合、併用療法を行なうか、使用薬剤を増量するかを選択は困難なことが多い。理論的根拠のない抗生剤の併用療法は抗菌薬剤の濫用をもたらす、耐性菌出現を促進する結果となる。今回の検討成績が臨床的有用性にどれだけ反映されるかは今後の検討課題であるが、少なくとも併用療法を行なわなければならない症例では基礎的根拠に基づいた化学療法が必要である。また安全性の上からも使用する各薬剤の投与量減量が臨床的に確かめられることを期待したい。

稿を終るにあたり御指導、御校閲を賜わった、恩師大井好忠教授に深く感謝いたします。また本研究に直接御指導、御協力いただいた後藤俊弘講師ならびに教室諸兄に謝意を表します。

なお、本論文の要旨は第 19 回緑膿菌研究会 (昭和 60 年 2 月: 於横浜)、第 21 回緑膿菌研究会 (昭和 62 年 2 月: 於東京)、第 33 回日本化学療法学会総会 (昭和 60 年 5 月: 於東京)、第 34 回日本化学療法学会西日本支部総会 (昭和 61 年 12 月: 於名古屋) および第 15 回国際化学療法学会 (昭和 62 年 7 月: 於イスタンブール) にて発表された。

文 献

- 1) 国井乙彦, 熊田徹平, 清水喜八郎: 抗菌薬相互の併用 現状と 2, 3 の考察. 臨床医 12: 190~199, 1986
- 2) BRUMFITT, W. et al.: Clinical and laboratory studies with carbenicillin. The lancet 1: 1289~1293, 1967
- 3) ANDRIOLE, V. T.: Synergy of carbenicillin and gentamicin in experimental infection with *Pseudomonas*. J. Inf. Dis. 124: 546~555, 1971
- 4) 嶋田甚五郎, 他: 実験的緑膿菌感染に対する Latamoxef と Tobramycin の併用効果. Chemotherapy 31: 1102~1108, 1983
- 5) 佐藤 清, 山下錦也, 岡地 諒: 緑膿菌実験感染

- 症における Astromicin と β -lactam 系抗生物質の併用効果。J. J. Ant. XXXIX-6: 1487~1493, 1986
- 6) 五島瑛智子, 他: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
 - 7) 栗田口重美, 白根千賀子, 真山三賢雄, 永田 弘, 金沢喜代治, 吉田 正, 片桐 謙: Sulfamethoxazole と Trimethoprim の研究基礎的検討 I. 試験管内抗菌作用に関する基礎的検討。Chemotherapy 21: 137~149, 1973
 - 8) JAWETZ, E. & J. B. GUNNISON: An experimental basis of combined antibiotic action. J. A. M. A. 150: 693~695, 1952
 - 9) ACAR, J. F.; L. D. SABATH & P. A. RUCH: Antagonism of the antibacterial action of some penicillins by other penicillins and cephalosporins. J. Clin. Invest. 55: 446~453, 1975
 - 10) SANDERS, C. C.; W. E. SANDERS, JR. & R. V. GOERING: *In vitro* antagonism of beta-lactam antibiotics by ceftioxin. Antimicrob. Agent and Chemoth. 21: 968~975, 1982
 - 11) 池田文昭, 高柴 仁, 西田 実, 五島瑛智子, 桑原章吾: Cephem 系薬剤間の antagonism とグラム陰性菌における β -lactamase 誘導について。Chemotherapy 31: 304~308, 1983
 - 12) WATANAKUNAKORN, C. & M. HAMBURGER: Induction of spheroplasts of *Pseudomonas aeruginosa* by carbenicillin. Applied Microb. 17: 935~937, 1969
 - 13) MOELLERING, B. C. JR. & A. N. WEINBERG: Studies on antibiotic synergism against enterococci. II. Effect of various antibiotics on the uptake of ^{14}C -labeled streptomycin by enterococci. J. Clin. Inv. 50: 2580~2584, 1971
 - 14) SCUDAMORE, R. A. & M. GOLDNER: Penetration of the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* by synergistic combination of beta-lactam and aminoglycoside antibiotics. Antimicrob. Agent and Chemoth. 21: 1007~1010, 1982
 - 15) 三木敦三: 実験的細菌性心内膜炎に対するペニシリン並にストレプトマイシン併用効果の研究。Chemotherapy 7: 88~93, 1959
 - 16) EICKHOFF, T. C.: *In vitro* effects of carbenicillin combined with gentamicin or polymyxin B against *Pseudomonas aeruginosa*. Applied Microb. 18: 469~473, 1969
 - 17) 佐々木昌子, 大泉耕太郎, 渡辺 彰, 青沼清一, 今野 淳: Carbenicillin と Aminoglycoside 併用における基礎的, 臨床的研究。Chemotherapy 28: 825~835, 1980
 - 18) 田中真由美, 河端繁勝, 西野武志, 谷野輝雄: セフマイシン系抗生物質とアミノ配糖体系抗生物質の併用に関する研究。J. J. Ant. XXXVI-10: 2869~2880, 1983
 - 19) 青沼清一, 大沼菊夫, 渡辺 彰, 佐々木昌子, 大泉耕太郎, 今野 淳: 抗生物質の併用に関する研究(III) 臨床分離菌に対する Piperacillin と Dibekacin の *in vitro* 併用効果に関する実験的考察—肺炎桿菌に対する殺菌効果を含めて—。Chemotherapy 30: 776~779, 1982
 - 20) HYAMS, P. J.; M. S. SIMBERKOFF & J. J. RAHAL, JR.: Synergy between cephalosporin and aminoglycoside antibiotics against *Providencia* and *Proteus*. Antimicrob. Agent and Chemoth. 5: 571~577, 1974
 - 21) 名出頼男: セファロスポリン系抗生物質。新化学療法ハンドブック, 209~212 頁, 永井書店, 1979
 - 22) 第30回日本化学療法学会総会: 新薬シンポジウム I, SN 401 (Ceftazidime). 東京, 1982
 - 23) SCRIBNER, R. K.; M. I. MARKS, A. H. WEBER, M. M. TARPAY & D. F. WELCH: Activities of various β -lactams and aminoglycosides, alone and in combination, against isolated of *Pseudomonas aeruginosa* from patient with cystic fibrosis. Antimicrob. Agent and Chemoth. 21: 939~943, 1982
 - 24) XIMENES, J.; C. K. HIRAI & I. M. TAKENAKA: Global and effective synergism of amikacin, gentamicin or tobramycin when combined with carbenicillin against *Pseudomonas aeruginosa*. J. Int. Med. Res. 7: 375~378, 1979
 - 25) 上田 泰, 他: 毒性。アミノ配糖体系, 95~145 頁, 南江堂, 1985
 - 26) PICKERING, L. K. & P. GEARHART: Effect of time and concentration upon interaction between gentamicin, tobramycin, netilmicin, or amikacin and carbenicillin or ticarcillin. Antimicrob. Agent and Chemoth. 15: 592~596, 1979
 - 27) RIFF, L. J. & J. L. THOMASON: Comparative aminoglycoside inactivation by β -lactam antibiotics. J. Antibiotics XXXV: 850~857, 1982
 - 28) 陳 瑞明, 菊池典雄, 村木憲子, 長尾啓一, 栗山 喬之, 渡辺昌平, 高橋公毅, 菅野治重: 緑膿菌呼吸器感染症に対する Tobramycin, Cefsulodin, Fosfomycin 3 剤の併用療法: FIC index と治療効果について。Chemotherapy 34: 688~704, 1986
 - 29) 藤井良知: 抗菌薬相互の併用 8. FIC index は果して臨床に結びつくか。臨床医 12: 201~207, 1986
 - 30) KURTZ, T. O.; D. J. WINSTON, D. A. BRUCKNER & W. J. MARTIN: Comparative *in vitro* synergistic activity of new beta-lactam antimicrobial agent and amikacin against *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens*. Antimicrob. Agent and Chemoth. 20: 239~243, 1981

- 31) 大井好忠, 他: 尿路感染症に対する BRL 25000 の基礎的臨床的検討。Chemotherapy 30(S-2): 524~536, 1982
- 32) 島田 剛, 他: 尿路感染症における Sultamicillin の基礎的・臨床的検討。Chemotherapy 33(S-2): 670~684, 1985
- 33) 大井好忠, 他: 尿路感染症における Sulbactam と Cefoperazone の合剤の基礎的臨床的検討。Chemotherapy 32(S-4): 589~605, 1984
- 34) 武部和夫, 平井裕一, 熊坂義裕, 中畑 久, 葛西 猛, 工藤 肇: 抗菌薬相互の併用 2. β -lactamase 誘導能の影響。臨床医 12: 153~159, 1986
- 35) 横田 進: β -lactam 薬剤の抗菌力: とくに β -lactamase に対する安定性について。Chemotherapy 27: 211~221, 1979
- 36) 五島雅智子, 小川正俊, 金子麻子, 辻 明良, 宮崎修一, 桑原重吾: β -lactamase inhibitor である Sulbactam と Cefoperazone の併用による *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用。Chemotherapy 32(S-4): 38~50, 1984
- 37) READING, C. & M. COLE: Clavulanic acid, a beta-lactamase-inhibiting beta-lactam from *Streptomyces clavuligerus*. Antimicrob. Agent and Chemoth. 11: 852~857, 1977

ANTIBIOTIC COMBINATION THERAPY AGAINST *P. AERUGINOSA*

TAKESHI SHIMADA

Department of Urology, Faculty of Medicine, Kagoshima University

(Director: Prof. Y. OHI)

I studied the synergistic antimicrobial activity of β -lactams and aminoglycosides (AGs) against *P. aeruginosa* with and without β -lactamase inhibitor (clavulanic acid, CVA; sulbactam, SBT).

Antimicrobial activity against 54 strains of *P. aeruginosa* isolated from patients with urinary tract infections were measured by agar dilution method using an inoculum size of 10^6 cells/ml. Of three AGs, gentamicin (GM) and of nine β -lactams, ceftazidime (CAZ) showed the lowest MIC₉₀ of 3.13 μ g/ml.

I investigated the fractional inhibitory concentration (FIC) indices of three AGs (GM, amikacin, micromonacin) and eight β -lactams (piperacillin, ceftoxitin, latamoxef, cefmenoxime, ceftizoxime, ceftazidime, cefoperazone and cefsulodin) against 27 bacterial strains using the checkerboard method. Of 24 combinations, that of cefoperazone (CPZ) and amikacin (AMK) was very effective, with an average minimal FIC index of 0.4567. Synergistic activity was observed against 19 of 27 strains (70.4%). The MICs of CPZ against all 27 strains were less than 3.13 μ g/ml when combined with 3.13 μ g/ml of amikacin. Bacterial killing-curves corresponded closely with FIC indices.

Changes in MICs were examined using combinations of six new β -lactams (CAZ, CPZ, latamoxef, ceftizoxime, cefmenoxime and carumonam) with β -lactamase inhibitors. In a combination of CPZ and CVA, the MICs against six strains (22.2%) were twice as sensitive as CPZ alone. In combinations of CZX and CVA, however, MICs showed resistance.

I also investigated some combinations of β -lactams, AGs and β -lactamase inhibitors. A reduction in the average minimal FIC indices was observed in the combinations CPZ-GM-CVA and CPZ-AMK-CVA, though CZX-GM-CVA showed a shift in average minimal FIC index from 0.6410 to 0.8872. Although synergistic activity of CZX and GM was proved against 10 of 27 strains (37%), a combination with CVA acted synergistically on only one strain. Drug interaction between CZX and CVA therefore needs further clarification.