

緑膿菌に対する isepamicin と imipenem/cilastatin 併用時の投与順序に関する基礎的検討

松居 都美¹⁾・津田 良子¹⁾・上 洋司¹⁾・加瀬公一郎¹⁾
山路 真也²⁾・室伏 直美²⁾・鳥屋 実²⁾

¹⁾シェリング・プラウ株式会社研究開発部*

²⁾旭化成工業株式会社ライフサイエンス総合研究所

(平成6年9月2日受付・平成7年3月30日受理)

アミノ配糖体薬である isepamicin (ISP) と β -ラクタム薬である imipenem/cilastatin (IPM/CS) を用いて、緑膿菌に対する *in vitro* 併用効果および併用時の投与順序について検討し、以下の成績を得た。

1. ISP および IPM/CS は、緑膿菌 ATCC 27853 および臨床分離菌株 10 株に対して、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、54%の菌株で相加/相乗効果が認められ、拮抗作用は認められなかった。また、minimum FIC index の平均値は、0.897 であった。
3. 緑膿菌 ATCC 27853 の *in vitro* 増殖曲線におよぼす影響を検討した結果、それぞれ単独でやや減少傾向を示す薬剤濃度で併用した場合殺菌的に作用し、優れた併用効果が認められたが、投与順序による効果の差は認められなかった。
4. 緑膿菌 ATCC 27853 に対する再増殖抑制効果を血中濃度シミュレーションにより検討した結果、ISP 先行投与>同時投与>IPM/CS 先行投与の順に抑制効果が認められた。
5. 緑膿菌 ATCC 27853 の PAE を検討した結果、ISP および IPM/CS とも単独で PAE が認められ、併用により PAE は延長した。また、併用時は ISP 先行投与>同時投与>IPM/CS 先行投与の順に延長効果が認められた。

以上、*in vitro* の検討結果より、ISP と IPM/CS との併用における ISP 先行投与の有用性が示唆され、臨床的な効果も十分期待されるものと考えられる。

Key words: isepamicin, imipenem/cilastatin, 併用効果, 投与順序, 緑膿菌

緑膿菌感染症については有用な薬剤の開発もめざましく、臨床的な効果も上げられている。しかし、抗生剤の繁用により緑膿菌の多剤耐性化が進み、compromized host の増加とも相俟って、依然として難治性感染症の原因菌の1つとなっている¹⁻⁵⁾。また、耐性化の防止および混合感染に対する効果を期待して、数多くの薬剤について *in vitro*, *in vivo* および臨床において様々な併用療法の検討が行われている⁶⁻⁹⁾。

アミノ配糖体薬と β -ラクタム薬の併用療法は、臨床の場でも多用されており、最近では、アミノ配糖体薬の1日1回投与と β -ラクタム薬の頻回投与の組合せの有用性とアミノ配糖体薬先行の投与順序効果も指摘されている⁹⁾。

今回我々は、アミノ配糖体薬として ISP を β -ラクタム薬として IPM/CS を選び、ISP の1日1回投与と IPM/CS の頻回投与の併用療法を想定して、緑膿菌 ATCC 27853 および臨床分離菌株 10 株に対するこれら薬剤間の *in vitro* 併用効果を検討した。

I. 材料および方法

1. 使用薬剤

Isepamicin (ISP, シェリング・プラウ株式会社, 旭化成工業株式会社), imipenem/cilastatin (IPM/CS, 萬有製薬株式会社) のいずれも力価の明らかなものを使用した。

2. 使用菌株

緑膿菌 ATCC 27853 および臨床分離菌株として旭化成工業株式会社保存の 10 株を用いた。

3. 薬剤感受性測定

日本化学療法学会感受性測定法¹⁰⁾に従って測定した。被験菌を感受性測定用ブイヨン(日水)で37°C, 18時間前培養後、同ブイヨンで10⁶ CFU/mlとなるよう希釈した菌液を薬剤含有感性ディスク用培地-N(日水)平板上に接種し、37°C, 18時間培養し、最小発育阻止濃度(MIC, $\mu\text{g/ml}$)を求めた。

4. 併用における感受性測定

ISP と IPM/CS との併用効果を Checkerboard dilution method により検討した。ISP および IPM/CS を種々の濃度で含ませた感性ディスク用培地-N (日水) 平板上に 10^6 CFU/ml の菌液を接種し、 37°C 、18 時間培養した後、MIC を求めた。これらの結果より、minimum fractional inhibitory concentration index (min-FIC index) を計算し、協力作用を判定した。

なお、min-FIC index ≤ 0.5 を相乗作用 (synergy), $0.5 < \text{min-FIC index} \leq 1.0$ を相加作用 (addition), $1.0 < \text{min-FIC index} \leq 2.0$ を不関 (indifference), $2.0 < \text{min-FIC index}$ を拮抗作用 (antagonism) とした。

5. *In vitro* 増殖曲線に対する影響

緑膿菌 ATCC 27853 を感受性測定用ブイオンにて 37°C 、18 時間振盪培養し、同培地で約 10^5 CFU/ml に希釈した後、 37°C で 2.5 時間振盪培養を行った。菌数が約 10^6 CFU/ml となった対数増殖期の菌懸濁液にそれぞれ $1/4$ MIC~4 MIC となるように薬剤を単独で添加し、添加 1, 2, 4, 8, 24 時間後の生菌数を SCD 寒天培地 (ダイゴ) にて混釈法で測定した。ISP と IPM/CS の $1/2$ MIC 薬剤を単独添加、同時添加、ISP 1 時間先行添加、IPM/CS 1 時間先行添加の方法で併用し、生菌数を測定した。

6. 血中濃度シミュレーションによる投与順序の検討

緑膿菌 ATCC 27853 を感受性測定用ブイオンにて 37°C 、18 時間培養した後、この菌懸濁液を同ブイオンに約 10^4 CFU/ml となるように接種した。 37°C 、1 時間前培養後、Table 1 に示した血中濃度となるように、 $1,000 \mu\text{g/ml}$ の薬液を 15 分毎に培地中に添加した。最高血中濃度 (C_{max}) 到達後は新鮮な感受性測定用ブイオンをペリスタポンプを用いて加え、培地中の薬剤濃度を調整した。経時的にサンプリングを行い、生菌数を寒天培地にて塗抹法で測定した。

薬剤は以下の 3 通りの投与方法で添加した。

- 1) ISP および IPM/CS を同時投与し、初回投与 12 時間後に IPM/CS を投与。
- 2) ISP 投与 1 時間後に IPM/CS を投与し、初回投与 12 時間後に IPM/CS を投与。
- 3) IPM/CS 投与 1 時間後に ISP を投与し、初回投与 12 時間後に IPM/CS を投与。

なお、Fig. 1 に血中濃度シミュレーション装置を示

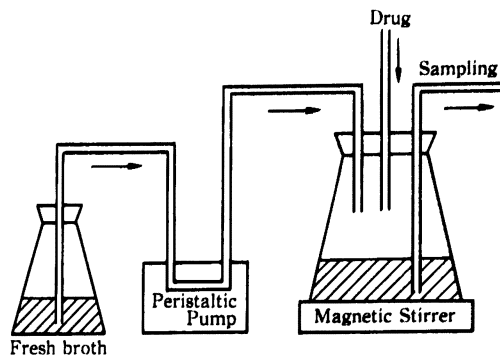


Fig. 1. The simulator of the plasma concentration.

した。また、実験に用いた培地、薬液はすべて 37°C に保温したものを用い、培養は 37°C で攪拌しながら行った。

7. PAE による投与順序の検討

緑膿菌 ATCC 27853 を感受性測定用ブイオンにて 37°C 、18 時間培養した後、この菌懸濁液を同培地に約 10^4 CFU/ml となるように接種した。1 時間前培養後、各薬剤の 1 MIC 濃度を 2 時間作用させた。菌への薬剤の影響を除去するために、この菌懸濁液を、新鮮な感受性測定用ブイオンにてそれぞれ 100 倍希釈し、経時的に 600 nm の吸光度を測定した。菌液の吸光度が変曲点まで到達する時間をバイオスクリーン C ソフトプログラム (BIOSCR-201 D) にて求め、薬剤添加の菌液が変曲点まで到達する時間から、薬剤無添加の菌液 (コントロール) が変曲点まで到達する時間の差を求め PAE とした。なお、コントロールは、薬剤添加の菌液の薬剤除去直後の菌数と同じ菌数となるように希釈したものを用いた。

ただし、薬剤は以下の組合せとなるように作用させた。

- 1) ISP を単独で 2 時間作用。
- 2) IPM/CS を単独で 2 時間作用。
- 3) ISP および IPM/CS を同時に 2 時間作用。
- 4) ISP を 1 時間作用させた後、ISP 存在下で IPM/CS を 1 時間作用。
- 5) IPM/CS を 1 時間作用させた後、IPM/CS 存在下で ISP を 1 時間作用。

II. 結 果

1. 使用菌株の薬剤感受性

緑膿菌 ATCC 27853 および臨床分離菌株 10 株に対する ISP または IPM/CS の MIC 測定結果を Table 2 に示した。

ISP および IPM/CS とともに MIC_{80} は $3.13 \mu\text{g/ml}$ と優れた抗菌力を示した。

2. 併用における薬剤感受性

緑膿菌 ATCC 27853 および臨床分離菌株 10 株に対する ISP と IPM/CS との併用効果について、checke-

Table 1. Time-course of plasma concentration of isepamicin and imipenem/cilastatin

Drug	Dose	Plasma concentrations ($\mu\text{g/ml}$)									
		0	0.25	0.5	0.75	1	1.5	2	4	6	8 (h)
ISP	400 mg	0	10.0	15.0	18.0	20.0	15.0	10.0	3.5	N.A*	0.7
IPM/CS	1g/1g	0	N.A	40.0	N.A	50.0	30.0	15.0	3.0	0.7	N.A

* not available

ISP: isepamicin, IPM/CS: imipenem/cilastatin

Table 2. MICs of isepamicin and imipenem/cilastatin against *Pseudomonas aeruginosa* (11 strains, 10⁶ CFU/ml)

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)										MIC ₁₀		
	≤ 0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5		25.0	50.0
ISP		1	1	3	1	2*	2		1				3.13
IPM/CS			2	2	4	1*	2						3.13

* *P. aeruginosa* ATCC 27853

ISP: isepamicin, IPM/CS: imipenem/cilastatin

Table 3. Combined effects of isepamicin and imipenem/cilastatin against *Pseudomonas aeruginosa*

Mean minimum FIC index	Number of strains (%)			
	synergy	additive effect	indifference	antagonism
0.897	1 (9%)	5 (45%)	5 (45%)	0 (0%)

Synergy: Minimum FIC index ≤ 0.5 Additive effect: $0.5 < \text{Minimum FIC index} \leq 1.0$ Indifference: $1.0 < \text{Minimum FIC index} \leq 2.0$ Antagonism: $2.0 < \text{Minimum FIC index}$

ISP: isepamicin, IPM/CS: imipenem/cilastatin

FIC index: Fractional inhibitory concentration index

rboard dilution methodにより求めた min-FIC index を Table 3 に示した。

使用した 11 菌株のうち拮抗作用を示すものではなく、54%の菌株で協力作用を認め、min-FIC index の平均は 0.897 であった。なお、緑膿菌 ATCC 27853 に対する min-FIC index は 1 と相加作用を示した。

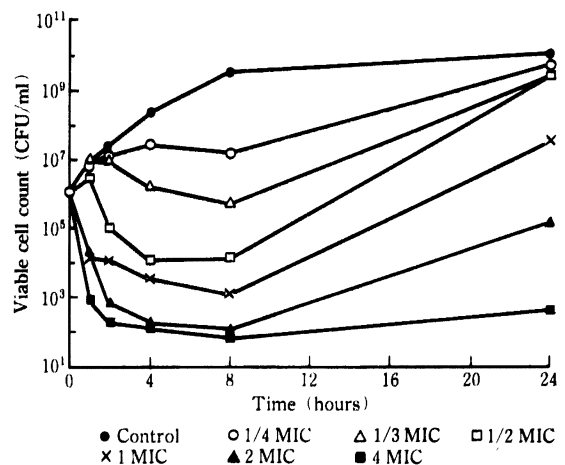
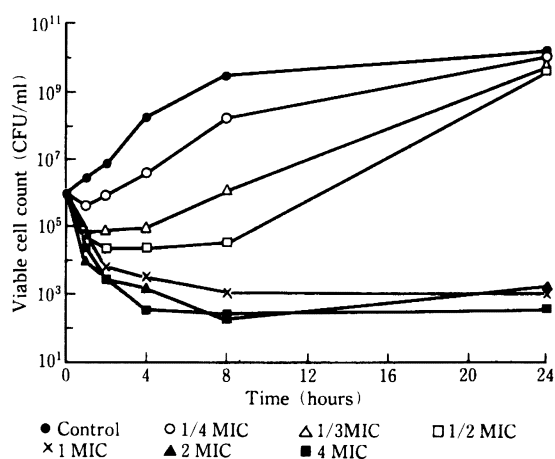
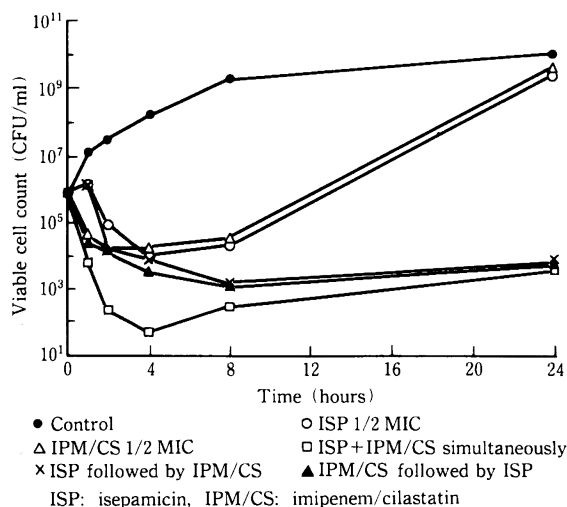
3. *In vitro* 増殖曲線に対する影響

緑膿菌 ATCC 27853 に対して、1/4 MIC~4 MIC で ISP または IPM/CS をそれぞれ単独で作用した場合の増殖曲線におよぼす影響を検討した。Fig. 2 (a), (b) に示すように、両薬剤とも濃度依存的に増殖抑制作用が認められた。1/2 MIC 以下の濃度では、24 時間後の生菌数は対照とほぼ同じ程度まで増加した。

単独で添加 8 時間後までやや減少傾向を示した 1/2 MIC の組合せで、ISP と IPM/CS 同時添加、ISP 添加 1 時間後に IPM/CS 添加、IPM/CS 添加 1 時間後に ISP 添加の 3 方法で併用した場合、8 時間後までは同時添加の増殖抑制効果をもっとも大きかったが、それ以後は投与順序による効果の差は認められなかった。また、いずれの投与順序の併用においても、24 時間後まで増殖抑制効果を持続することを確認した (Fig. 3)。

4. 血中濃度シミュレーションによる投与順序の検討

緑膿菌 ATCC 27853 に対して、両薬剤の血中濃度シミュレーションモデルに従い、ISP 単回投与と IPM/CS の 12 時間間隔投与とで併用させた場合の増殖曲線を Figs. 4~6 に示した。両薬剤を同時投与した場合、薬剤投与直後から殺菌的に作用するが、6 時間後より再増殖をはじめ、12 時間後には投与前と同じ程度の菌数まで増殖した。2 回目の IPM/CS 投与により、再び増

Fig. 2(a). Bactericidal effect of various concentrations of isepamicin alone against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.Fig. 2(b). Bactericidal effect of various concentrations of imipenem/cilastatin alone against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.Fig. 3. Bactericidal effect of the concentrations of isepamicin and imipenem/cilastatin against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

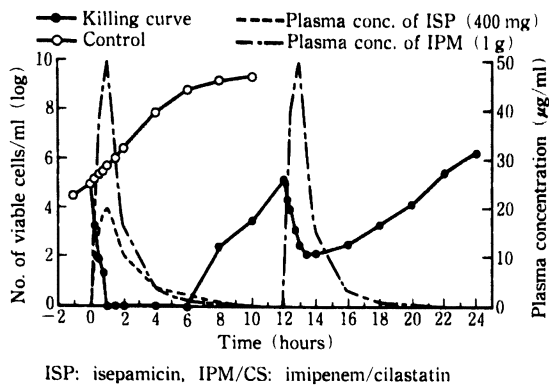


Fig. 4. Bactericidal activity of isepamicin (ISP) and imipenem/cilastatin (IPM/CS) in combination against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 in an *in vitro* simulating model of the plasma concentration (simultaneous ISP and IPM/CS).

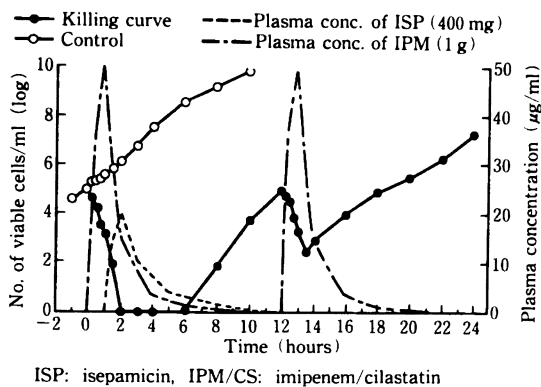


Fig. 5. Bactericidal activity of isepamicin (ISP) and imipenem/cilastatin (IPM/CS) in combination against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 in an *in vitro* simulating model of the plasma concentration (IPM/CS followed by ISP).

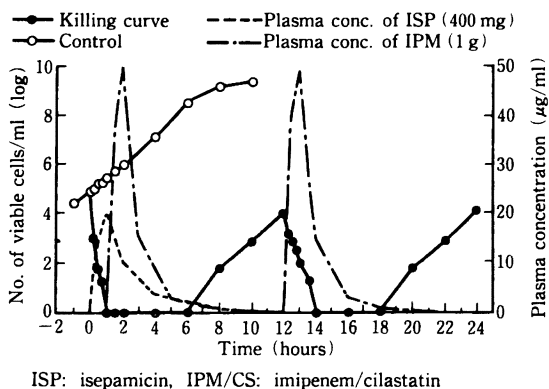


Fig. 6. Bactericidal activity of isepamicin (ISP) and imipenem/cilastatin (IPM/CS) in combination against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 in an *in vitro* simulating model of the plasma concentration (ISP followed by IPM/CS).

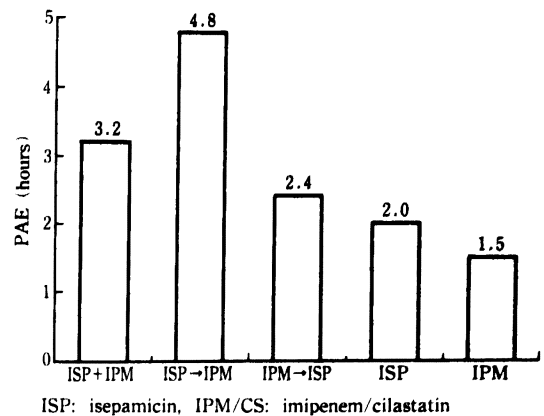


Fig. 7. *In vitro* postantibiotic effects (PAE) of isepamicin and imipenem/cilastatin alone and in combination against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

殖が抑制されたが、14時間後より再増殖をはじめ、24時間後の生菌数は $10^{6.3}$ CFU/mlと投与前よりも増加した。

IPM/CSを1時間先行投与した場合、同時投与の場合と同様のパターンで作用したが24時間後の生菌数は $10^{7.3}$ CFU/mlと同時投与の場合よりも増加した。

ISPを1時間先行投与した場合、同時投与の場合と同様に6時間後から再増殖をはじめたが、12時間後の生菌数は投与前より1オーダー少なく、2回目のIPM/CS投与により18時間後まで殺菌的に作用した。その後、再増殖をはじめたが、24時間後の生菌数は、投与前より1オーダー少ない 10^4 CFU/mlであった。すなわち、併用時の再増殖抑制効果は、ISP先行投与>同時投与>IPM/CS先行投与の順に強く認められ、ISP先行投与の有用性が示唆された。

5. PAEによる投与順序の検討

1 MICの薬剤を単独および併用で作用させた場合のPAEをFig. 7に示した。

ISPおよびIPM/CSともに単独投与でPAEが認められ、併用することによりPAEは延長した。その効果は、ISP先行投与>同時投与>IPM/CS先行投与の順に大きく、特にISP先行投与の場合、単独投与のPAEを2倍以上延長させた。

III. 考 察

Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* とならび臨床の場で問題となっている緑膿菌は、有用な抗生物質の開発にもかかわらず、compromized hostの増加およびその繁用による各種抗生剤に対する耐性の獲得により、依然として難治性感染症の原因となっている¹⁻⁵⁾。緑膿菌に対する併用療法は耐性菌の誘導を防ぐ目的およびcompromized hostにおける混合感染時の治療効果の期待からも必要とされており、特にアミノ配糖体薬とβ-ラクタム薬の併用¹¹⁻¹⁷⁾は臨床の場でも多用されてい

る。また、最近ではアミノ配糖体薬の1日1回投与とβ-ラクタム薬の頻回投与との組合せで、アミノ配糖体薬を先行投与した場合、殺菌効果に優れるとも報告されている⁶⁾。

今回使用したISPおよびIPM/CSは、緑膿菌11菌株に対して、単独のMIC₉₀が共に3.13 μg/mlと優れた感受性を示した。また、ISPとIPM/CSの併用は、50%以上の菌株で相加/相乗作用が認められ、拮抗を示した菌株が認められなかったことから、両薬剤併用の意義を示唆するものと考えられる。

In vitro 増殖曲線による検討では、併用により優れた殺菌効果を示したが、投与順序による効果の差は認められなかった。これは、この実験系が、薬剤添加後の培地中薬剤濃度を変化させないものであるため、両薬剤を添加した後は、投与順序に関係なく両薬剤の培地中濃度が一定であることに起因すると考えられる。

そこで、実際に抗生物質が投与された際の pharmacokinetics にもとづく血液中、組織中の薬剤濃度の変動を反映した血中濃度シミュレーションに従い、併用時の投与順序効果について検討した。結果は、投与12時間後の生菌数、IPM/CS再投与後の再増殖抑制および24時間後の生菌数において、ISP先行投与がもっとも優れた効果を示し、次いで同時投与、IPM/CS先行投与の順であった。両薬剤を併用した場合の作用機序は、アミノ配糖体薬による菌の外膜の直接損傷作用およびβ-ラクタム薬によるペプチドグリカン層破損に伴うアミノ配糖体薬の標的リボソームへの到達増加による相乗作用と報告されている⁶⁾。また、アミノ配糖体薬先行投与が優れている理由に関しては、アミノ配糖体薬の作用による菌の膜障害のためβ-ラクタム薬の透過性が上昇し標的部位への取込が増加すること⁶⁾アミノ配糖体薬作用後のPAE期でのβ-ラクタム薬のsub-MIC効果の増強などが報告⁷⁾されているが、まだ解明されていない。ただし、アミノ配糖体薬先行投与の有用性は、*in vivo*においても検討されており⁶⁾、本検討結果からも臨床的效果は十分期待できるものと考えられる。

さらに、両薬剤の単独および併用時のPAEを検討した。*In vitro*におけるPAEは、菌に薬剤を短時間接触させ、その薬剤の影響を除去後、菌が10倍に増殖する時間から薬剤未処理のコントロール菌が10倍に増殖する時間を差し引いた値と定義されており¹⁸⁾、従来、菌の増殖は生菌数を測定することにより求められている。本検討では、より簡便な方法であり、*Staphylococcus aureus* および *Enterococcus faecalis* において生菌数法によるPAE測定との相関性が報告されている¹⁹⁾微生物自動増殖解析システム (Bioscreen C ラボシステム・ジャパン) を用いた増殖曲線法により、薬剤処理した菌の増殖に影響がなくなるまでの時間をPAEとして評価を行った。その結果、ISPおよびIPM/CS単独でもPAEが

認められた。このPAEは併用により延長し、その効果はISP先行投与>同時投与>IPM/CS先行投与の順に大きく、血中濃度シミュレーションによる結果と一致した。アミノ配糖体薬のISPだけでなく、β-ラクタム薬であるIPM/CSでも緑膿菌に対してPAEが認められることは、生菌数測定法による試験でも報告されており²⁰⁾、今回の結果は、ISP先行投与の意義を支持するだけでなく、生菌数測定法よりも簡便な増殖曲線法を用いたPAE評価の可能性を示唆するものである。

今後、*in vivo* および臨床での検討を必要とするが、緑膿菌に対するISPとIPM/CSの併用療法において、ISP先行の時間差投与がもっとも優れた効果を示すと考えられる。

文 献

- 1) Chow A W, Wrong J, Bartlett K H, Shafran S D, Stiver H G: Cross-resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to ciprofloxacin, extended-spectrum β-lactams and aminoglycosides and susceptibility to antibiotic combination. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33: 1368~1372, 1989
- 2) Trias J, Dufresne J, Levesque R C, Nikaido H: Decreased Outer Membrane Permeability in Imipenem-Resistant Mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33: 1201~1206, 1989
- 3) Buscher K H, Cullman W, Dick W, Opferkuch W: Imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* resulting from diminished expression of an outer membrane protein. *Antimicrob. Agents Chemother.* 31: 703~708, 1987
- 4) Mouton R P, Mulders S L T A: Combined Resistance to quinolones and BetaLactams After *in vitro* Transfer on Single Drugs. *Chemotherapy* 33: 189~196, 1987
- 5) 水間良裕: 緑膿菌に対する抗生物質併用療法に関する基礎的検討 (第3報) —β-lactam薬と新キノロン薬について—. *Chemotherapy* 40: 1188~1200, 1992
- 6) 菊池 賢: 緑膿菌感染症に対するアミノ配糖体とβ-ラクタム投与方法と併用療法の検討. *感染症学雑誌* 65: 216~225, 1991
- 7) 菊池 賢: 緑膿菌に対する各種抗菌薬の postantibiotic sub-MIC effect. *Chemotherapy* 41: 948~953, 1993
- 8) 後藤 元, 島田 馨: 抗菌薬併用の実際と問題点, 一併用の概論—. *臨床と微生物* 20: 256~260, 1993
- 9) 上 洋司, 柴原 健, 松島宏規, 西野武志: アミノ配糖体系抗生物質とβ-ラクタム系抗生物質との *in vitro* 併用効果について. *Chemotherapy* 37: 1327~1333, 1989
- 10) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について. *Chemotherapy* 29: 76~79, 1981
- 11) Basker M J, Surherland R: Synergy between ticarcillin and aminoglycosides against gram-negative bacilli in vitro and in vivo. *Pro. 10th Inter. Congr. Chemother.* 1: 425~428, 1977
- 12) Klastersky J, et al: Synergy amikacin and cefazolin against *Klebsiella*: *in vitro* studies and effect on the bactericidal activity of serum. *J. Infect. Dis* 134: 271~276, 1976

- 13) 青沼清一, 他: 抗生物質の併用の関する研究【I】, 臨床分離株に対する piperacillinticarillin と dibekacin との *in vitro* 併用効果に対する実験的考察。Chemotherapy 32: 149~152, 1982
- 14) 高橋公毅, 他: 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: 848~855, 1979
- 15) 増田剛太, 他: *Klebsiella* 感染症の化学療法に対する基礎的検討: Cephalosporin 系抗生剤単独と gentamicin との併用について。Chemotherapy 24: 451~455, 1976
- 16) 出口浩一, 他: 臨床分離菌株に対する Cefodizime と他の抗菌性物質との抗菌併用効果III. Gentamicin との併用効果。Jap. J. Antibiotics 45: 468~477, 1992
- 17) 出口浩一, 他: 臨床分離菌株に対する Cefodizime と他の抗菌性物質との抗菌併用効果IV. Gentamicin との併用効果。Jap. J. Antibiotics 45: 478~488, 1992
- 18) Craig W A, Guudmundsson S: Postantibiotic effect. In: Antibiotics in Laboratory Medicine (ed. by Lorian V), 3rd Ed., p. 403~431, Williams and Wilkins, Baltimore, 1991.
- 19) 大久保豊司, 他: 第36回日本化学療法学会東日本支部総会, 新潟, 1989
- 20) Bustamante C I, Drusano G L, Tatem B A, Standiford H C: Postantibiotic Effect of Imipenem on *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents Chemother. 26: 678~682, 1984

In vitro studies of combination effects and dosing regimens of isepamicin and imipenem/cilastatin against *Pseudomonas aeruginosa*

Tomi Matsui¹⁾, Yoshiko Tsuda¹⁾, Hiroshi Kami¹⁾, Koichiro Kase¹⁾,
Shinya Yamaji²⁾, Naomi Murofushi²⁾ and Minoru Toriya²⁾

¹⁾Research and Development Laboratories, Schering-Plough Kabushiki Kaisha, 1-4 Sasagaoka Minakuchi-cho, Koka-Gun, Shiga 528, Japan

²⁾Chemical Research Institute for Life Science Research, Asahi Chemical Industry Co., Ltd.

The effects and optimal dosing regimens of the aminoglycoside isepamicin (ISP) in combination with the β -lactam imipenem/cilastatin (IPM/CS) against *Pseudomonas aeruginosa* were studied. The following results were obtained.

1. Strong antibacterial activity of each antibiotic alone was obtained against *P. aeruginosa* ATCC 27853 and 10 clinical isolates.

2. A synergistic or additive effect of ISP with IPM/CS was demonstrated with 6 strains (54%) and no antagonism was observed with any strain. The mean minimum fractional inhibitory concentration (FIC) index was 0.897.

3. Bactericidal activity of the combination of ISP and IPM/CS against *P. aeruginosa* ATCC 27853 was observed on *in vitro* killing curves at concentrations in which each drug alone showed only bacteriostatic activity. However, the three dosing regimens yielded similar regrowth inhibitory effects regardless of which drug was administered first.

4. Regrowth inhibitory effects were observed in an *in vitro* simulating model of plasma concentration with treatment with ISP followed by IPM/CS, treatment with ISP and IPM/CS at the same time, and treatment with IPM/CS followed by ISP, in descending order.

5. A postantibiotic effect (PAE) of each antibiotic alone against *P. aeruginosa* ATCC 27853 was observed, and the effect was extended by combining the two drugs. An extended PAE was obtained by treatment with ISP followed by IPM/CS, treatment with ISP and IPM/CS at the same time, and treatment with IPM/CS followed by ISP, in descending order.

These results suggest that the optimal regimen is treatment with ISP followed by IPM/CS. Controlled clinical trials are needed to determine the clinical efficacy of this regimen.