

【原著・基礎】

Moxifloxacin の *in vitro* 抗菌力の検討

井上 松久・佐藤 優子・岡本 了一

北里大学医学部微生物学*

(平成17年9月21日受付・平成17年10月18日受理)

8 メトキシニューキノロン系薬 moxifloxacin (MFLX) の *in vitro* 抗菌力について, tosylfloxacin (TFLX), levofloxacin (LVFX), ampicillin (ABPC), cefpodoxime (CPDX), clarithromycin (CAM) および vancomycin (VCM) を比較薬として検討し, 以下の成績を得た。

1. MFLX の臨床分離菌株に対する抗菌力は, methicillin 耐性 *Staphylococcus aureus* (MRSA) および *Enterococcus faecium* において MIC₉₀ 値が 64 μg/mL と高値であったが, その他の菌種に対する MIC₉₀ 値は 0.03 ~ 2 μg/mL と優れた値を示した。特に methicillin 感受性 *S. aureus* (MSSA), *Streptococcus* 属, *Haemophilus influenzae* および *Moraxella catarrhalis* などの呼吸器感染症の起炎菌に対して MFLX は強い抗菌活性を示した。

2. *gyrA* の変異に加えて *gria* の変異を有する *S. aureus* 2 株および *gyrA* の変異を有する *Escherichia coli* の 1 株に対する MFLX の MIC 値は, 比較薬と同様に高い値を示したが, その他の DNA ジャイレースまたは Topo IV 変異株に対して MFLX は, 強い抗菌力を示した。また VCM 耐性 *Enterococcus faecalis* および *E. faecium* (VRE) に対する CPDX および VCM の MIC 値は 32 ~ > 128 μg/mL と, 高度耐性を示したが, MFLX の MIC 値は 1 ~ 8 μg/mL と, TFLX および LVFX とほぼ同等の値を示した。

Key words: moxifloxacin, clinical isolate, drug resistance, MIC

Moxifloxacin (MFLX) はドイツ・バイエル社により創製された新規の 8 メトキシニューキノロン系薬である。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を網羅するとともに, 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, わが国において分離される臨床分離菌株に対する MFLX の抗菌力を明らかにするために, 1996 ~ 1998 年に分離同定された新鮮臨床分離菌株に対する MFLX の *in vitro* 抗菌活性を測定し, セフェム系の cefpodoxime (CPDX), ペニシリン系の ampicillin (ABPC), グリコペプチド系の vancomycin (VCM), マクロライド系の clarithromycin (CAM), およびニューキノロン系の tosylfloxacin (TFLX), levofloxacin (LVFX) のそれと比較検討した。

I. 材料と方法

1. 使用菌株

臨床分離株は 1996 年から 1998 年に北里大学病院等において分離同定された 356 株と, 英国および日本で分離されたキノロン耐性 *Streptococcus pneumoniae* (QRSP) 18 株, 計 374 株を使用した。*S. pneumoniae* は, ABPC の MIC 値が 0.06 μg/mL 以下を ABPC 感受性株 (PSSP), 0.12 ~ 1 μg/mL を ABPC 中等度耐性株 (PISP), 2 μg/mL 以上を ABPC 耐性株 (PRSP) とした。

Staphylococcus aureus の *norA*, *gyrA* および *gria* の各変異株はわれわれが先に報告した菌株⁴⁾を, *Escherichia coli* の *gyrA* または *gyrB* 変異株は大日本製薬から分与された保存株を用いた。また, VCM 耐性 *Enterococcus faecalis* および *Enterococcus faecium* は米国ベクトン社より臨床分離株を入手し, 当教室にて保存してある株を使用した。その他の本実験に使用した臨床分離菌等は, すべて当教室に保存してある株を用いた。

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。対照薬剤として, TFLX (ダイナボット), LVFX (第一製薬), ABPC (明治製薬), CPDX (三共), CAM (大正製薬) および VCM (塩野義製薬) の原末を使用した。すべての薬剤は力価換算して使用した。

3. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

前培養に Sensitive test broth (日水製薬) を, 感受性用に sensitivity disk agar (SDA, mueller hinton agar: 日水製薬) を用いて, 日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法⁵⁾ に準じた寒天平板希釈法を用いて, MIC の測定を行った。ただし, *Streptococcus* 属については, 10% 馬脱線維血添加 SDA を, *Haemophilus influenzae* には 5% Fildes enrichment 添加 SDA を用いた。臨床分離株および各種変異株ともに 3 ~ 5 × 10⁶ CFU/mL の菌液

* 神奈川県相模原市北里 1 15 1

Table 1. Antibacterial activity of moxifloxacin and other antimicrobial agents against clinical isolates

Organism (No. of isolates)	Compound	MIC ($\mu\text{g/mL}$)		
		Range	50%	90%
<i>S. aureus</i> Methicillin-susceptible (58)	moxifloxacin	0.03 ~ 0.25	0.06	0.12
	tosufloxacin	0.03 ~ 0.25	0.06	0.06
	levofloxacin	0.12 ~ 0.5	0.25	0.25
	ampicillin	0.12 ~ 16	2	4
	cefpodoxime	0.5 ~ 4	2	4
	clarithromycin	0.12 ~ > 128	0.25	1
	vancomycin	0.5 ~ 2	1	2
<i>S. aureus</i> Methicillin-resistant (60)	moxifloxacin	0.03 ~ 64	2	64
	tosufloxacin	0.03 ~ 64	4	32
	levofloxacin	0.25 ~ 64	8	64
	ampicillin	0.25 ~ 64	32	64
	cefpodoxime	4 ~ > 128	> 128	> 128
	clarithromycin	2 ~ > 128	> 128	> 128
	vancomycin	1 ~ 2	2	2
<i>S. epidermidis</i> (31)	moxifloxacin	0.06 ~ 32	0.12	2
	tosufloxacin	0.03 ~ 16	0.12	8
	levofloxacin	0.12 ~ 64	0.25	8
	ampicillin	0.12 ~ 32	2	8
	cefpodoxime	0.25 ~ > 128	4	128
	clarithromycin	0.12 ~ > 128	1	> 128
	vancomycin	0.5 ~ 2	2	2
<i>S. pyogenes</i> (25)	moxifloxacin	0.03 ~ 0.5	0.12	0.5
	tosufloxacin	0.03 ~ 0.5	0.12	0.5
	levofloxacin	0.03 ~ 2	0.5	2
	ampicillin	0.03	0.03	0.03
	cefpodoxime	0.03	0.03	0.03
	clarithromycin	0.03	0.03	0.03
	vancomycin	0.5	0.5	0.5
<i>S. agalactiae</i> (20)	moxifloxacin	0.12 ~ 2	0.12	0.5
	tosufloxacin	0.25 ~ 16	0.25	0.5
	levofloxacin	0.5 ~ 32	1	1
	ampicillin	0.12 ~ 0.25	0.12	0.12
	cefpodoxime	0.03 ~ 0.06	0.03	0.03
	clarithromycin	0.03	0.03	0.03
	vancomycin	0.5 ~ 1	0.5	1

(continue)

10 μL を寒天平板上に接種した。

II. 結 果

1. 臨床分離株に対する抗菌力

測定した各菌種に対する MIC の分布範囲, MIC₅₀ 値および MIC₉₀ 値を Table 1 に示した。この MIC₉₀ を用いて薬剤間の感受性比較を行った。

MSSA 58 株に対する MFLX の MIC₉₀ は 0.12 $\mu\text{g/mL}$, TFLX の MIC₉₀ は 0.06 $\mu\text{g/mL}$ とともに LVFX, ABPC, CPDX, CAM および VCM より 2 ~ 32 倍優れた抗菌力を有していた。一方, MRSA 60 株に対する MFLX の MIC₉₀ は 64 $\mu\text{g/mL}$ と高値を示した。この値は VCM を除く比較薬 (TFLX, LVFX, ABPC, CPDX, CAM) とほぼ同等の MIC₉₀ であった。また, *Staphylococcus epidermidis* 31 株に対する MFLX の MIC₉₀ は 2 $\mu\text{g/mL}$ であり, 本薬剤は

VCM と同様に比較薬剤のなかで優れた値を示した。

Streptococcus pyogenes 25 株および *Streptococcus agalactiae* 20 株に対する MFLX の MIC₉₀ は 0.5 $\mu\text{g/mL}$ であり, ABPC, CPDX および CAM より劣ったものの, TFLX, LVFX および VCM と同じかまたはそれ以上の抗菌力を示した。PSSP 21 株に対する MFLX の MIC₉₀ は 0.5 $\mu\text{g/mL}$ であり, TFLX と同等, ABPC より劣る値であったが, LVFX より 4 倍優れた値であった。PISP 13 株に対する MFLX の MIC₉₀ は 0.25 $\mu\text{g/mL}$ であり, TFLX と同等, LVFX および ABPC より 4 倍優れていた。また, PRSP 5 株に対する MFLX の MIC はすべて 0.12 $\mu\text{g/mL}$ であり, TFLX と同等, LVFX および ABPC より強い値を示した。また QRSP 18 株に対する MFLX の MIC₉₀ は 2 $\mu\text{g/mL}$ であり, 明らかに QRSP での感受性の低下が認められ, こ

Organism (No. of isolates)	Compound	MIC ($\mu\text{g/mL}$)		
		Range	50%	90%
<i>S. pneumoniae</i> PSSP, PISP, PRSP, and QRSP (57)	moxifloxacin	0.12 ~ 4	0.25	2
	tosufloxacin	0.06 ~ 16	0.25	4
	levofloxacin	0.25 ~ 32	1	16
	ampicillin	0.03 ~ 8	0.03	2
	cefepodoxime	0.03 ~ 16	0.25	1
	clarithromycin	0.03 ~ > 128	4	> 128
	vancomycin	0.12 ~ 1	0.25	0.5
<i>S. pneumoniae</i> Ampicillin-susceptible ^{a)} (21)	moxifloxacin	0.12 ~ 2	0.25	0.5
	tosufloxacin	0.12 ~ 4	0.12	0.5
	levofloxacin	0.25 ~ 16	1	2
	ampicillin	0.03 ~ 0.06	0.03	0.06
<i>S. pneumoniae</i> Ampicillin-intermediate ^{b)} (13)	moxifloxacin	0.12 ~ 1	0.12	0.25
	tosufloxacin	0.06 ~ 0.5	0.12	0.25
	levofloxacin	0.5 ~ 8	1	1
	ampicillin	0.12 ~ 1	0.25	1
<i>S. pneumoniae</i> Ampicillin-resistant ^{c)} (5)	moxifloxacin	0.12		
	tosufloxacin	0.12		
	levofloxacin	0.5 ~ 1		
	ampicillin	2 ~ 8		
<i>S. pneumoniae</i> PISP and PRSP (18)	moxifloxacin	0.12 ~ 1	0.12	0.25
	tosufloxacin	0.06 ~ 0.5	0.12	0.25
	levofloxacin	0.5 ~ 8	1	1
	ampicillin	0.12 ~ 8	2	8
<i>S. pneumoniae</i> Quinolone-resistant ^{d)} (18)	moxifloxacin	0.25 ~ 4	2	2
	tosufloxacin	0.25 ~ 16	4	8
	levofloxacin	2 ~ 32	16	16
	ampicillin	0.03 ~ 2	0.03	2
<i>E. faecium</i> (57)	moxifloxacin	0.12 ~ 128	4	64
	tosufloxacin	0.03 ~ > 128	4	> 128
	levofloxacin	0.03 ~ 128	4	128
	ampicillin	0.03 ~ 128	16	64
	cefepodoxime	0.03 ~ > 128	> 128	> 128
	clarithromycin	0.12 ~ > 128	> 128	> 128
	vancomycin	0.25 ~ 2	1	1
<i>H. influenzae</i> (44)	moxifloxacin	0.03 ~ 0.12	0.03	0.03
	tosufloxacin	0.03	0.03	0.03
	levofloxacin	0.03 ~ 0.12	0.03	0.03
	ampicillin	0.06 ~ 64	0.25	32
	cefepodoxime	0.03 ~ 1	0.03	0.25
	clarithromycin	4 ~ 16	8	16
	vancomycin	> 16	> 16	> 16
<i>M. catarrhalis</i> (11)	moxifloxacin	0.03 ~ 0.06	0.06	0.06
	tosufloxacin	0.03	0.03	0.03
	levofloxacin	0.03	0.03	0.03
	ampicillin	0.12 ~ 4	2	2
	cefepodoxime	0.12 ~ 0.5	0.5	0.5
	clarithromycin	0.06 ~ 0.5	0.25	0.5
	vancomycin	> 16	> 16	> 16

^{a)} ABPC MIC 0.06 $\mu\text{g/mL}$, ^{b)} ABPC MIC 0.12 ~ 1 $\mu\text{g/mL}$, ^{c)} ABPC MIC 2 $\mu\text{g/mL}$, ^{d)} Strain isolated abroad

の値は ABPC と同程度であり，TFLX および LVFX に比べて 4~8 倍優れた抗菌活性であった。

E. faecium 57 株に対する MIC₉₀ は VCM が 1 $\mu\text{g/mL}$ と最も良好な値を示したが，本薬剤および ABPC の MIC₉₀

は 64 $\mu\text{g/mL}$ と高値であった。また TFLX, LVFX, CPDX および CAM の MIC₉₀ は 128 $\mu\text{g/mL}$ であった。

H. influenzae 44 株における MFLX の MIC₉₀ は 0.03 $\mu\text{g/mL}$ であり，TFLX および LVFX と同等，ABPC，

Table 2. *In vitro* antibacterial activity of moxifloxacin and other antimicrobial agents against quinolone-resistant strains of *S. aureus* and *E. coli*

Organism	Mutation	MIC (µg/mL)						
		MFLX	TFLX	LVFX	ABPC	CPDX	CAM	VCM
<i>S. aureus</i>	Parent	0.06	0.03	0.25	0.06	1	0.12	1
	<i>norA</i>	0.25	0.03	0.25	0.06	1	0.12	1
	<i>gyrA</i>	0.12	0.03	0.25	0.06	1	0.12	1
	<i>grlA</i>	0.12	0.12	0.5	0.06	1	0.12	1
	<i>grlA</i>	0.25	0.25	1	0.06	1	0.12	1
	<i>gyrA grlA</i>	32	8	> 128	0.06	1	0.12	1
	<i>gyrA grlA</i>	2	1	8	0.06	1	0.12	1
<i>E. coli</i>	<i>gyrA</i>	0.25	0.03	0.06	2	0.5	128	> 64
	<i>gyrA</i>	0.25	0.03	0.06	2	0.25	128	> 64
	<i>gyrA</i>	0.5	0.12	0.25	128	0.25	128	> 64
	<i>gyrA</i>	0.5	0.03	0.03	128	0.25	64	> 64
	<i>gyrA</i>	1	0.12	1	4	0.5	128	> 64
	<i>gyrA</i>	1	0.25	1	4	0.5	64	> 64
	<i>gyrA</i>	0.25	0.03	0.12	4	0.5	64	> 64
	<i>gyrA</i>	8	8	8	> 128	> 128	64	> 64
	<i>gyrA</i>	0.5	0.03	0.12	2	0.5	64	> 64
	<i>gyrA</i>	1	0.25	0.5	32	0.25	64	> 64
	<i>gyrA</i>	1	0.25	0.25	16	0.25	64	> 64
	<i>gyrA</i>	0.25	0.12	0.12	2	0.25	32	> 64
	<i>gyrB</i>	0.03	0.03	0.03	1	0.25	64	> 64
	<i>gyrB</i>	0.25	0.03	0.25	128	1	128	> 64

Table 3. *In vitro* antibacterial activity of moxifloxacin and other antimicrobial agents against VCM-resistant strains of *Enterococcus* spp.

Organism	Mutation	MIC (µg/mL)						
		MFLX	TFLX	LVFX	ABPC	CPDX	CAM	VCM
<i>E. faecalis</i>	<i>vanA</i>	4	16	16	0.5	> 128	> 128	> 64
	<i>vanB</i>	8	8	16	0.5	> 128	> 128	32
<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	2	1	2	16	> 128	> 128	> 64
	<i>vanA</i>	2	1	2	16	> 128	> 128	> 64
	<i>vanA</i>	2	1	2	32	> 128	> 128	> 64
	<i>vanA</i>	2	1	2	32	> 128	1	> 64
	<i>vanA</i>	1	1	2	4	> 128	> 128	> 64
	<i>vanA</i>	2	1	2	64	> 128	> 128	> 64
	<i>vanB</i>	2	1	4	16	> 128	1	32
	<i>vanA</i>	4	4	8	8	> 128	> 128	> 64
	<i>vanB</i>	4	8	16	0.5	> 128	> 128	32
	<i>vanB</i>	2	1	2	2	> 128	> 128	32
	<i>vanA</i>	2	1	2	128	> 128	2	> 64
	<i>vanB</i>	2	1	4	32	> 128	> 128	32
	<i>vanA</i>	2	1	2	64	> 128	128	> 64

CPDX , CAM および VCM より 8 ~ 1,024 倍以上優れていた。

Moraxella catarrhalis 11 株 に対する MFLX の MIC₉₀ は 0.06 µg/mL であり , TFLX および LVFX に比べて MIC₅₀ および MIC₉₀ が若干劣るものの , ABPC , CPDX , CAM および VCM より 8 ~ 512 倍 MIC₉₀ 比較で優れてい

た。

2 . 各種変異株に対する抗菌力

S. aureus および *E. coli* の各種変異株に対する MIC 値を Table 2 に , VCM 耐性 *E. faecalis* および *E. faecium* (VRE) に対する MIC 値を Table 3 に示す。

S. aureus の *norA* , *gyrA* または *grlA* の変異株に対す

る MFLX の MIC 値は 0.12, 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり, 元株 (0.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$) より 2~4 倍上昇したのみであった。しかし, *gyrA* の変異に加えて *grlA* の変異を有する 2 株において, MFLX の MIC 値は 2, 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり, TFLX および LVFX と同様に耐性化が認められた。

E. coli の *gyrA* 変異株に対する MFLX の抗菌活性は, 1 株で MIC 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と比較薬とともに高い MIC を示した。しかし, その他の *gyrA* 株に対する MIC は, MFLX で 0.25~1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, TFLX で 0.03~0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, LVFX で 0.03~0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と強い抗菌活性を示した。また, *gyrB* 株に対する各キノロン系薬の MIC は 0.03~0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲であった。

VRE に対する CPDX および VCM の MIC は 32~>128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり, CAM の MIC は一部の菌株 (1~2 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を除いて 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。一方, MFLX の MIC 範囲は 1~8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり, この値は TFLX および LVFX とほぼ同等であった。

III. 考 察

MFLX の臨床分離菌株に対する抗菌活性は, MRSA および *E. faecium* において MIC₉₀ が 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と高値であったが, その他の菌種に対する MIC₉₀ は 0.03~2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と優れた値を示した。特に MSSA, *Streptococcus* 属, *H. influenzae* および *M. catarrhalis* に対して MFLX が強い抗菌活性を示したことから, 本薬剤は市中呼吸器感染症の起炎菌に対して十分な抗菌力を有するものと考えられた。

MFLX は *gyrA* の変異に加えて *grlA* の変異を有する *S. aureus* 2 株および *gyrA* の変異を有する *E. coli* の 1 株に対して比較薬と同様に高い MIC を示したが, その他

の変異株に対する MIC は 0.03~1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と強い抗菌力を示した。また, VRE に対する MFLX の MIC 範囲は 1~8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と他の菌種に比べて若干高い値を示したが, TFLX および LVFX とはほぼ同等であり, CPDX, CAM および VCM に比べてより優れた値であった。

以上 MFLX の *in vitro* 抗菌力を比較検討した結果, MFLX はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して優れた抗菌力を示し, 特に市中呼吸器疾患の起炎菌に対して優れた抗菌活性が認められた。また, 3 株を除いた各種変異株に対しても, MIC は 0.03~1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と優れた抗菌力を有していた。このことから, 本薬剤は呼吸器感染症の治療薬としてその特徴が位置づけられるものと考えらる。

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) Yamagishi J, Kojima T, Oyamada Y, et al: Alterations in the DNA topoisomerase IV *grlA* gene responsible for quinolone resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agent Chemother* 40: 1157~1163, 1996
- 5) 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

In vitro antibacterial activity of moxifloxacin

Matsuhisa Inoue, Yuko Sato and Ryoichi Okamoto

Department of Microbiology, Kitasato University School of Medicine, 1-15-1 Kitasato, Sagami-hara, Kanagawa, Japan

Moxifloxacin (MFLX), a new synthetic antibacterial agent, was assessed for *in vitro* antibacterial activity in comparison with tosufloxacin (TFLX), levofloxacin (LVFX), ampicillin (ABPC), cefpodoxime (CPDX), clarithromycin (CAM) and vancomycin (VCM). The results obtained are described below:

1. Assessment of MFLX for antibacterial activity against clinical isolates reveal an MIC₉₀ against *Staphylococcus aureus* (MRSA) and *Enterococcus faecium* are above 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$, but the MIC₉₀ of MFLX against other species was lower, 0.03-2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and MFLX displayed especially potent activity against *S. aureus* (MSSA), *Streptococcus* spp., *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis*, as pathogens that cause respiratory infections.

2. The MICs of MFLX were higher against the two strains of *S. aureus* with a *grlA* mutation in addition to a *gyrA* mutation and the one strain of *E. coli* with a *gyrA* mutation, the same as the other drugs. However, MFLX exhibited potent activity against another strain with mutations in the genes encoding DNA gyrase and Topo IV. Also, the MICs of CPDX and VCM for VCM-resistant *E. faecalis* and *E. faecium* (VRE) were 32->128 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and they were highly resistant. The MICs of MFLX against those species were 1-8 $\mu\text{g}/\text{mL}$, the same as those of TFLX and LVFX.