

【原著・基礎】

Tosufloxacin の *in vitro* 抗 *Legionella pneumophila* 活性および モルモット実験的肺炎に対する治療効果

杉浦 陽子¹⁾・山田 博司¹⁾・高畑 正裕¹⁾・南 新三郎¹⁾・舘田 一博²⁾・山口 恵三²⁾

¹⁾富山化学工業株式会社総合研究所*

²⁾東邦大学医学部微生物学教室

(平成 14 年 1 月 8 日受付・平成 14 年 3 月 7 日受理)

Legionella pneumophila に対する tosylfloxacin (TFLX) の *in vitro* および *in vivo* 抗菌活性を検討した。臨床分離 *L. pneumophila* (21 株) に対する TFLX の MIC range は 0.002~0.0078 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で、MIC₅₀ および MIC₉₀ 値はいずれも 0.0039 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり、MIC₉₀ 値は rifampicin (RFP) の 16 倍、sparfloxacin (SPFX), gatifloxacin (GFLX) および clarithromycin (CAM) と同値で、levofloxacin (LVFX), ciprofloxacin (CPFX), moxifloxacin, azithromycin (AZM) および erythromycin (EM) の 1/4~1/64 であった。また、*in vitro* 感染によりモルモット肺胞マクロファージ内に存在する *L. pneumophila* ATCC 33152 に対し、AZM および RFP は 64 MIC でも明確な殺菌作用を示さなかったが、TFLX は 16 MIC で殺菌作用を示した。*L. pneumophila* ATCC 33152 により惹起したモルモット実験的肺炎モデルにおいて、TFLX では 1.25 mg/kg および 2.5 mg/kg 経口投与群のいずれも死亡例は見られなかったが、AZM の 1.25 mg/kg および 2.5 mg/kg 経口投与群でそれぞれ 80% および 20%、また、RFP の 1.25 mg/kg 経口投与群で 20% のモルモットが死亡した。また、TFLX 経口投与群の肺内生菌数は無治療群より有意 ($p < 0.05$) に少なかった。なお、*L. pneumophila* 感染モルモットにおける TFLX の肺内濃度曲線下面積 (AUC) は RFP と同程度で、AZM より小さかった。

Key words: *Legionella pneumophila*, tosylfloxacin, モルモット実験的肺炎, 抗菌活性, 治療効果

Legionella pneumophila は、肺炎などの呼吸器系疾患を中心とするレジオネラ症の起炎菌である¹⁾。レジオネラ肺炎は欧米における市中肺炎の 2.0~16.2% を占めると推定されており²⁾、本邦においても潜在的に多数の患者が存在すると考えられている³⁾。

L. pneumophila に対してはキノロン系抗菌薬やマクロライド系抗菌薬および rifampicin (RFP) が強い抗菌活性を示し、臨床で使用されている¹⁾。キノロン系抗菌薬の tosylfloxacin (TFLX) も *in vitro* において、*L. pneumophila* に対して優れた抗菌活性を有しているが⁴⁾、実験的 *L. pneumophila* 肺炎に対する治療効果についてはこれまで報告がない。今回、新たに TFLX の臨床分離株に対する抗 *Legionella* 活性を検討すると同時に、実験的肺炎に対する治療効果を、本邦でレジオネラ肺炎に臨床適応を有するマクロライド系抗菌薬の azithromycin (AZM) および重症患者に併用使用される RFP と比較したので報告する。

I. 材料と方法

1. 試験菌株

抗菌活性の測定には東邦大学医学部微生物学教室より分与された臨床分離 *Legionella pneumophila* 21 株を用いた。また、モルモット肺胞マクロファージ内 *L. pneumophila* に対する抗菌薬の殺菌性および実験的肺

炎の検討には *L. pneumophila* ATCC 33152 を使用した。

2. 使用薬剤

Tosylfloxacin (TFLX), tosylfloxacin free base, gatifloxacin (GFLX) および moxifloxacin は富山化学工業株式会社合成品を用いた。Levofloxacin (LVFX; 第一製薬), ciprofloxacin (CPFX; バイエル薬品), clarithromycin (CAM; ダイナボット), sparfloxacin (SPFX; 大日本製薬) および azithromycin (AZM; ファイザー製薬) は富山化学工業株式会社において市販錠剤から抽出したものを使用した。Erythromycin (EM; Sigma) および rifampicin (RFP; Sigma) は市販品を用いた。なお、抗菌活性測定およびモルモット肺胞マクロファージ内 *L. pneumophila* に対する各薬剤の殺菌性には TFLX free base を、モルモット実験的肺炎に対する各薬剤の治療効果および体内動態には TFLX を使用した。

3. 使用動物

Hartley 系雄性モルモット [4 週齢; 日本エスエルシー (株)] を使用した。

4. 臨床分離株に対する抗菌活性

猿渡らの方法にもとづき微量液体希釈法で最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した^{5,6)}。レジオネラ寒天平板上

にて35℃, 3日間増菌培養した *L. pneumophila* を滅菌生理食塩液に懸濁して $OD_{530} = 0.5$ の菌液を作製した。測定培地には Buffered starch yeast extract (BSYE) 液体培地を用いた。BSYE 液体培地に菌液を1%添加し, $0.42 \sim 2.1 \times 10^6$ CFU/mL 相当の菌懸濁液を作製した。各薬剤 20 μ g/mL を最高濃度として2倍希釈系列を16段階作製した。96ウェルマイクロプレートの各ウェルに菌懸濁液 95 μ L および各薬剤希釈溶液 5 μ L を各薬剤の終濃度が $1.0 \sim 0.0000313$ μ g/mL となるよう混和した後, 35℃ で3日間培養し, 菌の生育の有無より, MIC を判定した。

5. モルモット肺胞マクロファージ内 *L. pneumophila* に対する各薬剤の殺菌性

ペントバルビタール (ネンブタール注射液[®], 大日本製薬) により屠殺したモルモットの頸部皮膚を切開し, 気管を露出させ, 気道より肺へ 0.1 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.4) 10 mL を注入して, bronchoalveolar lavage fluid (BALF) を採取した。これを4回繰り返して得られた BALF 40 mL を遠心 (250 \times g, 10分, 4℃) 後, 沈査を RPMI 1640 [Sigma, 10% Fetal bovine serum (FBS), 100 μ g/mL ペニシリン G (萬有製薬) および 100 μ g/mL 硫酸ストレプトマイシン (Sigma) 添加] で再懸濁し, 有核細胞濃度が 10^6 cells/mL となるよう調製した。この調製液を96ウェルプレートに100 μ L ずつ分注し, 37℃, 5% CO₂ インキュベーターで2時間静置培養した。RPMI 1640 (20% FBS 添加) でウェル内を3回洗浄することにより非付着性細胞を除き, 付着性細胞を肺胞マクロファージとした。次いで, 同培地 90 μ L に置換し⁷⁾, ここへ *L. pneumophila* ATCC 33152 (7.5×10^7 CFU/mL, 滅菌生理食塩液懸濁) を10 μ L 加え, 遠心 (120 \times g, 室温, 1時間) を行った。同培地でウェル内を3回洗浄し, 新たに同培地 200 μ L を加えた。37℃, 5% CO₂ インキュベーターで24時間培養した。同培地で TFLX, AZM および RFP をそれぞれ 0.125 (16 MIC), 1.0 (64 MIC) および 0.0078 (64 MIC) μ g/mL に調製し, 4倍希釈系列を5段階作製した。感染24時間後の各ウェルから培地を除き, 各薬剤添加培地を200 μ L 加えた (n=3)。37℃, 5% CO₂ インキュベーターで培養し, 薬剤添加24, 48 および 72 時間後に以下のように生菌数を測定した。各ウェルから培地 200 μ L を採取した後, 滅菌蒸留水を200 μ L 加えた。30分室温で放置した後, 加えた滅菌蒸留水を回収し, さきに採取した培地に加えた。再度同様に100 μ L の滅菌蒸留水でウェル内を洗浄し, 培地および滅菌蒸留水の混液 500 μ L を作製した。超音波洗浄機 (アイワ医科工業 AU-70 C) 中に3分間置き, 細胞を破壊した。この細胞破碎液中の生菌数 (Log CFU/well) を寒天平板塗抹法にて算出した。

6. モルモット実験的肺炎の惹起

レジオネラ寒天平板上にて35℃, 一夜増菌培養した *L. pneumophila* ATCC 33152 を滅菌生理食塩液に懸濁して $OD_{530} = 0.5$ の菌液を作製した。これを滅菌生理食塩液で10倍希釈し, 接種菌液 (2.70 または 3.50×10^7 CFU/mL) とした。モルモットにケタミン (ケタラール[®]50, 三共): キシラジン (セラクター[®]2% 注射液, バイエル薬品): 滅菌生理食塩液 = 8: 1: 1 の混液 0.5 mL を腹腔内投与した。麻酔後, 頸部皮膚を切開し, 気管を露出させた。菌液 0.3 mL を, 経気道内に接種し (8.1 または 10.5×10^6 CFU/body), 皮膚をアロンアルファ[®] (東亜合成) で接着した。

7. モルモット実験的肺炎における各薬剤の治療効果
感染24時間後から0.5% メチルセルロース (MC, メトロゾ SM-400, 信越化学) に懸濁した TFLX, AZM および RFP を1日1回7日間経口投与した (各薬剤 1.25 mg/kg および 2.5 mg/kg)。コントロール群には0.5% MC を投与した。最終投与24時間後にモルモットをエーテル麻酔下出血死させ, 肺を摘出した (n=5)。肺に生理食塩液 20 mL を添加し, ガラスホモジナイザーでホモジナイズした。肺ホモジナイズ液中の生菌数 (Log CFU/lung) を寒天平板塗抹法にて算出した。なお, 各群の肺内生菌数の有意差を, ノンパラメトリック手法を用いた Tukey の多重比較により検定した (使用ソフト: SAS Ver. 6.12)。薬剤投与群で死亡例が認められた場合は, コントロール群感染3日後の平均肺内生菌数 10.3 Log CFU/lung とし, 肺内菌数が検出限界以下の場合には検出限界値である 2.60 Log CFU/lung とし て解析を行った。

8. モルモット実験的肺炎における薬剤の体内動態
感染翌日のモルモットに各薬剤を経口投与 (20 mg/kg) し, TFLX および RFP 投与群については投与15分, 30分, 1時間, 2時間, 4時間および6時間後に, AZM 投与群については投与30分, 1時間, 2時間, 4時間, 8時間および24時間後エーテル麻酔下, 腹部大静脈より血液を採取した (n=4)。採取した血液をセパクリーン A-5 (栄研器材) を用いて血清を分離した。採血後, 出血死させたモルモットから肺を摘出した。肺に肺重量の4倍量の $1/15$ mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.0) を加え, ガラスホモジナイザーでホモジナイズした。血清および肺ホモジナイズ液に等量のメタノールを加えて混和後, 遠心 (10,000 \times g, 室温, 10分) し, その上清を濃度測定用サンプルとした。TFLX の場合は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて測定した。HPLC 装置として L-6000 型ポンプ (HITACHI), L-4000 型検出器 (HITACHI) を用い, カラムに STR-ODS 4.6 mm I.D. \times 150 mm (SHIMADZU TECHNO-RESEARCH, INC.) プレカラムに STR-ODS 4.6 mm I.D. \times 50 mm (SHIMADZU TECHNO-RESEARCH, INC.) を使用した。移動相としてアセトニトリル: 0.2 M クエ

ン酸 2 ナトリウム (pH 3.5): 蒸留水 = 210: 150: 640 を用いた。移動相の流速は 1.0 mL/min とし、検出波長は 264 nm で測定した。AZM および RFP の場合は *Micrococcus luteus* ATCC 9341 を検定菌とするペーパーディスクを用いた bioassay 法により薬剤濃度を測定した。測定培地として AZM[®] では Antibiotic Medium 11 (Difco) を、RFP では Heart Infusion Agar (Difco) を使用した。

II. 結 果

1. *L. pneumophila* に対する抗菌活性

臨床分離 *L. pneumophila* 21 株および *L. pneumophila* ATCC 33152 に対する TFLX と比較薬剤の抗菌活性を Table 1 に示す。臨床分離 21 株に対する TFLX の MIC₅₀ 値および MIC₉₀ 値は共に 0.0039 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で RFP よりそれぞれ 64 倍および 16 倍大きく、SPFX, GFLX および CAM と同値で、LVFX, CPFX, moxifloxacin, AZM および EM の 1/4~1/64 であった。TFLX を含むキノロン系抗菌薬および CAM の MIC range は 1~2 管

であるのに対し、AZM, EM および RFP はそれぞれ 4, 5 および 4 管の広い MIC range を示した。実験肺炎に用いた *L. pneumophila* ATCC 33152 に対する TFLX, AZM および RFP の MIC はそれぞれ 0.0078 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.0156 $\mu\text{g}/\text{mL}$ および 0.000125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。

2. モルモット肺胞マクロファージ内 *L. pneumophila* に対する薬剤の殺菌性

In vitro 感染によりモルモット肺胞マクロファージ内に存在する *L. pneumophila* ATCC 33152 に対し、TFLX, AZM および RFP を作用させたときの生菌数経時変化を Fig. 1 に示す。TFLX は濃度依存的な殺菌性を示し、TFLX の MIC および 4 MIC 作用時に生菌数は減少傾向を示し、16 MIC 作用時には経時的に生菌数が減少し、72 時間後には約 3 Log CFU/well 減少した。これに対し、AZM の 4, 16 および 64 MIC, また、RFP の 16 および 64 MIC で若干の生菌数減少傾向が認められたものの、それぞれの 64 MIC 作用 72 時間後の生菌数はそれぞれ約 1.5 Log CFU/well の減少であり、明ら

Table 1. Antibacterial activity of tosufloxacin and other antibacterial agents against *Legionella pneumophila*

Organism	Number of strains	Antibacterial agents	Range of MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	MIC against <i>L. pneumophila</i> ATCC 33152 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
<i>L. pneumophila</i>	21	tosufloxacin	0.002 ~ 0.0078	0.0039	0.0039	0.0078
		levofloxacin	0.0078 ~ 0.0156	0.0156	0.0156	0.0156
		ciprofloxacin	0.0078 ~ 0.0156	0.0156	0.0156	0.0313
		sparfloxacin	0.002 ~ 0.0039	0.0039	0.0039	0.002
		gatifloxacin	0.002 ~ 0.0078	0.0039	0.0039	0.0039
		moxifloxacin	0.0039 ~ 0.0156	0.0156	0.0156	0.0156
		azithromycin	0.0078 ~ 0.125	0.0156	0.0625	0.0156
		clarithromycin	0.001 ~ 0.0039	0.0039	0.0039	0.0078
		erythromycin	0.0156 ~ 0.5	0.125	0.25	0.125
		rifampicin	≤ 0.0000313 ~ 0.001	0.0000625	0.00025	0.000125

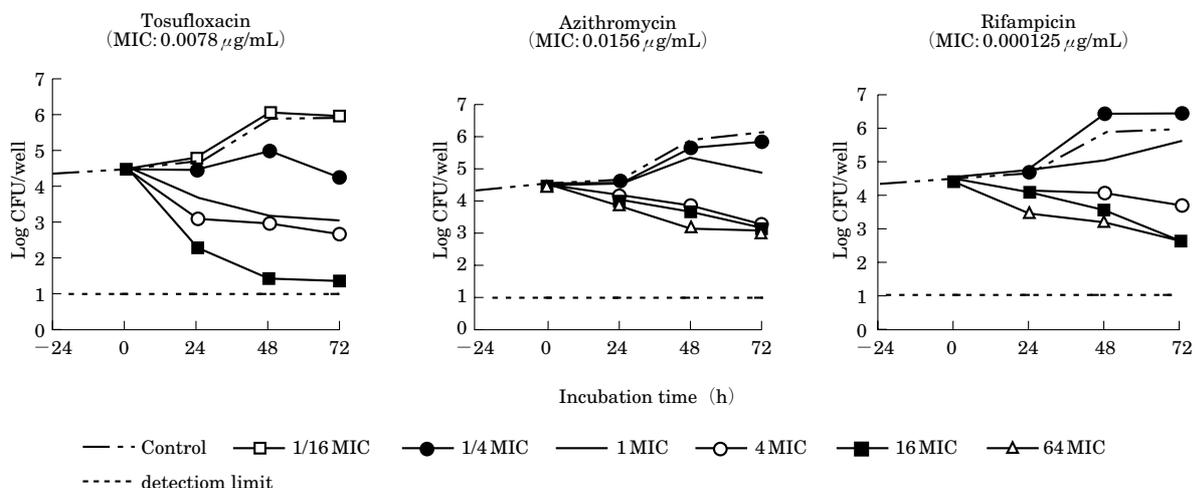


Fig. 1. Bactericidal activity of tosufloxacin and other antibacterial agents against *Legionella pneumophila* ATCC 33152 in alveolar macrophages of guinea pigs.

かな殺菌性を示さなかった。

3. 実験的肺炎に対する治療効果

L. pneumophila ATCC 33152 によって肺炎を惹起したモルモットに、TFLX, AZM および RFP を 1.25 および 2.5 mg/kg 1 日 1 回 7 日間経口投与し、最終投与 24 時間後 (感染 8 日後) の肺内生菌数および死亡率を Table 2 に示す。コントロール群は 5 日後までに全例死亡した。TFLX 1.25 および 2.5 mg/kg 7 回投与翌日 (感染 8 日目) のモルモット生存率は共に 100% であり、肺内生菌数はそれぞれ 2.88 Log CFU/lung および <2.60 Log CFU/lung (検出限界以下) であった。これに対し AZM 1.25 および 2.5 mg/kg 投与群における死亡率はそれぞれ 80 および 20% で、肺内生菌数は 8.79 および 5.63 Log CFU/lung であり、RFP 1.25 および 2.5 mg/kg 投与群における死亡率はそれぞれ 20 および 0% で、肺内生菌数は 5.63 および 3.04 Log CFU/lung であった。

TFLX 1.25 および 2.5 mg/kg 投与後の肺内生菌数は共にコントロール群に比較して有意 ($p < 0.05$) に少なかった。

4. モルモット実験的肺炎における薬剤の体内動態

L. pneumophila ATCC 33152 によって肺炎を惹起し

たモルモットに TFLX, AZM および RFP を 20 mg/kg 経口投与し、血清および肺内濃度を測定した (Table 3, Fig. 2)。その結果、TFLX の最高血内濃度 (C_{max}) は 1.96 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で AZM の約 2 倍、RFP と同程度であった。また、TFLX の血中濃度曲線下面積 ($AUC_{0-\infty}$) は 5.34 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ で AZM の約 2 倍、RFP の約 1/3 であった。TFLX の肺内 C_{max} は 4.52 $\mu\text{g}/\text{g}$ で AZM の約 1/4、RFP と同程度であった。TFLX の肺内 $AUC_{0-\infty}$ は 25.9 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{g}$ で AZM の約 1/10、RFP と同程度であった。

III. 考 察

本邦におけるレジオネラ肺炎は 1981 年に斎藤らにより報告⁹⁾されて以来、頻度は低いながら症例報告は散見されている¹⁰⁻¹³⁾。しかし、なかには確定診断されぬまま見逃されている症例も多いと考えられている³⁾。本症は進行が早く、劇症となるため、致命率は 15% に達するといわれており、臨床において速やかな除菌効果をもつ薬剤投与が必要である^{1,14)}。現在、本症の治療にはマクロライド系抗菌薬やニューキノロン系抗菌薬が用いられ、重症例ではこれらの薬剤と RFP が併用されるのが一般的である¹⁾。

今回、われわれはニューキノロン系抗菌薬である

Table 2. Therapeutic effects of tosufloxacin and other antibacterial agents on experimental pneumonia caused by *Legionella pneumophila* ATCC 33152 in guinea pigs

Antibacterial agents	MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Dose (mg/kg)	Bacterial number on day 8 (Log CFU/lung)	Mortality (%)
Tosufloxacin	0.0078	1.25 ^{a)}	2.88 \pm 0.383*	0
		2.5 ^{a)}	2.60*	0
Azithromycin	0.0156	1.25	8.79 \pm 3.46	80
		2.5	4.35 \pm 3.23	20
Rifampicin	0.000125	1.25	5.63 \pm 2.68	20
		2.5	3.04 \pm 3.43	0

^{a)}equivalent to tosufloxacin-free base

* $p < 0.05$ treated vs. control animals (Tukey test)

Challenge dose: 8.10×10^6 CFU/body (1.25 mg/kg administration)

10.5×10^6 CFU/body (2.5 mg/kg administration)

Table 3. Pharmacokinetic parameters of tosufloxacin and other antibacterial agents in guinea pigs with experimental pneumonia caused by *Legionella pneumophila* ATCC 33152

Specimen	Antibacterial agents	C_{max} ($\mu\text{g}/\text{g}$ or $\mu\text{g}/\text{mL}$)	T_{max} (h)	$T_{1/2}$ (h)	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{g}$ or $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$)
Serum	tosufloxacin	1.96 ^{a)}	1	1.50	5.34
	azithromycin	0.907	0.5	5.83	2.46
	rifampicin	2.40	2	4.05	16.7
Lung	tosufloxacin	4.52 ^{a)}	1	4.19	25.9
	azithromycin	19.3	4	13.8	275
	rifampicin	4.65	2	3.08	26.4

20 mg/kg, p. o.

^{a)}equivalent to tosufloxacin-free base

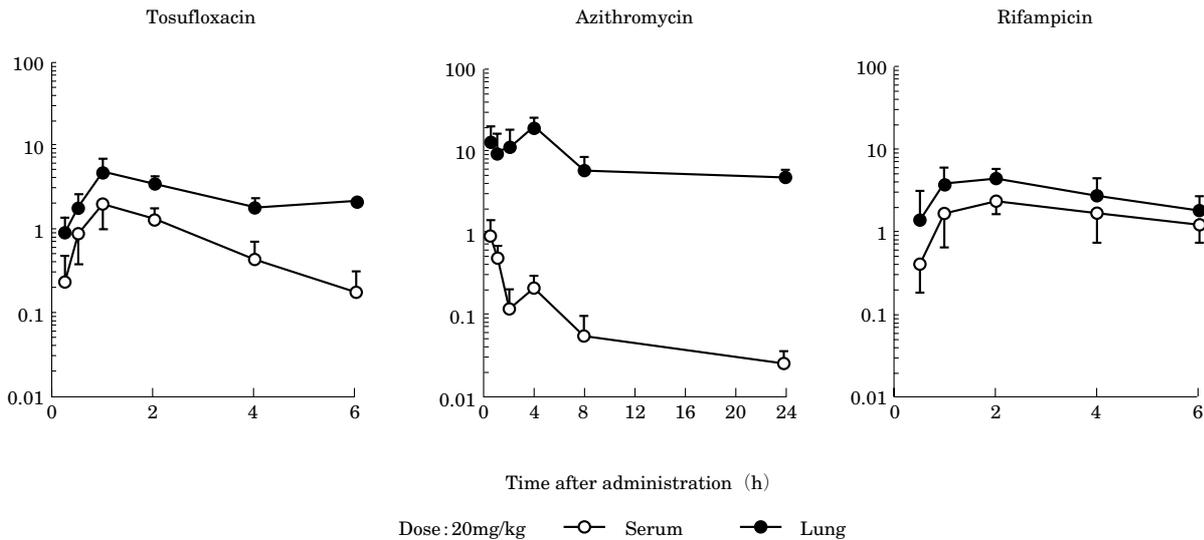


Fig. 2. Serum and lung concentrations of tosufloxacin and other antibacterial agents after oral administration to guinea pigs with experimental pneumonia caused by *Legionella pneumophila* ATCC 33152.

TFLX の *in vitro* 抗レジオネラ活性を検討すると同時にモルモット実験的レジオネラ肺炎に対する治療効果を検討した。実験肺炎に用いた *L. pneumophila* ATCC 33152 に対する TFLX, AZM および RFP の MIC はそれぞれ 0.0078 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.0156 $\mu\text{g}/\text{mL}$ および 0.000125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で, RFP が TFLX の 64 倍, AZM の 128 倍ともしっかりとした抗菌活性を示した。

AZM はこれまでに報告されているように¹⁴⁾, 優れた肺内移行性と持続的な濃度推移を示し, 肺における C_{max} および $\text{AUC}_{0-\infty}$ は TFLX の 4 および 10 倍大きかった。また, 抗菌活性のもっとも強かった RFP の肺内 C_{max} および $\text{AUC}_{0-\infty}$ は TFLX とほぼ同程度であり, 類似した肺組織移行性を示すと考えられる。しかしながら, 実験的肺炎における治療効果は TFLX がもっとも強く, いずれの投与量の場合も感染 8 日目の肺内生菌数は AZM, RFP より少なく, 死亡率も低かった。TFLX より大きい, または同程度の AUC を示す AZM や RFP より TFLX の治療効果が優れたのは肺胞マクロファージに感染した *L. pneumophila* に対する強い殺菌作用が大きな要因と考えられた。肺胞マクロファージに感染した *L. pneumophila* に対し薬剤を暴露させ, 経時的に生菌数を測定したところ, TFLX の 1~16 MIC 作用時に濃度依存的な殺菌性が認められたが, AZM および RFP では濃度依存性が認められず, 64 MIC 作用時でも明確な生菌数の減少は認められなかった。TFLX のヒト好中球内移行性は AZM に比べ 10 倍程度低いと推察され¹⁵⁻¹⁷⁾, 肺組織への移行性同様にモルモット肺胞マクロファージ内への移行性も TFLX が AZM より劣ると予想される。しかしながら, 今回行った肺胞マクロファージ内 *L. pneumophila* に対する TFLX の殺菌作用はこれらの細胞内濃度の差を加味しても AZM よりはるかに強い結果

となった。AZM もキノロン系抗菌薬と同じく AUC/MIC が治療効果に影響する主たる要因と考えられており, AZM の AUC/MIC は TFLX の約 5 倍大きい, TFLX の殺菌作用はこれを上回るものであった。

レジオネラ症は進行の速さ, 再燃の懸念より速やかな除菌が治療効果に反映すると考えられる。今回のモルモット実験的肺炎における TFLX の優れた治療効果は AZM や RFP に比べ, 速やかで強い本剤の殺菌力にもとづく肺組織からのレジオネラ菌の強い除菌効果によるものと推察された。

以上, TFLX は低濃度 ($\text{MIC}_{90} = 0.0039 \mu\text{g}/\text{mL}$) で *L. pneumophila* での発育を抑制し, また, モルモット肺胞マクロファージ内の *L. pneumophila* に対しても強い殺菌性を示した。これらの *in vitro* 活性を反映して TFLX は *L. pneumophila* ATCC 33152 によるモルモット実験的肺炎モデルに対して優れた治療効果を示した。

文 献

- 1) 建山正男, 斎藤 厚: レジオネラ症 (レジオネラ肺炎, ポンティアック熱)。別冊 日本臨床 領域別症候群 23: 11~14, 1999
- 2) 山口恵三, 館田一博, 石井良和, 他: Legionella 肺炎の診断法と臨床的特徴に関する検討。感染症学雑誌 71: 634~643, 1997
- 3) 山口恵三, 館田一博, 石井良和, 他: レジオネラ肺炎一疫学, 臨床的特徴と診断の進歩一。日本臨床 56: 2707~2717, 1998
- 4) 高畑正裕, 山城芳子, 藤巻一雄, 他: Pazufloxacin の細菌学的評価。Chemotherapy 43 (S-2): 72~89, 1995
- 5) 猿渡克比孔: レジオネラの薬剤感受性測定法。臨床と微生物 25: 25~28, 1998
- 6) 猿渡克比孔, 伊藤直美, 長沢正夫, 他: Legionella に対する新しい薬剤感受性用培地 (B-SYE 寒天培地) について。Chemotherapy 32: 718~723, 1984

- 7) Edelstein P H, Beer K B, DeBoynton E D: Influence of growth temperature on virulence of *Legionella pneumophila*. *Infect. Immun.* 55: 2701~2705, 1987
- 8) 第41回日本化学療法学会東日本支部総会, 新薬シンポジウム。Azithromycin: 49, 1994
- 9) 斎藤 厚, 下田照文, 長沢正夫, 他: 本邦ではじめての Legionnaires' disease (レジオネラ症)。感染症学雑誌 55: 124~128, 1981
- 10) 真柴晃一, 浜本龍生, 鳥飼勝隆: 温泉水の誤嚥により発症したと考えられるレジオネラ肺炎の1症例。感染症学雑誌 67: 163~166, 1993
- 11) 徳田 均, 矢作直也, 笠井昭吾, 他: 公衆浴場での溺水後発症した *Legionella pneumophila* serogroup 6 による劇症肺炎の1例。感染症学雑誌 71: 169~174, 1997
- 12) 森 正道, 星野啓一, 園田久子, 他: *Legionella pneumophila* serogroup 7 による Pontiac fever の集団発症例。感染症学雑誌 69: 646~665, 1995
- 13) 岡崎美樹, 小出道夫, 斎藤 厚, 他: 造園業者に発症した *Legionella longbeachae* 肺炎の1例。感染症学雑誌 72: 1076~1079, 1998
- 14) 吉田真一, 宮本比呂志, 小川みどり: レジオネラ属菌の比較生物学—宿主との相互関係を中心として—。日本細菌学雑誌 50: 745~764, 1995
- 15) Stamler D A, Edelstein M A C, Edelstein P H: Azithromycin pharmacokinetics and intracellular concentrations in *Legionella pneumophila*-infected and uninfected guinea pigs and their alveolar-macrophages. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 38: 217~222, 1994
- 16) Panteix G, Guillaumond B, Harf R, et al.: In-vitro concentration of azithromycin in human phagocytic cells. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 31 (Suppl. E): 1~4, 1993
- 17) 三上秀忠, 恒田礼子, 堀 富子, 他: Pazufloxacin のヒト細胞内移行性と細胞内感染菌に対する殺菌効果。Chemotherapy 43 (S-2): 120~125, 1995

In vitro anti-*Legionella pneumophila* activity of tosufloxacin and its therapeutic effect on experimental *Legionella* pneumonia in guinea pigs

Yoko Sugiura¹⁾, Hiroshi Yamada¹⁾, Masahiro Takahata¹⁾, Shinzaburo Minami¹⁾
Kazuhiro Tateda²⁾ and Keizo Yamaguchi²⁾

¹⁾Research Laboratories, Toyama Chemical Co. Ltd., 2-4-1 Shimookui, Toyama 930-8508, Japan

²⁾Department of Microbiology, Toho University School of Medicine

We evaluated *in vitro* and *in vivo* anti-*Legionella pneumophila* activity of tosufloxacin (TFLX). The MIC range of TFLX was 0.002–0.0078 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and its MIC₅₀ and MIC₉₀ 0.0039 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The MIC₉₀ of TFLX against clinical isolates of *L. pneumophila* was 16-fold higher than that of rifampicin (RFP), equal to that of sparfloxacin, gatifloxacin and clarithromycin, and 1/4- to 1/64-fold lower than those of levofloxacin, ciprofloxacin, moxifloxacin, azithromycin (AZM) and erythromycin. TFLX showed clear bactericidal activity against *L. pneumophila* ATCC 33152 in macrophages from guinea pigs at a concentration of 16 times MIC, but RFP and AZM did not exhibit bactericidal activity even at 64 times MIC. The doses of 1.25 mg/kg and 2.5 mg/kg of TFLX completely protected guinea pigs from death due to pneumonia caused by *L. pneumophila*. The 80% and 20% of animals treated with 1.25 mg and 2.5 mg/kg of AZM, and the 20% of animals treated with 1.25 mg/kg of RFP died. Viable cell counts in lungs after TFLX treatment were significantly fewer than in non treated control. The area under the curve of the concentration in lungs for TFLX was equal to that for RFP and smaller than that for AZM.