

[原 著]

久留米大学病院で検出された多剤耐性緑膿菌に対する抗菌薬の併用効果

福島奈央・棚町千代子・橋本好司・堀田吏乃・中田一徳・佐川公矯
久留米大学病院臨床検査部

(平成 17 年 11 月 18 日受付, 平成 18 年 7 月 24 日受理)

久留米大学病院では、細菌の同定・感受性試験は、Micro Scan Walk Away96 (デイドベリング) を使用し、2002 年 1 月から 2005 年 3 月までの 39 カ月間に、35 株の多剤耐性緑膿菌 (Multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*; MDRP) を検出した。この 35 株を対象とし、MDRP の各種抗菌薬に対する感受性を調べる目的で、Etest (AB BIODISK) による薬剤感受性の再測定を行った。最も高い感受性率を示した抗菌薬は ceftazidime (CAZ) であり、CAZ 感受性株は 25 株 (71.4%)、CAZ 耐性株は 10 株 (28.6%) であった。CAZ に耐性を示した 10 株については、ほかに有効な抗菌薬が認められなかったため、Etest 配置換え方式にて FIC index を算出することによって併用効果を判定した。Cefepime (CFPM) と ciprofloxacin (CPFX) の併用では、4 株 (40%; 相乗効果 1 株, 相加効果 3 株) に併用効果が認められた。Aztreonam (AZT) と amikacin (AMK) の併用では、10 株 (100%; 相乗効果 7 株, 相加効果 3 株) に併用効果が認められた。しかし、このうち 5 株はメタロ-β-ラクタマーゼ産生株であり、AMK の併用時の MIC 値は 32~64 μg/ml と高値を示し、臨床においては中毒域に達するため安全に使用できる範囲ではなかった。一方、メタロ-β-ラクタマーゼ非産生株 5 株のうち 4 株は臨床でも使用できる MIC 値を示しており、AZT と AMK の併用療法の効果が期待できた。メタロ-β-ラクタマーゼを産生する MDRP においては、ほとんどの抗菌薬に高度耐性を示し、今回の検討で用いた薬剤の組み合わせでは臨床での薬剤併用効果は期待できないと思われた。よって、今後それらの株に対して臨床でも効果が期待できる薬剤併用の組み合わせについて、さらに検討していく必要がある。

Key words: 多剤耐性緑膿菌, メタロ-β-ラクタマーゼ, 併用効果, FIC index

序 文

Pseudomonas aeruginosa は生活環境中に広く常在するが、健常者には通常病原性を示さない弱毒菌の一つである。近年、*P. aeruginosa* に効果があったカルバペネム系薬、フルオロキノロン系薬さらにアミノ配糖体系薬に幅広く耐性を獲得した多剤耐性緑膿菌 (Multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*; MDRP) が検出されるようになった¹⁾。本菌は、免疫機能の低下した患者や抗菌薬の長期使用患者に日和見感染を起

こした場合には、敗血症または、骨髄、気道、尿路、皮膚、軟部組織、耳、眼などに重度の感染症を起こす²⁾。当院での MDRP 検出数は年々増加しており、現在まで 2002 年 12 月、2003 年 11 月、2004 年 9 月に、同一遺伝子型を有する MDRP によるアウトブレイクを経験した³⁾。MDRP 感染症の治療には、感受性を示す抗菌薬の中から選択するが、測定したすべての抗菌薬に耐性を示す場合も多く、現在単剤の投与では効果が期待できないと考えられており⁴⁾、抗菌薬の併用療法が必要となる。今後も MDRP による感染症が増加することが懸念され、近年抗菌薬併用のさまざまな組み合わせが検討されつつある。しかし、*P. aeruginosa* の薬剤耐性機構には、抗菌薬の外膜透過性の低下、抗菌薬不活化酵素の産生、薬剤排出ポンプによる耐性化、DNA ジャイレース A サブユニットに対するキノロン薬の結合親和性の低下など⁵⁾多数存在してい

著者連絡先: (〒830-0011) 福岡県久留米市旭町
67 番地
久留米大学病院臨床検査部
福島奈央
TEL: 0942-35-3311 (内線 5445)
FAX: 0942-31-7760
E-mail: fukushima_ nao@kurume-u.ac.jp

ることから、有効な治療法が確立されていないのが現状である。一般的に *P. aeruginosa* の治療にはβ-ラクタム系薬とキノロン系薬^{6),7)}、β-ラクタム系薬とアミノ配糖体系薬⁸⁾の併用が効果的であるといわれている。また、井上ら⁹⁾によって cefepime (CFPM) は外膜透過性が良好であり、セファロスポリナーゼ産生株に対しても抗菌力を示すこと、aztreonam (AZT) はメタロ-β-ラクタマーゼ産生株に対して感受性を示すことが報告されている。これらのことから、今回我々は薬剤併用による治療の可能性の有無を調べるため、CFPM と ciprofloxacin (CPFX) の組合せと、AZT と amikacin (AMK) の組合せを用いて併用効果を検討し、当院において検出された MDRP について解析したので報告する。

材料と方法

1. 使用菌株

2002年1月から2005年3月までの39カ月間に久留米大学病院で臨床検体から分離され、薬剤感受性試験が行われた *P. aeruginosa* 総数は同一患者由来株を除き1508株であった。そのうち、菌液をブロンプト法にて調整し Micro Scan Walk Away96 (デイドベリング) を用いて、MIC 値が imipenem (IPM) $\geq 16 \mu\text{g/ml}$ 、AMK $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ 、CPFX $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ の条件を満たし、MDRP と判定された35株を検討対象とした。これら35株の検体種の内訳は、尿20株、呼吸器系(喀痰、咽頭粘液)4株、血液3株、便3株、その他5株であった。

2. メタロ-β-ラクタマーゼ産生能

メタロ-β-ラクタマーゼ産生能は、メタロ-β-ラクタマーゼ SMA ‘栄研’ (栄研化学)、ceftazidime (CAZ) および IPM ディスク (栄研化学) を用い、Arakawa らの方法¹⁰⁾に従って確認した。

3. 使用薬剤

Piperacillin (PIPC), tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC), sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ), CAZ, CFPM, meropenem (MEPM), AZT, fosfomycin (FOM), IPM, AMK, CPFX の11薬剤を使用した。

4. MIC 値の測定

菌液を基準濁度法に従い、18時間培養したコロニーを滅菌綿棒で釣菌し、3ml の Inoculum Water (デイドベリング) で McFarland 0.5 に調整した。この菌液に滅菌綿棒を浸し過分の菌液を除いたのち、ミューラー・ヒントン II 寒天培地 (日本ベクトン・デッキンソン) に60度ずつ回転させ3回塗布した。10分程度放置し、表面の水分を培地に吸収させ十分

に乾燥させてから Etest (AB BIODISK) ストリップを配置し、35°C で18時間培養して MIC 値を測定した。この値を単独時の MIC 値とした。

5. 2薬剤併用試験

CAZ 耐性を示し有効な薬剤が認められなかった10株を対象として、CFPM と CPFX および AZT と AMK の2薬剤併用効果を Etest 配置換え方式^{11),12)}にて検討した。各薬剤の MIC 値測定で用いた同じ菌液をミューラー・ヒントン II 寒天培地に塗布し、10分程度放置した。CFPM ストリップを配置し、35°C で1時間培養後に取り除き、同じ場所に CPFX ストリップを配置した。35°C で18時間培養し、併用時の CPFX の MIC 値を測定した。もう一方は CPFX ストリップを配置し、35°C で1時間培養後に取り除き、同じ場所に CFPM ストリップを配置した。35°C で18時間培養し、併用時の CFPM の MIC 値を測定した。同様に、AZT と AMK の併用時の MIC 値も測定した。併用効果は、Fractional Inhibitory Concentration Index (FIC index) を求め、FIC index ≤ 0.5 を相乗効果、 $0.5 < \text{FIC index} \leq 1$ を相加効果、 $1 < \text{FIC index} \leq 2$ を不関、FIC index > 2 を拮抗と判定した。FIC index を求める算式を以下に表す。

$$\text{FIC index} = \frac{\text{併用時AのMIC値}}{\text{単独時AのMIC値}} + \frac{\text{併用時BのMIC値}}{\text{単独時BのMIC値}}$$

6. FOM 先行作用後の2薬剤併用試験

各薬剤の MIC 値測定で用いた同じ菌液をミューラー・ヒントン II 寒天培地に塗布し、10分程度放置した。FOM 先行作用の効果を比較するため、まず FOM ストリップを培地に配置し、35°C で1時間培養後に取り除いた。同じ場所に CFPM ストリップを配置し、35°C で1時間培養後に取り除き、さらに同じ場所に CPFX ストリップを配置した。35°C で18時間培養し、併用時の CPFX の MIC 値を測定した。もう一方は、FOM ストリップを配置し35°C で1時間培養後に取り除き、同じ場所に CPFX ストリップを配置し35°C 1時間培養後に取り除き、さらに同じ場所に CFPM ストリップを配置した。35°C で18時間培養し、併用時の CFPM の MIC 値を測定した。同様に、FOM 先行作用後の AZT と AMK の併用時の MIC 値も測定した。2薬剤併用試験と同様に FIC index を求め、FOM 先行作用後の CFPM と CPFX、および AZT と AMK の併用効果を評価した。

結 果

1. メタロ-β-ラクタマーゼ産生能および Etest による各種薬剤の MIC 値測定結果

メタロ-β-ラクタマーゼ産生能および各種薬剤の MIC 値測定結果を Table 1 に示す。メタロ-β-ラクタマーゼ産生は 5 株 (5/35, 14.3%) であった。今回薬剤感受性試験に用いた 11 薬剤のうち, CAZ が最も高い感受性率を示しており, CAZ 感受性は 25 株 (25/35,

71.4%), CAZ 耐性は 10 株 (10/35, 28.6%) であった。

2. 2 薬剤併用効果

2 薬剤併用効果の結果を Table 2 に示す。CFPM と CPFXX の併用では 10 株中相乗効果は 1 株 (1/10, 10%), 相加効果は 3 株 (3/10, 30%) で, 4 株 (4/10, 40%) に併用効果が認められた。拮抗を示す株はなかったものの, 不関が 6 株 (6/10, 60%) を占めていた。なお, メタロ-β-ラクタマーゼ産生株の 5 株はすべ

Table 1. *In vitro* activity of antibacterial agents and metallo-β-lactamase producibility against 35 strains of MDRP isolated in Kurume University Hospital

Strain no.	Material	MIC (μg/ml)											Metallo
		PIPC	T/P	S/C	CAZ	CFPM	IPM	MEPM	AZT	FOM	AMK	CPFXX	
1	Urine	>256	>256	>256	96	64	>32	16	24	>1024	32	16	-
2	Feces	>256	>256	>256	3	>256	>32	>32	192	>1024	32	>32	-
3	Urine	>256	>256	>256	3	>256	>32	>32	>256	>1024	32	>32	-
4	Pus	>256	>256	>256	>256	>256	>32	>32	>256	>1024	>256	>32	+
5	Throat swab	>256	>256	>256	3	>256	>32	>32	128	>1024	64	>32	-
6	Sputum	>256	>256	>256	2	>256	>32	>32	128	>1024	64	>32	-
7	Urine	>256	>256	>256	2	>256	>32	>32	>256	>1024	32	>32	-
8	Wound	>256	>256	>256	2	>256	>32	>32	192	>1024	64	>32	-
9	Urine	>256	>256	>256	>256	>256	>32	>32	128	>1024	>256	>32	+
10	Urine	>256	>256	>256	>256	>256	>32	>32	>256	>1024	>256	>32	+
11	Sputum	8	6	16	4	24	>32	24	12	96	32	4	-
12	Feces	>256	>256	>256	>256	>256	>32	>32	>256	>1024	>256	>32	+
13	Feces	>256	>256	>256	>256	>256	>32	>32	128	>1024	>256	>32	+
14	Drain	>256	>256	>256	3	>256	>32	>32	>256	>1024	64	>32	-
15	Urine	>256	>256	>256	3	>256	>32	>32	>256	>1024	32	>32	-
16	Sputum	>256	>256	192	>256	96	>32	8	>256	24	64	4	-
17	Wound	>256	>256	>256	3	>256	>32	>32	>256	>1024	64	>32	-
18	Urine	>256	>256	>256	3	>256	>32	>32	192	>1024	64	>32	-
19	Urine	48	32	48	8	32	>32	>32	48	>1024	48	8	-
20	Urine	>256	>256	>256	3	>256	>32	>32	>256	>1024	48	>32	-
21	Urine	>256	>256	>256	3	>256	>32	>32	>256	>1024	32	>32	-
22	Blood	>256	>256	>256	3	>256	>32	>32	>256	>1024	48	>32	-
23	Urine	>256	>256	>256	3	>256	>32	>32	>256	>1024	48	>32	-
24	Urine	>256	>256	>256	3	>256	>32	>32	>256	>1024	48	>32	-
25	Urine	>256	>256	>256	4	>256	>32	>32	>256	>1024	48	>32	-
26	Urine	>256	>256	>256	3	>256	>32	>32	>256	>1024	48	>32	-
27	Urine	>256	>256	>256	3	>256	>32	>32	>256	>1024	48	>32	-
28	Urine	>256	>256	>256	3	>256	>32	>32	>256	>1024	32	>32	-
29	Urine	>256	>256	>256	3	>256	>32	>32	>256	>1024	48	>32	-
30	Urine	>256	>256	>256	3	>256	>32	>32	>256	>1024	48	>32	-
31	Urine	>256	>256	>256	3	>256	>32	>32	>256	>1024	48	>32	-
32	Urine	>256	>256	>256	3	>256	>32	>32	>256	>1024	48	>32	-
33	Blood	>256	>256	>256	>256	96	>32	>32	96	>1024	32	6	-
34	Blood	>256	>256	>256	>256	12	>32	>32	8	128	32	12	-
35	Wound	>256	>256	>256	>256	64	>32	>32	96	>1024	32	4	-

PIPC: Piperacillin, T/P: Tazobactam/Piperacillin, S/C: Sulbactam/Cefoperazone, CAZ: Ceftazidime, CFPM: Cefepime, IPM: Imipenem, MEPM: Meropenem, AZT: Aztreonam, FOM: Fosfomycin, AMK: Amikacin, CPFXX: Ciprofloxacin, Metallo: Production of metallo-β-lactamase

Table 2. Combined effects of cefepime and ciprofloxacin, aztreonam and amikacin against MDRP

Strain no.	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				FIC index	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				FIC index
	Cefepime		Ciprofloxacin			Aztreonam		Amikacin		
	Alone	Combination	Alone	Combination		Alone	Combination	Alone	Combination	
1	64	32	16	3	0.69	24	8	32	8	0.58
4	>256	>256	>32	>32	2	>256	96	>256	64	0.63
9	>256	>256	>32	>32	2	128	32	>256	32	0.38
10	>256	>256	>32	>32	2	>256	32	>256	32	0.25
12	>256	>256	>32	>32	2	>256	32	>256	32	0.25
13	>256	>256	>32	>32	2	128	32	>256	32	0.38
16	96	24	4	2	0.75	>256	24	64	24	0.47
33	96	16	6	2	0.5	96	12	32	12	0.5
34	12	12	12	1	1.08	8	6	32	6	0.94
35	64	16	4	1.5	0.63	96	8	32	6	0.27

Table 3. Effect of fosfomycin-pretreatment followed by combined exposure of cefepime and ciprofloxacin, aztreonam and amikacin against MDRP

Strain no.	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				FIC index	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				FIC index
	Cefepime		Ciprofloxacin			Aztreonam		Amikacin		
	Alone	Combination	Alone	Combination		Alone	Combination	Alone	Combination	
1	64	32	16	3	0.69	24	8	32	6	0.52
4	>256	>256	>32	>32	2	>256	96	>256	24	0.63
9	>256	>256	>32	>32	2	128	32	>256	32	0.38
10	>256	>256	>32	>32	2	>256	32	>256	24	0.22
12	>256	>256	>32	>32	2	>256	32	>256	32	0.25
13	>256	>256	>32	>32	2	128	32	>256	32	0.38
16	96	12	4	0.75	0.31	>256	6	64	8	0.15
33	96	12	6	1	0.29	96	8	32	6	0.27
34	12	12	12	1	1.08	8	6	32	6	0.94
35	64	12	4	1	0.44	96	8	32	6	0.27

て不関となり、併用効果は全く認められなかった。AZT と AMK の併用では 10 株中相乗効果は 7 株 (7/10, 70%), 相加効果は 3 株 (3/10, 35.7%) に認められ、不関、拮抗を示すものはなかった。これら 10 株の併用時の MIC range は AZT 6~96 $\mu\text{g/ml}$, AMK 6~64 $\mu\text{g/ml}$ であった。

3. FOM 先行作用後の 2 薬剤併用効果

FOM 先行作用後の併用効果の結果を Table 3 に示す。CFPM と CPFX の併用では 10 株中相乗効果は 3 株 (3/10, 30%), 相加効果は 1 株 (1/10, 10%) で、4 株 (4/10, 40%) に併用効果が認められた。また、FOM 先行作用なしの結果と比較すると 10 株中 3 株にわずかな FIC index の低下が見られた。なお、メタロ- β -ラクタマーゼ産生株の 5 株はすべて、FOM 先行作用の効果は認められなかった。AZT と AMK の併用では 10 株中相乗効果は 7 株 (7/10, 70%), 相加効果は 3 株

(3/10, 30%) に認められた。これら 10 株の併用時の MIC range は AZT 6~96 $\mu\text{g/ml}$, AMK 6~32 $\mu\text{g/ml}$ であった。FOM 先行作用なしの結果と比較すると 10 株中 4 株にわずかな FIC index の低下が見られた。

考 察

MDRP は感染症法において 5 類感染症に指定されており、基幹定点病院では届出が必要となる感染症である。近年、多くの薬剤に耐性を示す MDRP が検出されるようになり、治療に難渋する感染症の増加が問題となっている。

山口ら¹³⁾は 2004 年全国の医療機関より収集した *P. aeruginosa* 306 株のうち、MDRP は 5 株 (1.6%) であったと報告している。今回、対象期間とした 2002 年 1 月から 2005 年 3 月までに当院で分離された *P. aeruginosa* は 1508 株のうち、MDRP は 35 株 (2.3%)

を占めていた。MDRP の分離率は全国サーベイランスと比較して大差は見られなかったものの、*P. aeruginosa* はさまざまな耐性機序を持つため、薬剤感受性成績には各施設によって大きな違いが認められている。岡の報告¹⁴⁾では、臨床検体から分離された MDRP 57 株はほとんどの抗菌薬に耐性を示し、なかでも CAZ が最も高度耐性を示していたとされている。また、この 57 株すべてがメタロ-β-ラクタマーゼ産生株であったことが確認されている。今回解析を行った結果、MDRP に対して最も高い感受性率を示したのは CAZ であり、35 株中 25 株 (71.4%) が CAZ に感受性を示していた。MDRP のメタロ-β-ラクタマーゼ産生率は 14.3% であり、すべての抗菌薬に高度耐性を示す株は少ないが、メタロ-β-ラクタマーゼ産生株が増加すればさらに薬剤耐性が広がることが考えられる。今後 MDRP においては、メタロ-β-ラクタマーゼ産生能を確認し、十分注意して動向を観察していくことが必要である。

さらに MDRP は院内感染の原因菌としても重要であり、当院での検出数は年々増加傾向にある。現在までに、MDRP によるアウトブレイクを 3 回経験しており、これはパルスフィールドゲル電気泳動の結果、同一遺伝子型を有する株であったことが確認されている。今後も MDRP の感染症が増加することが懸念されるため、自施設で検出される耐性菌の特徴を把握し、アウトブレイクの発生を抑制していくことが重要であると思われる。

また、MDRP は多くの抗菌薬に耐性を示すため、現在有効な抗菌薬はないといっても過言ではない。MDRP による敗血症など重症な感染症は、単独の抗菌薬投与では治療が困難であるため、併用療法が可能であるか *in vitro* で薬剤併用試験を行った。今回検討した結果、CFPM と CPFX の併用試験では 40% の菌株に併用効果が認められたが、残りの菌株のほとんどが CFPM、CPFEX ともに高度耐性の MIC 値を示しており、これらの高度耐性の組み合わせでは併用効果は認められないものと思われた。AZT と AMK の併用試験では、すべての株において相乗または相加効果が見られた。しかしながら、注射用硫酸アミカシン (萬有製薬) には、健常成人に AMK (200 mg 力価) を点滴静注した場合の最高血中濃度は、13.9~18.8 μg/ml であったと記載されており、10 株中 6 株は AMK の併用時の MIC 値が適正使用法におけるピーク値を超える値であった。AMK は血中濃度の安全域が狭く、腎障害や聴覚障害などの副作用を引き起こす恐れがあるため、血中濃度を高く維持することができな

い。よってこれらの株は、FIC index による判定では併用効果が認められたものの、臨床での治療効果は期待できないと思われた。一方で、10 株中 4 株は AMK の併用時の MIC 値も臨床で使用できる値を示しており、AZT と AMK の併用療法の効果が期待できた。

さらに、FOM が他の β-ラクタム系薬と異なる作用機序を示すことに注目し、FOM を先行作用させ薬剤併用試験を試みた。FOM は、併用する他の抗菌薬の菌体内取り込み量を増加させることが報告されており¹⁵⁾、*P. aeruginosa* に対して FOM 併用療法の有効性も多数報告^{16~18)}されている。FOM を先行作用させ併用試験を行った結果、高度耐性を示す抗菌薬の組み合わせでは、やはり FOM を先行作用させても効果が見られないことが示唆された。一部の株においては、FOM が高度耐性を示していても 2 剤併用時よりもわずかに MIC 値の低下が見られているため、有意な効果とは言えないが、FOM 先行作用の治療への可能性はわずかにあると思われた。

今回我々が行った 2 薬剤併用試験の検討によって、MDRP 感染症に対する併用療法の可能性が示唆された。しかし、*in vivo* における抗菌薬の有効性は *in vitro* とは異なり、薬物動態、副作用などを考慮しなければならない。現状では、メタロ-β-ラクタマーゼ産生性の MDRP については、多くの抗菌薬に対して高度耐性を示し、*in vivo* において今回検討した薬剤併用の有効性も期待できないと思われる。その一方で、MDRP に polymyxin B が有効であったとの報告¹⁹⁾もあり、メタロ-β-ラクタマーゼを産生する MDRP においても有効となる薬剤併用の検討が今後の課題である。

文 献

- 1) Tsuji, A., I. Kobayashi, T. Oguri, et al. 2005. An epidemiological study of the susceptibility and frequency of multiple-drug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated at medical institutes nationwide in Japan. *J. Infect. Chemother.* 11: 64-70.
- 2) Cao, B., H. Wang, H. Sun, et al. 2004. Risk factors and clinical outcomes of nosocomial multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. *J. Hosp. Infect.* 57: 112-118.
- 3) 衛藤弘寿, 本田順一, 吉無田太郎, 他. 2005. 同一病棟内における多剤耐性緑膿菌アウトブレイクでの Pulse Field Gel Electrophoresis (PFGE) の検討. 第 79 回日本感染症学会総会, 名古屋.
- 4) 前崎繁文, 山口敏行, 橋北義一, 他. 2006. 臨床分離薬剤耐性緑膿菌における各種抗菌薬の併用効果の検討. *Jpn. J. Antibiot.* 59: 11-19.
- 5) 斧 康雄, 川上小夜子, 宮澤幸久. 2004. 薬剤耐

- 性菌の病原性と抑制策・治療策 6 多剤耐性緑膿菌 (MDRP) 感染と抗菌薬 7: 189-195.
- 6) Burgess, D. S., S. Nathisuwan. 2002. Cefepime, piperacillin/tazobactam, gentamicin, ciprofloxacin, and levofloxacin alone and in combination against *Pseudomonas aeruginosa*. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 44: 35-41.
 - 7) Drago, L., E. D. Vecchi, L. Nicola, et al. 2005. In vitro selection of resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. by levofloxacin and ciprofloxacin alone and in combination with β -lactams and amikacin. *J. Antimicrob. Chemother.* 56: 353-359.
 - 8) Oie, S., A. Sawa, A. Kamiya, et al. 1999. *In-vitro* effects of combination of antipseudomonal antibiotics against multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Antimicrob. Chemother.* 44: 689-691.
 - 9) 井上松久, 中野竜一, 保坂美生, 他. 2002. 臨床分離菌における β -lactamase の識別. *Jpn. J. Antibiot.* 55: 29-41.
 - 10) Arakawa, Y., N. Shibata, K. Shibayama, et al. 2000. Convenient test for screening metallo- β -lactamase-producing gram-negative bacteria by using thiol compounds. *J. Clin. Microbiol.* 38: 40-43.
 - 11) Lewis, R. E., D. J. Diekema, S. A. Messer, et al. 2002. Comparison of Etest, checkerboard dilution and time-kill studies for the detection of synergy or antagonism between antifungal agents tested against *Candida* species. *J. Antimicrob. Chemother.* 49: 345-351.
 - 12) Manno, G., E. Ugolotti, M. L. Belli, et al. 2003. Use of the E test to assess synergy of antibiotic combinations against isolates of *Burkholderia cepacia*-complex from patients with cystic fibrosis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 22: 28-34.
 - 13) 山口恵三, 石井良和, 岩田守弘, 他. 2004. Mero-penem を含む各種注射用抗菌薬に対する 2004 年臨床分離株の感受性サーベイランス. *Jpn. J. Antibiot.* 58: 655-689.
 - 14) 岡 陽子. 2005. 多剤耐性緑膿菌に対する抗菌薬の併用効果. *日本化学療法学会雑誌* 53: 476-481.
 - 15) 川畑敏枝, 蔵園瑞代, 新井田昌志, 他. 1998. NaIB 型排出蛋白質を持つ緑膿菌に対する FOM と β -ラクタム薬の併用効果. *日本化学療法学会雑誌* 46: 17-22.
 - 16) 多田敦彦, 河原伸, 高橋清. 1999. 喀痰分離緑膿菌に対する fosfomicin と抗緑膿菌薬との併用効果. *日本化学療法学会雑誌* 47: 185-189.
 - 17) 三國谷雄, 加藤佳久, 門田晃一, 他. 2004. 尿路感染症由来緑膿菌のバイオフィルムに対するフルオロキノロン系薬とホスホマイシンの併用効果. *BACTERIAL ADHERENCE & BIOFILM* 17: 57-62.
 - 18) Suzuki, K., N. Asano, K. Araki, et al. 2002. Effectiveness of fosfomicin combined with other antimicrobial agents multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates using efficacy time index assay. *J. Infect. Chemother.* 8: 37-42.
 - 19) Sobieszczyk, M. E., E. Y. Furuya, C. M. Hay, et al. 2004. Combination therapy with polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant Gram-negative respiratory tract infections. *J. Antimicrob. Chemother.* 54: 566-569.

Combined Effects of Antibacterial Agents against Multi-drug Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Detected in Kurume University Hospital

Nao Fukushima, Chiyoko Tanamachi, Kouji Hashimoto, Rie Horita,
Kazunori Nakata, Kimitaka Sagawa

Department of Laboratory Medicine, Kurume University Hospital,
Asahimachi 67, Kurume, Fukuoka 830-0011, Japan

Thirty-five strains of MDRP (Multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*) identified with Micro Scan Walk Away96 (DADE BEHRING) were isolated, from January 2002 to march 2005 in Kurume University Hospital. Antimicrobial susceptibilities of these strains were re-examined using Etest for various antimicrobial agents. The most effective agent against the strains was ceftazidime (CAZ) (susceptible; 25 strains (71.4%) and resistant; 10 strains (28.6%)). Because these 10 strains did not show susceptibility with any antimicrobial agents, we examined combined effects of antimicrobial agents against these strains by Etest. A combination of cefepime and ciprofloxacin was effective on 4 strains (40%; 1 for synergistic effect, 3 for additive effect) and that of aztreonam (AZT) and amikacin (AMK) was effective to all 10 strains (100%; 7 for synergistic effect, 3 for additive effect). However, five of these 10 strains, produced metallo- β -lactamase,

showed high MIC to AMK (32–64 $\mu\text{g}/\text{ml}$) even in the combination test. Four of the 5 remained strains which did not produce metallo- β -lactamase showed good susceptibilities to the combination of AZT and AMK. These results suggest that although it is difficult to obtain the significant effect against MDRP producing metallo- β -lactamase, the combination of agents is clinically useful for the infectious diseases due to non metallo- β -lactamase producing MDRP. Further studies are needed to find a new effective combination of antimicrobial agents to MDRP-infectious.