

緑膿菌に対する各種抗菌薬の postantibiotic sub-MIC effect

菊池 賢¹⁾・春木 宏介¹⁾・柴田 雄介²⁾・長谷川裕美²⁾
 江成 唯子²⁾・片平 潤一¹⁾・戸塚 恭一¹⁾・清水喜八郎¹⁾
 渡辺 忠洋³⁾

¹⁾ 東京女子医科大学内科*, ²⁾ 同 臨床中央検査部

³⁾ 明治製菓株式会社薬品総合研究所

(平成5年3月1日受付・平成5年6月8日受理)

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 に対するアミノグリコシド剤と各種薬剤の併用効果をアミノグリコシド剤による postantibiotic effect (PAE) 期の菌に対する各種薬剤の作用から検討した。8 MIC の gentamicin を 0.5 時間作用させた後、薬剤を除去した PAE 期、および薬剤を接触させない non PAE 期の菌に対し、1/16~1/2 MIC の piperacillin, ampicillin, ceftazidime, imipenem, ciprofloxacin, rifampicin を作用させた。その結果、PAE 期の菌に対して各 β -ラクタム剤の sub-MIC の抗菌力は non PAE 期菌に対してよりも増殖抑制時間を延長させた。さらに sub-MIC の piperacillin では PAE 期において殺菌力も増強した。我々はこの効果を postantibiotic sub-MIC effect と名付け、そのうち PAE 期における sub-MIC の薬剤による増殖抑制時間の延長を postantibiotic sub-MIC enhancement (PASE) として定義して解析した。rifampicin, ciprofloxacin は postantibiotic sub-MIC effect を示さなかった。アミノグリコシド剤と β -ラクタム剤の投与順序による相乗効果には、アミノグリコシド剤による β -ラクタム剤の postantibiotic sub-MIC effect が影響していることが示唆された。

Key words: postantibiotic effect, postantibiotic sub-MIC effect, *Pseudomonas aeruginosa*, 併用療法, 投与順序

緑膿菌感染症に対する化学療法はかなりの頻度で併用療法を必要とする場合がある^{1,2)}。マウス実験緑膿菌感染症に対するアミノグリコシド剤と piperacillin の併用療法の投与方法の検討では、アミノグリコシド剤の1日1回投与と piperacillin の頻回投与の組み合わせがもっとも優れており、またアミノグリコシド剤を先行投与した場合、piperacillin の先行投与に比べて治療効果に優れていることをすでに報告した³⁾。この効果には Moellering らの指摘した β -ラクタム剤によるペプチドグリカン障害がアミノグリコシド剤の取り込みを上昇させる作用機作⁴⁾以外の機作が考えられたので、緑膿菌に対するアミノグリコシド剤と β -ラクタム剤の併用効果をアミノグリコシド剤による postantibiotic effect 期菌に対する β -ラクタム剤の作用から検討した。

I. 材料と方法

使用菌株: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 を用いた。菌株は 10% skim milk (Difco, Detroit, MA, USA) 中で -85°C に凍結保存し、随時 1.5%

nutrient agar (Difco) slant に分離し使用した。

使用培地: Ca²⁺ 50 mg/l, Mg²⁺ 20 mg/l 補正感受性測定ブイオン⁵⁾: (cation-adjusted sensitive test broth: CASTB: 日水製薬), 生菌数測定には普通寒天 (NA: 日水製薬)⁶⁾ を用いた。EDTA の MIC, FIC index, postantibiotic effect 誘導には Ca²⁺, Mg²⁺ を補正しない感受性測定ブイオン (STB) を用いた。

薬剤: piperacillin は富山化学 (Lot No. RL-433; 908 μ g/mg) より、gentamicin (Lot No. RGM-1902; 672 μ g/mg) および ampicillin (Lot No. PAMC-8-3; 918 μ g/mg) は明治製菓より、ceftazidime (Lot No. 1072; 850 μ g/mg) は Glaxo Laboratories (Greenford, Middlesex, UK) より、imipenem は Merck (Lot No. RZB 531; 956 μ g/mg, Rahway, NJ, USA) より、rifampicin (Lot No. 1357; 1,001 μ g/mg) は第一製薬より、ciprofloxacin (Lot No. 300-388; 843.7 μ g/mg) は Bayer Pharma. (Leverkusen, Germany) より、polymyxin B (Lot No. 0 A 0190;

* 東京都新宿区河田町 8-1

8,100 U/mg) はファイザー製薬よりいずれも力値の明らかな純品として分与されたものを使用した。EDTA-2 Na は関東化学より, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ はナカライテスクより入手し, analytical grade を使用した。

MIC 測定: CASTB を用いた微量液体希釈法により接種菌量を 10^6 cfu/ml として行い, 37°C で 18 時間培養後, 肉眼的発育を認めない濃度を MIC とした。

Fractional inhibitory concentration (FIC) index: FIC index は液体微量希釈による checkerboard 法⁴⁾ を用い, 37°C , 18 時間培養後, 各々の MIC から下記の方法により求めた。FIC index = 併用時薬剤 A の MIC / 単独時薬剤 A の MIC + 併用時薬剤 B の MIC / 単独時薬剤 B の MIC

FIC index ≤ 0.5 を相乗作用, $0.5 < \text{FIC index} \leq 1.0$ を相加作用, $1.0 < \text{FIC index} \leq 2.0$ を不関, $2.0 < \text{FIC index}$ を拮抗作用とした。

postantibiotic effect (PAE) の測定: 対数増殖期の菌液を 10^6 cfu/ml に調整し, 温浴中で 37°C , 振盪培養した。2 時間後, 8 MIC, 4 MIC の gentamicin, 1 MIC の polymyxin B, 8 mM の EDTA に 0.5 時間接触, 1 MIC の gentamicin, 1 MIC の polymyxin B, 8 mM の EDTA に 2 時間接触後, membrane filter (GS: 0.22 μm , 日本ミリポア, 米沢, 日本) にて薬剤を除去, 集菌し, CASTB にて洗浄した。この filter を新鮮 CASTB に浮遊して (postantibiotic effect 期菌: PAE 期菌), 再び 37°C で培養し, 経時的に生菌数を測定した。この際, 薬剤を作用させない対数増殖期の菌液を, 同様に membrane filter による集菌, 洗浄を行い, 薬剤作用させた菌液と同じ菌数となるよう希釈し, 対照 (non PAE 期菌) とした。各時間毎に採取したサンプルは滅菌生理食塩水により 10 倍希釈系列とし, その 10 μl または 100 μl を NA 上に塗布後一夜 37°C で培養し, 生じたコロニー数から生菌数を算出した。PAE は Craig らの方法⁵⁾ に準じ, 次式により求めた。

$$\text{PAE} = T - C$$

(T: 薬剤除去後の生菌数が $1 \log_{10}$ cfu/ml 増加するのに要した時間, C: 対照の菌が $1 \log_{10}$ cfu/ml 増殖するのに要した時間)

なお, 薬剤の接触時間, 接触濃度はいずれもほぼ $2 \sim 3 \log_{10}$ cfu/ml の殺菌効果を得られる条件として設定した。

PAE 期菌に対する各種薬剤の作用: 8 MIC の gentamicin, 1 MIC の polymyxin B, 8 mM の EDTA に 0.5 時間接触後, 薬剤を除去洗浄した PAE

期菌液, non-PAE 期菌に piperacillin, ampicillin, ceftazidime, imipenem, rifampicin, ciprofloxacin を $1/16 \text{ MIC} \sim 1/2 \text{ MIC}$ となるよう添加後 37°C で培養し, 経時的に生菌数を測定した。PAE 期菌に対する薬剤の sub-MIC の効果を判定するために, postantibiotic sub-MIC enhancement (PASE) を次式のように定義した。

$$\text{PASE} = S' - S$$

($S' = T_1' - T_2'$: PAE 期菌における薬剤の sub-MIC effect. T_1' : PAE 期菌に sub-MIC の薬剤を接触させた時の生菌数が $1 \log_{10}$ cfu/ml 増殖するのに要する時間。 T_2' : PA 期菌に薬剤を接触させない時の生菌数が $1 \log_{10}$ cfu/ml 増殖する時間)

$S = T_1 - T_2$: non PAE 期菌における薬剤の sub-MIC effect. T_1 : non PAE 期菌に sub-MIC の薬剤を作用させた時の生菌数が $1 \log_{10}$ cfu/ml 増殖するのに要する時間。 T_2 : non PAE 期菌に薬剤を接触させない時の生菌数が $1 \log_{10}$ cfu/ml 増殖する時間) なお, 実験はそれぞれ 2~4 回行い, PASE はその平均値で示した。

II. 結 果

1) 使用薬剤の感受性測定

MIC: Table 1 に *P. aeruginosa* ATCC 27853 に対する使用薬剤の MIC を示した。

FIC index: Table 2 に *P. aeruginosa* ATCC 27853 に対する各種薬剤の併用時の FIC index を示した。FIC index による併用効果判定では EDTA と ampicillin の組み合わせが 0.0625 と最も優れており, EDTA と piperacillin, rifampicin および gentamicin

Table 1. Minimum inhibitory concentrations (MICs) of various antimicrobials against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Antimicrobials	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
Piperacillin	3.13
Ampicillin	3,200
Ceftazidime	1.56
Imipenem	3.13
Ciprofloxacin	0.39
Rifampicin	50
Gentamicin	3.13
Polymyxin B*	32
EDTA**	2

* U/ml

** mM

と ampicillin, ceftazidime の組み合わせが相乗効果を, gentamicin と piperacillin, imipenem, ciprofloxacin および polymyxin B と piperacillin, ampicillin, rifampicin の組み合わせは相加効果を示し, 不関, 拮抗効果を示すものはみられなかった。

2) *P. aeruginosa* ATCC 27853 に対する各薬剤の PAE: Table 3 に gentamicin, polymyxin B, EDTA の PAE を示す。*P. aeruginosa* ATCC 27853 に対しての薬剤も PAE を認めたが, polymyxin B, EDTA は gentamicin に比べその PAE は短かった。

3) 各薬剤の postantibiotic sub-MIC effect
gentamicin による PAE 期の菌に対する各種薬剤の postantibiotic sub-MIC effect: Fig. 1 に gentamicin による PAE 期菌, non PAE 期菌に対する

piperacillin の 1/4 MIC, 1/2 MIC の作用を示した。piperacillin 1/4 MIC 下で non-PAE 期菌が $1 \log_{10}$ cfu/ml 増殖する時間は piperacillin を接触させない対照に比べ僅かに 0.7 時間延長するだけだが, PAE 期菌では 4.6 時間におよんでおり, 3.9 時間の PASE を認めた。また, piperacillin 1/2 MIC の PAE 期菌に対する作用は non PAE 期菌に比べるとその増殖抑制効果の増強のみならず, non PAE 期菌にみられなかった最大 $1 \log_{10}$ cfu/ml ほどの殺菌作用を示した。こうした PAE 期菌に対する薬剤の sub-MIC 効果の増強を postantibiotic sub-MIC effect と名付けた。

Fig. 2 には gentamicin による PAE 期菌における各種薬剤の postantibiotic sub-MIC effect を PASE で示した。ampicillin がもっとも顕著な PASE を示しており, piperacillin がこれに継ぐ結果となった。一方, imipenem, ceftazidime は顕著な PASE を示さなかった。PASE は 1/4~1/2 MIC に最大値を示していた。ciprofloxacin, rifampicin は PASE を示さなかった。

polymyxin B, EDTA による PAE 期菌に対する piperacillin の postantibiotic sub-MIC effect: Fig. 3 は polymyxin B, EDTA による PAE 期菌に対する piperacillin の postantibiotic sub-MIC effect を PASE で示した。polymyxin B, EDTA による PAE 期菌に対する piperacillin の PASE は認められなかった。

III. 考 察

アミノグリコシド剤と β -ラクタム剤の緑膿菌に対する併用効果はすでに多くの報告^{1,2,4,6)}があるが, 実際の臨床へへの適用という点からは投与方法を考慮した併用効果の評価が必要である^{7,8)}。最近ではアミノ

Table 2. Fractional inhibitory concentration (FIC) indexes of various antimicrobials against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Antimicrobial combinations		FIC index
Gentamicin	piperacillin	0.625
	ampicillin	0.25
	ceftazidime	0.375
	imipenem	0.75
	ciprofloxacin	1.0
	rifampicin	0.508
Polymyxin B	piperacillin	0.75
	ampicillin	0.625
	rifampicin	0.75
EDTA	piperacillin	0.25
	ampicillin	0.0625
	rifampicin	0.25

Table 3. Postantibiotic effects of various antimicrobials on *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Antimicrobials	Exposure		Postantibiotic effect ^{a)} (hours)
	concentration (X MIC)	time (hours)	
Gentamicin	8	0.5	1.9
	4	0.5	1.6
	1	2.0	1.1
Polymyxin B	1	0.5	0.2
	1	2.0	0.6
EDTA	4	0.5	0.7
	4	2.0	0.8

^{a)} Mean values based on data from two to four experiments are shown.

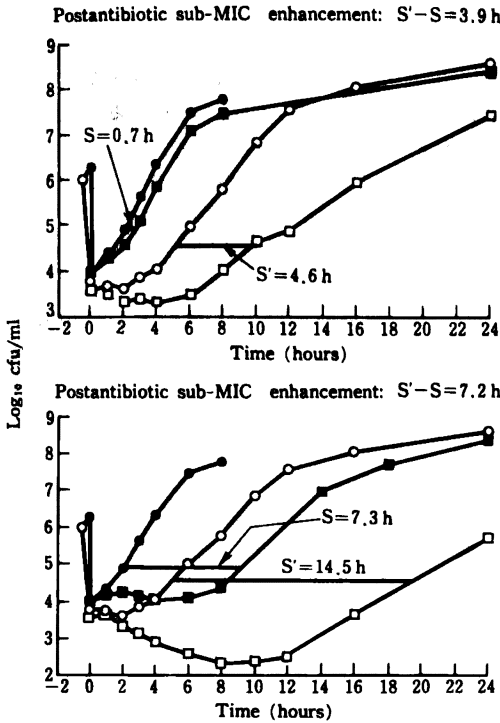


Fig. 1. Gentamicin-induced postantibiotic sub-MIC (top: 1/4 MIC exposure bottom: 1/2 MIC exposure) effects of piperacillin against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. The bacteria were exposed to 8 X the MIC of gentamicin for 0.5 hours, washed, and then exposed to 0 (open circles) and sub-MIC (open squares) of piperacillin. The bacteria previously untreated with gentamicin were exposed to 0 (closed circles: untreated control) and sub-MIC (closed squares) of piperacillin.

グリコシド剤の1日1回投与が臨床効果、副作用軽減からも望ましいとされている^{9,10}。アミノグリコシド剤とβ-ラクタム剤の併用でもアミノグリコシド剤の1回投与がβ-ラクタム剤の頻回投与との組み合わせでもっとも治療効果に優れ、投与順序ではアミノグリコシド剤を先行投与すると殺菌効果に優れることが知られている⁹。今回の実験はこうしたアミノグリコシド剤とβ-ラクタム剤の投与方法による併用効果の差異の機序を明らかにするために行われた。

Millerら¹¹は ticarcillin や cefsulodin が *P. aeruginosa* ATCC 27853 に対し sub-MIC の tobramycin の取り込みを増大させ、相乗効果を発揮するとしてい

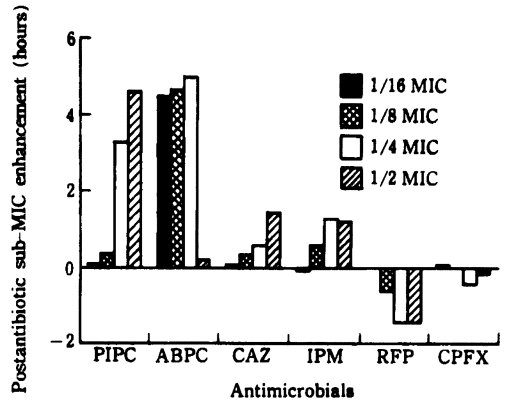


Fig. 2. Gentamicin-induced postantibiotic sub-MIC enhancement of the effect of piperacillin (PIPC), ampicillin (ABPC), ceftazidime (CAZ), imipenem (IPM), rifampicin (RFP), ciprofloxacin (CFX) on *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Each postantibiotic sub-MIC enhancement was calculated using the formula in Materials and Methods. Mean values based on data from two to four experiments are shown.

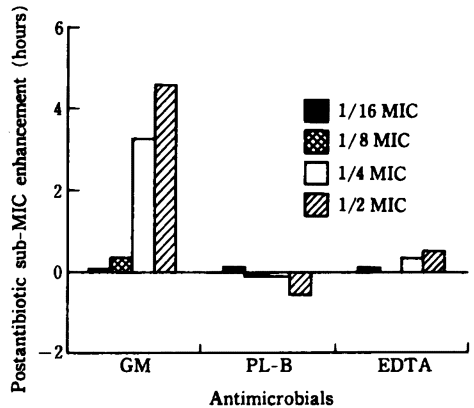


Fig. 3. Gentamicin (GM)-, polymyxin B (PL-B)- and EDTA-induced postantibiotic sub-MIC enhancement of the effect of piperacillin on *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Mean values based on data from two to four experiments are shown.

る。しかし、この機序では gentamicin による β-ラクタム剤の post-antibiotic sub-MIC effect を説明できない。アミノグリコシド剤はリボソームに作用し蛋白合成を停止させ、またグラム陰性菌では細胞外膜を

傷害することによりその強力な殺菌作用を発揮する^{12,13)}。この際、アミノグリコシド剤により傷害された外膜は疎水性物質が透過しうようになることから^{14,15)}、アミノグリコシド剤による β -ラクタム剤の作用増強はアミノグリコシド剤の外膜傷害作用による β -ラクタム剤の細胞間隙への透過性の増大による可能性が考えられた。しかし、gentamicinによる postantibiotic sub-MIC effect は ciprofloxacin や疎水性の rifampicin にはほとんど認められず、アミノグリコシド剤同様にグラム陰性菌の外膜を傷害し、疎水性物質の透過性を向上させる polymyxin B¹⁶⁾ と EDTA¹⁵⁾ で処理した菌に対する β -ラクタム剤の postantibiotic sub-MIC effect も認められなかった。この結果は postantibiotic sub-MIC effect の機序がアミノグリコシド剤の外膜傷害による β -ラクタム剤の透過性上昇であるとは考えにくい。

Scudamore ら¹⁶⁾ は EDTA 処理緑膿菌に対するアミノグリコシド剤と β -ラクタム剤の併用効果が非処理菌と比較してほとんど変化しないことから外膜傷害が相乗効果の機序とは考えにくいと報告している。Lorian ら¹⁷⁾ は sub-MIC の ampicillin や cephalotin が *Proteus mirabilis* の ribosome の分布や数を変化させることを、McDowell ら¹⁸⁾ は penicillin が *S. pyogenes* の RNA hydrolysis を引き起こすことを報告しており、 β -ラクタム剤の抗菌作用にはペプチドグリカン合成阻害以外の機序もあることが示唆されている。今回の実験で示された postantibiotic sub-MIC effect はアミノグリコシド剤により誘導された作用が β -ラクタムの ribosome への作用や RNA hydrolysis を増強した結果である可能性も考えられる。

ampicillin, piperacillin¹⁹⁾ と ceftazidime²⁰⁾ の緑膿菌の penicillin binding protein (PBP) に対する親和性は PBP 3 でもっとも高く、形態的にはいずれも filament を形成することが知られている。

一方、gentamicin による β -ラクタム剤の PASE は ampicillin, piperacillin に比して imipenem, ceftazidime で弱い傾向が認められた。この理由は不明だが、PASE の差異が penicillin binding protein の親和性の差によるというよりもそれ以外のたとえば ribosome への作用や RNA hydrolysis などの差による可能性を示唆する。

benzylpenicillin による PAE 期の *S. pyogenes*²⁰⁾ や *S. sanguis* II²¹⁾ に対する benzylpenicillin の sub-MIC 効果や aspoxicillin による PAE 期の *S. aureus* に対する aspoxicillin の sub-MIC 効果²²⁾、imipenem による PAE 期の緑膿菌に対する imipenem の sub-

MIC 効果²³⁾ などの増強がすでに報告されている。これらはいずれも PAE を誘導する薬剤とその後の PAE 期に作用させる sub-MIC の薬剤が同じであるが、PAE 期の菌に対する sub-MIC の薬剤の効果が増強される場合があることを示している。

sub-MIC の抗菌剤は菌の増殖以外にも形態、病原性の変化、白血球などの協力作用など様々な効果が知られている¹⁷⁾。実際の臨床における抗菌薬の sub-MIC の持つ意義は大きい。さらに PAE 期でこのような sub-MIC 効果の増強—すなわち postantibiotic sub-MIC effect の存在—は抗菌剤の併用を行う際に宿主にとってより有利に働くと考えられる。今後は臨床的に postantibiotic sub-MIC effect を有する抗菌剤の併用が有利に働くか否かの検討を進めて行きたい。

なお、本論文の要旨の一部は第 37 回日本化学療法学会東日本支部総会（東京）、第 17 回国際化学療法学会（Berlin, Germany）にて発表した。

文 献

- 1) de Jongh C A, Joshi J H, Newman K A, Moody M R, Wharton R, Standiford H C, Schimpff S C: Antibiotic synergism and response in gram-negative bacteremia in granulocytopenic cancer patients. *Am J Med* 80 (Suppl 5 C): 96~100, 1986
- 2) Hilf M, Yu V L, Sharp J, Zuravlev J, Korvick J A, Murder R R: Antibiotic therapy for *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: Outcome correlations in a prospective study of 200 patients. *Am J Med* 87: 540~546, 1989
- 3) 菊池 賢: 緑膿菌実験感染症に対するアミノ配糖体と β -ラクタムの投与方法と併用療法の検討。感染症学雑誌 65: 216~225, 1991
- 4) Eliopoulos G M, Moellering Jr R C: Antimicrobial combinations. In *Antibiotics in Laboratory Medicine* 3rd Ed. (Lorian V ed.), pp. 432~492, Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA, 1991
- 5) Craig W A, Gudmundsson S: Postantibiotic effect. In *Antibiotics in Laboratory Medicine* 3rd Ed. (Lorian V ed.), pp. 403~431, Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA, 1991
- 6) Lyon M D, Smith K R, Saag M S, Cloud G A, Cobbs C G: In vitro activity of piperacillin, ticarcillin, and mezlocillin alone and in combination with aminoglycosides against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 30: 25~30, 1986
- 7) Blaser J: Interactions of antimicrobial combinations in vitro: The relativity of synergism. *Scand J Infect Dis Suppl* 74: 71~79, 1991
- 8) Drusano G L: Human pharmacodynamics of beta

- lactams, aminoglycosides and their combination. *Scand J Infect Dis Suppl* 74: 235~248, 1991
- 9) Tulkens P M: Pharmacokinetic and toxicological evaluation of a once-daily regimen versus conventional schedules of netilmicin and amikacin. *J Antimicrob Chemother* 27 (Suppl C): 49~61, 1991
 - 10) Giamarellou H, Yiallourous K, Moschovakis E, Vavouraki E, Voutsinas D, Sfikakis P: Comparative kinetics and efficacy of amikacin administered once or twice daily in the treatment of systemic gram-negative infections. *J Antimicrob Chemother* 27 (Suppl C): 73~79, 1991
 - 11) Miller M H, Feinstein S A, Chow R T: Early effects of β -lactams on aminoglycoside uptake, bactericidal rates, and turbidimetrically measured growth inhibition in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 31: 108~110, 1987
 - 12) Davis B D: Mechanism of bactericidal action of aminoglycosides. *Microbiol Rev* 51: 341~350, 1987
 - 13) Yoneyama H, Sato K, Nakae T: Aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa* due to outer membrane stabilization. *Chemotherapy (Basel)* 37: 239~245, 1991
 - 14) Hancock R E W, Wong P G W: Compounds which increase the permeability of the *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane. *Antimicrob Agents Chemother* 26: 48~52, 1984
 - 15) Vaara M: Agents that increase the permeability of the outer membrane. *Microbiol Rev* 56: 395~411, 1992
 - 16) Scudamore R A, Goldner M: Penetration of the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* by synergistic combinations of beta-lactam and aminoglycoside antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 21: 1007~1010, 1992
 - 17) Lorian V, Gemmell C G: Effect of low antibiotic concentrations on bacteria: Effects on ultrastructure, virulence, and susceptibility to immunodefenses. In *Antibiotics in Laboratory Medicine 3rd Ed.* (Lorian V ed.), pp. 493~555, Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA. 1991
 - 18) McDowell T D, Reed K E: Mechanism of penicillin killing in the absence of bacterial lysis. *Antimicrob Agents Chemother* 33: 1680~1685, 1989
 - 19) Noguchi H, Matsuhashi M, Mitsuhashi S: Comparative studies of penicillin-binding proteins in *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. *Eur J Biochem* 100: 41~49, 1979
 - 20) Neu H C: Relation of structural properties of beta-lactam antibiotics to antibacterial activity. *Am J Med* 79 (Suppl 2 A): 1~13, 1985
 - 21) Odenholt I, Holm S E, Cars O: Effects of benzylpenicillin on *Streptococcus pyogenes* during the postantibiotic phase *in vitro*. *J Antimicrob Chemother* 24: 147~156, 1989
 - 22) 菊池 賢, 清水喜八郎: PAE と臨床的意義。日本臨床 50: 1165~1172, 1992
 - 23) Oshida T, Onta T, Nakanishi N, Matsushita T, Yamaguchi T: Activity of sub-minimal inhibitory concentrations of aspoxicillin in prolonging the postantibiotic effect against *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 26: 29~38, 1990
 - 24) Odenholt-Tornqvist I, Löwdin E, Cars O: Pharmacodynamic effects of subinhibitory concentrations of β -lactam antibiotics *in vitro*. *Antimicrob Agents Chemother* 35: 1834~1839, 1991

Aminoglycoside-induced postantibiotic sub-MIC effects of various antimicrobials on *Pseudomonas aeruginosa*

Ken Kikuchi¹⁾, Kousuke Haruki¹⁾, Yuusuke Shibata²⁾,
Hiromi Hasegawa²⁾, Tadako Enari²⁾, Jun-ichi Katahira¹⁾,
Kyoichi Totsuka¹⁾, Kihachiro Shimizu¹⁾
and Tadahiro Watanabe³⁾

¹⁾ Department of Medicine, Tokyo Women's Medical College, 8-1 Kawada-Cho,
Shinjuku-ku, Tokyo 162, Japan

²⁾ Central Clinical Laboratory, Tokyo Women's Medical College

³⁾ Pharmaceutical Research Center, Meiji Seika Kaisha Ltd.

We investigated the synergistic effects of an aminoglycoside and various antimicrobials against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 from the stand point of antimicrobial actions on the aminoglycoside-induced postantibiotic effect phase bacteria. Bacterial growth at 1/16 to 1/2 of the MIC of piperacillin, ampicillin, ceftazidime, imipenem, ciprofloxacin, and rifampicin was examined after removal of 8 X MIC gentamicin exposure for 0.5 hour (postantibiotic effect phase: PAE phase) and in the absence of previous exposure to antimicrobials (non-PAE phase). β -lactams at sub-MICs suppressed the growth. All of the PAE-phase bacteria longer than non-PAE phase bacteria, and piperacillin at sub-MICs enhanced bactericidal activity during the PAE phase. We termed these effects the "postantibiotic sub-MIC effect" and defined the enhancement of growth suppression at sub-MICs during the PAE phase as "postantibiotic sub-MIC enhancement: PASE". Rifampicin and ciprofloxacin did not display any postantibiotic sub-MIC effects. These suggest that the postantibiotic sub-MIC effects influenced the synergy of aminoglycosides with β -lactams.