

臨床分離薬剤耐性緑膿菌に対する抗菌薬 *in vitro* 併用効果 ～colistin, arbekacin, aztreonam, rifampicin, piperacillin の 2 剤組合せを用いた比較検討～

長岡里枝¹⁾・猪川和朗²⁾・小野寺 一¹⁾・木場由美子¹⁾・原 稔典¹⁾・
城市由美子¹⁾・横崎典哉³⁾・大毛宏喜⁴⁾・森川則文²⁾

¹⁾ 広島大学病院診療支援部

²⁾ 広島大学大学院医歯薬保健学研究院

³⁾ 広島大学病院検査部

⁴⁾ 広島大学病院感染症科

(2014年3月6日受付)

本研究では、薬剤耐性緑膿菌 (multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: MDRP) に対する抗菌薬の *in vitro* 併用効果を検討した。広島大学病院において臨床検体から分離された緑膿菌でMDRPの基準に該当した株、すなわち抗菌薬の minimum inhibitory concentration (MIC) が meropenem $\geq 16 \mu\text{g/mL}$, ciprofloxacin $\geq 4 \mu\text{g/mL}$, amikacin $\geq 32 \mu\text{g/mL}$ のすべてを満たした40株を対象とした。

次の8通りの抗菌薬組合せについて、独自のチェッカーボードプレートを作成し、それぞれの併用効果について検討した: colistin (CL)+arbekacin (ABK), CL+aztreonam (AZT), CL+rifampicin (RFP), RFP+ABK, RFP+AZT, ABK+AZT, piperacillin (PIPC)+ABK, PIPC+AZT。算出した fractional inhibitory concentration index により併用効果 (相乗作用, 相加作用, 不関, 拮抗作用) を判定した。最も大きな併用効果が認められたのは, i) CL+RFP (相乗作用: 80.0%, 相加作用: 17.5%), ii) RFP+ABK (相乗作用: 7.5%, 相加作用: 70.0%), iii) RFP+AZT (相乗作用: 5.0%, 相加作用: 77.5%) であった。これらの組合せにおける各抗菌薬の算術平均MIC値はそれぞれ, i) CL (単剤: $1.38 \mu\text{g/mL}$, 併用: $0.26 \mu\text{g/mL}$), RFP (単剤: $19.85 \mu\text{g/mL}$, 併用: $1.85 \mu\text{g/mL}$), ii) RFP (単剤: $19.85 \mu\text{g/mL}$, 併用: $7.53 \mu\text{g/mL}$), ABK (単剤: $8.87 \mu\text{g/mL}$, 併用: $2.79 \mu\text{g/mL}$), iii) RFP (単剤: $19.85 \mu\text{g/mL}$, 併用: $10.15 \mu\text{g/mL}$), AZT (単剤: $28.3 \mu\text{g/mL}$, 併用: $6.65 \mu\text{g/mL}$), と有意に低下した。対象40株のうち, メタロ- β -ラクタマーゼ産生は20株, アミノグリコシド6'-N-アセチル基転移酵素検出は37株にそれぞれ認められたが, これらの耐性因子がi~iii)の併用効果に及ぼす有意な影響は認められなかった。

以上の結果より, MDRPに対しては, RFPにCL, ABKまたはAZTを併用投与することの有用性が *in vitro* において示された。ただし今後も, 他の組合せについて *in vitro* 併用効果データを集積し比較検討することが重要と考えられた。

薬剤耐性緑膿菌 (multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: MDRP) は、感染症法上、広域 β -ラクタム系、アミノ配糖体系、フルオロキノロン系の3系統の薬剤に対して耐性を示す緑膿菌であり、検査室での判断基準は、MIC値が imipenem $\geq 16 \mu\text{g/mL}$, ciprofloxacin $\geq 4 \mu\text{g/mL}$, amikacin $\geq 32 \mu\text{g/mL}$ のすべてを満たす場合とされる。Imipenem 以外のカルバペネム系薬剤, ciprofloxacin 以外のフルオロキノロン系薬剤で耐性の結果が得られた場合にも MDRP の基準を満たすものとされる (<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekakukansenshou11/01-05-42-01.html>)¹⁾。MDRP による感染症は五類感染症に指定され、届け出が必要であり、重要な耐性菌の一つとなっている。健康成人で感染症を発症することは少ないが、免疫不全患者や重篤な基礎疾患を有する患者では、敗血症などの重症感染症を発症するおそれがあり、患者の予後を左右するため、適切な治療が求められる。抗菌療法としては、現在日本で承認されている抗菌薬では単剤投与で効果が期待できない場合もあり、抗菌薬の併用効果が期待されている。

抗菌薬の併用効果の検査方法には、checkerboard 法^{2,3)}、spectrophotometer 法、殺菌曲線法、ディスク拡散法、E-test 配置組換え法などがある。TATEDA ら⁴⁾ が考案した break-point checkerboard (BC) 法にもとづく BC プレート ‘栄研’ は、1枚のプレートで複数の抗菌薬の組合せによる併用効果が判定でき、スクリーニング法として有用であると報告されている⁵⁾。

しかし、MDRP に対する抗菌薬の *in vitro* 併用効果は詳細に検討されていない。そこで本研究では、独自のチェッカーボードプレートを作成し、2剤の組合せについて比較検討した。

材料と方法

1. 対象

2004年から2010年までに、広島大学病院で臨床検体から分離された緑膿菌のうち、薬剤感受性試験によって MDRP と判定された40株を対象とした。MDRP の判定は感染症法における MDRP の基準に従い、MIC が meropenem $\geq 16 \mu\text{g/mL}$, ciprofloxacin $\geq 4 \mu\text{g/mL}$, amikacin $\geq 32 \mu\text{g/mL}$ のすべてを満たす緑膿菌とした。なお、同一患者由来の菌株は初回分離株のみ採用し、表現型の特徴から判断して同じ起源と考えられる菌株は除外した。

2. 薬剤感受性試験

Colistin (CL), arbekacin (ABK), aztreonam (AZT), rifampicin (RFP), piperacillin (PIPC) の組合せについて独自の薬剤併用感受性チェッカーボードプレートを作成し、Clinical Laboratory and Standards Institute に準じた微量液体希釈法にて MIC を測定した⁶⁾。培養は 35°C 、20時間とし、接種菌量は $5 \times 10^4 \text{CFU}$ で行った。検討した8通りの組合せとその希釈系列は次のとおりであった。CL (0.25~8 $\mu\text{g/mL}$) + ABK (2~32 $\mu\text{g/mL}$)、CL (0.25~8 $\mu\text{g/mL}$) + AZT (2~32 $\mu\text{g/mL}$)、CL (0.25~8 $\mu\text{g/mL}$) + RFP (1~16 $\mu\text{g/mL}$)、RFP (1~16 $\mu\text{g/mL}$) + ABK (1~4 $\mu\text{g/mL}$)、RFP (1~16 $\mu\text{g/mL}$) + AZT (0.5~16 $\mu\text{g/mL}$)、ABK (1~4 $\mu\text{g/mL}$) + AZT (1~16 $\mu\text{g/mL}$)、PIPC (1~4 $\mu\text{g/mL}$) + ABK (1~4 $\mu\text{g/mL}$)、PIPC (1~4 $\mu\text{g/mL}$) + AZT (1~16 $\mu\text{g/mL}$)。

3. 併用効果の判定

測定した MIC を用いて、fractional inhibitory concentration (FIC) index を算出し⁷⁾、得られた FIC index の最小値を FIC index として採用した。 ≤ 0.5 を相乗作用、 $0.5 < \sim \leq 1.0$ を相加作用、 $1.0 < \sim \leq 2$ を不関、 > 2 を拮抗作用とした。さらに、

相乗作用+相加作用を「併用効果あり」と判定した。

$$\text{FIC index} = \frac{\text{併用投与でのMIC}}{\text{単剤投与でのMIC}} + \frac{\text{併用投与でのMIC}}{\text{単剤投与でのMIC}}$$

4. メタロ-β-ラクタマーゼ産生および耐性遺伝子の検出

メタロ-β-ラクタマーゼ産生は、ディスク拡散法(SMA, 栄研化学株式会社)を用いたスクリーニングにより検出した。耐性因子に関しては、KITAOらの方法⁸⁾と同様に免疫イムノクロマト法により、クイックチェイサー Iae・IMP-1 (株式会社ミズホメディ)を用いて、IMP型メタロ-β-ラクタマーゼ、アミノグリコシド6'-N-アセチル基転移酵素(AAC(6')-Iae)を検出した。*bla*_{VIM-2}遺伝子については、SHIBATAらの方法⁹⁾と同様に polymerase chain reaction法を用いて検出した。

5. 統計処理

統計ソフトウェアStatFlex Ver. 6 (株式会社アーテック)を用いて、有意差検定(Mann-Whitney)を行った。有意水準は5%とした。

結果

1. MDRPが分離された患者の背景

対象菌株である40株のうち、性別(男性:女性)は31:9、算術平均年齢は66.0歳(4~81歳)であった。入院・外来別では、入院では38株、外来では2株であり、入院が95.0%を占めた。臨床材料は、尿17株(42.5%)、便7株(17.5%)、痰6株(15.0%)、血液3株(7.5%)、膿2株(5.0%)、胆汁2株(5.0%)、その他3株(7.5%)であった。

2. 薬剤耐性緑膿菌40株における各種抗菌薬の薬剤感受性

CL, ABK, AZT, RFP, PIPCの単剤投与および併

用投与におけるMIC値をTable 1に示す。各抗菌薬の併用投与における算術平均MIC値は、ほとんどの組合せで、単剤投与よりも有意に低下した。特に、CL+RFPでCL(単剤:1.38μg/mL, 併用:0.26μg/mL), RFP(単剤:19.85μg/mL, 併用:1.85μg/mL), RFP+ABKでRFP(単剤:19.85μg/mL, 併用:7.53μg/mL), ABK(単剤:8.87μg/mL, 併用:2.79μg/mL), RFP+AZTではRFP(単剤:19.85μg/mL, 併用:10.15μg/mL), AZT(単剤:28.3μg/mL, 併用:6.65μg/mL)へと大きく低下した。

しかし、PIPC併用投与におけるABKおよびAZTの算術平均MIC値、ABK併用投与およびAZT併用投与におけるPIPCの算術平均MIC値は、低下傾向を示したものの有意ではなかった。

3. 各種抗菌薬の併用効果

FIC indexを指標とした併用効果をTable 2に示す。最も大きい相乗作用+相加作用が認められたのは、CL+RFP(80.0%+17.5%), RFP+ABK(7.5%+70.0%), RFP+AZT(5.0%+77.5%)の組合せであった。

4. メタロ-β-ラクタマーゼ産生および耐性遺伝子の検出

対象40株のうちメタロ-β-ラクタマーゼ産生株は20株(50%)で、そのうちIMP型は17株、*bla*_{VIM-2}保有は3株であった。AAC(6')-Iae検出は、40株中37株(92.5%)に認められた。

Table 3に示すとおり、メタロ-β-ラクタマーゼ産生株とメタロ-β-ラクタマーゼ非産生株で各抗菌薬のMIC値を比較した結果、両群間に有意な違いは認められなかった。β-ラクタム系薬のAZTはメタロ-β-ラクタマーゼ産生株においても低い算術平均MIC値を示し、併用効果が比較的高い傾向にあった。また、AAC(6')-Iae検出の有無で、アミノ配糖体系薬剤ABKをはじめ各抗菌薬のMIC

Table 1. Minimum inhibitory concentration (MIC) values for combinations of colistin (CL), arbekacin (ABK), aztreonam (AZT), rifampicin (RFP) and piperacillin (PIPC) against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates (n=40)

Drug			MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)		Statistical significance versus control
			Range	Arithmetic mean \pm standard deviation	
CL	Single	CL	0.5~4	1.38 \pm 0.71	(Control)
	Double	CL+ABK	0.12~1	0.32 \pm 0.29	P < 0.05
	Double	CL+AZT	0.12~1	0.44 \pm 0.35	P < 0.05
	Double	CL+RFP	0.12~0.5	0.26 \pm 0.13	P < 0.05
ABK	Single	ABK	1~16	8.87 \pm 4.67	(Control)
	Double	ABK+CL	2~16	5.6 \pm 2.87	P < 0.05
	Double	ABK+AZT	1~8	4.6 \pm 3.2	P < 0.05
	Double	ABK+RFP	1~4	2.79 \pm 1.30	P < 0.05
	Double	ABK+PIPC	4~8	7.9 \pm 0.6	No significance
AZT	Single	AZT	4~64	28.3 \pm 13.8	(Control)
	Double	AZT+CL	2~64	17.4 \pm 16.6	P < 0.05
	Double	AZT+ABK	1~32	20.8 \pm 10.7	P < 0.05
	Double	AZT+RFP	0.25~16	6.65 \pm 6.44	P < 0.05
	Double	AZT+PIPC	2~32	27.5 \pm 9.2	No significance
RFP	Single	RFP	2~32	19.85 \pm 8.57	(Control)
	Double	RFP+CL	1~16	1.85 \pm 2.44	P < 0.05
	Double	RFP+ABK	0~32	7.53 \pm 9.77	P < 0.05
	Double	RFP+AZT	1~32	10.15 \pm 7.24	P < 0.05
PIPC	Single	PIPC	8	8	(Control)
	Double	PIPC+ABK	1~8	7.8 \pm 1.1	No significance
	Double	PIPC+AZT	1~8	6.7 \pm 2.5	No significance

値を比較した結果、両群間に有意な違いは認められなかった。

考察

MDRPによる感染症の治療法に関して、CLは国

内承認されておらず、既存の抗菌薬での治療に制限されている。単剤での治療は難しく、併用療法による治療が求められている。現在までに国内では、MDRPに対する2剤の併用効果が *in vitro*^{2~5,7,10,11)} や臨床^{12~15)} でも有用であると多く報告されている。さらに耐性化が高度になってきている昨今、

Table 2. Effects of double antibacterial drugs based on fractional inhibitory concentration (FIC) values for combinations of colistin (CL), arbekacin (ABK), aztreonam (AZT), rifampicin (RFP) and piperacillin (PIPC) against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates (n=40)

Drug combination	FIC index		Number in each FIC effect category				
	Range	Arithmetic mean	Synergy	Additive	Synergy+additive	Indifference	Antagonism
CL+ABK	0.56 ~ 2.24	1	0 (0%)	24 (60.0%)	24 (60.0%)	13 (32.5%)	3 (7.5%)
CL+AZT	0.5~1.5	0.9	2 (5.0%)	25 (62.5%)	27 (67.5%)	13 (32.5%)	0 (0%)
CL+RFP	0.13 ~ 1.24	0.4	32 (80.0%)	7 (17.5%)	39 (97.5%)	1 (2.5%)	0 (0%)
RFP+ABK	0.31 ~ 2.12	0.8	3 (7.5%)	28 (70.0%)	31 (77.5%)	8 (20.0%)	1 (2.5%)
RFP+AZT	0.38 ~ 1.01	0.8	2 (5.0%)	31 (77.5%)	33 (82.5%)	7 (17.5%)	0 (0%)
ABK+AZT	0.4~2.0	1.3	3 (7.5%)	18 (45.0%)	21 (52.5%)	19 (47.5%)	0 (0%)
PIPC+ABK	0.6~2.0	2	0 (0%)	1 (2.5%)	1 (2.5%)	39 (97.5%)	0 (0%)
PIPC+AZT	0.6~2.0	1.8	0 (0%)	6(15.0%)	6(15.0%)	34(85.0%)	0 (0%)

Synergy, FIC index ≤ 0.5 ; additive, $0.5 < \text{FIC index} \leq 1.0$; indifference, $1.0 < \text{FIC index} \leq 2.0$; antagonism, $2.0 < \text{FIC index}$

抗菌薬の併用療法は今まで以上に考慮すべき方法だと考えられる。また、単剤で有効であるとされるCLが使用可能であっても併用療法を検討すべき場合がある。すなわち、CLを用いても無効な例は存在するため、重症感染例では特に併用による治療を考慮する必要がある。さらに、近年、CLに対する耐性菌の出現も問題となっており、CL耐性株を誘導しないための併用療法が推奨されている¹⁶⁾。

本研究における結果、最も大きい *in vitro* 併用効果を示したのはCL+RFPであった (Table 2)。西尾らの報告でも、高度の相乗作用を認めた抗菌薬の組合せはCLとRFPで、同様な成績であった⁵⁾。Aokiらは、肺炎マウスモデルでの *in vivo* 併用療法においてもCL+RFPに効果を認めたと報告している¹⁷⁾。さらに併用効果だけでなく、炎症性サイトカインの産生およびリポ多糖体活性の減少

が認められており、CLが重篤なMDRPによる感染症に対する併用療法のための有用な選択肢であることを示唆している。また、今回の結果、CL以外ではRFP+AZT、RFP+ABKが特に、相乗作用+相加作用が高かった。これらのRFPを用いた組合せは、MDRPによる感染症に対する治療法の候補と考えられ、その併用効果や有用性について今後検討していくことが重要と考えられる。

メタロ- β -ラクタマーゼ産生の有無による各抗菌薬MIC値の比較結果 (Table 3) に関して、 β -ラクタム系薬のAZTはメタロ- β -ラクタマーゼ産生株において算術平均MIC値20.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を示し、他の薬剤と併用した際でも相加作用が比較的強い傾向にあった。これまでの報告でもメタロ- β -ラクタマーゼ産生株においてAZTで併用効果が認められており、同様の結果となっている^{2,10)}。これはAZTがメタロ- β -ラクタマーゼに対して比較的安

Table 3. Minimum inhibitory concentration (MIC) values for combinations of colistin (CL), arbekacin (ABK), aztreonam (AZT), rifampicin (RFP) and piperacillin (PIPC) against metallo-beta-lactamase-producing (n=20) and non-metallo-beta-lactamase-producing (n=20) multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates

Drug			MIC ($\mu\text{g/mL}$)	
			Metallo-beta-lactamase isolates (Arithmetic mean \pm standard deviation)	Non-metallo-beta-lactamase isolates (Arithmetic mean \pm standard deviation)
CL	Single	CL	1.02 \pm 0.43	1.73 \pm 0.73
	Double	CL+ABK	0.25 \pm 0.18	0.4 \pm 0.39
	Double	CL+AZT	0.43 \pm 0.92	0.41 \pm 0.52
	Double	CL+RFP	0.24 \pm 0.12	0.27 \pm 0.14
ABK	Single	ABK	10.3 \pm 5.23	7.45 \pm 3.63
	Double	ABK+CL	6.8 \pm 3.13	4.4 \pm 2.01
	Double	ABK+AZT	2.4 \pm 2.2	6.1 \pm 2.8
	Double	ABK+RFP	2.55 \pm 1.27	3.0 \pm 1.30
	Double	ABK+PIPC	7.8 \pm 0.9	7.5 \pm 1.6
AZT	Single	AZT	20.6 \pm 10.4	36.0 \pm 12.58
	Double	AZT+CL	10.6 \pm 7.42	24.2 \pm 20.4
	Double	AZT+ABK	15.1 \pm 7.9	24.2 \pm 11.4
	Double	AZT+RFP	5.62 \pm 5.45	7.29 \pm 7.68
	Double	AZT+PIPC	22.9 \pm 11.1	29.0 \pm 8.0
RFP	Single	RFP	12.8 \pm 7.87	21.6 \pm 10.0
	Double	RFP+CL	1.4 \pm 0.75	2.3 \pm 3.35
	Double	RFP+ABK	7.35 \pm 8.18	8.15 \pm 11.28
	Double	RFP+AZT	7.1 \pm 5.87	13.2 \pm 7.31
PIPC	Single	PIPC	8	8
	Double	PIPC+ABK	7.7 \pm 1.6	7.7 \pm 1.2
	Double	PIPC+AZT	5.7 \pm 2.8	7.3 \pm 2.0

定していることが原因として考えられる。メタロ- β -ラクタマーゼ産生株20株のうち、IMP型は17株、*bla*_{VIM-2} 遺伝子は3株でそれぞれ検出されたが、有意な傾向を見いだすことはできなかった。

た。AAC(6)-Iae 検出についても40株中37株(92.5%)に認められたが、アミノ配糖体系薬剤 ABKをはじめ各抗菌薬において、有意な傾向を見いだすことはできなかった。これは、AAC

(6′)-Iae 検出の有無の割合が偏ったことも原因であるため、今後の課題と考えられた。

以上、本研究ではMDRPに対する抗菌薬 *in vitro* 併用効果を CL, ABK, AZT, RFP, PIPC の2剤を用いて比較した。その結果、CL+RFP, RFP+ABK, RFP+AZT, が大きい相乗作用+相加作用を示したことから、MDRPに対しては、RFPにCL, ABK または AZT を併用投与することの有用性が *in vitro* において示された。ただし今後、他の組合せについても、地域・施設の間での薬剤感受性の違いを含めて、*in vitro* 併用効果データを集積して比較検討することが重要と考えられた。

利益相反自己申告：利益相反はない。

文献

- 1) 厚生労働省：感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律第12条第1項及び第14条第2項に基づく届出の基準等の一部改正について。平成23年1月14日健感発第114001号, 2011
- 2) 岡 陽子：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53：476～482, 2005
- 3) 前崎繁文, 山口敏行, 橋北義一, 他：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. Antibiotics 59: 11～20, 2006
- 4) TATEDA, K.; Y. ISHII, T. MATSUMOTO, *et al.*: 'Break-point Checkerboard Plate' for screening of appropriate antibiotic combinations against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Scand. J. Infect. Dis. 38: 268～272, 2006
- 5) 西尾久明, 小松 方, 末吉範行, 他：多剤耐性 *Pseudomonas aeruginosa* に対する併用薬スクリーニングのためのブレイクポイント・チェッカーボード法の有用性。日本化学療法学会雑誌59: 29～33, 2011
- 6) Clinical Laboratory and Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; nineteenth informational supplement. M100-S19, 2009
- 7) YAJKO, D. M.; J. KIRIHARA, C. SANDERS, *et al.*: Antimicrobial synergism against *Mycobacterium avium* complex strains isolated from patients with acquired immune deficiency syndrome. Antimicrob. Agents Chemother. 32: 1392～1395, 1988
- 8) KITAO, T.; T. TADA, M. TANAKA, *et al.*: Emergence of a novel multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain producing IMP-type metallo-β-lactamases and AAC(6′)-Iae in Japan. Int. J. Antimicrob. Agents 39: 518～521, 2012
- 9) SHIBATA, N.; Y. DOI, K. YAMANE, *et al.*: PCR typing of genetic determinants for metallo-beta-lactamases and integrases carried by Gram-negative bacteria isolated in Japan, with focus on the class 3 integron. J. Clin. Microbiol. 41: 5407～5413, 2003
- 10) 宮本仁志, 村上 忍, 村瀬光春, 他：多剤耐性緑膿菌の検出状況と併用効果。日本臨床微生物学雑誌19: 157～162, 2009
- 11) 福島奈央, 棚町千代子, 橋本好司, 他：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。日本臨床微生物学雑誌16: 127～133, 2006
- 12) 荒岡秀樹, 馬場 勝, 米山彰子：Checkerboard plateを用いた多剤耐性緑膿菌に対するaztreonamとアミノグリコシド系抗菌薬の併用効果の検討。感染症学雑誌83: 133～135, 2009
- 13) 荒岡秀樹, 馬場 勝, 辰島啓太, 他：好中球減少患者の多剤耐性緑膿菌敗血症に対し薬剤併用療法が奏功した1例。感染症学雑誌82: 466～470, 2008
- 14) 樽本憲人, 阿部良伸, 山口敏行, 他：多剤耐性緑膿菌による尿路感染症にAztreonamとArbekacinの併用療法が奏功した一例。日本環境感染学会誌24：279～282, 2009
- 15) 河添 仁, 滝口祥令, 井上達也, 他：同種造血幹細胞移植患者における多剤耐性緑膿菌による感染症治療。薬学雑誌128: 657～661, 2008
- 16) コリスチンの適正使用に関する指針作成委員会：コリスチンの適正使用に関する指針。日本化学療法学会雑誌60: 446～468, 2012
- 17) AOKI, N.; K. TATEDA, Y. KIKUCHI, *et al.*: Efficacy of colistin combination therapy in a mouse model of pneumonia caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. J. Antimicrob. Chemother. 63: 534～542, 2009

In vitro combined effects of double antibacterial drugs against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates: comparison among combinations of colistin, arbekacin, aztreonam, rifampicin and piperacillin

RIE NAGAOKA¹⁾, KAZURO IKAWA²⁾, MAKOTO ONODERA¹⁾, YUMIKO KOKA¹⁾,
TOSHINORI HARA¹⁾, YUMIKO JOICHI¹⁾, MICHIIYA YOKOZAKI³⁾,
HIROKI OHGE⁴⁾ and NORIFUMI MORIKAWA²⁾

¹⁾ Department of Clinical Support, Hiroshima University Hospital

²⁾ Department of Clinical Pharmacotherapy, Hiroshima University

³⁾ Division of Clinical Laboratory Medicine, Hiroshima University Hospital

⁴⁾ Department of Infectious Diseases, Hiroshima University Hospital

This *in vitro* study examined the combined effects of double antibacterial drugs against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* (MDRP). The tested clinical isolates from Hiroshima University Hospital were 40 strains which met the criteria for MDRP, that is, the minimum inhibitory concentration (MIC) was $\geq 16 \mu\text{g/mL}$ of meropenem, $\geq 4 \mu\text{g/mL}$ of ciprofloxacin and $\geq 32 \mu\text{g/mL}$ of amikacin. Using the original checkerboard plates for colistin (CL), arbekacin (ABK), aztreonam (AZT), rifampicin (RFP) and piperacillin (PIPC), MIC values were determined for single and double combinations. Based on the MIC values, fractional inhibitory concentration index values were calculated and the combined effects (synergy action or additive action) were evaluated. The three strongest drugs among the tested combinations were i) CL+RFP (synergy, 80.0%; additive, 17.5%), ii) RFP+ABK (synergy, 7.5%; additive, 70.0%) and iii) RFP+AZT (synergy, 5.0%; additive, 77.5%). In these cases, the arithmetic mean MIC value of each drug significantly decreased as follows: i) $1.38 \mu\text{g/mL}$ (alone) and $0.26 \mu\text{g/mL}$ (with RFP) for CL, $19.85 \mu\text{g/mL}$ (alone) and $1.85 \mu\text{g/mL}$ (with CL) for RFP; ii) $19.85 \mu\text{g/mL}$ (alone) and $7.53 \mu\text{g/mL}$ (with ABK) for RFP, $8.87 \mu\text{g/mL}$ (alone) and $2.79 \mu\text{g/mL}$ (with RFP) for ABK; iii) $19.85 \mu\text{g/mL}$ (alone) and $10.15 \mu\text{g/mL}$ (with AZT) for RFP, $28.3 \mu\text{g/mL}$ (alone) and $6.65 \mu\text{g/mL}$ (with RFP) for AZT. Of 40 strains, metallo-beta-lactamase and aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase were found in 20 and 37 strains, respectively; however, no significant influence of these factors was observed on the combined effects of i) , ii) and iii) . The results of this study provide an *in vitro* rationale for RFP plus CL, ABK or AZT as an effective combination therapy for MDRP infections, although the results should be verified and compared with other antibacterial drugs in further studies.