

Moxifloxacin の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力

Moxifloxacin の抗菌力

西野 武志・大槻 雅子

京都薬科大学微生物学教室*

(平成 17 年 9 月 21 日受付・平成 17 年 11 月 24 日受理)

新しいキノロン系抗菌薬 moxifloxacin (MFLX) の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力を, ciprofloxacin (CPFX), sparfloxacin (SPFX), tosufloxacin (TFLX) および levofloxacin (LVFX) と比較して検討した。

1. MFLX の MIC はグラム陽性標準株に対して 0.006 ~ 0.78 $\mu\text{g}/\text{mL}$, グラム陰性標準株に対して 0.006 ~ 3.13 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり, 幅広い抗菌スペクトルを示した。

2. MFLX の臨床分離株に対する抗菌力 (MIC₉₀) は, Methicillin あるいは LVFX に耐性を示す *Staphylococcus epidermidis* を除くグラム陽性菌において 0.2 ~ 12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と他薬剤と同等あるいはそれ以上であり, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii* および *Pseudomonas aeruginosa* を除くグラム陰性菌においても, MIC₉₀ は 0.012 ~ 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で, 他薬剤とほぼ同等あるいはそれ以上の抗菌力を示した。LVFX に耐性を示す *Staphylococcus aureus* および *S. epidermidis* に対する感受性は, MIC₉₀ で 12.5 ~ 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を示し, 他薬剤と同様に低下したが, 他薬剤より 1 ~ 8 倍優れた抗菌力を示した。

3. MFLX の抗菌力は, 培地の種類, 血清添加および接種菌量による影響を受けなかったが, 培地 pH が酸性側で抗菌力の低下がみられた。

4. *S. aureus*, *Escherichia coli* および *P. aeruginosa* に対する増殖曲線に及ぼす影響では, MFLX の MIC 以上の濃度で殺菌的に作用し, 4 MIC 濃度 1 時間作用で, 生菌数は 1/10 ~ 1/1,000 以下となった。また他薬剤でも薬剤濃度に対応した殺菌作用が認められた。

5. 薬剤作用時の *S. aureus* および *E. coli* の形態変化を微分干渉顕微鏡で観察したところ, *S. aureus* においては 1/4 MIC 濃度から菌体の膨化が, *E. coli* においては 1/16 MIC 濃度から菌体の著しい伸張が認められた。また MIC 濃度以上では溶菌像も観察された。

6. 共焦点レーザー顕微鏡を用いて, *S. aureus* および *E. coli* の形態学的変化を検討した結果, 1/4 MIC 濃度の MFLX で処理した *S. aureus* において, 無核の娘細胞が観察され, また *E. coli* において, 細胞壁合成阻害薬である piperacillin (PIPC) では多核であったのに対して, 1/2 MIC 濃度の MFLX では単核であった。

7. マウス実験的全身感染症に対する MFLX の治療効果を検討したところ, グラム陰性菌では他薬剤より劣っていたが, グラム陽性菌では SPFX と同等あるいはそれ以上であり, CPFX および LVFX より優れた効果を示した。

8. マウス実験的呼吸器感染症に対する MFLX の治療効果を検討したところ, SPFX とほぼ同等であり, CPFX および LVFX より 3 ~ 5 倍以上の優れた治療効果を示した。

Key words: moxifloxacin, clinical isolate, antimicrobial activity, animal model

Moxifloxacin (MFLX) はドイツ・バイエル社により創製された新規のニューキノロン系抗菌薬である。MFLX は広範な抗菌スペクトルを有しており, 非定型菌を含む呼吸器感染症の多くの原因菌に優れた抗菌力を示すとともに, グラム陽性菌に対して従来のニューキノロン系抗菌薬よりも強い抗菌力を示すことが報告されている¹⁻³⁾。

今回, MFLX の抗菌力を明らかにするために, 1991 ~ 1995 年に国内で分離同定された新鮮臨床分離株に対する MFLX の *in vitro* 抗菌力を測定し, ニューキノロン系抗菌薬の tosufloxacin (TFLX), levofloxacin (LVFX) および ciprofloxacin (CPFX) のそれと比較検討した。また MFLX の増殖曲線に及ぼす影響を検討するとともに, 形態変化の観察を実施した。さ

らにマウス実験の感染症モデル(全身および呼吸器感染症)の治療効果をLVFX, CPFX および sparfloxacin (SPFX) と比較検討した。

I. 材料と方法

1. 使用菌株

当教室保存のグラム陽性菌 19 株およびグラム陰性菌 55 株の標準株 (Table 1) を使用した。臨床分離株は、日本国内の臨床施設において 1991 年から 1995 年に分離同定されたグラム陽性およびグラム陰性菌計 1,033 株を用いた。*Streptococcus pneumoniae* のうち, benzylpenicillin (PCG) の MIC が 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下をペニシリン感受性株 (PSSP: penicillin-susceptible *S. pneumoniae*), 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上を耐性株 (PRSP: penicillin-resistant *S. pneumoniae*) とした。またキノロン耐性株について, *Staphylococcus aureus* および *Staphylococcus epidermidis* は levofloxacin (LVFX) の MIC が 6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上を耐性株とした。

2. 使用薬剤

バイエル薬品株式会社より提供された MFLX の原末を用いた。対照薬として, CPFX (バイエル薬品), SPFX (大日本製薬), TFLX (富山化学), LVFX (第一製薬) および piperacillin (PIPC: 富山化学) のいずれも力価の明らかな原末を使用した。また PSSP および PRSP の分離に benzylpenicillin (PCG: 和光純薬) を使用した。すべての薬剤は力価換算して使用した。

3. 試験動物

4 週齢の雄性 Std-ddY マウス (体重 17~19 g, 日本エスエルシー株式会社) を入荷時に無作為に分配し, その翌日試験に使用した。ケージにはケージカード (動物入荷日, 薬剤名, 薬剤濃度, 接種菌名, 生存動物数等を記載) を表示した。

4. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

前培養に trypto-soya broth (TSB: 日水) を, 測定用に sensitivity test agar (STA: 栄研) を用いて, CPFX, SPFX, TFLX および LVFX を比較薬として日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法⁴⁾ に準じて測定した。ただし, *Streptococcus* 属および Viridans グループについては, 10% 馬脱繊維血 (日本バイオテスト) 添加 STA を, *Haemophilus influenzae* には 5% Fildes enrichment 添加 STA を, *Moraxella catarrhalis* については 10% 馬脱繊維血液添加チョコレート寒天培地を用いて, 37 18 時間の培養後に MIC を求めた。標準菌株および臨床分離株ともに 10^6 CFU/mL の菌液を 10 μL 接種した。

5. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす培地, 培地 pH, 馬血清添加ならびに接種菌量の影響は, *S. aureus* Smith, *Escherichia coli* KC-14, *Klebsiella pneumoniae* KC-1 および *Pseudomonas aeruginosa* E-2 を試験菌として, STA を用いた寒天平板希釈法 (37, 18 時間培養) により検討した。比較

薬として CPFX, SPFX, TFLX および LVFX を用いた。なお, 培地の影響については STA, nutrient agar (NA: 日水), trypto-soya agar (TSA: 日水), heart infusion agar (HIA: 日水) および brain heart infusion agar (BHIA: Difco) を用いて検討し, 培地 pH では pH6~pH8 で, 馬血清添加では 0%, 10%, 25%, 50% で検討した。また接種菌量では $10^4 \sim 10^8$ CFU/mL (*P. aeruginosa*: $10^5 \sim 10^9$ CFU/mL) の菌量による影響を検討した。

6. 増殖曲線に及ぼす影響

増殖曲線に及ぼす影響について, CPFX および SPFX を比較薬として *S. aureus* Smith, *E. coli* KC-14 および *P. aeruginosa* E-2 を用いて検討した。TSB で前培養した各菌株を TSB に接種し, 対数増殖期中期まで振盪培養した後, 所定の濃度の薬剤を添加した。その後 37 で培養を続け, 経時的に生菌数を測定した。

7. 微分干渉顕微鏡による形態観察

S. aureus Smith および *E. coli* K-12 の MFLX による形態変化を微分干渉顕微鏡を用いて観察した。すなわち MFLX を含んだ薄層寒天培地を作製し, これをスライドガラス上にのせ, 対数増殖期の菌液をカバーガラスに塗抹したものを寒天にかぶせた後, パラフィンで封入した。これを 37 で培養し, 3 時間後にノマルスキー型微分干渉顕微鏡 (NIKON) を用いて, 菌の形態変化を観察した。

8. 共焦点レーザー顕微鏡による形態観察

S. aureus 209 P-JC および *E. coli* K-12 の MFLX による形態変化を共焦点レーザー顕微鏡 (LSM) を用いて観察した。細胞壁合成阻害薬である PIPC を核酸合成に影響しない対照薬として試験に用いた。

1) *S. aureus* 209 P-JC: 前培養した *S. aureus* 209 P-JC を sensitivity test broth (STB: mueller hinton broth, 栄研) に接種し, 37 で 1 時間静置培養した後, 所定の濃度の薬剤を添加し, さらに 37 で 2 時間静置培養した。この菌液を遠心により集菌し生理食塩液で洗浄した。核の染色は Hiraga らの方法⁵⁾ により行った。つまり, 生理食塩液に懸濁した菌液をスライドガラスに滴下し自然乾燥させた後, メタノールで 5 分間固定し, 水道水で洗浄した後に自然乾燥した。その後 DAPI (4,6-diamino-2-phenylindole, 和光純薬; 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) により核を蛍光染色し, カバーガラスをかぶせた。

2) *E. coli* K-12: 前培養した *E. coli* K-12 を STB に接種し, 37 で 1 時間静置培養した後, 所定の濃度の薬剤を添加し, さらに 37 で 2 時間静置培養した。遠心により集菌し STB で洗浄および菌を懸濁した。菌液に最終濃度が 500 nM, 1 μM および 2 μM になるように SYTO 13 (Molecular Probes, Inc., Lot No. 0261-1) を加え, 30 分放置した。洗浄後, STB に懸濁した菌液をスライドガラスに滴下し, カバーガラスをかぶせた。

S. aureus および *E. coli* ともに LSM (ZEISS 社, LSM

Table 1. Antibacterial spectrum of MFLX against gram-positive and gram-negative bacteria

Organism	MIC (µg/mL)				
	MFLX	CPFEX	SPFX	TFLX	LVFX
<i>Staphylococcus aureus</i> 209 P-JC	0.05	0.1	0.05	0.012	0.1
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	0.025	0.1	0.05	0.012	0.1
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	0.1	0.1	0.05	0.012	0.1
<i>Staphylococcus aureus</i> Neumann	0.1	0.1	0.025	0.012	0.1
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	0.012	0.1	0.05	0.012	0.1
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 80	0.012	0.1	0.025	0.025	0.1
<i>Staphylococcus aureus</i> 50774	0.012	0.2	0.025	0.012	0.05
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.78	0.39	0.78	0.2	0.39
<i>Micrococcus lysodeikticus</i> 2665	0.05	0.1	0.05	0.05	0.2
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23	0.2	0.78	0.39	0.2	0.78
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	0.1	0.39	0.1	0.05	0.78
<i>Streptococcus pyogenes</i> C-203	0.1	0.39	0.39	0.1	0.78
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type III	0.05	0.39	0.1	0.1	0.39
<i>Viridans group Streptococcus</i>	0.39	0.78	0.39	0.39	0.78
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC29212	0.2	0.78	0.2	0.2	0.78
<i>Enterococcus faecalis</i> IFO 12968	0.1	0.39	0.2	0.1	0.39
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	0.006	0.025	0.025	0.012	0.025
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	0.006	0.012	0.012	0.012	0.025
<i>Bacillus anthracis</i>	0.025	0.1	0.025	0.012	0.1
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	0.1	0.012	0.025	0.025	0.05
<i>Escherichia coli</i> NIH	0.012	0.012	0.012	0.025	0.012
<i>Escherichia coli</i> K-12	0.012	0.012	0.025	0.012	0.012
<i>Escherichia coli</i> KC-14	0.025	0.012	0.012	0.012	0.012
<i>Escherichia coli</i> No. 444	0.006	0.006	0.006	0.006	0.012
<i>Escherichia coli</i> No. 24	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006
<i>Escherichia coli</i> 177	0.006	0.006	0.012	0.006	0.006
<i>Escherichia coli</i> 603	0.025	0.025	0.012	0.012	0.012
<i>Escherichia coli</i> 7437	0.025	0.012	0.012	0.012	0.006
<i>Escherichia coli</i> TN 675	0.025	0.012	0.012	0.025	0.025
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	0.025	0.006	0.012	0.012	0.012
<i>Escherichia coli</i> ATCC27166	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	0.39	0.025	0.78	0.1	0.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	0.05	0.012	0.025	0.025	0.05
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	0.025	0.012	0.025	0.012	0.05
<i>Klebsiella pneumoniae</i> DT-S	0.05	0.006	0.025	0.012	0.025
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC10031	0.1	0.012	0.05	0.012	0.05
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	0.2	0.025	0.1	0.05	0.1
<i>Enterobacter cloacae</i> KC-113	0.2	0.006	0.05	0.025	0.1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	0.1	0.025	0.1	0.025	0.05
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	0.78	0.2	1.56	0.78	0.39
<i>Serratia marcescens</i> T-55	0.39	0.012	0.39	0.2	0.025
<i>Hafnia alvei</i> NTCT 9540	0.1	0.006	0.1	0.1	0.1
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.05	0.1	0.1	0.05	0.1
<i>Proteus mirabilis</i> 181	0.78	0.012	0.2	0.1	0.025
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC21100	0.1	0.025	0.1	0.1	0.05
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	0.1	0.025	0.1	0.05	0.05
<i>Proteus inconstans</i> NIH 118	0.1	0.025	0.05	0.05	0.1
<i>Providencia rettgeri</i> NIH 96	0.05	0.012	0.025	0.025	0.025
<i>Providencia stuartii</i> 57	0.025	0.025	0.025	0.025	0.05
<i>Morganella morganii</i> KONO	0.2	0.012	0.1	0.05	0.025
<i>Salmonella typhi</i> O-901	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006
<i>Salmonella typhi</i> T-30 Roma	0.025	0.012	0.012	0.012	0.012
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.025	0.012	0.025	0.012	0.012
<i>Salmonella paratyphi</i> B	0.05	0.006	0.025	0.012	0.025

(Continue)

Organism	MIC (µg/mL)				
	MFLX	CPFX	SPFX	TFLX	LVFX
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.1	0.006	0.025	0.025	0.025
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.025	0.012	0.012	0.006	0.025
<i>Shigella flexneri</i> 2aEW-10	0.025	0.012	0.012	0.006	0.025
<i>Shigella flexneri</i> Komagome	0.025	0.012	0.012	0.012	0.025
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	3.13	0.39	3.13	0.78	1.56
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Nc-5	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	3.13	0.39	1.56	0.78	0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO-1	1.56	0.1	0.78	0.2	0.39
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC25619	1.56	0.2	0.78	0.39	0.39
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IAM 1095	1.56	0.2	1.56	0.2	0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC 10701	3.13	0.2	0.78	0.2	0.39
<i>Burkholderia</i> (<i>P.</i>) <i>cepacia</i> ATCC25416	0.2	3.13	0.1	0.1	0.39
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> NCTC 13637	0.78	0.1	0.78	0.1	0.39
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> IID 1167	0.2	0.78	0.1	0.1	0.2
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> Ac-54	0.1	0.2	0.1	0.1	0.2
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> NCTC 7844	0.2	0.2	0.1	0.2	0.39
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> ATCC23055	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025

Inoculum size: 10⁶ CFU/mL

410)を用いて、核の蛍光画像と微分干渉像を観察した。*S. aureus*はUV波長(351 nm)で、*E. coli*では488 nmで励起し、蛍光画像を観察した。なお、使用した菌株に対する最小発育阻止濃度(MIC)は、STBを用いた液体希釈法により測定した。

9. マウス実験の全身感染症に対する治療効果

マウス実験の全身感染症に対する治療効果をCPFX, SPFXおよびLVFXを比較薬として、*S. aureus* Smith, *S. pneumoniae* Type III, *Streptococcus pyogenes* C-203, *E. coli* KC-14, *K. pneumoniae* KC-1および*P. aeruginosa* Nc-5を用いて検討した。研究室に保存されている各菌液をHIBにて希釈し、*S. pneumoniae* Type IIIおよび*S. pyogenes* C-203以外は10% gastric mucin(和光純薬工業(株), Lot No.: TWP6064)と等量混合した。この菌液を1群10匹のStd-ddY系雄マウス(18±1g)の腹腔内に接種し、感染2時間後に1回、0.5% CMCナトリウム水溶液(carboxymethyl cellulose sodium salt: 和光純薬工業(株), Lot No.: LAJ 1654)に懸濁させた薬剤を経口投与した。その後7日間の生死観察を行い、生存率からProbit法によりED₅₀を算出した。

10. マウス実験的呼吸器感染症に対する治療効果

マウス実験的呼吸器感染症に対する治療効果をCPFX, SPFXおよびLVFXを比較薬として、*S. pneumoniae* KR-1を用いて検討した。すなわち*S. pneumoniae* KR-1を生理食塩液にて希釈し、pentobarbital sodium(nembutal injection: ダイナボット)にて麻酔したマウスに経鼻感染させた。感染3, 24および48時間後にそれぞれ1回の計3回、0.5% CMCナトリウム水溶液に懸濁

させた薬剤を経口投与した。感染から10日間の生死観察を行い、生存率からProbit法によりED₅₀を算出した。

II. 結 果

1. 抗菌スペクトル

検討したすべての標準菌株に対するMICをTable 1に示した。

MFLXのMICはグラム陽性菌標準株に対して0.006~0.78 µg/mL, グラム陰性標準株に対して0.006~3.13 µg/mLであり、幅広い抗菌スペクトルを示した。グラム陽性菌に対してはSPFXとほぼ同等あるいはそれ以上であり、CPFXおよびLVFXより優れた抗菌力を示した。グラム陰性菌においては、SPFX, TFLXおよびLVFXとほぼ同等の優れた抗菌力を示した。

2. 臨床分離株に対する抗菌力

各種臨床分離株に対する感受性について、接種菌量10⁶ CFU/mLで測定し、そのMICの分布範囲、MIC₅₀およびMIC₉₀(50%および90%の菌株を発育阻止した濃度)をTable 2-1 2-2に示した。薬剤間の感受性の比較には、MIC₉₀を用いた。

1) *Staphylococcus* spp.

S. aureus 63株では0.025~12.5 µg/mL, *S. epidermidis* 129株では0.025~50 µg/mLの範囲に分布していた。MFLXのブドウ球菌に対する感受性は*S. aureus*および*S. epidermidis*ともに優れた抗菌力を示し、対照薬の1/2~1/8以下であった。

キノロン耐性*S. aureus* 14株(LVFX 6.25 µg/mL以上)では1.56~12.5 µg/mL, メチシリン耐性*S. aureus* 116株では0.025~50 µg/mLの範囲に分布していた。

Table 2-1. Antibacterial activity of MFLX against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Drug	MIC (µg/mL)		
		range	50%	90%
<i>S. aureus</i> (63)	MFLX	0.025 ~ 12.5	0.1	6.25
	CPFEX	0.2 ~ > 100	0.78	50
	SPFX	0.025 ~ 100	0.2	50
	TFLX	0.025 ~ 50	0.05	50
	LVFX	0.1 ~ 100	0.39	50
<i>S. aureus</i> LVFX-susceptible (49)	MFLX	0.025 ~ 0.78	0.1	0.2
	CPFEX	0.2 ~ 12.5	0.78	3.13
	SPFX	0.025 ~ 3.13	0.2	0.39
	TFLX	0.025 ~ 3.13	0.05	0.1
	LVFX	0.1 ~ 3.13	0.39	0.39
<i>S. aureus</i> LVFX-resistant (14)	MFLX	1.56 ~ 12.5	6.25	12.5
	CPFEX	6.25 ~ > 100	50	100
	SPFX	25 ~ 100	50	50
	TFLX	1.56 ~ 50	50	50
	LVFX	6.25 ~ 100	50	50
<i>S. aureus</i> Methicillin-resistant (116)	MFLX	0.025 ~ 50	0.39	6.25
	CPFEX	0.2 ~ 100	6.25	50
	SPFX	0.025 ~ 100	0.78	25
	TFLX	0.012 ~ 100	1.56	50
	LVFX	0.1 ~ 100	3.13	50
<i>S. epidermidis</i> (129)	MFLX	0.025 ~ 50	0.2	6.25
	CPFEX	0.05 ~ > 50	0.78	50
	SPFX	0.025 ~ > 50	0.2	25
	TFLX	0.025 ~ > 50	0.2	> 50
	LVFX	0.05 ~ > 50	1.56	12.5
<i>S. epidermidis</i> LVFX-susceptible (84)	MFLX	0.025 ~ 3.13	0.1	0.39
	CPFEX	0.05 ~ 12.5	0.2	1.56
	SPFX	0.025 ~ 6.25	0.2	0.78
	TFLX	0.025 ~ 6.25	0.1	0.39
	LVFX	0.05 ~ 3.13	0.2	3.13
<i>S. epidermidis</i> LVFX-resistant (45)	MFLX	0.2 ~ 50	1.56	50
	CPFEX	0.78 ~ > 50	25	> 50
	SPFX	1.56 ~ > 50	12.5	> 50
	TFLX	3.13 ~ > 50	25	> 50
	LVFX	6.25 ~ > 50	6.25	> 50
<i>S. epidermidis</i> Methicillin resistant (17)	MFLX	0.05 ~ 25	0.2	25
	CPFEX	0.1 ~ > 50	0.2	> 50
	SPFX	0.1 ~ > 50	0.2	> 50
	TFLX	0.05 ~ > 50	0.1	> 50
	LVFX	0.2 ~ > 50	0.39	> 50
<i>S. pyogenes</i> (31)	MFLX	0.1 ~ 0.78	0.2	0.2
	CPFEX	0.39 ~ 1.56	0.78	0.78
	SPFX	0.2 ~ 0.78	0.39	0.78
	TFLX	0.05 ~ 0.39	0.2	0.39
	LVFX	0.39 ~ 1.56	0.78	1.56
<i>S. pneumoniae</i> Penicillin-susceptible (29)	MFLX	0.1 ~ 0.78	0.2	0.39
	CPFEX	0.78 ~ 6.25	1.56	3.13
	SPFX	0.2 ~ 1.56	0.39	1.56
	TFLX	0.2 ~ 0.78	0.39	0.78
	LVFX	0.78 ~ 3.13	1.56	3.13

(Continue)

Organism (no. of strains)	Drug	MIC (µg/mL)		
		range	50%	90%
<i>S. pneumoniae</i> Penicillin-resistant (22)	MFLX	0.1 ~ 0.39	0.2	0.39
	CPFEX	0.78 ~ 3.13	0.78	3.13
	SPFX	0.2 ~ 0.78	0.39	0.78
	TFLX	0.1 ~ 0.39	0.2	0.39
	LVFX	0.78 ~ 3.13	0.78	1.56
<i>E. faecalis</i> (30)	MFLX	0.1 ~ 0.78	0.39	0.39
	CPFEX	0.39 ~ 3.13	1.56	3.13
	SPFX	0.2 ~ 1.56	0.39	0.78
	TFLX	0.1 ~ 0.78	0.39	0.78
	LVFX	0.39 ~ 3.13	0.78	1.56
<i>E. faecium</i> (19)	MFLX	0.05 ~ 6.25	0.39	3.13
	CPFEX	0.1 ~ 25	1.56	3.13
	SPFX	0.1 ~ 25	0.78	3.13
	TFLX	0.05 ~ 12.5	0.39	3.13
	LVFX	0.39 ~ 12.5	1.56	3.13
<i>E. avium</i> (10)	MFLX	0.1 ~ 0.2	0.1	0.2
	CPFEX	0.2 ~ 1.56	0.39	1.56
	SPFX	0.1 ~ 0.78	0.39	0.78
	TFLX	0.05 ~ 0.78	0.2	0.39
	LVFX	0.39 ~ 1.56	0.78	1.56

Inoculum size: 10⁶ CFU/mL

キノロン耐性 *S. epidermidis* 45 株 (LVFX 6.25 µg/mL 以上) では 0.2 ~ 50 µg/mL, メチシリン耐性 *S. epidermidis* 17 株では 0.05 ~ 25 µg/mL の範囲に分布していた。これらキノロン耐性およびメチシリン耐性ブドウ球菌に対して, MIC₉₀ の上昇が認められたが, 他薬剤の 1 ~ 1/8 以下であった。

2) *Streptococcus* spp.

MFLX の MIC は *S. pyogenes* 31 株では 0.1 ~ 0.78 µg/mL, PSSP 29 株では 0.1 ~ 0.78 µg/mL, PRSP 22 株では 0.1 ~ 0.39 µg/mL の範囲に分布していた。MFLX の PSSP および PRSP (PIPIC 0.1 µg/mL 以上) に対する MIC₉₀ はともに 0.39 µg/mL であり, ペニシリン耐性による感受性の低下は認められなかった。これら連鎖球菌に対する MFLX の MIC₉₀ は, CPFEX, SPFX および LVFX の 1/2 ~ 1/8 で, TFLX とほぼ同等であった。

3) *Enterococcus* spp.

MFLX の MIC は *Enterococcus faecalis* 30 株では 0.1 ~ 0.78 µg/mL, *E. faecium* 19 株では 0.05 ~ 6.25 µg/mL, *E. avium* 10 株では 0.1 ~ 0.2 µg/mL の範囲に分布していた。MFLX のこれら腸球菌に対する MIC₉₀ は, *E. faecium* に対して他薬剤と同等であったが, *E. faecalis* および *E. avium* においては他薬剤の 1/2 ~ 1/8 であった。

4) *Escherichia coli*

MFLX の *E. coli* 42 株に対する MIC は, 0.025 ~ 0.78 µg/mL の範囲に分布し, MIC₉₀ は他薬剤とほぼ同等であった。

5) *Klebsiella pneumoniae*

MFLX の *K. pneumoniae* 44 株に対する MIC は 0.025 ~ 1.56 µg/mL の範囲に分布し, MIC₉₀ は他薬剤とほぼ同等であった。

6) *Enterobacter* spp.

MFLX の MIC は *Enterobacter cloacae* 39 株では 0.012 ~ 0.78 µg/mL, *E. aerogenes* 39 株では 0.025 ~ 0.2 µg/mL の範囲に分布していた。MFLX の MIC₉₀ は, *E. cloacae* に対して他薬剤の 1/2 ~ 1/4 で, *E. aerogenes* に対して CPFEX の 4 倍であり, SPFX, TFLX および LVFX とほぼ同等であった。

7) *Serratia marcescens*

MFLX の *S. marcescens* 45 株に対する MIC は 0.05 ~ 50 µg/mL の範囲に分布しており, MIC₉₀ は CPFEX と同等で, SPFX, TFLX および LVFX の 1/2 以下であった。

8) *Citrobacter freundii*

MFLX の *C. freundii* 36 株に対する MIC は 0.025 ~ 50 µg/mL の範囲に分布しており, MIC₉₀ は SPFX の 1/4 で, TFLX および LVFX の 1/2 であった。

9) *Proteus* spp.

MFLX の MIC は *Proteus mirabilis* 40 株では 0.05 ~ 25 µg/mL, *P. vulgaris* 39 株では 0.05 ~ 0.78 µg/mL の範囲に分布していた。MFLX のこれらプロテウス属に対する MIC₉₀ は CPFEX および LVFX の 2 ~ 8 倍であったが, SPFX および TFLX とほぼ同等であった。

10) *Morganella morganii*

MFLX の *M. morganii* 37 株に対する MIC は 0.006 ~

Table 2-2. Antibacterial activity of MFLX against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Drug	MIC (µg/mL)		
		range	50%	90%
<i>E. coli</i> (42)	MFLX	0.025 ~ 0.78	0.025	0.1
	CPFEX	0.012 ~ 1.56	0.025	0.05
	SPFX	0.012 ~ 1.56	0.05	0.1
	TFLX	0.025 ~ 3.13	0.05	0.1
	LVFX	0.025 ~ 3.13	0.05	0.1
<i>K. pneumoniae</i> (44)	MFLX	0.025 ~ 1.56	0.05	0.1
	CPFEX	0.012 ~ 3.13	0.05	0.1
	SPFX	0.025 ~ 3.13	0.1	0.2
	TFLX	0.012 ~ 3.13	0.05	0.1
	LVFX	0.05 ~ 3.13	0.1	0.2
<i>E. cloacae</i> (39)	MFLX	0.012 ~ 0.78	0.025	0.05
	CPFEX	0.003 ~ 0.78	0.025	0.1
	SPFX	0.003 ~ 3.13	0.05	0.2
	TFLX	0.006 ~ 0.39	0.05	0.1
	LVFX	0.006 ~ 0.78	0.1	0.1
<i>E. aerogenes</i> (39)	MFLX	0.025 ~ 0.2	0.1	0.2
	CPFEX	0.012 ~ 0.05	0.05	0.05
	SPFX	0.05 ~ 0.2	0.1	0.2
	TFLX	0.012 ~ 0.1	0.05	0.1
	LVFX	0.05 ~ 0.2	0.1	0.2
<i>S. marcescens</i> (45)	MFLX	0.05 ~ 50	6.25	25
	CPFEX	0.05 ~ 50	3.13	25
	SPFX	0.1 ~ > 50	3.13	50
	TFLX	0.05 ~ > 50	3.13	> 50
	LVFX	0.2 ~ > 50	6.25	> 50
<i>C. freundii</i> (36)	MFLX	0.025 ~ 50	0.39	1.56
	CPFEX	0.006 ~ 100	0.1	0.78
	SPFX	0.05 ~ 100	1.56	6.25
	TFLX	0.025 ~ 100	0.39	3.13
	LVFX	0.05 ~ 50	0.39	3.13
<i>P. mirabilis</i> (40)	MFLX	0.05 ~ 25	0.1	0.39
	CPFEX	0.012 ~ 25	0.025	0.2
	SPFX	0.1 ~ 50	0.2	0.39
	TFLX	0.05 ~ > 50	0.1	0.39
	LVFX	0.05 ~ 25	0.1	0.2
<i>P. vulgaris</i> (39)	MFLX	0.05 ~ 0.78	0.2	0.39
	CPFEX	0.012 ~ 0.1	0.025	0.05
	SPFX	0.1 ~ 0.78	0.2	0.39
	TFLX	0.05 ~ 0.2	0.1	0.2
	LVFX	0.025 ~ 0.2	0.05	0.1
<i>M. morgani</i> (37)	MFLX	0.006 ~ 0.2	0.1	0.1
	CPFEX	0.006 ~ 3.13	0.025	0.025
	SPFX	0.012 ~ 3.13	0.2	0.39
	TFLX	0.006 ~ 1.56	0.1	0.2
	LVFX	0.006 ~ 1.56	0.05	0.2
<i>P. rettgeri</i> (33)	MFLX	0.025 ~ 25	0.78	6.25
	CPFEX	0.025 ~ > 50	0.2	6.25
	SPFX	0.05 ~ 50	1.56	12.5
	TFLX	0.025 ~ > 50	0.39	6.25
	LVFX	0.1 ~ > 50	1.56	12.5

(Continue)

Organism (no. of strains)	Drug	MIC (µg/mL)		
		range	50%	90%
<i>P. aeruginosa</i> (94)	MFLX	0.2 ~ > 50	0.78	25
	CPFX	0.2 ~ > 50	0.39	6.25
	SPFX	0.39 ~ > 50	1.56	50
	TFLX	0.1 ~ > 50	0.78	12.5
	LVFX	0.2 ~ > 50	1.56	25
<i>H. influenzae</i> (25)	MFLX	0.006 ~ 0.012	0.006	0.012
	CPFX	0.006 ~ 0.012	0.012	0.012
	SPFX	0.003 ~ 0.012	0.006	0.012
	TFLX	0.006 ~ 0.025	0.006	0.012
	LVFX	0.012 ~ 0.025	0.012	0.025
<i>A. calcoaceticus</i> (31)	MFLX	0.006 ~ 0.2	0.025	0.05
	CPFX	0.025 ~ 1.56	0.2	0.39
	SPFX	0.006 ~ 0.2	0.012	0.1
	TFLX	0.006 ~ 0.2	0.025	0.05
	LVFX	0.025 ~ 0.78	0.1	0.2
<i>M. B) catarrhalis</i> (23)	MFLX	0.006 ~ 0.012	0.006	0.012
	CPFX	0.006 ~ 0.012	0.012	0.012
	SPFX	0.012 ~ 0.025	0.025	0.025
	TFLX	0.006 ~ 0.025	0.006	0.012
	LVFX	0.025 ~ 0.05	0.05	0.05

Inoculum size: 10⁶ CFU/mL

Table 3. Influence of inoculum size on antibacterial activity

Organism	Inoculum size (CFU/mL)	MIC (µg/mL)				
		MFLX	CPFX	SPFX	TFLX	LVFX
<i>S. aureus</i> Smith	6.2 × 10 ⁸	0.05	0.2	0.1	0.05	0.1
	6.2 × 10 ⁷	0.025	0.2	0.05	0.025	0.1
	6.2 × 10 ⁶	0.025	0.2	0.05	0.025	0.1
	6.2 × 10 ⁵	0.025	0.1	0.05	0.025	0.1
	6.2 × 10 ⁴	0.025	0.1	0.05	0.025	0.1
<i>E. coli</i> KC-14	7.3 × 10 ⁸	0.05	0.025	0.025	0.025	0.025
	7.3 × 10 ⁷	0.025	0.006	0.012	0.012	0.012
	7.3 × 10 ⁶	0.025	0.006	0.012	0.012	0.012
	7.3 × 10 ⁵	0.025	0.006	0.012	0.012	0.012
	7.3 × 10 ⁴	0.025	0.006	0.012	0.006	0.012
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	2.2 × 10 ⁸	0.1	0.025	0.1	0.05	0.05
	2.2 × 10 ⁷	0.05	0.025	0.05	0.05	0.05
	2.2 × 10 ⁶	0.05	0.012	0.05	0.05	0.05
	2.2 × 10 ⁵	0.05	0.012	0.05	0.025	0.05
	2.2 × 10 ⁴	0.05	0.012	0.05	0.025	0.025
<i>P. aeruginosa</i> E-2	2.1 × 10 ⁹	3.13	0.78	6.25	0.78	6.25
	2.1 × 10 ⁸	3.13	0.39	3.13	0.78	1.56
	2.1 × 10 ⁷	3.13	0.39	1.56	0.39	0.78
	2.1 × 10 ⁶	1.56	0.2	1.56	0.39	0.78
	2.1 × 10 ⁵	1.56	0.2	1.56	0.39	0.39

Medium: sensitivity test agar (Eiken)

0.2 µg/mL の範囲に分布し、MIC₉₀ は CPFX の 4 倍であったが、SPFX、TFLX および LVFX の 1/2 ~ 1/4 であった。

11) *Providencia rettgeri*

MFLX の *P. rettgeri* 33 株 に対する MIC は 0.025 ~ 25

µg/mL の範囲に分布し、MIC₉₀ は他薬剤とほぼ同等であった。

12) *Pseudomonas aeruginosa*

MFLX の *P. aeruginosa* 94 株 に対する MIC は 0.2 ~ >

Table 4. Influence of various media on antibacterial activity

Organisms	Medium	MIC ($\mu\text{g/mL}$)				
		MFLX	CPFEX	SPFX	TFLX	LVFX
<i>S. aureus</i> Smith	NA	0.012	0.1	0.05	0.025	0.1
	TSA	0.025	0.2	0.05	0.025	0.1
	HIA	0.012	0.1	0.05	0.012	0.1
	BHIA	0.025	0.2	0.05	0.025	0.1
	STA	0.025	0.1	0.05	0.025	0.1
<i>E. coli</i> KC-14	NA	0.025	0.006	0.025	0.012	0.012
	TSA	0.05	0.006	0.012	0.025	0.025
	HIA	0.012	0.006	0.012	0.012	0.012
	BHIA	0.025	0.006	0.025	0.012	0.025
	STA	0.025	0.006	0.012	0.012	0.012
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	NA	0.05	0.025	0.05	0.025	0.05
	TSA	0.1	0.05	0.05	0.05	0.1
	HIA	0.025	0.012	0.025	0.025	0.025
	BHIA	0.05	0.025	0.025	0.012	0.05
	STA	0.05	0.012	0.05	0.05	0.05
<i>P. aeruginosa</i> E-2	NA	1.56	0.2	1.56	0.39	0.78
	TSA	1.56	0.39	1.56	0.39	0.78
	HIA	1.56	0.2	1.56	0.39	0.39
	BHIA	1.56	0.2	1.56	0.39	0.78
	STA	1.56	0.2	1.56	0.39	0.78

Inoculum size: 10^6 CFU/mL

NA: nutrient agar (Nissui) TSA: trypto-soya agar (Nissui) HIA: heart infusion agar (Nissui) BHIA: brain heart infusion agar (Difco) STA: sensitivity test agar (Eiken)

Table 5. Influence of medium pH on antibacterial activity

Organism	pH	MIC ($\mu\text{g/mL}$)				
		MFLX	CPFEX	SPFX	TFLX	LVFX
<i>S. aureus</i> Smith	6	0.1	0.39	0.1	0.05	0.39
	7	0.025	0.1	0.05	0.025	0.1
	8	0.025	0.1	0.025	0.025	0.1
<i>E. coli</i> KC-14	6	0.39	0.1	0.2	0.1	0.1
	7	0.025	0.006	0.012	0.012	0.012
	8	0.012	0.006	0.012	0.012	0.012
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	6	0.78	0.39	0.39	0.2	0.78
	7	0.05	0.012	0.05	0.025	0.05
	8	0.05	0.012	0.025	0.05	0.05
<i>P. aeruginosa</i> E-2	6	12.5	1.56	6.25	1.56	3.13
	7	1.56	0.39	1.56	0.39	0.78
	8	0.78	0.1	0.39	0.39	0.78

Medium: sensitivity test agar (Eiken)

Inoculum size: 10^6 CFU/mL

50 $\mu\text{g/mL}$ の範囲に分布し, MIC_{90} は CPFEX および TFLX の 2 ~ 4 倍であったが, SPFX および LVFX と同等であった。

13) *Haemophilus influenzae*

MFLX の *H. influenzae* 25 株に対する MIC は 0.006 ~ 0.012 $\mu\text{g/mL}$ の範囲に分布し, MIC_{90} は CPFEX, SPFX および TFLX と同等であり, LVFX の 1/2 であった。

14) *Acinetobacter calcoaceticus*

MFLX の *A. calcoaceticus* 31 株に対する MIC は 0.006 ~ 0.2 $\mu\text{g/mL}$ の範囲に分布し, MIC_{90} は他薬剤の 1 ~ 1/8 であった。

15) *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*

MFLX の *M(B) catarrhalis* 23 株に対する MIC は 0.006 ~ 0.012 $\mu\text{g/mL}$ の範囲に分布し, MIC_{90} は他薬剤と

Table 6. Influence of horse serum on antibacterial activity

Organism	Horse serum (%)	MIC (μg/mL)				
		MFLX	CPFX	SPFX	TFLX	LVFX
<i>S. aureus</i> Smith	0%	0.025	0.1	0.05	0.025	0.1
	10%	0.025	0.1	0.05	0.012	0.1
	25%	0.025	0.1	0.05	0.012	0.1
	50%	0.025	0.05	0.05	0.025	0.1
<i>E. coli</i> KC-14	0%	0.025	0.006	0.012	0.012	0.012
	10%	0.012	0.006	0.012	0.012	0.012
	25%	0.012	0.006	0.012	0.012	0.012
	50%	0.025	0.006	0.012	0.025	0.025
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	0%	0.05	0.012	0.05	0.025	0.05
	10%	0.05	0.012	0.05	0.025	0.05
	25%	0.05	0.012	0.05	0.025	0.025
	50%	0.05	0.012	0.05	0.05	0.1
<i>P. aeruginosa</i> E-2	0%	1.56	0.39	1.56	0.78	0.78
	10%	0.78	0.2	0.78	0.39	0.78
	25%	1.56	0.2	0.78	0.39	0.39
	50%	1.56	0.2	0.78	0.78	0.78

Medium: sensitivity test agar (Eiken)

Inoculum size: 10⁶ CFU/mL

同等あるいはそれ以上であった。

3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

S. aureus Smith, *E. coli* KC-14, *K. pneumoniae* KC-1 および *P. aeruginosa* E-2 を試験菌として, 抗菌力に及ぼす培地の種類, 培地の pH, 馬血清添加および接種菌量の影響について検討し得られた結果を Table 3~6 に示した。MFLX の抗菌力は, 他薬剤同様, 接種菌量, 培地および血清添加の影響をほとんど受けなかった。培地の pH を 6.0, 7.0 および 8.0 に調製し抗菌力を測定した結果, MFLX は酸性側で抗菌力が低下する傾向が認められた。この培地 pH の影響は, 他薬剤においても同程度認められた。

4. 増殖曲線に及ぼす影響

S. aureus Smith, *E. coli* KC-14 および *P. aeruginosa* E-2 を試験菌として, MFLX, CPFX および SPFX の増殖曲線に及ぼす影響を検討し, その結果を Fig. 1 に示した。

MFLX は濃度依存的な作用を示し, MIC 以上の濃度で殺菌的に作用した。4 MIC 濃度 1 時間作用で生菌数は, *S. aureus* では約 1/10 となり, *E. coli* および *P. aeruginosa* では約 1/1,000 以下となった。また比較薬として用いた他のキノロン系薬でも濃度に対応した殺菌力が認められた。

5. 微分干渉顕微鏡による形態観察

S. aureus Smith および *E. coli* K-12 について MFLX を作用させた時の形態変化を微分干渉顕微鏡を用いて観察した。薬剤作用 3 時間後の変化を Fig. 2 に示した。*S. aureus* Smith においては, 1/4 MIC 濃度に相当する 0.006 μg/mL で菌体の膨化が, MIC 濃度 (0.025 μg/mL)

以上で溶菌像が認められた。*E. coli* K-12 においては, 1/16 MIC 濃度相当の 0.00078 μg/mL から菌体の著しい伸長が観察され, 4 MIC 濃度 (0.05 μg/mL) 以上で菌体内部に顆粒構造が観察された。

6. 共焦点レーザー顕微鏡による形態観察

MFLX の *S. aureus* 209 P-JC および *E. coli* K-12 に対する形態学的変化を LSM を用いて検討した。対照薬として, 細胞壁合成阻害薬であり核酸合成に無影響の PIPC を用い, 得られた画像を Fig. 3 に示した。1/4 MIC 濃度の MFLX (0.012 μg/mL) を処理した *S. aureus* 209 P-JC において, 細胞の膨化および無核の娘細胞が観察された。一方 1/2 MIC 濃度の PIPC (0.39 μg/mL) を処理した際, 核構造の分布には影響が認められなかった。1/2 MIC 濃度の MFLX (0.025 μg/mL) または PIPC (1.56 μg/mL) を処理した *E. coli* K-12 において, 菌の著しい伸長化が観察され, PIPC では数個の核を有する多核細胞であったが, MFLX ではすべての細胞が単核であった。

7. マウス実験的全身感染症に対する治療効果

マウス実験的全身感染症に対する治療効果を *S. aureus* Smith, *S. pneumoniae* Type III, *S. pyogenes* C-203, *E. coli* KC-14, *K. pneumoniae* KC-1 および *P. aeruginosa* Nc-5 を用いて検討し, その結果を Table 7 に示した。

S. aureus Smith および *S. pneumoniae* Type III 感染に対する MFLX の ED₅₀ は 0.0137 および 1.72 mg/mouse で, SPFX と同等であり, CPFX および LVFX より 2~8 倍以上優れた効果を示した。*S. pyogenes* C-203 感染に対して MFLX の ED₅₀ は, 0.195 mg/mouse であり, 他薬剤

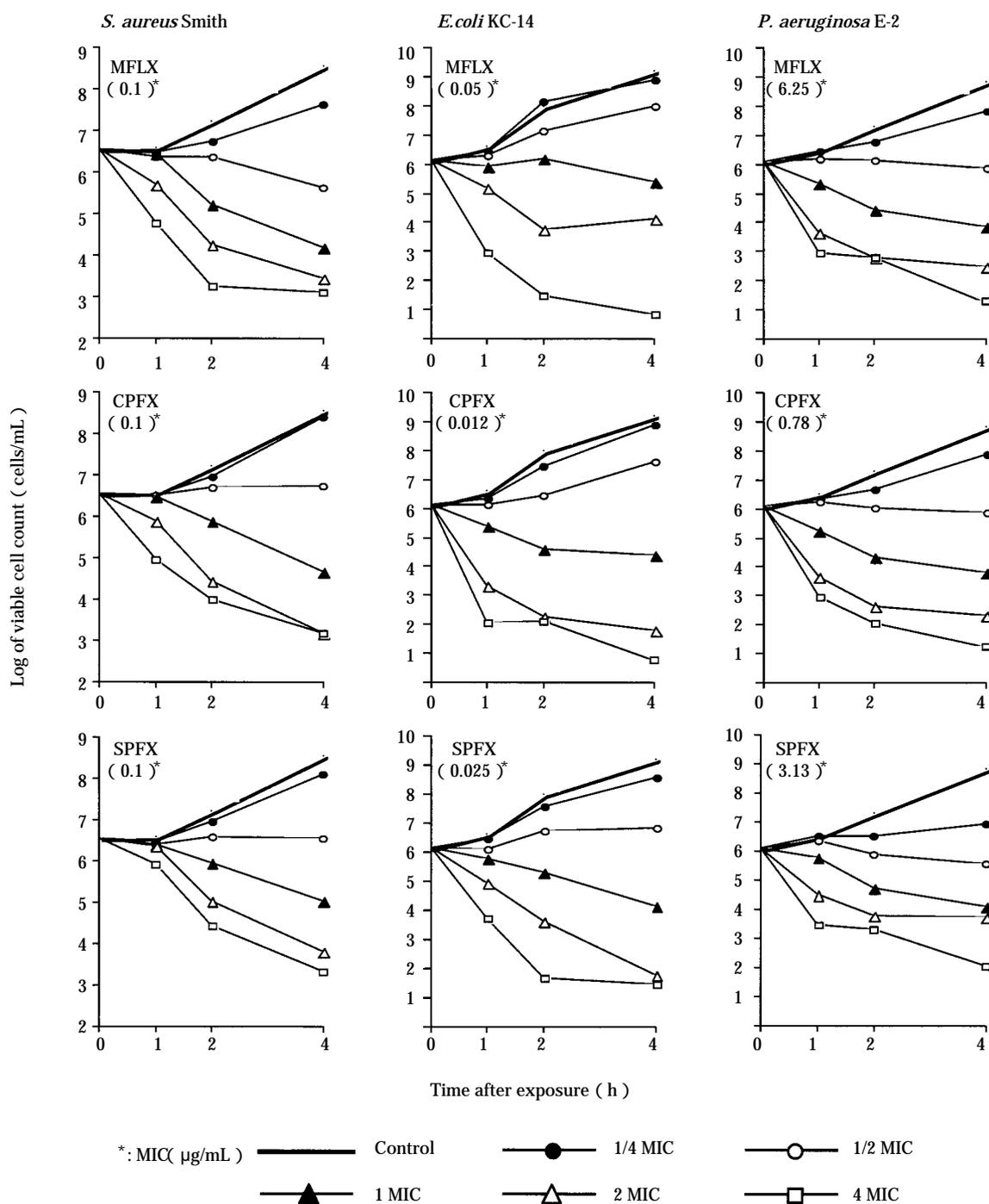


Fig. 1. Bacterial killing kinetic curves of MFLX, CPFX, and SPFX for *S. aureus* Smith, *E. coli* KC-14, and *P. aeruginosa* E-2.

より3~12倍も優れた効果を示した。

E. coli KC-14 および *K. pneumoniae* KC-1 感染に対して MFLX は、SPFX および LVFX より3~6倍程度劣るものの、CPFX とほぼ同等の効果を示した。一方、*P. aeruginosa* Nc-5 感染に対して MFLX の効果は、他薬剤よりも劣っていた。

8. マウス実験的呼吸器感染症に対する治療効果

マウス実験的呼吸器感染症に対する治療効果を *S.*

pneumoniae KR-1 を用いて検討し、得られた結果を Table 8 に示した。MFLX, CPFX, SPFX および LVFX の本菌に対する MIC はそれぞれ 0.2, 1.56, 0.39 および 0.78 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。MFLX の ED₅₀ は、SPFX とほぼ同等であり、CPFX および LVFX より3~5倍以上の優れた治療効果を示した。

III. 考 察

MFLX はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して優

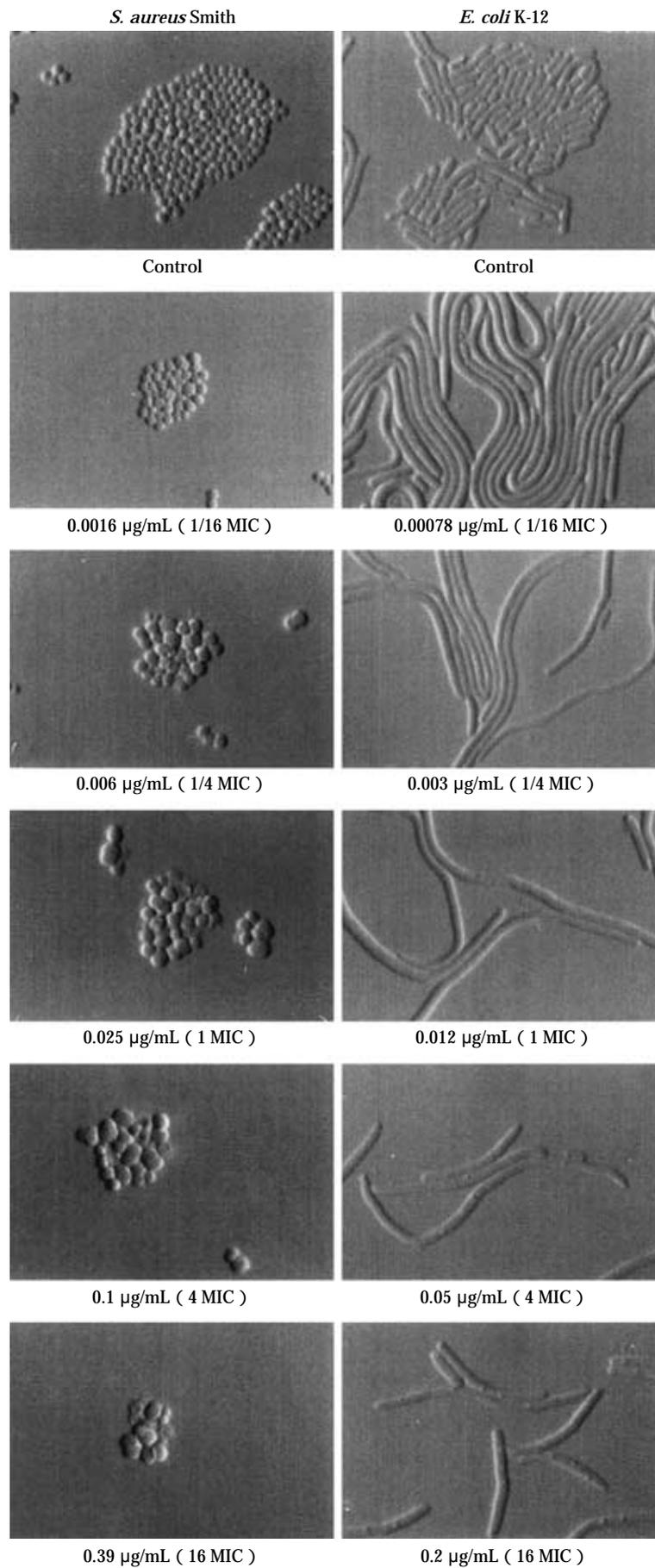


Fig. 2. Differential interference micrographs of cells exposed to MFLX for 3 hours.

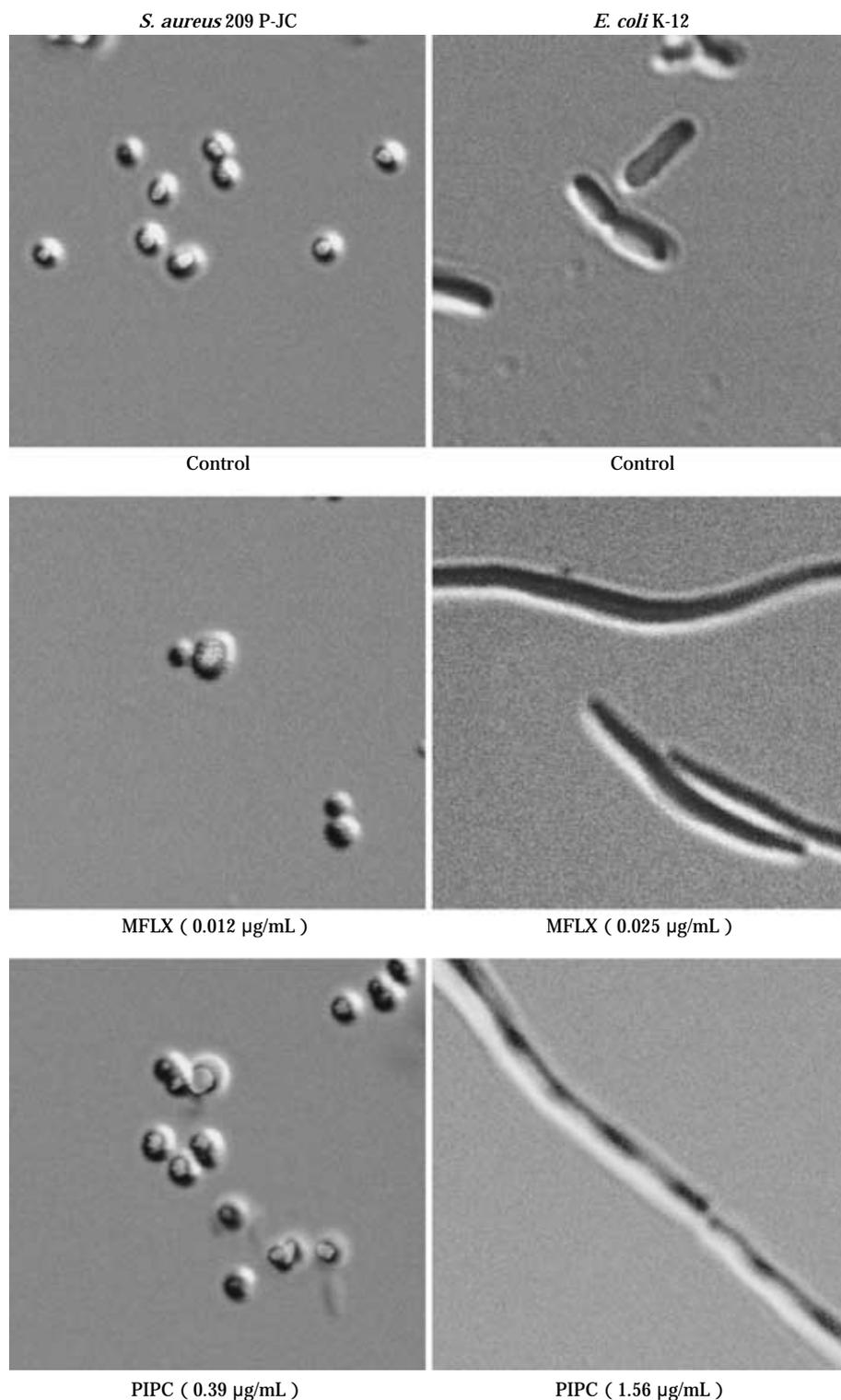


Fig. 3. LSM images of *S. aureus* 209 P-JC and *E. coli* K-12 cells exposed to MFLX and PIPC. The nucleoids of *S. aureus* 209 P-JC and *E. coli* K-12 have been stained with DAPI (4,6-diamino-2-phenyl-indole) and SYTO 13, respectively.

れた抗菌力を示し、広い抗菌スペクトラムを有していた。各種臨床分離株においても同様であり、特にグラム陽性菌に対して優れた抗菌力を示した。メチシリン耐性およびキノロン耐性の *S. aureus* および *S. epidermidis* にお

いて、他薬剤と同様に MIC_{90} の上昇が認められたが、他薬剤と同等あるいはそれ以上の抗菌力を示し、またメチシリン耐性 *S. pneumoniae* において感受性の低下は認められなかった。MFLX は特に *S. pneumoniae* (PSSP およ

Table 7. Protective effect of MFLX and other quinolones against experimental systemic infection in mice

Organism Challenge dose (CFU/mouse)	Drug	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	ED ₅₀ (mg/mouse) (95% confidence limit)
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith ¹⁾ 6.6 × 10 ⁵ (75 LD ₅₀)	MFLX	0.025	0.0137 (0.00897 ~ 0.0213)
	CPFX	0.1	0.111 (0.0665 ~ 0.161)
	SPFX	0.05	0.0110 (0.00778 ~ 0.0147)
	LVFX	0.1	0.0285 (0.0186 ~ 0.0401)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type III 1.1 × 10 ² (54 LD ₅₀)	MFLX	0.05	1.72 (1.23 ~ 2.44)
	CPFX	0.39	> 4.0
	SPFX	0.1	1.39 (0.953 ~ 2.02)
	LVFX	0.39	3.64 (2.45 ~ 18.3)
<i>Streptococcus pyogenes</i> C-203 8.0 × 10 ¹ (82 LD ₅₀)	MFLX	0.1	0.195 (0.145 ~ 0.241)
	CPFX	0.39	2.35 (5.23 ~ 7.84)
	SPFX	0.39	0.600 (0.475 ~ 0.820)
	LVFX	0.78	0.554 (0.387 ~ 0.773)
<i>Escherichia coli</i> KC-14 ¹⁾ 5.8 × 10 ⁵ (2389 LD ₅₀)	MFLX	0.025	0.0260 (0.0190 ~ 0.0329)
	CPFX	0.012	0.0130 (0.00951 ~ 0.0164)
	SPFX	0.012	0.00469 (0.00371 ~ 0.00640)
	LVFX	0.012	0.00568 (0.00439 ~ 0.00708)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1 ¹⁾ 2.5 × 10 ³ (1227 LD ₅₀)	MFLX	0.05	0.0474 (0.0362 ~ 0.0620)
	CPFX	0.012	0.0375 (0.0297 ~ 0.0512)
	SPFX	0.025	0.0150 (0.0110 ~ 0.0202)
	LVFX	0.05	0.0187 (0.0148 ~ 0.0256)
<i>P. aeruginosa</i> Nc-5 ¹⁾ 5.5 × 10 ⁶ (205 LD ₅₀)	MFLX	0.2	0.448 (0.336 ~ 0.595)
	CPFX	0.1	0.0929 (0.0641 ~ 0.135)
	SPFX	0.1	0.105 (0.0791 ~ 0.139)
	LVFX	0.1	0.0980 (0.0648 ~ 0.149)

Calculated by the probit method Challenge: i.p.,¹⁾ suspended in 5% mucin

Administration: p.o., 2 hours after infection

Mouse: ddY strain, male, 4 weeks, 18 ± 1 g, n = 10

Table 8. Protective effect of MFLX and other quinolones against experimental pneumonia caused by *S. pneumoniae* KR-1 in mice

Drug	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	ED ₅₀ (mg/mouse) (95% confidence limit)
MFLX	0.2	0.728 (0.347 ~ 1.57)
CPFX	1.56	> 4.0
SPFX	0.39	0.521 (0.220 ~ 0.960)
LVFX	0.78	> 2.0

Calculated by the probit method

Challenge: intranasal infection (1.3 × 10⁷ CFU/mL)

Administration: p.o., 3, 24, and 48 hours after infection

Mouse: ddY strain, male, 4 weeks, 18 ± 1 g, n = 5

び PRSP), *H. influenzae* および *M(B) catarrhalis* に対して強い抗菌力を示したことから, 呼吸器感染症の起因菌に十分な抗菌力を示すと考えられた。

MFLX の抗菌力は, 使用したいずれの菌種においても, 培地の種類, 馬血清添加および接種菌量の影響をほとんど受けなかったが, 培地 pH が酸性側の時に他薬剤と同様に抗菌力の低下が認められた。また *S. aureus*, *E. coli* および *P. aeruginosa* に対する増殖曲線に及ぼす影響で

は, MIC 以上の濃度で殺菌的に作用した。一方, 形態観察において *S. aureus* および *E. coli* に対して, MFLX は Sub-MIC 濃度で菌を膨化または伸長化させ, 共焦点レーザー顕微鏡による核の観察により DNA 合成を阻害することが示唆された。

マウス実験の全身感染症において MFLX はグラム陰性菌に対しては他薬剤より若干劣ったものの, グラム陽性菌に対しては優れた治療効果を示した。マウス実験的呼吸器感染症において MFLX は SPFX とほぼ同等で, CPFX および LVFX より優れた治療効果を示した。

以上 MFLX の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力を比較検討した結果, MFLX はグラム陽性菌に対して優れた抗菌力および治療効果を示し, キノロン耐性菌に対しても他薬剤より 1~8 倍の抗菌力を示した。また *in vitro* および *in vivo* において呼吸器疾患の起因菌に対して特に優れた抗菌力を示すことから, 本薬剤は呼吸器感染症をはじめとして, 優れた効力が期待される。

文 献

- 1) Dalhoff A, Petersen U, Endermann R: In vitro activity of BAY 12-8039, a new 8-methoxyquinolone. *Chemother* 42: 410 ~ 425, 1996

- 2) Woodcock J M, Andrews J M, Boswell F J, et al: In vitro activity of BAY 12-8039, a new fluoroquinolone. Antimicrob Agent Chemother 41: 101 ~ 106, 1997
- 3) Bauernfeind A: Comparison of the antibacterial activities of the quinolones Bay 12-8039, gatifloxacin (AM 1155) trovafloxacin, clinafloxacin, levofloxacin and ciprofloxacin. J Antimicrob Chemother 40: 639 ~ 651, 1997
- 4) 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改定について。Chemotherapy 29: 76 ~ 79, 1981
- 5) Hiraga S, Niki H, Ogura T, et al: Chromosome partitioning in *Escherichia coli*: Novel mutants producing anucleate cells. J Bacteriol 171: 1496 ~ 1505, 1989

In vitro and *in vivo* antibacterial activity of moxifloxacin, a novel quinolone antibacterial agent

Takeshi Nishino and Masako Otsuki

Department of Microbiology, Kyoto Pharmaceutical University, 5 Nakauchi, Misasagi, Yamashina-ku, Kyoto, Japan

The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of moxifloxacin (MFLX) a synthetic chemotherapeutic agent, was assessed by using ciprofloxacin (CPFX), sparfloxacin (SPFX), tosufloxacin (TFLX) and levofloxacin (LVFX) as comparators. The following results were obtained:

1 . MFLX exhibited antibacterial activity against a broad spectrum of both gram-positive and gram-negative microorganisms.

2 . The antibacterial activity of MFLX against most gram-positive clinical isolates was equivalent or superior to that of other antibacterial agents. It was also equipotent or superior to other drugs against gram-negative microorganisms except *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, and *Pseudomonas aeruginosa*. The antibacterial activity of MFLX was lower against LVFX-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* than against sensitive strains, the same as the other drugs, but its activity was 1 to 8 times greater than that of the other drugs.

3 . The antibacterial activity of MFLX was unaffected by the type of medium, addition of serum, or by the size of the microorganism inoculum, but low pH of medium decrease its activity.

4 . The effects of MFLX on the growth curve of *S. aureus*, *Escherichia coli*, and *P. aeruginosa* revealed that its action was bactericidal at concentrations above the MIC, and incubation with the drug at 4 MICs for one hour decreased the viable cell count of these bacteria to between 1/10 and less than 1/1,000 of their original values.

5 . Examination of the morphology of *S. aureus* and *E. coli* with a differential interference microscope revealed swelling of *S. aureus* cells above 1/4 MIC, and prominent elongation of *E. coli* cells above 1/16 MIC. Cell lysis was also observed above the MIC.

6 . The effect of MFLX on morphological changes in *S. aureus* and *E. coli* was investigated with a laser scanning microscope (LSM). MFLX induced anucleate daughter cells in *S. aureus* at 1/4 times the MIC. The elongated cells *E. coli* were multinucleate in piperacillin (cell wall synthesis inhibitor) but unicleate in MFLX at 1/2 the MIC.

7 . Assessment of the therapeutic effect of MFLX on experimental generalized infection in mice demonstrated that it was less effective than the comparators against gram-negative microorganisms, but equally or more effective than SPFX and superior to CPFX and LVFX against gram-positive bacteria.

8 . Assessment of the therapeutic effects of MFLX on experimental respiratory tract infection in mice yield excellent results, showing that it was almost equally as effective as SPFX and more than 3 to 5 times as effective as CPFX and LVFX.