

原 著

諸種キノロン剤の *in vitro* 抗 *Mycobacterium avium* 並びに  
*Mycobacterium intracellulare* 活性の比較

富岡 治明・佐藤 勝昌・斎藤 肇

島根医科大学微生物・免疫学教室

受付 平成4年12月16日

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF NEW QUINOLONES AGAINST *MYCOBACTERIUM*  
*AVIUM* AND *MYCOBACTERIUM INTRACELLULARE* DETERMINED  
BY THE DILUTION METHODS USING 7H11 AGAR  
AND OGAWA EGG MEDIA

Haruaki TOMIOKA, Katsumasa SATO and Hajime SAITO \*

(Received for publication December 16, 1992)

Various new quinolones were measured for their *in vitro* antimicrobial activities against *Mycobacterium avium* and *M. intracellulare* by the two-fold dilution methods using two types of media, 7H11 agar medium and 1% Ogawa egg medium. The MIC<sub>90</sub>s of test quinolones determined on 7H11 agar medium and Ogawa egg medium were as follows. *M. avium* (20 strains) : ofloxacin (OFLX), 50 and 50 µg/ml ; ciprofloxacin (CPFX), 12.5 and 25 µg/ml ; sparfloxacin (SPFX), 6.25 and 12.5 µg/ml ; fleroxacin (FLRX), 50 and 50 µg/ml ; Y-26611, 100 and 100 µg/ml ; OPC-17116, 12.5 and 50 µg/ml, for 7H11 agar and Ogawa egg medium, respectively. *M. intracellulare* (20 strains) : OFLX, 50 and 50 µg/ml ; CPFX, 25 and 25 µg/ml ; SPFX, 12.5 and 12.5 µg/ml ; FLRX, 50 and 50 µg/ml ; Y-26611, >100 and >100 µg/ml ; OPC-17116, 12.5 and >100 µg/ml, for 7H11 agar and Ogawa egg medium, respectively. Thus, the MIC values determined by the 7H11 agar medium were comparable to those by the 1% Ogawa egg medium, except for OPC-17116. Moreover, from the above MIC values, it can be regarded that the potencies of *in vitro* antimicrobial activity of test quinolones against *M. avium* are in the order of SPFX>CPFX≥OPC-17116 ≥OFLX≥FLRX>Y-26611 and those against *M. intracellulare* are in the order of SPFX>OPC-17116≃CPFX>OFLX=FLRX>Y-26611. There was found the tendency that *M. avium* has somewhat higher susceptibility to these quinolones as compared to *M. intracellulare*.

**Key words** : Quinolone, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*

**キーワード** : キノロン剤, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*

\* From the Department of Microbiology and Immunology, Shimane Medical University, Izumo, Shimane 693 Japan.

## はじめに

肺結核の治療は INH と RFP を主軸とした化学療法によって著しい向上がもたらされたが、多剤耐性菌による難治性結核に対しては優れた抗結核菌作用を有する新しい薬剤の開発が望まれている。近年、新キノロン剤が相次いで開発され、これらは結核菌に対して比較的優れた *in vitro* 抗菌活性を有することが明らかにされ<sup>1)</sup>、難治性肺結核に用いてもかなりの治療効果がみられる<sup>2)3)</sup>。他方、非結核性抗酸菌症、なかんずく *Mycobacterium avium* complex (MAC) 症に対しては弛まざる研究に関わらず、いまだ満足すべき治療効果の期待できる薬剤はなく、より優れた抗菌剤の開発が望まれている。

先にわれわれは数種の新キノロン剤の諸種抗酸菌に対する *in vitro* 抗菌活性を報告してきた<sup>4)~11)</sup> が、その検討にはミドルブルック 7H11 (あるいは 7H10) 寒天培地を用いていたため、わが国で広く用いられている小川培地を供試して得られた本剤の抗マイコバクテリア活性の成績と比較検討することは困難であった。そこで、今回は数種の本剤の *M. avium* 並びに *M. intracellulare* に対する MIC を小川培地と 7H11 寒天培地を用いて測定し、両法での成績を比較検討したので報告する。

## 材料と方法

## (1) 薬 剤

Ofloxacin (OFLX) (第一製薬), ciprofloxacin (CPF) (バイエル薬品), fleroxacin (FLRX) (杏林製薬), sparfloxacin (SPFX) (大日本製薬), OPC-17116 (大塚製薬) および Y-26611 (吉富製薬) の計 6

種の新キノロン剤を用いた。これら薬剤を 0.1N NaOH で溶解し、さらに蒸留水で希釈して、培地内最終濃度が 100~0.025  $\mu\text{g/ml}$  に至る 2 倍階段希釈薬剤が含まれるように調製した 1% 小川培地並びに 7H11 寒天培地 (Difco, USA) を用いた。

## (2) 菌 株

DNA プロブテストによって同定された *M. avium* 並びに *M. intracellulare* 各 20 株を用いた。いずれの菌株も 7H11 寒天平板上での集落形態は smooth, transparent (SmT) である。

## (3) MIC

7H9 液体培地 (Difco) 中 37°C, 3~7 日, OD=0.1 に達した培養菌を、小川培地へは 0.1% Tween 80 加生食水により 100 倍希釈したものの 0.1 ml を、また 7H11 寒天培地へは同液の 10 倍希釈したものの 5  $\mu\text{l}$  を接種した。そして、37°C で小川培地では 4 週、7H11 寒天培地では 5% CO<sub>2</sub> 環境下で 2 週培養後、集落がみられなかったか、あるいは 5 個以下の集落発生のみられた培地の最小薬剤濃度をもって供試薬剤の MIC とした。

## 結 果

*M. avium* に対する 6 種キノロン剤の MIC の分布並びに MIC<sub>50</sub> および MIC<sub>90</sub> を Table 1 に一括して示した。小川培地と 7H11 寒天培地とを問わず SPFX が最も優れた抗菌活性を有し、しかも両培地間での MIC 値に大差は認められなかった。また、他の薬剤においても、培地による抗菌活性には大差はみられず、SPFX におけると同様、7H11 寒天培地において小川培地よりも 1 濃度程度低い MIC 値を示したにとどまった。また、供試薬剤の *M. avium* に対する抗菌活性の強さは両培

Table 1 Susceptibility of *M. avium* to Various New Quinolones (n=20)

Drugs	Media	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )										
		>100	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
OFLX	Ogawa		1	2	4	5	7	1			12.5	50
	7H11			3	2	8	3	3	1		12.5	50
CPF	Ogawa				4	6	2	8			6.25	25
	7H11				1	3	3	7	6		3.13	12.5
SPFX	Ogawa				2	2	4	7	5		3.13	12.5
	7H11					2	1	3	14		1.56	6.25
FLRX	Ogawa		1	2	9	4	4				25	50
	7H11		1	2	7	6	4				12.5	50
Y-26611	Ogawa	1	5	3	5	3	2	1			25	100
	7H11	2	1	3	1	3	6	3	1		12.5	100
OPC-17116	Ogawa			3	4	6	7				12.5	50
	7H11				2	1	5	8	4		3.13	12.5

**Table 2** Susceptibility of *M. intracellulare* to Various New Quinolones (n=20)

Drugs	Media	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )										
		>100	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
OFLX	Ogawa			5	10	4	1				25	50
	7H11		1	9	9		1				25	50
CPFX	Ogawa				5	11	3	1			12.5	25
	7H11				6	8	5	1			12.5	25
SPFX	Ogawa				2	8	6	4			6.25	12.5
	7H11					3	14	3			6.25	12.5
FLRX	Ogawa		1	9	9	1					25	50
	7H11		1	8	11						25	50
Y-26611	Ogawa	11	7	2							>100	>100
	7H11	15	2	3							>100	>100
OPC-17116	Ogawa			2	12	6					25	25
	7H11					10	9	1			6.25	12.5

地での MIC 値を勘案する時, SPFX>CPFX $\geq$ OPC-17116 $\geq$ OFLX $\geq$ FLRX>Y-26611 であるといつて大過なからう。

次に6種キノロン剤の *M. intracellulare* に対する MIC は Table 2 に示した。これら薬剤のうち OPC-17116 の小川培地での抗 *M. intracellulare* 活性のみは 7H11 寒天培地におけるよりも若干劣るようであったが, その他の薬剤では両培地における MIC 値に全く差はみられなかった。また, 各薬剤の本菌群に対する MIC は供試両培地における MIC 値を勘案する時, SPFX>CPFX $\approx$ OPC-17116>OFLX=FLRX>Y-26611 であり, *M. avium* と同じ傾向を示した。また, *M. intracellulare* に対する各薬剤の MIC<sub>90</sub> は *M. avium* におけると大差なかったが, MIC<sub>50</sub> では *M. avium* の方が *M. intracellulare* よりも若干低い傾向がみられた。

## 考 察

非結核性抗酸菌症, なかなく MAC 感染症に対しては, 一般に抗結核剤が余り有効でないことから, 種々薬剤の抗 MAC 活性について検討されてきた。先にわれわれは 7H11 (あるいは 7H10) 寒天培地を用いて MAC に対する数種の新しいキノロン剤の MIC を測定してきた<sup>4)~11)</sup> が, 供試薬剤の MIC 値とその血中あるいは臓器内濃度からみて極めて有効と思われる薬剤には未だ逢着しえない。これはマクロファージ内被貪食 MAC に対する, あるいは実験的マウス MAC 感染に対する新しいキノロン剤の効果の検討によっても裏付けられているところである<sup>8)~10)</sup>。

抗菌剤の臨床的適用には薬剤の抗菌活性が最も重要で

あるが, これに加えるに薬剤の血中濃度, 組織内濃度, あるいは食菌細胞内濃度などの因子も挙げられる。わが国における抗酸菌に対する薬剤感受性試験には一般に小川培地が用いられていることから, われわれがこれまで報告してきた新しいキノロン剤の 7H11 (あるいは 7H10) 寒天培地を用いての試験成績と直接比較検討することは困難であった。そこで, 今回は小川培地と 7H11 寒天培地を用いて, 新しいキノロン剤の MAC に対する MIC を測定したところ, 多少の違いはみられたものの概して両法の成績は一致することが分かった。

先にわれわれは *M. avium* 並びに *M. intracellulare* の諸種抗酸菌に対する感受性はキノロン剤 (OFLX, CPFX) では *M. avium*>*M. intracellulare*, リファマイシン誘導体 (リファンピシン, リファブチン) では *M. avium*<*M. intracellulare*, ストレプトマイシン, カナマイシン, エタンブトールおよびクロファジミンではほぼ同様であることを報告<sup>6)</sup> した。今回の検討でも先の報告におけると同様, キノロン剤の *M. avium* に対する MIC は *M. intracellulare* のそれよりも低い傾向にあることが追認された。

今回の成績よりしても, 供試キノロン剤には単剤で MAC 感染に対し治療効果が期待できそうな薬剤はないようであった。しかしながら, われわれの最近の研究 (未発表) によれば, 実験的マウス MAC 感染に対して SPFX あるいは OFLX と KRM-1648, クラリスロマイシン, エタンブトールといった薬剤との 3~4 剤を併用投与することによって肺内 CFU の減少がみられたことから, 今後新しいキノロン剤と他剤との併用治療効果をさらに検討する必要があるものと思われる。

## 結語

新キノロン剤である OFLX, CPFX, FLRX, SPFX, OPC-17116 および Y-26611 の *M. avium* (20株) 並びに *M. intracellulare* (20株) に対する MIC を 1%小川培地並びに 7H11 寒天培地で測定し、概略以下の知見を得た。

(1) キノロン剤の MAC に対する MIC 値は兩種培地間に大差はなく、OPC-17116 を除いては一管以内の差に留まった。

(2) 兩種培地での本剤の MIC 値より、その抗菌活性の強さは、*M. avium* に対しては SPFX > CPFX ≥ OPC-17116 ≥ OFLX ≥ FLRX > Y-26611, *M. intracellulare* に対しては SPFX > CPFX = OPC-17116 > OFLX = FLRX > Y-26611 であった。

(3) *M. avium* のキノロン剤に対する感受性は *M. intracellulare* におけるよりも高かった。

## 文献

- 1) Tsukamura M : *In vitro* antimycobacterial activity of new antibacterial substance DL-8280—Differentiation between some species of mycobacteria and related organisms by the DL-8280 susceptibility test. *Microbiol Immunol.* 1983 ; 27 : 1129-1132.
- 2) Tsukamura M, Nakamura E, et al. : Therapeutic effect of a new antibacterial substance ofloxacin (DL-8280) on pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis.* 1985 ; 131 : 352-356.
- 3) 河原 伸, 永礼 旬 : 第 67 回総会シンポジウム, 難治性肺結核の治療. 新抗結核薬の検討—ニューキノロン系薬剤について, *結核.* 1992 ; 67 : 679-682.
- 4) 斎藤 肇, 佐藤勝昌, 富岡治明, 他 : 諸種抗酸菌に対する norfloxacin, ofloxacin 及び ciprofloxacin の *in vitro* 並びに *in vivo* 抗菌活性, *結核.* 1987 ; 62 : 287-294.
- 5) Saito H, Watanabe T, Tomioka H, et al. : Susceptibility of various mycobacteria to quinolones. *Rev Infect Dis.* 1988 ; 10 : S52.
- 6) Tomioka H, Sato K, Saito H, et al. : Susceptibility of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* to various antibacterial drugs. *Microbiol Immunol.* 1989 ; 33 : 509-514.
- 7) Saito H, Tomioka H, Sato K, et al. : AM-1091, *Drugs Future.* 1989 ; 14 : 931-935.
- 8) 斎藤 肇, 佐藤勝昌, 富岡治明 : Fleroxacin の *in vitro* ならびに *in vivo* 抗マイコバクテリア活性, *Chemotherapy.* 1990 ; 38 (S-2) : 75-79.
- 9) 富岡治明, 佐藤勝昌, 斎藤 肇 : Sparfloxacin の抗マイコバクテリア活性, *結核.* 1991 ; 66 : 643-649.
- 10) Tomioka H, Sato K and Saito H : Comparative *in vitro* and *in vivo* activity of fleroxacin and ofloxacin against various mycobacteria. *Tubercle.* 1991 ; 72 : 176-180.
- 11) 富岡治明, 佐藤勝昌, 斎藤 肇, 他 : ニューキノロン系薬剤 “Y-26611” の *in vitro* 並びに *in vivo* 抗マイコバクテリア活性, *結核.* 1992 ; 67 : 515-520.