

Imipenem 耐性緑膿菌の薬剤感受性および ceftazidime と tobramycin の併用効果

高橋 公毅・渡辺 正治・菅野 治重

千葉大学医学部附属病院検査部*

福田 一郎・田村 忍

日本グラクソ株式会社筑波研究所開発研究センター

(平成5年11月30日受付・平成6年5月11日受理)

千葉大学医学部附属病院検査部で臨床材料から分離された imipenem (IPM) 耐性緑膿菌 28 株を用い、10 薬剤に対する感受性を調べた。耐性の判定は原則として NCCLS の基準に従った。Ceftazidime (CAZ), piperacillin (PIPC), cefoperazone (CPZ), cefsulodin (CFS) の β -ラクタム剤の中では、CAZ の耐性率が 28.6% でもっとも低く、tobramycin (TOB), amikacin (AMK), isepamicin (ISP) のアミノグリコシド系の中では、TOB の耐性率が 39.3% でもっとも低かった。Fosfomycin (FOM) の耐性率は 100% であった。IPM 耐性緑膿菌 No.23 株 (TOB MIC: $>32 \mu\text{g/ml}$, CAZ MIC: $32 \mu\text{g/ml}$) の集塊菌に対する CAZ と TOB の併用による殺菌効果を調べた。この TOB 高度耐性菌を用いた実験では、CAZ と TOB の同時作用で殺菌効果が一番優れていた。時間差併用では、CAZ 先行投与後、TOB を投与の方が、TOB 先行投与後、CAZ 投与よりも優れた殺菌効果が認められた。供試した IPM 耐性緑膿菌 4 株からは IPM を分解する β -lactamase は認められなかった。

Key words: IPM 耐性緑膿菌, 薬剤感受性, 併用効果, ceftazidime, tobramycin

我々¹⁾は、さきに 1988 年から 1991 年における千葉大学医学部附属病院検査部で臨床材料から分離された緑膿菌 1,110 株を用い、その感受性の推移を検討し、imipenem 耐性緑膿菌が年毎に増加していることを報告した。

そこで今回、IPM 耐性緑膿菌の産生する β -lactamase の種類および集塊とした IPM 耐性緑膿菌に対する ceftazidime と tobramycin の併用効果について検討したので、その成績を報告する。

I. 実験材料と実験方法

1. 使用薬剤

Imipenem と amikacin (IPM と AMK, 萬有製薬), ceftazidime (CAZ, 日本グラクソ), piperacillin と cefoperazone (PIPC と CPZ, 富山化学), cefsulodin (CFS, 武田薬品), aztreonam (AZT, エーザイ), cephaloridine と tobramycin (CER と TOB, 塩野義製薬), isepamicin (ISP, シェリング・プラウ), ofloxacin (OFLX, 第一製薬), fosfomycin (FOM, 明治製薬) は、力価の明らかなものを使用した。

2. 使用菌株

千葉大学医学部附属病院で臨床材料から分離した

IPM 耐性緑膿菌 28 株を用いた。NCCLS²⁾ の判定基準に準じ、IPM に対する MIC が $\geq 16 \mu\text{g/ml}$ の株を IPM 耐性緑膿菌とした。なお今回使用した薬剤の緑膿菌に対する耐性の基準 (MIC) を Table 1 に示した。

Table 1. Our criteria of resistance

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
Imipenem	≥ 16
Ceftazidime	≥ 32
Piperacillin	≥ 32 (≥ 128)
Cefoperazone	≥ 32 (≥ 64)
Cefsulodin	≥ 32
Aztreonam	≥ 32
Tobramycin	≥ 32
Amikacin	≥ 16 (≥ 64)
Isepamicin	≥ 16
Ofloxacin	≥ 8
Fosfomycin	≥ 32

(): Criteria of NCCLS.

* 千葉市中央区亥鼻 1-8-1

3. 薬剤感受性試験

IPM 耐性緑膿菌 28 株に対する 11 薬剤の MIC の測定は、日本化学療法学会標準法（微量液体希釈法）⁹⁾ に従い、cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAM-HB) (Difco 社) を用いて測定した。すなわち一夜培養菌を滅菌生食水で 10 倍に希釈し、抗菌剤含有培地に MIC 2000 (Dynatech Product) を用い接種（接種量: 5×10^6 / ウェル）し、 35°C 、24 時間培養後判定した。なお希釈段階は、IPM、OFLX は 32 から 0.25、CAZ、CFS、AZT は 64 から 0.5、PIPC、CPZ は 128 から 1、TOB、AMK、ISP は 32 から 0.13、FOM は 128 から $0.13 \mu\text{g/ml}$ とした。

4. β -lactamase 活性

1) 酵素液の調整

Pseudomonas aeruginosa PAO 1 (標準株), No. 13, No. 21, No. 22, No. 23, No. 24 および No. 33 株の前培養液を普通液体培地（栄研）に約 10^7 cfu/ml になるように接種し、 37°C 、4 時間振盪培養した。集菌、洗浄後超音波処置により菌体を破砕し、 4°C 、20,000 r.p.m. 1 時間の遠心上清液を酵素液とした。

2) β -lactamase 活性の測定

Watanabe⁹⁾ の方法に従い、U. V. 法により測定した。測定は、日本グラクソ併筑波研究所で実施した。 β -lactamase 活性は 1 分間に $1 \mu\text{mole}$ の基質を分解する酵素量を 1 単位とし、Lowry 法によって求めた単位タンパク (mg) 当りの比活性 (unit/mg protein) で示した。

5. 集塊菌に対する殺菌効果

1) 集塊菌の作成

集塊菌は、さきに我々⁵⁾と菅野⁶⁾が報告した方法に従って作成した。すなわち 1.8 mm (直径) $\times 30 \text{ mm}$

(長さ) の木綿縫糸を、高圧滅菌後、brain heart infusion broth (BHIB) (Difco 社) 中にいれ、IPM 耐性緑膿菌 No. 23 株を接種し、 35°C で一夜培養後、菌液を含んだ木綿縫糸を取り出し、滅菌生食水中で洗浄したものを集塊菌とした。生食水で洗浄した木綿縫糸 2 本を 1 ml の滅菌生食水の入った試験管内に入れ、約 60 秒間振盪器にて攪拌後、生食水中に浮遊してきた菌数を計測すると約 10^8 cfu/ml となる。さらに、同様に生食水中による洗浄を繰り返しても遊離してくる菌数は一定して約 10^8 cfu/ml であり、菌の支持体として利用可能と判断した。菌数は次のように半定量的に測定した⁵⁾。一定量の容量をもつ白金耳に菌数の判った細菌数 ($10^8/\text{ml} \sim 10^9/\text{ml}$) をつけ、一部重複した 3 区画の平板上をジグザグにぬりひろげ集落の発育状態をあらかじめ記載しておく。ついで未知の菌液を同様に接種し、この集落発育状態を前述の標準菌量発育状態と比較し、菌数を測った。したがって成績は半定量である。

2) 集塊菌に対する併用による殺菌効果

集塊とした IPM 耐性緑膿菌 No. 23 株に対する CAZ と TOB 併用での殺菌曲線は、①CAZ と TOB の同時作用、②TOB 1 時間作用後 CAZ 添加、③CAZ 1 時間作用後 TOB 添加の 3 通りについて経時的に試験管からそれぞれ 2 本の縫糸をとり出し、縫糸内の菌数を半定量的に測定し、殺菌曲線を求めた。殺菌曲線に用いた CAZ の濃度は、常用投与量で得られる最高血中濃度の平均濃度で $32 \mu\text{g/ml}$ 、TOB の濃度は殺菌曲線に用いた供試菌株が TOB に高度耐性 (MIC: $\geq 32 \mu\text{g/ml}$) であったので $10 \mu\text{g/ml}$ を用いた。薬剤を加えないものを対照とした。

Table 2. MICs of ten antimicrobial agents against twenty-eight strains of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*

Antimicrobial agent	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}		
	range	50%	90%
Ceftazidime	2- 64	8	64
Piperacillin	4->128	16	>128
Cefoperazone	4->128	32	>128
Cefsulodin	2-> 64	16	64
Aztreonam	1- 64	8	64
Tobramycin	1-> 32	4	> 32
Amikacin	2-> 32	16	32
Isepamicin	1-> 32	16	> 32
Ofloxacin	1- 16	4	16
Fosfomycin	32->128	128	>128

^{a)} 50% and 90%, MICs for 50% and 90% of the strains tested, respectively.

II. 実験成績

1. 薬剤感受性試験

1) 薬剤の抗菌力

IPM 耐性緑膿菌 28 株の 11 薬剤に対する感受性試験の成績を Table 2 に示した。CAZ, PIPC, CPZ, CFS, AZT, TOB, AMK, ISP, OFLX および FOM の MIC range は、それぞれ 2~64, 4~>128, 4~>128, 2~>64, 1~64, 1~>32, 2~>32, 1~>32, 1~>16 および 32~>128 $\mu\text{g/ml}$ であった。

MIC₉₀ で比較すると、OFLX が 16 $\mu\text{g/ml}$ で、次に AMK, CAZ, CFS, AZT, TOB, ISP, PIPC, CPZ, FOM は、それぞれ 32, 64, 64, 64, >32, >32, >128, >128, >128 $\mu\text{g/ml}$ で耐性であった。

2) MIC 相関

Fig. 1 a から Fig. 1 c に IPM 耐性緑膿菌に対する β -ラクタム剤の 2 剤間の MIC の相関を示した。Fig. 1 a は IPM と CAZ の MIC の相関を示したものであるが、IPM 耐性緑膿菌 28 株中 8 株のみが CAZ に耐

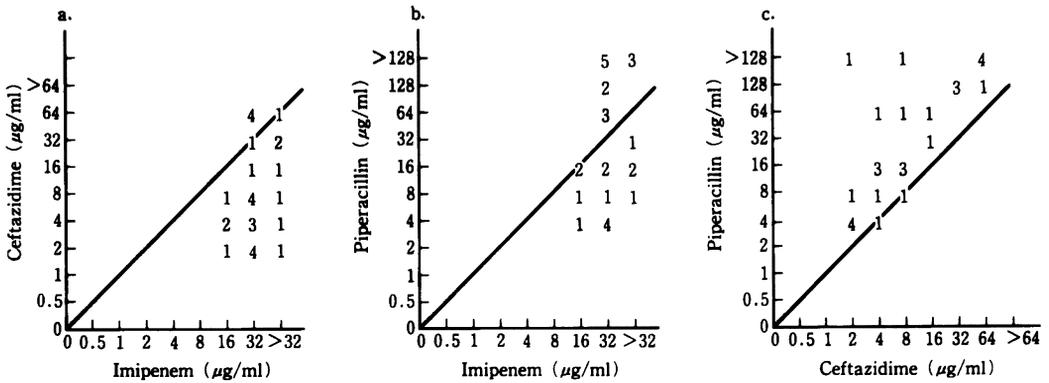


Fig.1.

- a. Correlation of MICs of imipenem (IPM) and ceftazidime (CAZ) against IPM-resistant *Pseudomonas aeruginosa*.
- b. Correlation of MICs of IPM and piperacillin (PIPC) against IPM-resistant *P. aeruginosa*.
- c. Correlation of MICs of CAZ and PIPC against IPM-resistant *P. aeruginosa*.

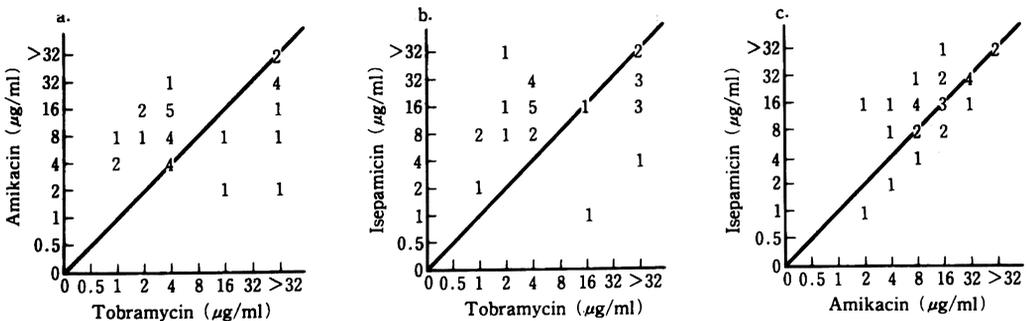


Fig.2.

- a. Correlation of MICs of tobramycin (TOB) and amikacin (AMK) against imipenem (IPM)-resistant *Pseudomonas aeruginosa*.
- b. Correlation of MICs of TOB and isepamicin (ISP) against IPM-resistant *P. aeruginosa*.
- c. Correlation of MICs of AMK and ISP against IPM-resistant *P. aeruginosa*.

性で、交差耐性が認められない株が多数認められた。Fig. 1b は IPM と PIPC の MIC の相関を示したもので、28 株中 14 株のみが PIPC に耐性で、CAZ 同様交差耐性が認められない株が半数を占めた。Fig. 1c は CAZ と PIPC の MIC の相関を示したもので、PIPC に高い MIC を示す株でも、CAZ には低い MIC を示す株が少数認められた。以上の結果から、IPM 耐性株では CAZ と PIPC は交差耐性を認めない株が多く、特に CAZ は 70% 以上の株が感受性を示し、抗菌力ではもっとも優れた成績であった。Fig. 2a から Fig. 2c に IPM 耐性緑膿菌に対するアミノグリコシド系の 2 剤間の MIC の相関を示した。Fig. 2a から TOB に 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の MIC を示す株で、AMK に 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の MIC を示した株が 4 株、逆に AMK に 32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の MIC を示した株で、TOB に 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の MIC を示した株が 1 株認められた。TOB と AMK、TOB と ISP の間では、交差耐性が認められない株があったが、AMK と ISP では交差耐性が認められた。

3) 耐性率

Table 3 に 10 薬剤に対する IPM 耐性緑膿菌 28 株の耐性率を示した。 β -ラクタム剤の中では、CAZ の

耐性率が 28.6% でもっとも低く、アミノグリコシド系では、TOB の耐性率が 39.3% でもっとも低かった。FOM に対しては 100% が耐性株であった。

4) 耐性パターン

Table 4 に IPM 耐性緑膿菌 28 株に対する 10 薬剤の耐性パターンを示した。CAZ・PIPC・CPZ・CFS・AZT・AMK・ISP・FOM の耐性パターンは、

Table 3. Resistance rate

Antimicrobial agent	% (no.) resistant
Ceftazidime	28.6 (8)
Piperacillin	50.0 (14)
Cefoperazone	57.1 (16)
Cefsulodin	35.7 (10)
Aztreonam	32.1 (9)
Tobramycin	39.3 (11)
Amikacin	53.6 (15)
Isepamicin	71.4 (20)
Ofloxacin	42.9 (12)
Fosfomycin	100.0 (28)

Criteria of resistance of each drug is shown in Table 1.

Table 4. Resistance patterns of twenty-eight imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobial agents

Resistance pattern										No. of strains (%)	
CAZ	PIPC	CPZ	CFS	AZT	TOB	AMK	ISP	OFLX	FOM	1	(3.6)
CAZ	PIPC	CPZ	CFS	AZT		AMK	ISP		FOM	3	(10.7)
CAZ	PIPC	CPZ	CFS	AZT		AMK			FOM	1	} (21.4)
CAZ	PIPC	CPZ	CFS			AMK	ISP		FOM	2	
	PIPC	CPZ			TOB	AMK	ISP	OFLX	FOM	1	
		CPZ		AZT	TOB	AMK	ISP	OFLX	FOM	1	
	PIPC	CPZ	CFS		TOB		ISP		FOM	1	} (10.7)
	PIPC	CPZ			TOB	AMK	ISP		FOM	1	
				AZT	TOB	AMK	ISP	OFLX	FOM	1	} (7.1)
	PIPC	CPZ			TOB			OFLX	FOM	1	
	PIPC	CPZ	CFS		TOB				FOM	1	} (7.1)
		CPZ					ISP	OFLX	FOM	1	
					TOB		ISP	OFLX	FOM	1	} (21.4)
					TOB	AMK	ISP		FOM	2	
						AMK	ISP	OFLX	FOM	2	
						AMK		OFLX	FOM	1	} (7.1)
							ISP	OFLX	FOM	1	
		CPZ							FOM	1	} (14.3)
							ISP		FOM	2	
								OFLX	FOM	1	
									FOM	1	(3.6)

CAZ: ceftazidime, PIPC: piperacillin, CPZ: cefoperazone, CFS: cefsulodin, AZT: aztreonam, TOB: tobramycin, AMK: amikacin, ISP: isepamicin, OFLX: ofloxacin, FOM: fosfomycin.

3株に認められた。CAZ・PIPC・CPZ・CFS・AZT・ISP・FOM, TOB・AMK・ISP・FOM, AMK・ISP・OFLX・FOMおよびISP・FOMの耐性パターンは、それぞれ2株に認められた。IPM耐性緑膿菌28株中6株(21.4%)は4剤および7剤に耐性であった。また4株(14.3%)は2剤に、3株(10.7%)は、それぞれ6剤と8剤に耐性であった。

2. β -lactamase 活性

Table 5 に β -ラクタム剤の MIC と β -lactamase 活性を示した。IPM 感受性株である No. 21 株, No. 33 株と IPM 耐性である No. 13 株, No. 22 株, No. 23 株, No. 24 株を用いて β -lactamase の有無を調べた。対照として PAO1 標準株を用いた。IPM と PIPC を基質とした場合、6 菌株はいずれも IPM と PIPC を分解できなかった。CER を基質とした場合には、5 株に CER 分解能が認められ、特に IPM, PIPC および CAZ の 3 剤に耐性を示す No. 23 株と No. 24 株には強い活性が認められた。

3. 集塊菌に対する併用による殺菌効果

Fig. 3 に IPM 耐性緑膿菌 No. 23 株の集塊菌に対する CAZ と TOB の併用による殺菌効果を示した。CAZ と TOB の同時作用で殺菌効果が一番優れていた。すなわち CAZ と TOB を 1 時間同時作用させると、接種菌 10^8 cfu/ml を 10^5 cfu/ml に減ずることができ、3 時間作用させると 10^4 cfu/ml、さらに 6 時間および 9 時間作用させると 10^3 cfu/ml に減ずることができた。時間差併用では、CAZ 先行投与後、TOB を投与の方が、TOB 先行投与後、CAZ 投与よりも優れた殺菌効果が認められた。IPM 感受性緑膿菌 No. 32 株を用いた場合でも IPM 耐性緑膿菌 No. 23 株と同じような殺菌効果が認められた (Fig. 4)。

III. 考 察

今回我々は、IPM 耐性緑膿菌 28 株を用いて、10 薬剤の薬剤感受性を調べた。その結果、 β -ラクタム剤である CAZ, PIPC, CPZ, CFS の耐性率は、それぞれ 28.6%, 50.0%, 57.1%, 35.7% で CAZ の耐性率がもっとも低く、アミノグリコシド系である TOB, AMK, ISP の耐性率は、それぞれ 39.3%, 53.6%, 71.4% で、TOB の耐性率がもっとも低かつ

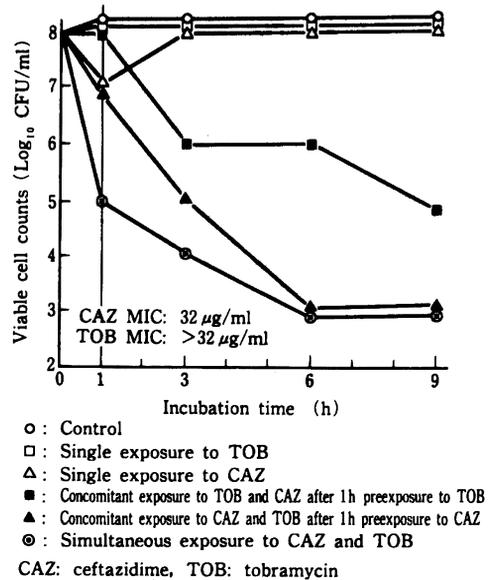


Fig. 3. Bactericidal effects of ceftazidime and tobramycin combinations against colonies of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain No. 23.

Table 5. Susceptibility and activity of β -lactamase

Strain	MIC (μ g/ml)			Activity of β -lactamase ^{a)}		
	imipenem	piperacillin	ceftazidime	imipenem ^{b)}	piperacillin	cephaloridine
PAO1 ^{c)}	2	4	2	ND ^{d)}	ND	4.38×10^{-4}
21	1	8	4	ND	ND	ND
33	2	4	2	ND	ND	5.14×10^{-3}
13	32	4	2	ND	ND	7.92×10^{-3}
22	32	16	4	ND	ND	1.44×10^{-2}
23	32	128	32	ND	ND	9.39×10^{-2}
24	>32	128	32	ND	ND	8.52×10^{-2}

^{a)} Unit/mg protein

^{b)} Substrate

^{c)} Standard strain

^{d)} ND, not detected ($<1.00 \times 10^{-4}$)

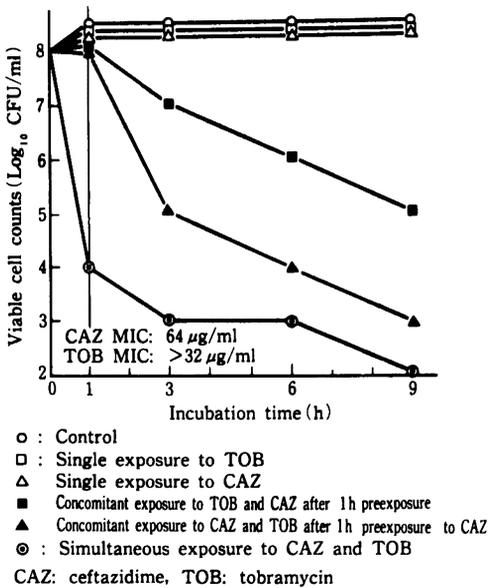


Fig. 4. Bactericidal effects of ceftazidime and tobramycin combinations against colonies of imipenem-sensitive *Pseudomonas aeruginosa* strain No. 32.

た。そこでCAZとTOBの両剤によるIPM耐性緑膿菌No.23株の集塊菌に対する殺菌効果を調べた。CAZとTOBの同時作用で殺菌効果をもっとも優れていた。我々はその理由としてCAZ⁷⁾とTOBの細胞壁外膜透過性^{8,9)}が相乗的に作用し、抗菌活性が増強されたためではないかと考えている。時間差併用では、CAZ先行投与後、TOBを投与の方が、TOB先行投与後、CAZ投与よりも優れた殺菌効果が認められた。この結果は中沢ら¹⁰⁾やさきの我々⁵⁾の結果と一致していた。この結果は、TOBに高度耐性を示す菌株を用いた場合の結果であるが、さらにTOBに感性を示す菌株を用いて検討したいと思っている。IPM耐性緑膿菌No.23株 (Fig. 3) とNo.32株 (Fig. 4) に対するCAZとTOBの同時併用の成績で、1時間後の殺菌効果が、CAZのMICの大きいNo.32株の方がMICの小さいNo.23株よりも優れていたが、これについては今後検討したいと思っている。緑膿菌に対するβ-ラクタム剤とアミノグリコシド系の併用順序については、菊池¹¹⁾は、大腿感染モデルを用いた緑膿菌感染でgentamicin (GM)とastromicin (ASTM)とPIPCの併用療法で投与順序を前後させた検討では、同時投与の治療効果をもっとも優れており、

PIPCを先行した場合にはGM, ASTMの殺菌効果が抑えられ治療効果が劣る結果が得られたと報告している。戸塚¹²⁾らも緑膿菌感染症に対して ticarcillin (TIPC)とTOBを併用すると、TIPCを最初に投与した場合は同時ないしはTOBを最初に投与した場合よりも効果の低下が認められたと報告している。また松本¹³⁾は、複雑性尿路感染症におけるISPとPIPCの併用での臨床検討で同様な報告をしている。このようにβ-ラクタム剤とアミノグリコシド系の併用効果は併用の順序を考慮する必要があると思われる。菊池¹⁴⁾らは、CAZとTOBによる併用療法は、緑膿菌を中心とする難治性呼吸器感染症に有用であると報告している。緑膿菌のIPMに対する耐性の原因として、45~49 kilodaltonの外膜蛋白の欠如にともなうIPMの透過性の低下が考えられるが^{15,16)}、Watanabe⁹⁾らは、IPM耐性緑膿菌からIPM, CAZなどを分解するoxyiminocephalosporinase type IIを見出し、この遺伝子はプラスミド上に存在することによりその伝播が憂慮されると報告している。そこで臨床材料から分離した緑膿菌6株 (IPM耐性株4株, IPM感受性株2株)を用いてIPMを分解する酵素の有無を検討したが、IPMを分解する酵素は認められなかった。PIPCを分解する酵素の有無についても検討したが、PIPCを分解する酵素も認められなかった。CERを基質とした場合、5株よりβ-lactamase活性が認められた。このβ-lactamase活性はIPM, CAZ, PIPC感受性株では検出限界以下と 5.14×10^{-3} , IPM耐性CAZ, PIPC感受性株では 7.92×10^{-3} と 1.44×10^{-2} , IPM, CAZ, PIPC耐性株では 9.32×10^{-3} と 8.52×10^{-2} であり、CAZ耐性の2株以外はいずれも低い活性であった。今回の実験で見出された緑膿菌のβ-lactamaseはCAZの感受性と相関しており、従来より知られている染色体性のβ-lactamaseを産生していると推測される^{15,17)}。IPM耐性機構については、ポーリンD2の欠損などが考えられるため、今後膜の変異特にポーリンD2について検討する予定である。

文 献

- 1) 高橋公毅, 渡辺正治, 菅野治重: Imipenem耐性緑膿菌の分離状況およびceftazidimeとimipenemまたはofloxacinの併用効果. *Chemotherapy* 40: 1201~1207, 1992
- 2) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved standard M7-A2 (M100-S4). Method for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Vol. 12, National Committee for Clinical Laboratory Standards. Villanova, Pa., 1992

- 3) 日本化学療法学会抗菌薬感受性測定委員会報告 (1989) (委員長: 五島巖智子): 微量液体希釈法—日本化学療法学会標準法—。Chemotherapy 38: 102~105, 1990
- 4) Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, Mitsuhashi S: Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agent Chemother 35: 147~151, 1991
- 5) 高橋公毅, 小林章男: 緑膿菌, クレブシエラ, セラチアに対する抗生剤の併用効果。Chemotherapy 27: 843~856, 1979
- 6) 菅野治重: 集塊菌に対する抗菌剤の殺菌効果。Chemotherapy 36: 691~705, 1988
- 7) 横田 健, 関口玲子: Ceftazidime (SN 401) のグラム陰性菌外膜通過性とペニシリン結合タンパク質に対する親和性。Chemotherapy 31(S-3): 17~21, 1983
- 8) Hancock R E W, Raffle V J, Nicas T I: Involvement of the outer membrane in gentamicin and streptomycin uptake and killing in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agent Chemother 19: 777~785, 1981
- 9) Davis B D: Mechanism of bactericidal action of aminoglycosides. Microbiol Rev 51: 341~350, 1987
- 10) 中沢昭三, 大槻雅子, 西野武士, 中尾雅文: 緑膿菌に対する合成ペニシリンとアミノ配糖体抗生物質との併用に関する細胞学的研究。Chemotherapy 23: 3201~3209, 1975
- 11) 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
- 12) 戸塚恭一, 菊池 賢, 長谷川裕美, 清水喜八郎: 抗菌薬の投与計画。化学療法の領域 6: 66~72, 1990
- 13) 松本哲朗: 複雑性尿路感染症に対する抗菌薬併用の試み。Chemotherapy 39: 511~512, 1991
- 14) 菊池典雄, 川島辰男, 他: 緑膿菌を中心とする難治性呼吸器感染症に対する Ceftazidime, Tobramycin の併用療法。Jap J Antibiotics 45: 799~808, 1992
- 15) Buscher K H, Cullman W, Opferkuch W: Imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* resulting from diminished expression of an outer membrane protein. Antimicrob Agent Chemother 31: 703~708, 1987
- 16) Trias J, Dufrense J, Levesque R C, Nikaido H: Decreased outer membrane permeability in imipenem-resistant mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agent Chemother 33: 1201~1206, 1989
- 17) Tausk F, Evans M E, Patterson L S, Federspiel C F, Stratton C W: Imipenem-induced resistance to antipseudomonal β -lactams in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agent Chemother 28: 41~45, 1985

Susceptibility of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and bactericidal effects of ceftazidime and tobramycin combinations against colonies of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*

Kohki Takahashi, Masaharu Watanabe and Harushige Kanno

Department of Laboratory Medicine, Chiba University Hospital,

1-8-1, Inohana, Chuo-ku, Chiba 260, Japan

Ichiro Fukuda and Shinobu Tamura

Preclinical Research Center, Tsukuba Research Laboratories, Nippon Glaxo Ltd.

The susceptibility of twenty-eight strains of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* to ten antimicrobial agents was investigated. As a rule the criteria of resistance to each drug used in this study followed those of NCCLS except for fosfomycin. The resistance rate (28.6%) of ceftazidime was the lowest among β -lactams: ceftazidime, piperacillin, cefoperazone and cefsulodin. On the other hand, the resistance rate (39.3%) of tobramycin was the lowest among aminoglycosides: tobramycin, amikacin and isepamicin. The resistance rate of fosfomycin was 100%. The simultaneous, combined effect and prolonged combined effect of ceftazidime and tobramycin against colonies in cotton suture of imipenem-resistant *P. aeruginosa* strain No. 23 were investigated. The simultaneous exposure of ceftazidime and tobramycin showed marked bactericidal activity. The bactericidal activity of concomitant exposure to ceftazidime and tobramycin after pre-exposure to ceftazidime were greater than that of concomitant exposure to tobramycin and ceftazidime after pre-exposure to tobramycin. Four imipenem-resistant *P. aeruginosa* used in this study did not produce a β -lactamase that hydrolyzed imipenem.