

# Netilmicin とセフェム系抗生物質との *in vitro* 併用効果の検討

大月 秀夫・上 洋 司・柴 原 健

エッセクス日本株式会社研究開発部\*

大 槻 雅 子・西 野 武 志

京都薬科大学微生物学教室

(昭和 63 年 6 月 30 日受付)

アミノ配糖体系抗生物質である netilmicin (NTL) と, latamoxef (LMOX), cefoperazone (CPZ), ceftizoxime (CZX), cefmenoxime (CMX) および ceftazidime (CAZ) の *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* および *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* に対する *in vitro* における抗菌活性および併用効果を検討し, 以下の成績を得た。

1. *E. coli* および *M. (B.) catarrhalis* に対して, いずれの薬剤とも単独で優れた抗菌力を示した。
2. checkerboard dilution method により併用効果を検討した結果, *S. marcescens* および *P. aeruginosa* に対していずれの組み合わせも著明な相乗作用が認められた。
3. *S. marcescens* および *P. aeruginosa* の増殖曲線に及ぼす影響を検討した結果, NTL と LMOX あるいは CAZ をそれぞれ単独で静菌的な作用を示す濃度で併用すると, それぞれ殺菌的に作用した。
4. *P. aeruginosa* に対する形態変化を位相差顕微鏡にて観察した結果, NTL 単独では対照とほぼ同様な形態が, LMOX あるいは CAZ 単独では菌体の著しい伸長化が観察された。NTL と LMOX あるいは CAZ 併用時にはいずれも菌体は若干伸長化し, 溶菌像や菌体の一部に空胞を認めた。

**Key words:** アミノ配糖体系抗生物質, ネチルマイシン, セフェム系抗生物質, 併用効果, グラム陰性菌

抗菌薬の併用は, 抗菌スペクトルの拡大, 両薬剤間の協力作用, 起炎菌の耐性化の防止, 副作用の軽減などの目的で, 種々検討されている。特に,  $\beta$ -ラクタム系抗生物質とアミノ配糖体系抗生物質との併用では, 種々のグラム陰性桿菌に対して広く協力作用が認められ, 臨床的にも広く応用されている<sup>1-9)</sup>。

しかし, 一方では gentamicin と  $\beta$ -ラクタム系抗生物質との併用により gentamicin が不活性化され, 拮抗作用を示すなど<sup>7,8)</sup>, 使用する薬剤の組み合わせあるいは対象となる感染症によっては, 併用することによりかえって単剤を用いた場合より効果が減弱したり, 副作用が増強されたりする可能性がある<sup>9-11)</sup>。

今回我々は, アミノ配糖体系抗生物質として netilmicin を, 併用薬剤として第3世代セフェム系抗生物質である latamoxef, cefoperazone, ceftizoxime, cefmenoxime および ceftazidime を選び, これら薬剤間の *in vitro* における併用効果について検討した。被験

菌には *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* および近年, 呼吸器感染症で注目されている *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* を用い, checkerboard dilution method により FIC index を求めた。また, 併用効果を認めた組み合わせのうち代表的なものについて増殖曲線に対する影響, および位相差顕微鏡による形態変化の観察を行なった。

## I. 材料および方法

### 1. 使用薬

netilmicin (NTL, エッセクス日本株式会社), latamoxef (LMOX, 塩野義製薬株式会社), cefoperazone (CPZ, 台糖ファイザー株式会社), ceftizoxime (CZX, 藤沢薬品株式会社), cefmenoxime (CMX, 武田薬品株式会社) および ceftazidime (CAZ, 日本グラクソ株式会社) のいずれも力価の明らかなものを使用した。

### 2. 使用菌株

\* 滋賀県甲賀郡水口町笹が丘 1-4

京都薬科大学微生物学教室保存の臨床分離株 *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* 各 20 株および *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* 19 株を用いた。

### 3. 抗菌力測定

日本化学療法学会感受性測定法<sup>1)</sup>に従って測定した。すなわち、被験菌を SCD 液体培地 (SCD, 大五栄養) で 37°C, 18 時間培養後、薬剤含有 heart infusion agar (HIA, 栄研) 平板上に接種し、37°C, 18 時間培養後、最小発育阻止濃度 (MIC,  $\mu\text{g/ml}$ ) を判定した。なお、*M. (B.) catarrhalis* の平板培地には、HIA に馬脱纖維素血液を 5% 添加したチョコレート寒天培地を用いた。

### 4. checkerboard dilution method による併用効果の検討

NTL と第 3 世代セフェム系抗生物質 (CEPs) とを併用した場合の協力作用について、checkerboard dilution method により検討した。すなわち、NTL および CEPs を種々の濃度に含ませた HIA 平板培地を作成し、接種菌数  $10^8$  cells/ml の MIC を判定した。これらの結果から minimum fractional inhibitory concentration index (min. FIC index) を求めた。min. FIC index が 1.0 以下であれば両薬剤間に協力作用が、0.5 以下であれば著明な相乗作用が、また、2.0 より大きければ拮抗作用があるとした。なお、効果のないものは不問とした。

### 5. 増殖曲線に対する影響

*S. marcescens* T-55 および *P. aeruginosa* E-2 を SCD で 37°C, 18 時間前培養し、この菌液を heart infusion broth (HIB) で約  $10^8$  cells/ml に希釈後、37°C で 2 時間振盪培養を行ない、菌数が約  $10^7$  cells/ml とな

った対数増殖期の菌液に各濃度の薬剤を添加し、薬剤添加 1, 2 および 4 時間後の生菌数を測定した。

### 6. 位相差顕微鏡による形態観察

スライドガラス上に薬剤を含んだ HIA フィルム寒天を作成し、HIB で約 3 時間振盪培養を行なった対数増殖期の菌液を HIA フィルム寒天に塗抹し、パラフィンで封入した。この標本を 37°C 保温下、位相差顕微鏡 (オリンパス) により経時的に観察した。

## II. 結 果

### 1. 使用菌株の感受性

NTL, LMOX, CPZ, CZX, CMX および CAZ それぞれ単独の *E. coli*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa* および *M. (B.) catarrhalis* に対する、接種菌数  $10^6$  および  $10^8$  cells/ml における各薬剤の MIC<sub>90</sub> を Table 1 に示した。

#### (1) *E. coli*

CPZ では  $10^8$  cells/ml 接種時に、800  $\mu\text{g/ml}$  の濃度でも感受性を示さない株が存在したが、NTL, LMOX, CAZ, CZX および CMX は、全ての株に対していずれも優れた抗菌力を示した。

#### (2) *S. marcescens*

CPZ では  $10^8$  cells/ml 接種時に 800  $\mu\text{g/ml}$  であっても被験 20 株中 4 株の増殖を認め MIC<sub>90</sub> は 800  $\mu\text{g/ml}$  以上となった。一方 CAZ では MIC<sub>90</sub> が 0.78  $\mu\text{g/ml}$  ( $10^8$  および  $10^6$  cells/ml 接種時) と、全ての株に対して優れた抗菌力を示した。他の薬剤の MIC<sub>90</sub> ( $10^8$  cells/ml) は、NTL, LMOX, CZX, CMX でそれぞれ 12.5, 3.13, 6.25, 1.56  $\mu\text{g/ml}$  であった。

#### (3) *P. aeruginosa*

NTL および CAZ が比較的強い抗菌力を示し、いず

Table 1. Susceptibility of clinical isolates to netilmicin and cepheims

Organism	No. of strains	Inoculum size (cells/ml)	MIC <sub>90</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )					
			NTL	LMOX	CPZ	CZX	CMX	CAZ
<i>Escherichia coli</i>	20	$10^8$	6.25	0.39	800	0.20	0.20	0.39
		$10^6$	0.78	0.10	1.56	0.05	0.10	0.20
<i>Serratia marcescens</i>	20	$10^8$	12.5	3.13	>800	6.25	1.56	0.78
		$10^6$	12.5	6.25	100	0.78	1.56	0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20	$10^8$	3.13	50	25	100	50	3.13
		$10^6$	3.13	25	6.25	50	25	1.56
<i>Moraxella (Branhamella) catarrhalis</i>	19	$10^8$	0.39	$\leq 0.025$	12.5	0.39	1.56	0.20
		$10^6$	0.20	$\leq 0.025$	0.39	0.20	0.20	0.05

		CAZ (μg/ml)										NTL alone
		50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	0.20	0.10	
NTL (μg/ml)	12.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6.25	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	3.13	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	1.56	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	0.78	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	0.39	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	0.20	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	0.10	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	0.05	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	0.025	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CAZ alone		-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Fig. 1. Combination effect of netilmicin and ceftazidime against *Pseudomonas aeruginosa* No. 49

$$\text{FIC index} = \frac{\text{MIC of netilmicin in combination}}{\text{MIC of netilmicin alone}} + \frac{\text{MIC of ceftazidime in combination}}{\text{MIC of ceftazidime alone}}$$

min. FIC index(\*)=0.125

Table 2. Combined effects of netilmicin and cepheids against clinical isolates

Organism	Drug combination		Number of strains (%)			
	CEPs*	mean min. FIC index	synergy (≤0.5)	partial synergy (>0.5, ≤1.0)	indifference (>1.0, ≤2.0)	antagonism (>2.0)
<i>Escherichia coli</i> (20 strains)	LMOX	0.536	13 (65%)	6 (30%)	1 (5%)	0 (0%)
	CPZ	0.374	16 (80%)	4 (20%)	0 (0%)	0 (0%)
	CZX	0.511	14 (70%)	5 (25%)	1 (5%)	0 (0%)
	CMX	0.595	9 (45%)	10 (50%)	1 (5%)	0 (0%)
	CAZ	0.685	3 (15%)	16 (80%)	1 (5%)	0 (0%)
<i>Serratia marcescens</i> (20 strains)	LMOX	0.448	16 (80%)	4 (20%)	0 (0%)	0 (0%)
	CPZ	0.369	19 (95%)	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)
	CZX	0.351	16 (80%)	4 (20%)	0 (0%)	0 (0%)
	CMX	0.508	10 (50%)	10 (50%)	0 (0%)	0 (0%)
	CAZ	0.516	11 (55%)	8 (40%)	1 (5%)	0 (0%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (20 strains)	LMOX	0.416	18 (90%)	2 (10%)	0 (0%)	0 (0%)
	CPZ	0.342	20 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	CZX	0.394	17 (85%)	3 (15%)	0 (0%)	0 (0%)
	CMX	0.390	19 (95%)	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)
	CAZ	0.368	16 (80%)	4 (20%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>Moraxella (Branhamella) catarrhalis</i> (19 strains)	LMOX	0.563**	0 (0%)	1 (5%)***	18 (95%)	0 (0%)
	CPZ	0.537	9 (47%)	10 (53%)	0 (0%)	0 (0%)
	CZX	0.675	3 (16%)	15 (79%)	1 (5%)	0 (0%)
	CMX	0.577	11 (58%)	7 (37%)	1 (5%)	0 (0%)
	CAZ	0.761	0 (0%)	19 (100%)	0 (0%)	0 (0%)

\* : cepheids

\*\* : min. FIC index of 1 strain (\*\*\*)

れも  $MIC_{80}$  ( $10^8$  cells/ml) は  $3.13 \mu\text{g/ml}$  であった。他の薬剤では、CPZ で  $25 \mu\text{g/ml}$ 、LMOX および CMX で  $50 \mu\text{g/ml}$ 、CZX で  $100 \mu\text{g/ml}$  であった。

#### (4) *M. (B.) catarrhalis*

LMOX が最も優れた抗菌力を示し、 $MIC_{80}$  ( $10^8$  cells/ml) は  $0.025 \mu\text{g/ml}$  以下であった。CAZ が次に強い抗菌力を示し、 $MIC_{80}$  は  $0.2 \mu\text{g/ml}$  で、以下 NTL と CZX が同等で  $0.39 \mu\text{g/ml}$ 、CMX が  $1.56 \mu\text{g/ml}$ 、CPZ が  $12.5 \mu\text{g/ml}$  と、いずれの薬剤も優れた抗菌力を示した。

#### 2. checkerboard dilution method による併用効果の検討

試験菌に対する NTL と CEPs 5 剤との併用効果について、checkerboard dilution method により試験を行なった。*P. aeruginosa* に対する成績の一部を Fig. 1 に示し、また、これらの成績より求めた min. FIC index を、Table 2 に示した。

##### (1) *E. coli*

LMOX、CZX、CMX および CAZ はそれぞれ単独でも良好な抗菌力を示すが、NTL との併用によりさらに効果が増し、95% の株に対して協力作用を認めた。CPZ においては、抗菌力は単独では他の 4 剤に劣るが、NTL との併用により平均 min. FIC index は 0.374 と抗菌力は著しく増強され、すべての株に対して協力作用を認めた。

##### (2) *S. marcescens*

全ての組み合わせに優れた併用効果が認められた。NTL と CPZ とでは 95%、LMOX および CZX では 80% の株に対して著明な相乗作用が認められた。

##### (3) *P. aeruginosa*

いずれの組み合わせにおいても、全ての株に対して協力作用を示し、80% 以上の株に対して著明な相乗効果を認めた。用いた CEPs 5 剤は、いずれも NTL との併用による平均 min. FIC index は 0.342~0.416 と優れた併用効果を示した。

#### (4) *M. (B.) catarrhalis*

CPZ および CAZ が併用により、全ての株に対して協力作用を示した。LMOX においては、単独で強い抗菌力を示すため、本実験で実施した LMOX および NTL  $0.025 \mu\text{g/ml}$  以上の濃度の併用で協力作用を認めた株は 1 株だけであったが、LMOX を含めいずれの薬剤も NTL との併用により拮抗作用を示した株は認められなかった。

#### 3. 増殖曲線に対する影響

*S. marcescens* T-55 および *P. aeruginosa* E-2 に対して、NTL と LMOX あるいは CAZ をそれぞれ単独又は併用して作用させた場合の増殖曲線に及ぼす影響を、生菌数測定により検討した。Fig. 2 および 3 に示したように、単独作用時には、*S. marcescens* T-55 および *P. aeruginosa* E-2 に対して、NTL は濃度に依存して生菌数が減少し、顕著な殺菌作用が見られ、その効果は比較薬として用いた LMOX および CAZ よりも強かった。次に、単独作用時には静菌的あるいはやや増加傾向を示す濃度の NTL と LMOX あるいは CAZ を併用させると、Fig. 4 および 5 に示したように *S. marcescens* T-55 および *P. aeruginosa* E-2 に対していずれも殺菌的に作用し、両組み合わせとも同等の協力作用を認めた。

#### 4. 位相差顕微鏡による形態観察

*P. aeruginosa* E-2 に対して単独ではそれぞれ静菌的作用を示す濃度の NTL と LMOX あるいは CAZ をそ

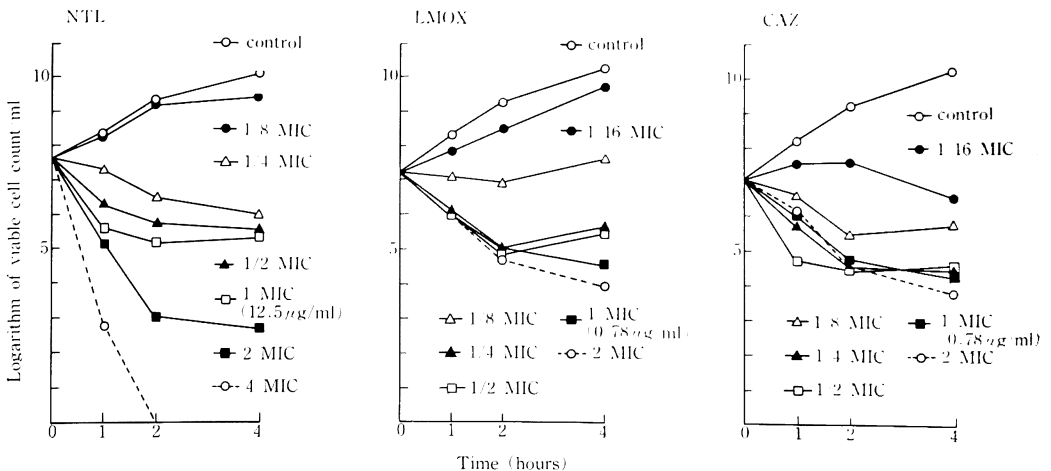


Fig. 2. Bactericidal effect of netilmicin, latamoxef and ceftazidime against *Serratia marcescens* T-55

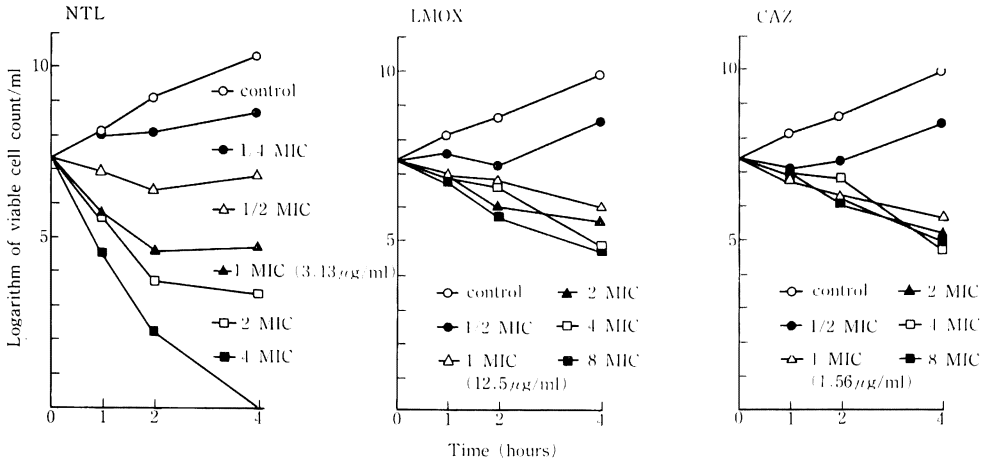


Fig. 3. Bactericidal effect of netilmicin, latamoxef and ceftazidime against *Pseudomonas aeruginosa* E-2

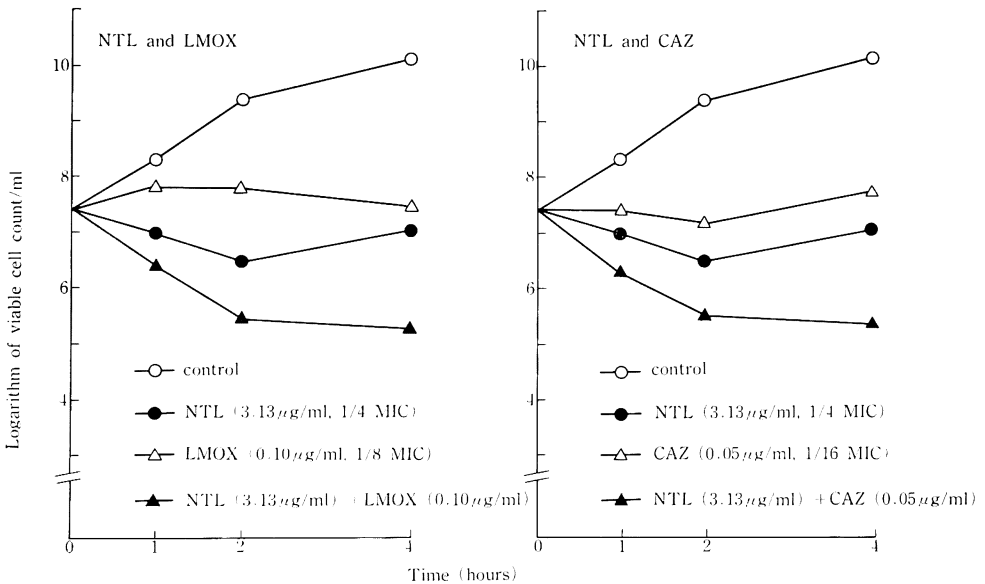


Fig. 4. Bactericidal effect of netilmicin, latamoxef and ceftazidime, alone and in combination, against *Serratia marcescens* T-55

れぞれ単独又は併用して作用させた場合の形態変化を、位相差顕微鏡により観察した。その結果を Fig. 6 および 7 に示した。対照では、時間の経過と共に正常に増殖していく像が観察された。LMOX あるいは CAZ 作用時には共に菌体の著しい伸長が認められたが、NTL 作用時には対照とほとんど同様の形態が観察された。一方、Fig. 6 に示した様に、NTL (0.39 µg/ml) と LMOX あるいは CAZ 併用時にはいずれも菌体が若干伸長し、溶菌像や菌体の一部が空胞化した像が見られた。また、Fig. 7 に示した様に、NTL (1.56 µg/ml) と LMOX あるいは CAZ 併用時には、NTL 単用時とはほぼ同様

の形態が観察された。

### III. 考 察

アミノ配糖体系抗生物質とβ-ラクタム系抗生物質との協力作用については、これまで数多くの報告がある<sup>1-6)</sup>。特に、*S. marcescens* および、*P. aeruginosa* に対して多く試みられている。

アミノ配糖体系抗生物質とβ-ラクタム系抗生物質との協力作用の機序としては、β-ラクタム系抗生物質により細胞壁が傷害を受け、アミノ配糖体系抗生物質に対する透過性のバリアーが除かれるためと考えられている<sup>13,14)</sup>。

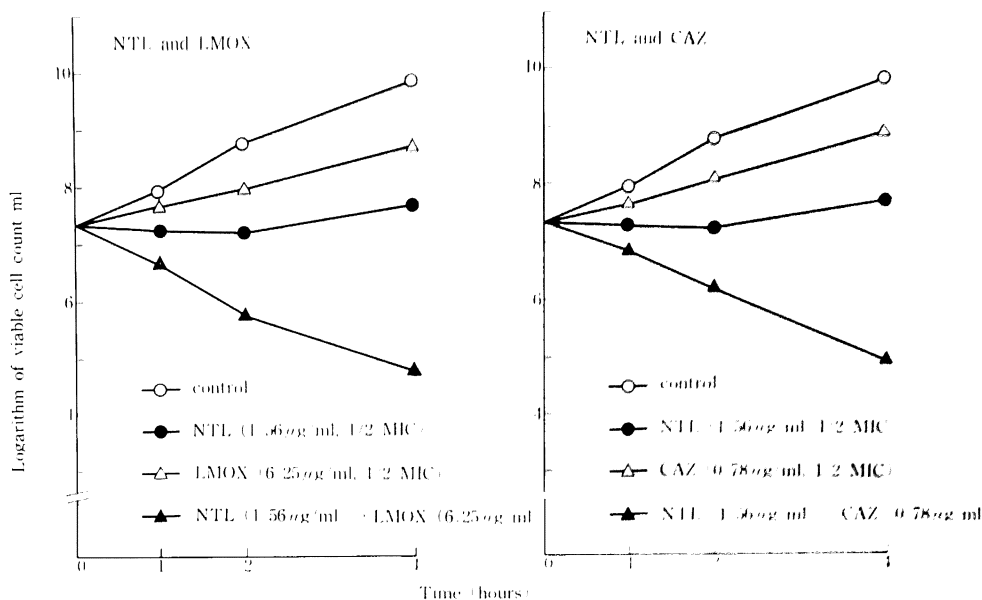


Fig. 5. Bactericidal effect of Netilmicin, latamoxef and ceftazidime, alone and in combination, against *Pseudomonas aeruginosa* E-2

しかし、その一方で、MCLAUGHLINら<sup>11)</sup>はある条件下でアミノ糖部分と $\beta$ -ラクタム環とが結合することにより carbenicillin による gentamicin の不活性化が起こることを報告し、*in vivo* での拮抗作用の出現する可能性を指摘している。また、*S. marcescens* の臨床分離株に対するアミノ配糖体系抗生物質とセフマライシン系抗生物質との併用においては協力作用と共に拮抗作用が現われたという報告もある<sup>11)</sup>。

今回我々は、*E. coli*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa* および呼吸器感染症で注目されている *M. (B.) catarrhalis* に対して、アミノ配糖体系抗生物質である NTL と第3世代 CEPs である LMOX, CPZ, CZX, CMZ および CAZ との5通りの組み合わせについて *in vitro* における併用効果を検討した。

*M. (B.) catarrhalis* は、従来上気道の常在菌とされ、一般に非病原性と考えられていた。1981年松本ら<sup>12)</sup>は、本菌が呼吸器感染症の起炎菌であることを指摘し、以来本菌の検出頻度は年々増加傾向にあり、現在では *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* および *P. aeruginosa* とともに起炎菌の上位を占めている<sup>13)</sup>。また、本菌は単独感染のみならず複数菌感染も多いとされ、特に、*H. influenzae* との共存性が高いことが示唆されている<sup>17)</sup>。さらに、本菌の約90%が $\beta$ -lactamaseを産生し、本菌と *H. influenzae* との混合感染時等、本菌の産生した $\beta$ -lactamaseによる抗菌剤の不活性化が指摘されている<sup>19)</sup>。

本検討で用いた抗菌剤6剤はいずれも *M. (B.) catarrhalis* に対して優れた抗菌力を示し、NTLとCEPs5剤との併用においては協力作用は弱いものの、拮抗作用を認めるものはなく、*M. (B.) catarrhalis* を含む複数菌感染時にも応用可能と考えられた。

*E. coli* に対しても、各薬剤単独で優れた抗菌力を示し、併用によりさらに抗菌力は増した。

*S. marcescens* および *P. aeruginosa* は、現在、難治性感染症および院内感染症などの起炎菌として検出されている。本検討で用いた第3世代 CEPs およびアミノ配糖体系抗生物質は、これら起炎菌による感染症に対して頻繁に用いられている。本検討では、*S. marcescens* および *P. aeruginosa* に対してそれぞれ単独で比較的強い抗菌力を示したが、NTLとこれら5剤の併用により、抗菌力はさらに増強し、いずれの組み合わせにおいても、今回使用した全菌株に対して拮抗作用は認められず、優れた併用効果を示した。また、NTLとLMOXあるいはCAZについて、増殖曲線に及ぼす影響を検討した結果、併用による効果を確認した。さらに、位相差顕微鏡により菌の形態を観察した結果、併用による明らかな形態上の変化を確認した。このような変化は、 $\beta$ -ラクタム系抗生物質により菌体が伸長化するとともに、アミノ配糖体系抗生物質の作用を受けやすくなり、菌体の一部空胞化、さらには溶菌に至るものと考えられている<sup>13,14)</sup>。

薬剤の組み合わせとしては、単独では比較的抗菌力の弱かったCPZがNTLとの併用により、使用した全ての

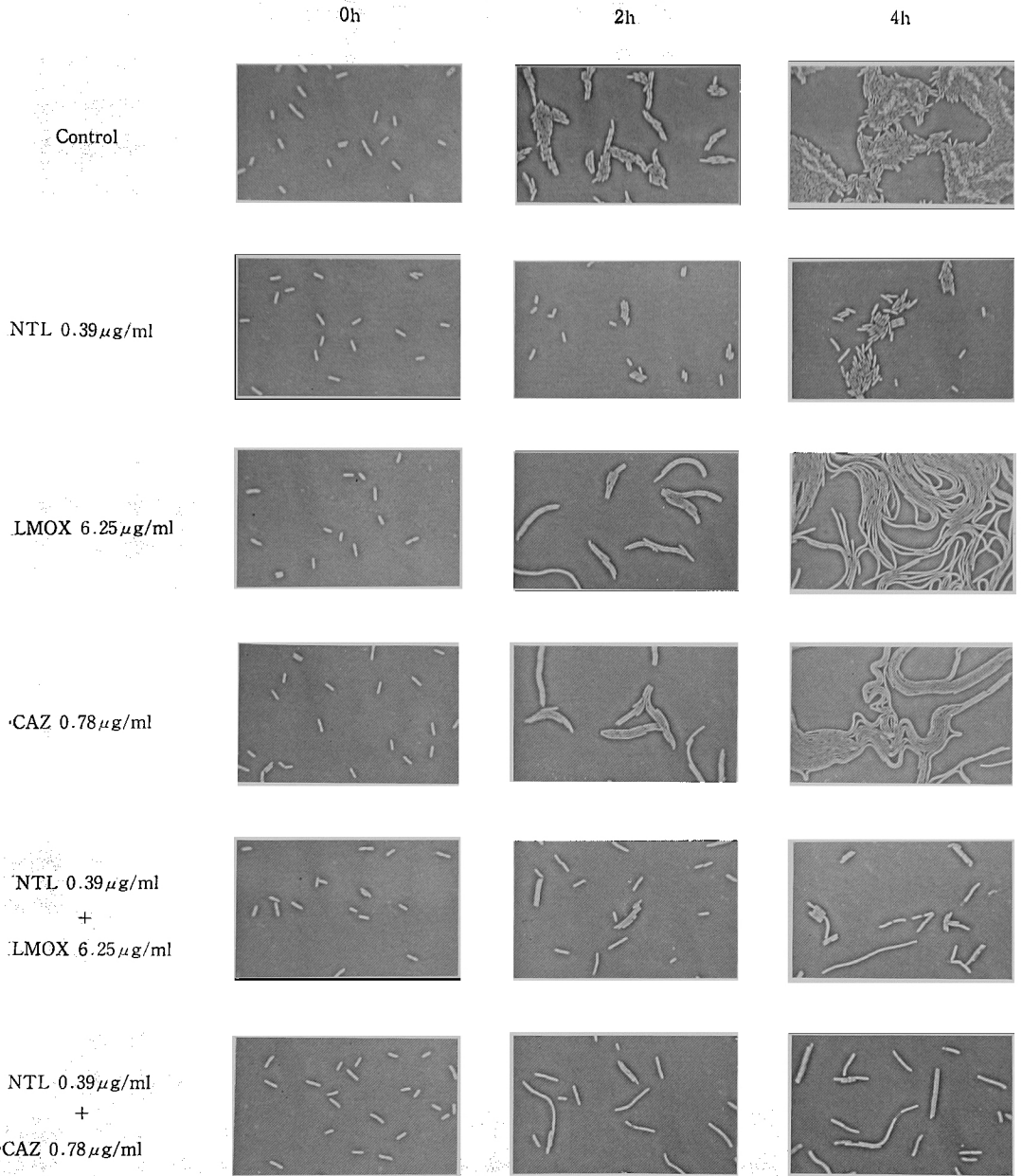


Fig. 6. Phase-contrast micrographs of *Pseudomonas aeruginosa* E-2 exposed to netilmicin, latamoxef, ceftazidime and combinations (netilmicin concentration : 0.39 μg/ml)

菌株に協合作用が認められ、併用による効果の増強は最も優れていた。一方、LMOX および CAZ は単独でも強い抗菌力を示すが、NTL との併用により抗菌力はさらに増強され、低濃度域で優れた抗菌活性を示した。また、この時の両薬剤の配合比を調べた結果、*S. marcescens* の場合は、NTL と LMOX では 2 : 1 ~ 1 : 64、NTL と

CAZ では 1 : 2 ~ 1 : 128 の付近に、*P. aeruginosa* の場合は、NTL と LMOX では 128 : 1 ~ 1 : 1、NTL と CAZ では 16 : 1 ~ 1 : 16 の付近に協合作用を示す株が多く見られた。

NTL と第 3 世代 CEPs 5 剤についてその併用効果を検討した結果、いずれの菌種に対しても相乗作用あるい

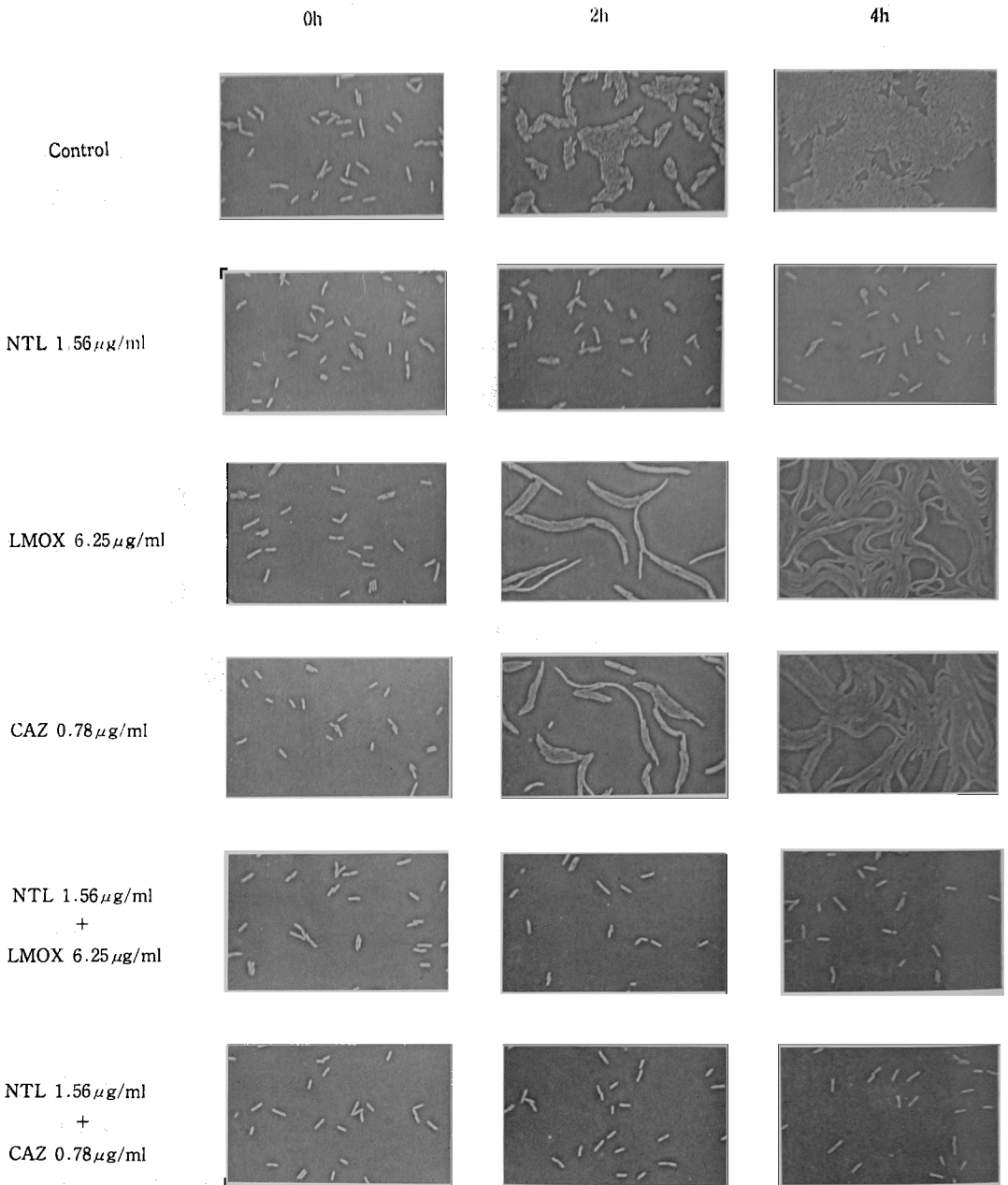


Fig. 7. Phase-contrast micrographs of *Pseudomonas aeruginosa* E-2 exposed to netilmicin, latamoxef, ceftazidime and combinations (netilmicin concentration : 1.56 μg/ml)

は協力作用が認められたが、本検討においては拮抗作用は認められず、NTL とこれら CEPs との併用により優れた併用効果を示すことが示唆された。

#### 文 献

1) 田中真由美, 河端繁勝, 西野武志, 谷野輝雄: セファ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。Jap J Antibiotics 36: 2869~2880, 1983

2) 川原元司: 抗生物質の併用療法に関する基礎的研究—*Serratia* に対する β-lactam 剤とアミノ配糖体剤の併用—。Chemotherapy 35: 803~816, 1987

3) 島田 剛: 緑膿菌に対する化学療法の基礎的検討



- 一併用療法について。Chemotherapy 35 : 889~903, 1987
- 4) 五島瑛智子, 西田 実, 小川正俊: アミノグリコシド抗菌剤と他剤との併用—抗菌力についての問題点。Prog Med 6 : 301~304, 1986
  - 5) LEBEL M, PELLERIN M, BERGERON M G : Serum bactericidal activity of ceftazidime increased by netilmicin. Drug Intelligence and Clinical Pharmacy 19 : 932~936, 1985
  - 6) FAINSTEIN V, BODEY G P; ELTING L, BOLIVAR K, KEATING M J, MCCREDIE K B, VALDIVIESO M : A randomized study of ceftazidime compared to ceftazidime and tobramycin for the treatment of infections in cancer patients. J Antimicrob Chemother 12 Supple A : 101~110, 1983
  - 7) MCLAUGHLIN J E, REEVES D S : Clinical and laboratory evidence for inactivation of gentamicin by carbenicillin. Lancet 1971-1 : 261~264, 1971
  - 8) PICKERING L K, GEARHART P : Effect of time and concentration upon interaction between gentamicin, tobramycin, netilmicin or amikacin and carbenicillin or ticarcillin. Antimicrob Agents Chemother 15 : 592~596, 1979
  - 9) 小川正俊: *In vitro* 及び *in vivo* における拮抗作用, 相乗作用。臨床医 12 : 147~152, 1986
  - 10) 国井乙彦, 熊田徹平, 清水喜八郎: 抗菌薬相互の併用。臨床医 12 : 190~199, 1986
  - 11) MILLER M A, YOUSUF M, GRIFFIN P S, BARTLETT M, CRANE J K : *In vitro* activity of cefamandole, cefoxitin, cefuraxime and carbenicillin, alone and in combination with aminoglycosides against *Serratia marcescens*: Microbiol Immunol 23 : 955~964, 1979
  - 12) 日本化学療法学会 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
  - 13) NAKAZAWA S, NISHINO T, OTSUKI M, NAKAO M, NOMURA T : Bacteriological studies on the combined action of aminoglycoside antibiotics and synthetic penicillins against *Pseudomonas aeruginosa* : J Antibiotics 27 : 989~991, 1974
  - 14) MOELLERING R C, WEINBERG A N : Studies on antibiotic synergism against enterococci. J Clin Invest 50 : 2580~2584, 1971
  - 15) 松本慶蔵, 永武 毅, 渡辺貴和雄: *Branhamella catarrhalis* 慢性呼吸器感染症。日本医時新報 2961 : 31~45, 1981
  - 16) 池本秀雄, 他 (16 施設) 呼吸器感染症患者分離菌の薬剤感受性について (1985年) Jap J Antibiotics 40 : 1669~1697, 1987
  - 17) 重野芳郎, 斎藤 厚, 山口恵三: ブランハメラ・カタラーリス—基礎と臨床一。感染症 17 : 93~98, 1987
  - 18) 永武 毅, 力富直人, 田尾 操, 渡辺貴和雄, ムバキ・ンシアラ, 松本慶蔵: ブランハメラ・カタラーリス。日本臨床 45 : 604~610, 1987
  - 19) 植木信介, 渡辺貴和雄, 力富直人, 永武 毅, 松本慶蔵:  $\beta$ -lactamase 産生ブランハメラによる  $\beta$ -lactam 剤の不活化とその影響—感受性 *H. inf* との混合培養での検討一。第 35 回化学療法学会 (1987) : 118, 1987

## IN VITRO SYNERGISTIC EFFECT OF NETILMICIN AND CEPHEMS

HIDEO OTSUKI, HIROSHI KAMI and TAKESHI SHIBAHARA

Research and Development Laboratories, Essex Nippon Kabushiki Kaisha,  
1-4, Sasagaoka, Minakuchi-cho, Kouga-Gun, Shiga 528, Japan

MASAKO OTSUKI and TAKESHI NISHINO

Department of Microbiology, Kyoto Pharmaceutical University

The combined action of netilmicin (NTL) with latamoxef (LMOX), cefoperazone (CPZ), ceftizoxime (CZX), cefmenoxime (CMX) or ceftazidime (CAZ) was studied against *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*. The following results were obtained:

1. The antibacterial activity of each antibiotic by itself against *E. coli* and *M. (B.) catarrhalis* was strong.
2. Synergistic action of NTL with each of LMOX, CPZ, CZX, CMX and CAZ was observed on all bacteria, especially *S. marcescens* and *P. aeruginosa*. The combination of NTL with CPZ was most effective.
3. Bactericidal activity of NTL with LMOX or CAZ was observed on *S. marcescens* T-55 and *P. aeruginosa* E-2 at concentrations in which the respective drugs alone showed only bacteriostatic activity.
4. Phase-contrast microscopic observation of *P. aeruginosa* E-2 demonstrated that the bacterial cells treated with LMOX or CAZ showed a filament-like form and those treated with NTL almost a normal form. In each combination lysed cells were observed.