Cinoxacin の嫌気性菌に対する抗菌作用について

小林とよ子・磯野美登利・渡辺邦友・上野一恵
岐阜大学医学部嫌気性菌実験施設

新しく開発された合成抗菌剤 Cinoxacin について Nalidixic acid, Pipemidic acid を比較薬剤として嫌気性菌に対する *in vitro* における細菌学的評価をおこなった。

1) 本剤の抗菌スペクトラムは NA, PPA と同様に嫌気性菌とくに無芽胞嫌気性菌に対してはほとんど抗菌作用はみとめられなかった。

2) *Clostridium* に対してはある程度の抗菌力をみとめた。

3) 臨床材料および正常細菌叢由来株についても，リファレンス株と同様な成績を示した。

4) 抗菌力に及ぼす諸因子の影響については，酸性側で抗菌力は強く，アルカリ側で低下した。培地の種類，血液添加の有無，接種菌量の差により MIC 値の変動はみられなかった。

はじめに

Cinoxacin は米国 Eli Lilly 社で開発された経口用合成抗菌剤で，多くのグラム陰性桿菌に強い抗菌力を有し，MIC と MBC がほぼ等しい特徴をもっている。しかし嫌気性菌に対する抗菌力はあまり検討されていない[1~4]。

著者らは嫌気性菌に対する抗菌作用を検討したので報告する。

実験材料および方法

1) 使用薬剤

使用薬剤としては Cinoxacin (CINX), Nalidixic acid (NA), Pipemidic acid (PPA) を用いた。

2) 抗菌スペクトラム

当研究室保存のリファレンス株に対する試験管内抗菌力を，前培養に GAM ブイヨン，測定用培地に GAM 寒天培地を用い，日本化学療法学会嫌気性菌感受性測定法[5]により，37℃, 24 時間嫌気性培養後の最小発育阻止濃度 MIC (μg/ml)を求めた。嫌気性培養は Anaerobic glove box (N_2 80%, H_2 10%, CO_2 10%) を用いた。

3) 臨床材料および正常細菌叢由来の嫌気性菌に対する感受性分布

臨床材料および正常細菌叢由来の嫌気性菌のうち *B. fragilis* group 30 株, *Fusobacterium* 9 株，嫌気性の球菌 43 株, *Clostridium* 10 株に対する感受性分布を日本化学療法学会嫌気性菌感受性測定法により求めた。

4) 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

CINX の抗菌力に及ぼす培地 pH，血液添加，培地の種類，接種菌量の影響について *B. fragilis* GM 7000 株, *P variabilis* WAL 105 株を被検菌として検討した。

実験成績

1) 抗菌スペクトラム

研究室保存の *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Veillonella*, *Gaffkya*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Clostridium* に対する *in vitro* の抗菌力について検討した結果を Table 1, 2 に示した。CINX, NA, PPA 3 剤ともに同様なスペクトラムを有しており，嫌気性菌に対する抗菌力は極めて劣っている。しかし，*Clostridium* に対しては比較的優れた抗菌力を示した。すなわち，*Clostridium* 以外の嫌気性菌に対してはほとんどの菌種に 500 μg/ml 以上の MIC 値を示したが，*C. perfringens*, *C.tetani*, *C. botulinum* に対しては 6.25~62.5 μg/ml の MIC 値を示した。いずれの菌種でも接種菌量により MIC 値の大きな変動はみられなかった。

2) 臨床材料および正常細菌叢由来株に対する感受性分布

臨床材料および人の糞便，口腔，尿道の正常細菌叢から分離，同定した *Bacteroides*, *Fusobacterium*,

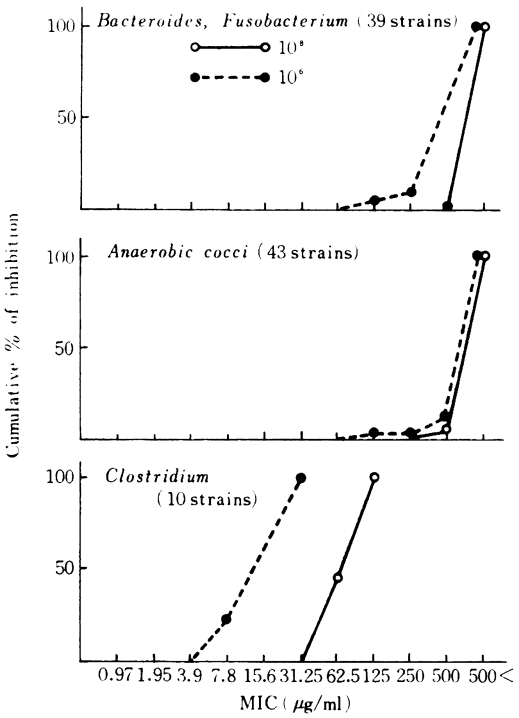
Table 1 *In vitro* susceptibilities of anaerobic gram negative rods to cinoxacin, nalidixic acid and pipemidic acid

Organism \ Drug / Inoculum size	CINX		NA		PPA	
	10^8	10^6	10^8	10^6	10^8	10^6
Bacteroides fragilis GM 7000	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Bacteroides fragilis GM 7002	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Bacteroides fragilis	500	125	500	250	500	250
Bacteroides thetaiotaomicron	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Bacteroides thetaiotaomicron	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Bacteroides thetaiotaomicron	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Bacteroides vulgatus	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Bacteroides vulgatus	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Bacteroides distasonis	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Bacteroides distasonis	500	250	>500	500	>500	500
Bacteroides ovatus	500	125	500	250	500	250
Bacteroides melaninogenicus subsp. *intermedius*	62.5	31.25	500	125	500	250
Fusobacterium nucleatum	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Fusobacterium necrophorum	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Fusobacterium varium	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Fusobacterium freundii	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Escherichia coli JC-2	6.25	3.13	6.25	3.13	6.25	3.13

Table 2 *In vitro* susceptibilities of gram positive anaerobic bacteria to cinoxacin, nalidixic acid and pipemidic acid

Organism \ Drug / Inoculum size	CINX		NA		PPA	
	10^8	10^6	10^8	10^6	10^8	10^6
Peptococcus asaccharolyticus	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Peptococcus variabilis J-125	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Peptococcus variabilis J-205	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Peptostreptococcus anaerobius	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Peptostreptococcus micros	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Peptostreptococcus productus	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Veillonella parvula	125	62.5	125	125	125	125
Gaffkya anaerobia	>500	125	>500	250	>500	250
Propionibacterium acnes	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Propionibacterium granulosum	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Propionibacterium avidum	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Bifidobacterium adolescentis	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Eubacterium limosum	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Eubacterium lentum	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Clostridium perfringens	62.5	31.25	125	125	125	125
Clostridium perfringens	125	62.5	250	250	250	250
Clostridium tetani	125	31.25	125	62.5	125	62.5
Clostridium botulinum	62.5	31.25	125	62.5	125	62.5

Fig. 1 The *in vitro* susceptibility of different genera of anaerobic bacteria isolated from clinical specimens and normal flora to cinoxacin



Peptococcus, Peptostreptococcus, Clostridium の CINX に対する MIC 値の累積百分率を Fig. 1 に示した。無芽胞嫌気性菌である *Bacteroides, Fusobacterium, Peptococcus, Peptostreptococcus* ではほとんどが 125 μg/ml 以上の MIC 値を示し，接種菌量が 10^6 cfu/ml と 10^8 cfu/ml においても同様な MIC 値を示した。一方 *Clostridium* では接種菌量により MIC 値が異なり，10^6 cfu/ml 接種では 7.8～31.2 μg/ml の MIC 値で，10^8 cfu/ml 接種では MIC 値は上昇し 62.5～125 μg/ml を示した。

3) 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

B. fragilis と *P. variabilis* を用いて抗菌力に及ぼす培地 pH，血液添加，培地の種類，接種菌量の影響を検討した結果を Table 3 に示した。

培地 pH によって *B. fragilis, P. variabilis* の MIC 値に変動がみられなかった。

血液添加の影響はみられず，5% 羊血液加 GAM 寒天と血液非添加 GAM 寒天培地では，MIC 値に差をみなかった。

培地の種類による MIC 値の差についても，GAM 寒天（ニッスイ），5% 羊血液加 Brain heart infusion agar (BBL)，5% 羊血液加 Brucella agar (BBL) の比較では，大きな変動はみられなかった。

Table 3 Effect of various factors on the antibacterial activity of cinoxacin

Factor		*B. fragilis* GM 7000	*P. variabilis* WAL 105
Medium pH	6.0	>500	>500
	7.0	>500	>500
	8.0	>500	>500
Blood	Without blood	>500	>500
	With 5% sheep blood	>500	>500
Medium	GAM medium (without blood)	>500	>500
	Brain heart infusion agar with 5% sheep blood	>500	>500
	Brucella agar with 5% sheep blood	>500	>500
Inoculum size	2×10^8	>500	>500
	2×10^7	>500	>500
	2×10^6	>500	>500
	2×10^5	>500	>500
	2×10^4	500	500

接種菌量の MIC 値に及ぼす影響は，2×10^4～2×10^8 cfu/ml では差はみられなかった。

考　察

米国 Eli Lilly 社で開発された経口用合成抗菌剤である Cinoxacin (CINX) は好気性菌ではグラム陰性桿菌群のうち，*Enterobacteriaceae* 腸内細菌科の細菌にとくに抗菌力が優れている。著者らは CINX の嫌気性菌に対する *in vitro* の細菌学的評価を CINX に類似の既知の Nalidixic acid (NA)，Pipemidic acid (PPA) を比較薬剤として検討を行なった。その結果 CINX は NA，PPA と同様に嫌気性菌に対しては強い抗菌力はみとめられなかった。とくに無芽胞嫌気性菌である *Bacteroides, Fusobacterium, Peptococcus, Peptostreptococcus, Veillonella, Gaffkya, Propionibacterium, Bifidobacterium, Eubacterium* に対する MIC 値は 125 μg/ml 以上であった。例外として *Bacteroides melaninogenicus* subsp. *intermedius* は 62.5 μg/ml であった。WICK ら[1]は *Bacteroides* 3 株，*Fusobacterium* 1 株の MIC を測定し，全菌株 >256 μg/ml で著者と同様な成績を報告している。一方，有芽胞嫌気性菌 *Clostridium* には無

芽胞嫌気性菌より抗菌力が優れ，MIC は 62.5～125 μg/ml であった。WICK らは *C. perfringens* 3 株の MIC は 32 μg/ml，*C. tetani* 1 株の MIC は 4 μg/ml で，著者らと同様に無芽胞嫌気性菌より優れた抗菌力を示した。この成績から CINX は無芽胞嫌気性菌には無効と考えられるが，*Clostridium* にはある程度の抗菌力を有していることがみとめられた。この成績は臨床材料および正常細菌叢由来の嫌気性菌に対する抗菌力についても同様であった。

CINX の抗菌力に及ぼす諸因子の検討によって，培地 pH，培地の種類，血液添加の有無，接種菌量による影響はみとめられなかった。

文　献

1) WICK, W. E. ; D. A. PRESTON, W. A. WHITE & R. S. GORDEE : Compound 64716, a new synthetic antibacterial agent. Antimicr. Agents & Chemoth. 4(4) : 415～420, 1973

2) JONES, R. N. & P. C. FUCHS : *In vitro* antimicrobial activity of cinoxacin against 2,968 clinical bacterial isolates. Antimicr. Agents & Chemoth. 10(1) : 146～149, 1976

3) LUMISH, R. M. & C. W. NORDEN : Cinoxacin : *In vitro* antibacterial studies of a new synthetic organic acid. Antimicr. Agents & Chemoth. 7(2) : 159～163, 1975

4) GIAMARELLOU, H. & G. G. JACKSON : Antibacterial activity of cinoxacin *in vitro*. Antimicr. Agents & Chemoth. 7(5) : 688～692, 1975

5) 嫌気性菌の最小発育阻止濃度（MIC）測定法。Chemotherapy 27(3) : 559～560, 1979

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CINOXACIN TO ANAEROBIC BACTERIA

TOYOKO KOBAYASHI, MIDORI ISONO, KUNITOMO WATANABE and KAZUE UENO

Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University School of Medicine

The *in vitro* antibacterial activity of cinoxacin (CINX) to anaerobes was compared with that of nalidixic acid (NA) and pipemidic acid (PPA). The antibacterial spectrum of CINX was similar to that of NA and PPA. MIC values of CINX for isolates of non-spore forming anaerobes and spore forming anaerobes (*Clostridium*) ranged from 62.5 to >500 and 31.25 to 250 μg/ml, respectively.