

原 著

諸種抗酸菌に対する ofloxacin, levofloxacin, ciprofloxacin, sparfloxacin の *in vitro* 抗菌活性の比較¹河原 伸 ¹多田 敦彦 ²永礼 旬¹国立療養所南岡山病院内科, ²臨床検査科COMPARISON OF *IN VITRO* ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF OFLOXACIN, LEVOFLOXACIN, CIPROFLOXACIN, AND SPARFLOXACIN AGAINST VARIOUS MYCOBACTERIA¹Shin KAWAHARA, ¹Atsuhiko TADA, and ²Hitoshi NAGARE¹*Department of Internal Medicine and ²Department of Clinical Laboratory, National Minami-Okayama Hospital

In vitro antimicrobial activities of ofloxacin (OFLX), levofloxacin (LVFX), ciprofloxacin (CPFX), and sparfloxacin (SPFX) were compared against various mycobacteria using the agar dilution method with 7H11 medium, and the following results were obtained.

(1) These four new quinolones showed excellent antimicrobial activities against *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, and *M. fortuitum*.

(2) SPFX was most active against slowly growing mycobacteria. The activity against *M. tuberculosis* was in the order of SPFX > CPFX > LVFX > OFLX. The activity against *M. kansasii* was in the order of SPFX > LVFX > OFLX ≥ CPFX.

(3) On the other hand, CPFX was most active against rapidly growing mycobacteria. The activity against *M. fortuitum* was in the order of CPFX > SPFX > LVFX > OFLX.

Considering the *in vitro* antimicrobial activities and the pharmacokinetics of these four drugs, they could achieve favorable clinical outcomes for all the patients with pulmonary infection due to *M. tuberculosis* or *M. fortuitum* and some of the patients with pulmonary infection due to *M. kansasii* or *M. chelonae*.

Key words: Ofloxacin, Levofloxacin, Ciprofloxacin, Sparfloxacin, Various mycobacteria, Antimicrobial activity

キーワード: Ofloxacin, Levofloxacin, Ciprofloxacin, Sparfloxacin, 諸種抗酸菌, 抗菌活性

*〒701-0304 岡山県都窪郡早島町早島 4066

* 4066 Hayashima, Hayashima-cho, Tsukubo-gun, Okayama 701-0304 Japan.
(Received 7 Sep. 2000/Accepted 27 Dec. 2000)

はじめに

近年、耐性結核菌の増加が懸念されており^{1)~3)}、また、*Mycobacterium avium* complex (MAC) を代表とする既存の抗結核薬に不応性の非結核性抗酸菌症が明らかに増加している^{4) 5)} ことより、新たな抗酸菌感染症治療薬の開発が切望されている。このような現状において、ニューキノロン薬の一部は *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. fortuitum* などの抗酸菌に対して優れた *in vitro* 抗菌活性を有し、また、臨床的にもその有用性がすでに確認されており^{6)~11)}、新たな抗酸菌感染症治療薬のひとつとして評価されている。そこで、今回われわれは抗酸菌感染症治療薬としてのニューキノロン薬の適応ならびに選択順位を検討すべく現在市販されているニューキノロン薬の中ですでにその優れた抗抗酸菌活性が知られている ofloxacin (OFLX), levofloxacin (LVFX), ciprofloxacin (CPFX), sparfloxacin (SPFX) の諸種抗酸菌に対する *in vitro* 抗菌活性を比較検討した。

材料と方法

(1) 菌株：当院保存の臨床分離菌株のうちの *M. tu-*

berculosis, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. abscessus*, *M. chelonae* の各々15株ずつで、菌の同定は Amplicor PCR あるいは DDH により行った。なお、*M. avium*, *M. intracellulare* についてはいずれも 7H11 寒天培地上、扁平で平滑で透明な集落形態 (smooth transparent) を示す菌株を使用した。

(2) 薬剤：ofloxacin (OFLX), levofloxacin (LVFX) は第一製薬株式会社より、ciprofloxacin (CPFX) はバイエル薬品株式会社より、sparfloxacin (SPFX) は大日本製薬株式会社より純末の形で受領し薬剤感受性試験に使用した。

(3) 薬剤感受性試験：7H9 broth 中 37℃ (*M. chelonae* は 33℃) で OD_{540nm} = 0.1 に達した培養菌を滅菌精製水で約 10⁶ CFU/ml になるように調整した。その希釈液 5 µl を 50 µg/ml から 0.1 µg/ml に至る 2 倍階段希釈の薬剤含有 7H11 寒天培地に microplanter (Model MIT-P, 佐久間製作所) を用いて spot し、37℃ (*M. chelonae* は 33℃) 5% CO₂ 環境下で遅発育菌は 14 日間、迅速発育菌は 7 日間培養後に発育陰性あるいは 5 コロニー以下の集落発生しかみられなかった薬剤濃度を供試菌に対する発育最小阻止濃度 (minimal inhibitory

Table 1 *In vitro* antimicrobial activities of ofloxacin (OFLX), levofloxacin (LVFX), ciprofloxacin (CPFX), and sparfloxacin (SPFX) against slowly growing mycobacteria

Organisms (No. of strains)	Drugs	MIC (µg/ml)		
		Range	50%	90%
<i>M. tuberculosis</i> (15)	OFLX	0.39 ~ 1.56	0.39	0.78
	LVFX	0.2 ~ 0.78	0.39	0.39
	CPFX	0.2 ~ 0.78	0.2	0.39
	SPFX	≤0.1 ~ 0.2	≤0.1	0.2
<i>M. avium</i> (15)	OFLX	3.13 ~ >50	12.5	>50
	LVFX	3.13 ~ >50	6.25	>50
	CPFX	0.78 ~ >50	3.13	50
	SPFX	0.39 ~ 12.5	1.56	6.25
<i>M. intracellulare</i> (15)	OFLX	25 ~ >50	>50	>50
	LVFX	12.5 ~ >50	>50	>50
	CPFX	6.25 ~ >50	50	>50
	SPFX	3.13 ~ 12.5	12.5	12.5
<i>M. kansasii</i> (15)	OFLX	0.39 ~ 6.25	0.78	6.25
	LVFX	0.2 ~ 3.13	0.39	3.13
	CPFX	0.39 ~ 3.13	1.56	3.13
	SPFX	0.2 ~ 0.78	0.2	0.2

Table 2 *In vitro* antimicrobial activities of ofloxacin (OFLX), levofloxacin (LVFX), ciprofloxacin (CPFX), and sparfloxacin (SPFX) against rapidly growing mycobacteria

Organisms (No. of strains)	Drugs	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		Range	50%	90%
<i>M. fortuitum</i> (15)	OFLX	0.39 ~ 0.78	0.78	0.78
	LVFX	≤ 0.1 ~ 0.39	0.39	0.39
	CPFX	≤ 0.1 ~ 0.39	≤ 0.1	0.2
	SPFX	≤ 0.1 ~ 0.39	0.2	0.39
<i>M. abscessus</i> (15)	OFLX	50 ~ >50	>50	>50
	LVFX	50 ~ >50	50	>50
	CPFX	12.5 ~ >50	50	>50
	SPFX	50 ~ >50	>50	>50
<i>M. chelonae</i> (15)	OFLX	0.78 ~ 50	6.25	50
	LVFX	0.39 ~ 25	3.13	25
	CPFX	0.39 ~ 6.25	1.56	6.25
	SPFX	0.39 ~ 50	3.13	50

concentration : MIC) とした。

結 果

諸種抗酸菌に対する OFLX, LVFX, CPFX, SPFX の MIC range ならびに MIC₅₀, MIC₉₀ を Table 1, Table 2 に示す。いずれの薬剤も今回検討した菌種の中では *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. fortuitum* に対して優れた抗菌活性を有していた。

菌種別で OFLX, LVFX, CPFX, SPFX の抗菌活性を比較すると, *M. tuberculosis* に対する MIC₅₀/MIC₉₀ ($\mu\text{g/ml}$) はそれぞれ 0.39/0.78, 0.39/0.39, 0.2/0.39, $\leq 0.1/0.2$ であり, SPFX, CPFX, LVFX, OFLX の順に抗菌活性が優れていた。

M. avium に対する MIC₅₀/MIC₉₀ ($\mu\text{g/ml}$) は OFLX では 12.5/>50, LVFX では 6.25/>50, CPFX では 3.13/50, SPFX では 1.56/6.25 であり, *M. tuberculosis* と同様に SPFX, CPFX, LVFX, OFLX の順に抗菌活性が優れていたが, いずれの薬剤も *M. tuberculosis* に対する抗菌活性よりは明らかに劣っていた。

M. intracellulare に対する OFLX, LVFX, CPFX, SPFX の MIC₅₀/MIC₉₀ ($\mu\text{g/ml}$) はそれぞれ >50/>50, >50/>50, 50/>50, 12.5/12.5 であり, *M. avium* に対する抗菌活性よりさらに劣る結果であった。

M. kansasii に対する OFLX, LVFX, CPFX, SPFX の MIC₅₀/MIC₉₀ ($\mu\text{g/ml}$) はそれぞれ 0.78/

6.25, 0.39/3.13, 1.56/3.13, 0.2/0.2 であり, SPFX, LVFX, OFLX, CPFX の順に抗菌活性は優れていたが, いずれの薬剤も *M. tuberculosis* に対する抗菌活性よりは劣るものの *M. kansasii* に対しては優れた抗菌活性を有していた。

M. fortuitum に対する抗菌活性は CPFX, SPFX, LVFX, OFLX の順に優れており, MIC₅₀/MIC₉₀ ($\mu\text{g/ml}$) はそれぞれ $\leq 0.1/0.2$, 0.2/0.39, 0.39/0.39, 0.78/0.78 と *M. tuberculosis* に対するのと同様の抗菌活性であった。

M. abscessus に対する抗菌活性は *M. intracellulare* に対する抗菌活性よりさらに劣り, OFLX, LVFX, CPFX, SPFX の MIC₅₀/MIC₉₀ ($\mu\text{g/ml}$) はそれぞれ >50/>50, 50/>50, 50/>50, >50/>50 であった。

M. chelonae に対する抗菌活性は *M. avium* に対するそれよりやや優れ, MIC₅₀/MIC₉₀ ($\mu\text{g/ml}$) は OFLX では 6.25/50, LVFX では 3.13/25, CPFX では 1.56/6.25, SPFX では 3.13/25 であった。

考 察

われわれはすでに OFLX, LVFX, CPFX, SPFX の優れた *in vitro* 抗抗酸菌活性を報告している^{7)~9)}が, 今回は抗酸菌感染症の治療におけるニューキノロン薬の適応ならびに選択順位を推定すべくこの4剤の抗菌活性を比較検討した。

過去の報告^{6)~9)}と同様にいずれの薬剤も *M. tuber-*

Table 3 Percentage of strains of various mycobacteria susceptible to ofloxacin (OFLX), levofloxacin (LVFX), ciprofloxacin (CPFX), and sparfloxacin (SPFX)

Species	Percentage of strains susceptible to			
	OFLX 1.56 μ g/ml	LVFX 1.56 μ g/ml	CPFX 0.78 μ g/ml	SPFX 0.78 μ g/ml
<i>M. tuberculosis</i>	100	100	100	100
<i>M. avium</i>	0	0	13	40
<i>M. intracellulare</i>	0	0	0	0
<i>M. kansasii</i>	87	87	20	100
<i>M. fortuitum</i>	100	100	100	100
<i>M. abscessus</i>	0	0	0	0
<i>M. chelonae</i>	27	47	47	33

culosis, *M. fortuitum*, *M. kansasii* に対して優れた抗菌活性を有していた。菌種別に比較検討すると、遅発育菌に対しては SPFX の抗菌活性が最も優れていたが、*M. tuberculosis* に対しては SPFX > CPFX > LVFX > OFLX の順に、*M. kansasii* に対しては SPFX > LVFX > OFLX \geq CPFX の順に抗菌活性が優れていた。一方、迅速発育菌に対しては CPFX の抗菌活性が最も優れ、*M. fortuitum* に対する抗菌活性は CPFX > SPFX > LVFX > OFLX の順に優れていた。

抗菌薬の臨床効果はその抗菌活性のみにより規定されるのではなく、抗菌薬の体内動態、マクロファージ移行性、抗菌作用特性、宿主感染防御力などいろいろな因子に左右されるが、今回は呼吸器感染症を想定して OFLX, LVFX, CPFX, SPFX の血中濃度、喀痰濃度など^{12)~15)}から、ひとまずブレイクポイントをそれぞれ 1.56 μ g/ml, 1.56 μ g/ml, 0.78 μ g/ml, 0.78 μ g/ml と設定すると、それぞれの薬剤に対する感性菌の比率は Table 3 に示すごとくで、*M. tuberculosis* と *M. fortuitum* については今回検討した 15 菌株すべてがいずれの薬剤に対しても感性であった。*M. avium* については OFLX, LVFX に対して感性菌はなく、2 株 (13%) が CPFX に、6 株 (40%) が SPFX に感性を示した。*M. intracellulare* と *M. abscessus* についてはいずれの薬剤に対しても感性菌は認められなかった。*M. kansasii* は 13 株 (87%) が OFLX, LVFX に、3 株 (20%) が CPFX に、SPFX には 15 株すべてが感性であった。*M. chelonae* については 4 株 (27%) が OFLX に、7 株 (47%) が LVFX, CPFX に、5 株 (33%) が SPFX に感性を示した。以上の結果から抗酸菌感染症治療において今回検討したニューキノロン薬 4 剤が確実に適応となるのは結核症、*M. fortuitum* 感染症であり、*M.*

intracellulare 感染症、*M. abscessus* 感染症は適応とはならないように思われた。また、*M. kansasii* 感染症、*M. chelonae* 感染症の一部がこれら 4 剤の、*M. avium* 感染症の一部が CPFX, SPFX の適応となる可能性が考えられた。

OFLX, LVFX, SPFX はわが国で、CPFX は米国で開発された経緯からわが国では OFLX, LVFX, SPFX が、欧米では CPFX が臨床の場で抗酸菌感染症治療薬として頻用されているが、LVFX はラセミ体である OFLX の光学活性 1 体で OFLX の活性本体とされており、LVFX 1 日 300 mg 投与と OFLX 1 日 600 mg 投与の呼吸器感染症ならびに尿路感染症の比較試験の成績^{16)~18)}では LVFX の副作用は OFLX のそれより明らかに少ないことより、抗酸菌感染症治療においても LVFX 300 mg 投与は OFLX 600 mg 投与と同等の効果が得られ、副作用が少ないことが想定されるため OFLX より LVFX の使用が推奨される。

現在も次々と新たなニューキノロン薬が開発されつつあるが、これらにも今回検討したニューキノロン薬よりさらに優れた抗酸菌活性を持つ可能性が秘められている。中でも gatifloxacin, moxifloxacin, gemifloxacin などの基本骨格 8 位の位置にメトキシ基を配置した「8-メトキシフルオロキノロン」は従来のニューキノロン薬より肺炎球菌、黄色ブドウ球菌、レンサ球菌などのグラム陽性菌はもとより抗酸菌に対する抗菌力も増強され^{19)~22)}、さらにはキノロン耐性グラム陽性菌にも強い活性を示す²³⁾ことよりキノロン耐性結核菌にも抗菌活性を示す可能性もあるため、抗酸菌感染症治療薬としての臨床応用に向けて今後さらなる基礎的検討を行う必要があろう。

ま と め

ニューキノロン薬である OFLX, LVFX, CPFX, SPFX の *in vitro* 抗抗酸菌活性を比較検討し、以下の結論を得た。

- ①いずれの薬剤も *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. fortuitum* に対して優れた抗菌活性を示した。
- ②菌種別に比較検討すると、遅発育菌に対しては SPFX の抗菌活性が最も優れていたが、*M. tuberculosis* に対しては SPFX>CPFX>LVFX>OFLX の順に、*M. kansasii* に対しては SPFX>LVFX>OFLX \geq CPFX の順に抗菌活性が優れていた。一方、迅速発育菌に対しては CPFX の抗菌活性が最も優れ、*M. fortuitum* に対する抗菌活性は CPFX>SPFX>LVFX>OFLX の順に優れていた。
- ③体内動態を考慮すると抗酸菌感染症治療において今回検討したニューキノロン薬4剤が適応となるのは結核症、*M. fortuitum* 感染症、および *M. kansasii* 感染症、*M. chelonae* 感染症の一部と思われる。

文 献

- 1) Frieden TR, Sterling T, Pablos-Mendez A, et al.: The emergence of drug-resistant tuberculosis in New York City. *New Engl J Med*. 1993; 328: 521-526.
- 2) Fischl MA, Uttamchandani RB, Daikos GL, et al.: An outbreak of tuberculosis caused by multiple-drug-resistant tubercle bacilli among patients with HIV infection. *Ann Intern Med*. 1992; 117: 177-183.
- 3) 結核療法研究協議会: 入院時薬剤耐性に関する研究, 1997. 平成11年度療研研究報告書. 1-7.
- 4) Horsburgh CR, Jr Selik RM: The epidemiology of disseminated nontuberculous mycobacterial infection in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Am Rev Respir Dis*. 1989; 139: 4-7.
- 5) 坂谷光則: 結核~今, こう診る, こう治す 非定型抗酸菌症の疫学と診断. 感染と抗菌薬. 1999; 2: 182-187.
- 6) Tsukamura M: *In vitro* antimycobacterial activity of a 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.
- 7) 河原 伸, 江尻東伍, 中村邦彦, 他: 肺結核症に対するピリドンカルボン酸系合成抗菌剤 ofloxacin (OFLX) の基礎的研究と臨床的検討. 日胸. 1988; 47: 1016-1020.
- 8) 河原 伸, 神坂 謙, 仲田浩之, 他: New quinolone 剤 ofloxacin, enoxacin, ciprofloxacin の抗酸菌に対する *in vitro* 抗菌力. 日胸. 1990; 49: 954-959.
- 9) 河原 伸, 菅野 尚, 竹内 誠, 他: 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.
- 10) Tsukamura M, Nakamura E, Yoshii S, et al.: Therapeutic effect of a new antibacterial substance ofloxacin (DL8280) on pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis*. 1985; 131: 352-356.
- 11) Ichiyama S, and Tsukamura M: Ofloxacin and treatment of pulmonary disease due to *Mycobacterium fortuitum*. *Chest*. 1987; 92: 1110-1112.
- 12) 那須 勝, 後藤 純, 後藤陽一郎, 他: BAY o 9867 (Ciprofloxacin) に関する基礎的研究ならびに呼吸器感染症における臨床評価. *Chemotherapy* 1985; 33 (S-7): 548-558.
- 13) 吉富祐子, 光武耕太郎, 東山康仁, 他: 呼吸器感染症に対する Sparfloxacin (SPFX) の基礎的ならびに臨床的検討. *Chemotherapy* 1991; 39 (S-4): 357-365.
- 14) 副島林造, 二木芳人, 川西正泰, 他: DL-8280 に関する基礎的研究と主として呼吸器感染症に対する臨床的検討. *Chemotherapy* 1984; 32 (S-1): 443-453.
- 15) 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. *Jpn J Antibiotics*. 1992; 45: 539-547.
- 16) 副島林造, 川根博司, 沖本二郎, 他: 慢性下気道感染症に対する Levofloxacin と Ofloxacin の二重盲検比較試験. *Chemotherapy*. 1992; 40 S-3: 97-120.
- 17) 副島林造, 川根博司, 沖本二郎, 他: 細菌性肺炎に対する Levofloxacin と Ofloxacin の二重盲検比較試験. *Chemotherapy*. 1992; 40 S-3: 121-146.
- 18) 河田幸道, 熊本悦明, 阿曾佳郎, 他: 複雑性尿路感染症に対する levofloxacin と ofloxacin の比較試験. *Chemotherapy*. 1992; 40 S-3: 230-248.
- 19) Hosaka M, Yasue T, Fukuda H, et al.: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of AM-

- 1155, a new 6-fluoro-8-methoxy quinolone. Antimicrob Agents Chemother. 1992; 36: 2108-2117.
- 20) Tomioka H, Saito H, Sato K: Comparative antimycobacterial activities of the newly synthesized quinolone AM1155, sparfloxacin, and ofloxacin. Antimicrob Agents Chemother. 1993; 37: 1259-1263.
- 21) Dalhoff A, Petersen U, Endermann R: *In vitro* activity of BAY 12-8039, a new 8-methoxy-quinolone. Chemother. 1996; 42: 410-425.
- 22) Baohong JI, Nacer L, Caroline M, et al.: *In vitro* and *in vivo* activities of moxifloxacin and cinafloxacin against *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob Agents Chemother. 1998; 42: 2066-2069.
- 23) Fukuda H, Hori S, Hiramatsu K, et al.: Antibacterial activity of gatifloxacin (AM-1155, CG 5501, BMS-206584), a newly developed fluoroquinolone, against sequentially acquired quinolone-resistant mutants and *norA* transformant of *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 1917-1922.