

原 著

ニューキノロン系抗菌薬 levofloxacin の  
非定型抗酸菌に対する *in vitro* 活性

大 矢 聡・竹 本 淳 紀・保 坂 公 徳

埼玉県済生会川口総合病院呼吸器科

工 藤 豊

同 臨床検査科

荒 川 正 昭

新潟大学医学部第2内科

受付 平成7年4月6日

受理 平成7年7月27日

IN VITRO ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF A NEW QUINOLONE,  
LEVOFLOXACIN, AGAINST ATYPICAL MYCOBACTERIA

Satoshi OYA<sup>\*</sup>, Atunori TAKEMOTO, Kiminori HOSAKA,  
Yutaka KUDOU and Masaaki ARAKAWA

(Received 6 April 1995/Accepted 27 July 1995)

We measured the *in vitro* antimicrobial activity of a new quinolone, levofloxacin (LVFX) against seven clinically isolated species of atypical mycobacteria, including 30 strains of *M. avium* complex, 8 of *M. fortuitum*, 4 of *M. scrofulaceum*, 2 of *M. kansasii*, 2 of *M. gordonae*, and 1 of *M. chelonae* (*subsp chelonae*). LVFX showed a potent antimicrobial activity against *M. kansasii*, *M. gordonae* and *M. chelonae* (*subsp chelonae*). In addition, it was suggested that LVFX may be effective for the treatment of infections caused by *M. avium* complex, since satisfactory antimicrobial activity was displayed against some strains of *M. avium* complex.

Considering the fact that LVFX shows good concentration levels in sputum, this drug could be used in the chemotherapy against the infection with *M. avium* complex.

**Key words** : Levofloxacin, Atypical mycobacteria, Atypical mycobacteriosis

**キーワード** : レボフロキサシン, 非定型抗酸菌, 非定型抗酸菌症

\* From the Department of Respiratory Disease, Saiseikai Kawaguchi General Hospital, 5-12-1 Nisikawaguchi Kawaguchi, Saitama 322 Japan.

Table 1 *In vitro* Activity of Levofloxacin against Atypical Mycobacteria (No.1)

| Case No. | Initial | Species                 | Concentration of agent ( $\mu\text{g/ml}$ ) |      |     |     |     |     |     |
|----------|---------|-------------------------|---------------------------------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|
|          |         |                         | 0                                           | 0.25 | 0.5 | 1.0 | 2.0 | 3.0 | 5.0 |
| 1        | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 4+   | 4+  | 4+  | 3+  | 1+  | 1+  |
| 2        | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 4+   | 4+  | 3+  | 3+  | 2+  | 1+  |
| 3        | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 4+   | 3+  | 2+  | 1+  | -   | -   |
| 4        | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 4+   | 3+  | 3+  | 2+  | 1+  | -   |
| 5        | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 3+   | 3+  | 2+  | 1+  | -   | -   |
| 6        | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 4+   | 4+  | 4+  | 3+  | 3+  | 2+  |
| 7        | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 4+   | 4+  | 4+  | 4+  | 4+  | 3+  |
| 8        | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 4+   | 3+  | 3+  | 2+  | 1+  | 1+  |
| 9        | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 3+   | 2+  | -   | -   | -   | -   |
| 10       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 4+   | 3+  | 2+  | 1+  | -   | -   |
| 11       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 3+   | 3+  | 3+  | 3+  | 1+  | -   |
| 12       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 4+   | 4+  | 4+  | 4+  | 4+  | 3+  |
| 13       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 4+   | 3+  | 2+  | 1+  | -   | -   |
| 14       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 4+   | 4+  | 4+  | 4+  | 2+  | -   |
| 15       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 3+   | 2+  | 1+  | -   | -   | -   |
| 16       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 4+   | 3+  | 2+  | 1+  | 1+  | -   |
| 17       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 4+   | 4+  | 3+  | 2+  | 1+  | -   |
| 18       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 4+   | 4+  | 4+  | 4+  | 3+  | 3+  |
| 19       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 4+   | 3+  | 3+  | 2+  | 1+  | -   |
| 20       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 4+   | 3+  | 2+  | 1+  | -   | -   |
| 21       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 3+   | 2+  | 1+  | -   | -   | -   |
| 22       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 4+   | 3+  | 1+  | -   | -   | -   |
| 23       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 3+   | 2+  | 1+  | -   | -   | -   |
| 24       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 3+   | 3+  | 2+  | 1+  | 1+  | 1+  |
| 25       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex | 4+                                          | 4+   | 4+  | 4+  | 4+  | 4+  | 3+  |

## 緒言

抗酸菌感染のうち *Mycobacterium tuberculosis* 感染症（結核症）については、有効な治療法が確立しており、初回治療の場合十分完治が望める現在である。しかし非定型抗酸菌、特に *M. avium* complex (MAC) 感染症については、有効な治療法が確立されていないため、治療は非常に困難であり、予後不良である<sup>1)~5)</sup>。

近年、ニューキノロン系薬剤の抗酸菌に対する抗菌活性が報告され<sup>6)</sup>、その有用性を示す報告がなされ、臨床応用についても検討が加えられている<sup>7)</sup>。今後はその耐性化に関する問題が浮上することも予想される。

今回私たちは、ニューキノロン系薬剤のうち levofloxacin (LVFX) について、非定型抗酸菌に対する *in vitro* 抗菌活性を評価し、その抗菌活性の現状と臨床応用の有用性について検討した。

## 材料と方法

1) 菌株：1993年6月より94年11月の間に当院外来あるいは入院患者喀痰より分離され、小川培地にて2または3代継代培養された非定型抗酸菌株49株を用いた。その内訳は、*M. avium* complex 30株(61.2%)、*M. fortuitum* 8株(16.3%)、*M. nonchromogenicum* 4株(8.1%)、*M. scrofulaceum* 2株(4.1%)、*M. kansasii* 2株(4.1%)、*M. gordonae* 2株(4.1%)、*M. chelonae subsp chelonae* 1株(2.0%)であった。

2) 薬剤：LVFXは、1985年に第一製薬株式会社より発売されたラセミ体である、ofloxacin (OFLX) の一方の光学活性体である。これを、第一製薬株式会社より粉末の型で提供を受け、薬剤感受性試験に使用した。化学構造式をFig.に示す。

3) LVFXの非定型抗酸菌に対する *in vitro* 活性の評価：*in vitro* 抗菌活性の評価については、以下の

Table 1 *In vitro* Activity of Levofloxacin against Atypical Mycobacteria (No.2)

| Case No. | Initial | Species                           | Concentration of agent ( $\mu\text{g/ml}$ ) |      |     |     |     |     |     |
|----------|---------|-----------------------------------|---------------------------------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|
|          |         |                                   | 0                                           | 0.25 | 0.5 | 1.0 | 2.0 | 3.0 | 5.0 |
| 26       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex           | 4+                                          | 3+   | 2+  | 1+  | -   | -   | -   |
| 27       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex           | 4+                                          | 3+   | 2+  | 1+  | 1+  | -   | -   |
| 28       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex           | 4+                                          | 4+   | 4+  | 4+  | 4+  | 3+  | 2+  |
| 29       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex           | 4+                                          | 3+   | 3+  | 2+  | 1+  | -   | -   |
| 30       | ■■■■    | <i>M. avium</i> complex           | 4+                                          | 4+   | 3+  | 1+  | -   | -   | -   |
| 31       | ■■■■    | <i>M. fortuitum</i>               | 4+                                          | 3+   | 3+  | 2+  | 1+  | 1+  | -   |
| 32       | ■■■■    | <i>M. fortuitum</i>               | 4+                                          | 4+   | 4+  | 2+  | 1+  | -   | -   |
| 33       | ■■■■    | <i>M. fortuitum</i>               | 4+                                          | 3+   | 2+  | 1+  | -   | -   | -   |
| 34       | ■■■■    | <i>M. fortuitum</i>               | 4+                                          | 4+   | 3+  | 2+  | 1+  | -   | -   |
| 35       | ■■■■    | <i>M. fortuitum</i>               | 4+                                          | 1+   | -   | -   | -   | -   | -   |
| 36       | ■■■■    | <i>M. fortuitum</i>               | 4+                                          | 4+   | 4+  | 4+  | 2+  | 1+  | -   |
| 37       | ■■■■    | <i>M. fortuitum</i>               | 4+                                          | 4+   | 4+  | 3+  | 1+  | -   | -   |
| 38       | ■■■■    | <i>M. fortuitum</i>               | 4+                                          | 3+   | 2+  | 1+  | -   | -   | -   |
| 39       | ■■■■    | <i>M. nonchromogenicum</i>        | 4+                                          | 4+   | 4+  | 4+  | 3+  | 2+  | 1+  |
| 40       | ■■■■    | <i>M. nonchromogenicum</i>        | 4+                                          | 3+   | 3+  | 2+  | 1+  | -   | -   |
| 41       | ■■■■    | <i>M. nonchromogenicum</i>        | 4+                                          | 4+   | 3+  | 2+  | -   | -   | -   |
| 42       | ■■■■    | <i>M. nonchromogenicum</i>        | 4+                                          | 3+   | 2+  | 1+  | -   | -   | -   |
| 43       | ■■■■    | <i>M. scrofulaceum</i>            | 4+                                          | 4+   | 4+  | 4+  | 4+  | 4+  | 4+  |
| 44       | ■■■■    | <i>M. scrofulaceum</i>            | 4+                                          | 4+   | 4+  | 4+  | 4+  | 3+  | 3+  |
| 45       | ■■■■    | <i>M. kansasii</i>                | 4+                                          | 3+   | -   | -   | -   | -   | -   |
| 46       | ■■■■    | <i>M. kansasii</i>                | 4+                                          | 1+   | -   | -   | -   | -   | -   |
| 47       | ■■■■    | <i>M. gordonae</i>                | 4+                                          | 3+   | 2+  | 1+  | -   | -   | -   |
| 48       | ■■■■    | <i>M. gordonae</i>                | 4+                                          | 4+   | 3+  | 2+  | -   | -   | -   |
| 49       | ■■■■    | <i>M. chelonae subsp chelonae</i> | 4+                                          | 3+   | 1+  | -   | -   | -   | -   |

簡便な方法の力価を用いた。すなわち、LVFX の力価 100 mg を 0.1 N NaOH 3 ml に滅菌精製水 7 ml を加えた溶液で溶解し、滅菌精製水で適宜希釈した後、1% 小川培地（以下小川培地）に添加し、0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 5.0  $\mu\text{g/ml}$  の薬剤含有小川培地を作製した。臨床材料より分離した被験株を、小川培地で 37°C にて 2~3 週間培養し発育が旺盛な時期のものを約 10 mg 湿菌量とり、1% Tween 80 水溶液を 1~2 滴入れた水晶玉入りコルペンに入れ、滅菌精製水で希釈して 1~2 mg/ml の菌浮遊液をつくり接種菌液とした。これを 0.1 ml ずつ各培地に流し込み（接種生菌数換値、 $10^6$  mg/ml)<sup>8)</sup>、37°C にて培養し、2, 3 日ごとに観察した。

最終判定は、対照培地の集落が、観察に支障のない程度に発育した時点で、含薬剤培地に発育のないものを (-)、対照とほぼ等しく発育したものを (4+) とし、薬剤含有培地の発育を、(-), (1+), (2+), (3+), (4+) と記録した。これは CFU で表すと、およそ (1+) は 1~200 CFU/ml, (2+) は 200~500 CFU/ml,

(3+) は 500~2000 CFU/ml, (4+) は 2000 CFU/ml 以上となる<sup>8)</sup>。

## 結 果

被験株の発育結果を Table 1 に示した。この結果をまとめて、諸種非定型抗酸菌に対する LVFX の *in vitro* 抗菌活性を Table 2 に示す。

*M. avium* complex に対しては、30 株中その発育を阻止し得たのは、1.0, 2.0, 3.0, 5.0  $\mu\text{g/ml}$  の濃度でそれぞれ 1 株 (3.3%), 6 株 (20%), 7 株 (23.3%), 6 株 (20%) であった。5.0  $\mu\text{g/ml}$  の濃度においても 10 株 (33.3%) は発育を阻止できなかった。

*M. fortuitum* に対しては、8 株中その発育を阻止し得たのは、0.5, 2.0, 3.0, 5.0  $\mu\text{g/ml}$  の濃度でそれぞれ 1 株 (12.5%), 2 株 (25%), 3 株 (37.5%), 2 株 (25%) であった。

*M. nonchromogenicum* に対しては、4 株中その発育を阻止し得たのは、2.0, 3.0  $\mu\text{g/ml}$  の濃度でそれ

Table 2 *In vitro* Activity of Levofloxacin against Atypical Mycobacteria

| Species                                  | Number of strains |     |     |     |     |     |      |
|------------------------------------------|-------------------|-----|-----|-----|-----|-----|------|
|                                          | 0.25              | 0.5 | 1.0 | 2.0 | 3.0 | 5.0 | 5.0< |
| <i>M. avium</i> complex                  | 0                 | 0   | 1   | 6   | 7   | 6   | 10   |
| <i>M. fortuitum</i>                      | 0                 | 1   | 0   | 2   | 3   | 2   | 0    |
| <i>M. nonchromogenicum</i>               | 0                 | 0   | 0   | 2   | 1   | 0   | 1    |
| <i>M. scrofulaceum</i>                   | 0                 | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 2    |
| <i>M. kansasii</i>                       | 0                 | 2   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    |
| <i>M. gordonae</i>                       | 0                 | 0   | 0   | 2   | 0   | 0   | 0    |
| <i>M. chelonae</i> subsp <i>chelonae</i> | 0                 | 0   | 1   | 0   | 0   | 0   | 0    |

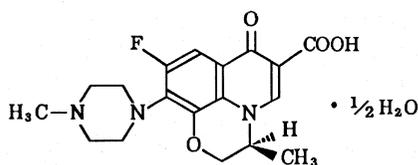


Fig. Chemical Structure of Levofloxacin

(-)-(S)-9-fluoro-2,3-dihydro-3-methyl-10-(4-methyl-1-piperazinyl)-7-oxo-7H-pyrido [1,2,3-de] [1,4] benzoxazine-6-carboxylic acid hemihydrate

ぞれ2株 (50.0%), 1株 (25%) であり, 5.0  $\mu\text{g/ml}$  においても1株その発育を阻止できなかった。

*M. scrofulaceum* の2株に対しては, 5.0  $\mu\text{g/ml}$  の濃度においても発育を阻止できなかった。

*M. kansasii* の2株に対しては, 0.5  $\mu\text{g/ml}$  において発育を完全に阻止した。

*M. gordonae* 2株に対しては, 2.0  $\mu\text{g/ml}$  において発育を完全に阻止した。

*M. chelonae* subsp *chelonae* 1株に対しては, 1.0  $\mu\text{g/ml}$  において発育を完全に阻止した。

## 考 察

現在, ニューキノロン系抗菌薬は, 一般感染症治療薬として広く臨床の場で用いられており, その中でも ofloxacin (OFLX), sparfloxacin (SPFX) は一部の非定型抗酸菌症の治療に有用であることが既に報告されている<sup>7)9)-13)</sup>。しかし, *M. avium* complex 感染症に関しては, SPFX のみが一部の菌株に良好な抗菌活性を持つと報告されているが<sup>9)-13)</sup>, 同感染症に対する治療は臨床的にも非常に困難な状況である。

新たに開発されたニューキノロン系抗菌薬 LVFX は, 偏性嫌気性菌を含むグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対し, OFLX と同様広い抗菌スペクトルを示し, その抗菌活性は OFLX の約2倍とされている<sup>14)15)</sup>。また体

液・組織内移行は良好で, 本剤 100 mg および 200 mg 単回経口投与後の喀痰内濃度は, 100 mg においては投与後 2.2~3.1 時間後に最高喀痰内濃度 1.02~1.29  $\mu\text{g/ml}$  を示し, 200 mg においては投与後 3.0~3.4 時間後に 3.11~4.23  $\mu\text{g/ml}$  を示すと報告されている<sup>16)</sup>。これが非定型抗酸菌症に対して有効な抗菌薬になりうるかを, 他剤と比較し検討した。

結果は, OFLX, SPFX 同様 *M. kansasii* に対しては, 強力な *in vitro* 抗菌活性を有しており, また *M. gordonae*, *M. chelonae* (subsp *chelonae*) に対しても, 菌株数は少ないながらも強力な *in vitro* 抗菌活性を有していた。*M. avium* complex に対しては, 2.0, 3.0  $\mu\text{g/ml}$  の濃度で 30 株中それぞれ 7 株 (23.3%), 14 株 (46.7%) の発育を阻止しており, 前述の喀痰内移行性を考慮すると, 計算上, 200 mg 投与では, 今回の菌株の 30 株中 14 株 (46.7%) の発育を阻止しており, 100 mg 投与では 30 株中 1 株の発育を阻止し得たことなる。

SPFX は, 加藤ら<sup>17)</sup> によると, *M. avium* complex 20 株に対し 1.56  $\mu\text{g/ml}$  以下で全株発育を阻止したと報告しているが, 大石ら<sup>18)</sup> の報告によれば, 4 例の患者に 1 日 300 mg の SPFX を投与した時の喀痰中最高濃度は 1.50  $\pm$  0.52  $\mu\text{g/ml}$  であり, *in vivo* では有効濃度に達しない可能性があると思われる。私たちの結果か

ら, LVFXは *M. avium* complex 感染症に対して 200 mg の投与で有用であることが示唆された。これは, SPFX<sup>9)~13)</sup> や新リファマイシン系薬剤<sup>19)20)</sup> とともに, *M. avium* complex 感染症治療薬として有用な薬剤となる可能性があり, 今後の臨床検討が待たれるところである。

### 謝 辞

薬剤をご提供いただいた第一製薬株式会社に深謝いたします。

### 文 献

- 1) Gold JWM : Mycobacterial infection in immunosuppressed patients. *Semin Respir Infect.* 1986 ; 1 : 160-165.
- 2) Epidemiologic notes and report : Disseminated tuberculosis in the acquired immunodeficiency syndrome area. *Am Rev Respir Dis.* 1991 ; 144 : 1164-1170.
- 3) Fischl MA, Daikas GL and Uttamchandani RB et al. : Clinical presentation and outcome of patients with HIV infection and tuberculosis caused by multiple-drug-resistant bacilli. *Ann Intern Med.* 1992 ; 117 : 184-190.
- 4) 鈴木公典, 山岸文雄, 佐々木結花, 他 : 肺抗酸菌症の治療中に在宅酸素療法を開始した症例の検討. *結核.* 1994 ; 69 : 357-360.
- 5) 津田美奈子, 大石尚史, 佐伯 篤, 他 : *M. avium* 感染症と *M. intracellulare* 感染症の臨床像. *結核.* 1995 ; 70 : 369-376.
- 6) 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. *Microbial Immunol.* 1983 ; 27 : 1129-1132.
- 7) 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.
- 8) 工藤祐是, 斎藤 肇, 高橋 宏 : 結核菌. 「細菌・真菌検査」, 第3版, 厚生省監修, (財)日本公衆衛生協会.
- 9) 富岡治明, 佐藤勝昌, 斎藤 肇 : 諸種キノロン剤の *in vitro* *Mycobacterium avium* 並びに *Mycobacterium intracellulare* 活性の比較. *結核.* 1993 ; 68 (5) : 367-370.
- 10) 加藤元一, 久世文幸 : ニューキノロン系抗菌薬 (sparfloxacin) の抗酸菌に対する試験管内抗菌力. *Chemotherapy.* 1991 ; 39 (S-4) : 101-106.
- 11) 河原 伸, 菅野 尚, 竹内 誠 : 新たに開発されたニューキノロン系薬剤 sparfloxacin の諸種抗酸菌に対する *in vitro* 抗菌活性. *日胸.* 1991 ; 50 : 778-782.
- 12) 河原 伸, 多田敦彦, 竹内 誠 : Sparfloxacin の抗酸菌感染症治療薬としての可能性. *結核.* 1994 ; 69 (5) : 351-356.
- 13) 永礼 旬, 河原 伸, 多田敦彦 : ニューキノロン剤の諸種抗酸菌に対する *in vitro* 抗菌活性. *結核.* 1994 ; 69 (3) : 148.
- 14) 五島瑳智子, 他 : ニューキノロン系抗菌剤 levofloxacin (DR-3355) の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用. *Chemotherapy.* 1992 ; 40 (S-3) : 14.
- 15) 渡辺邦友, 他 : Levofloxacin (DR-3355) の嫌気性菌に対する抗菌活性. *Chemotherapy.* 1992 ; 40 (S-3) : 57.
- 16) 中森祥隆, 坪井永保, 成井浩司, 他 : Levofloxacin の喀痰内移行及び慢性下気道感染症に対する臨床効果. *The Japanese Journal of Antibiotics.* 1992 ; 45 (5) : 539-547.
- 17) 加藤元一, 久世文幸 : ニューキノロン系抗菌薬 (Sparfloxacin) の抗酸菌に対する試験管内抗菌力. *Chemotherapy.* 1991 ; 39 (S-4) : 101-105.
- 18) 大石和徳, 松本慶蔵, 渡辺貴和雄, 他 : 呼吸器感染症における Sparfloxacin の有用性. *Chemotherapy.* 1991 ; 39 (S-4) : 366-377.
- 19) 富岡治明, 佐藤勝昌, 斎藤 肇 : クラリスロマイシンの *in vitro* および *in vivo* 抗マイコバクテリア活性. *結核.* 1994 ; 68 (4) : 293-299.
- 20) 小川賢二, 三輪太郎, 笹本基秀 : *Mycobacterium avium* および *Mycobacterium intracellulare* のニューマクロライド剤, ニューキノロン剤および抗結核剤に対する感受性. *結核.* 1992 ; 67 (11) : 735-738.