

新しい合成化学療法剤 BAY o 9867 (Ciprofloxacin) に関する細菌学的評価

西野武志・田中真由美・監物英男・谷野輝雄
京都薬科大学微生物学教室

合成化学療法剤 BAY o 9867 に関する細菌学的評価を, Norfloxacin (NFLX), Pipemidic acid (PPA) および Ofloxacin (OFLX) を比較薬として検討し, 以下の結果を得た。

1. BAY o 9867 は, グラム陽性菌群, グラム陰性菌群および嫌気性菌群に対し広範囲の抗菌スペクトラムを有しており, その抗菌力は, グラム陽性菌群に対しては OFLX とほぼ同等で, グラム陰性菌群に対しては NFLX, PPA, OFLX より優れていた。嫌気性菌群に対しては, OFLX とほぼ同等かもしくはやや劣った抗菌力を示した。

2. 臨床分離株に対する感受性分布では, *Staphylococcus aureus* で OFLX よりやや劣り, *Acinetobacter calcoaceticus* で OFLX とほぼ同等であったが, 他のすべての菌種において BAY o 9867 が最も優れ, 次いで OFLX, NFLX そして PPA の順であった。

3. BAY o 9867 の抗菌力に及ぼす諸因子の影響では, *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* とともに, 培地, 馬血清添加, 接種菌量の影響はみられず, 培地 pH がアルカリ性側のときに抗菌力が良好となった。

4. *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* を用いて, 増殖曲線に及ぼす影響を検討した結果, dose response のある作用がみられ, すべて殺菌的に作用した。

5. *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* に, BAY o 9867 を作用させた時の形態変化を観察したところ, *S. aureus* では, 菌体の膨化が認められた。また, *E. coli* では菌体は伸長化したが, *P. aeruginosa* では菌体の伸長化はほとんど認められず, スフェロプラスト様構造および浴菌像が観察された。

6. マウス実験的感染症に対する治療効果を *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *P. aeruginosa* を用いて検討したところ, *S. aureus*, *E. coli* においては, OFLX よりやや劣ったが, *K. pneumoniae*, *S. marcescens* では OFLX とほぼ同等であり, *P. aeruginosa* に対しては, OFLX より優れた効果を示した。また, いずれの菌株においても, NFLX, PPA より優れていた。

BAY o 9867 は, 西ドイツ・バイエル社で合成された新しい化学療法剤である。本物質は化学名を 1-cyclopropyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl) -3-quinolinecarboxylic acid-hydrochloride-monohydrate といい, 分子量 385.82, 水にやや易溶の微黄色ないし黄色の結晶性の粉末である。その化学構造式は, Fig. 1 に示すとおりである。本剤と近縁の化学療法剤には, Nalidixic acid, Piromidic acid, Pipemidic acid, Cinoxacin, Norfloxacin, Ofloxacin などがある。

今回, 我々は, BAY o 9867 の細菌学的評価について, Pipemidic acid^{1,2)}, Norfloxacin³⁾ および Ofloxacin⁴⁾ を比較薬として種々の細菌学的検討を行ない, 2, 3 の知見を得たので報告する。

I. 実験材料および実験方法

1. 使用薬

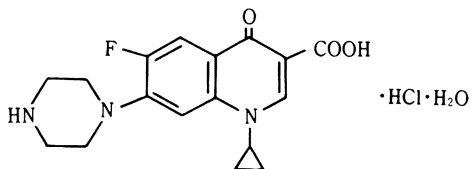
試験薬としては, BAY o 9867, Norfloxacin (NFLX),

Pipemidic acid (PPA), Ofloxacin (OFLX) および Nalidixic acid (NA) のいずれも力価の明らかなものを用いた。

2. 抗菌スペクトラム

教室保存のグラム陽性菌群, グラム陰性菌群および嫌気性菌群に対する試験管内抗菌力を, 前培養に Tryptsoya broth (TSB, ニッスイ), 感受性測定に Heart infusion agar (HIA, ニッスイ) 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⁾ に準じて求めた。なお, *Streptococcus* 群, *C. diphtheriae* については, 10% 馬血液加 HIA を, *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis* には GC

Fig. 1 Chemical structure of BAY o 9867



培地 (ニッスイ) を、また、嫌気性菌群については、前培養に GAM broth (ニッスイ)、感受性測定に GAM agar (ニッスイ) を用いた。

3. 臨床分離株に対する感受性分布

臨床材料から分離された *S. aureus* 31株, *S. pyogenes* 14株, *E. coli* 31株, *K. pneumoniae* 32株, *E. cloacae* 32株, *E. aerogenes* 21株, *H. influenzae* 27株, *S. marcescens* 32株, *P. vulgaris* 30株, *P. mirabilis* 29株, *M. morgani* 24株, *P. rettgeri* 16株, *P. aeruginosa* 31株, *A. calcoaceticus* 29株について、前培養に TSB、感受性測定に HIA を用いて、日本化学療法学会最小発育阻止濃度測定法に準じて、感受性測定を行なった。

4. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす培地、培地 pH、馬血清添加、接種菌量の影響について、*S. aureus* 209-P JC, *E. coli* NIH JC-2, *K. pneumoniae* KC-1, *P. aeruginosa* E-2 を試験菌として、HIA を用いた平板希釈法 (37°C, 18~20時間培養) により検討を行なった。但し、培地の影響については、Mueller hinton agar (MHA, Difco), HIA, Nutrient agar (NA, ニッスイ), Tryptosoya agar (TSA, ニッスイ), Brain heart infusion agar (BHIB, Difco) を用いた平板希釈法により測定した。

5. 増殖曲線に及ぼす影響

TSB で前培養した *S. aureus* SMITH, *E. coli* KC-14, *K. pneumoniae* KC-1, *P. aeruginosa* E-2 を、Heart infusion broth (HIB: ニッスイ) に移し、対数期中期まで振盪培養した後、所定の濃度の薬剤を添加し、以後経時的に生菌数を測定した。

6. 試験管内耐性獲得

S. aureus 209-P JC, *E. coli* KC-14, *S. marcescens* T-55, *P. aeruginosa* E-2 を試験菌として、前培養に TSB、感受性測定に HIB を用いて液体希釈法により MIC を測定した。その後10日間、1/2 MIC で増殖した菌液を新しい薬剤希釈系列に接種するという継代培養を行ない、MIC を測定し、耐性獲得の検討を行なった。

7. 位相差顕微鏡による形態観察

S. aureus SMITH, *E. coli* KC-14 および *P. aeruginosa* E-2 に薬剤を作用させた時の形態変化について検討を行なった。即ち、スライドガラス上で、薬を含ませたフィルム寒天を作製し、約3時間振盪培養を行なった対数期途上の菌液をカバーガラスに塗抹し、これを寒天上にかぶせ、パラフィンで封入した。これを37°C 恒温装置つきの位相差顕微鏡 (日本光学) により観察した。

8. マウス実験的感染症に対する治療効果

1) 全身感染

S. aureus SMITH, *E. coli* KC-14, *K. pneumoniae* KC-1, *S.*

marcescens T-55, *P. aeruginosa* E-2 の各菌株を、Nutrient broth (NB, ニッスイ) に37°C 18時間培養後、同培地で希釈し、6% Gastric mucin (Nutritional Biochemicals Corporation) と等量混合した。この菌液を1群10匹の ddy 系 ♂ マウス (17±1 g) の腹腔内に接種し、感染2時間後1回、0.5% CMC に懸濁させた薬剤を経口投与した。その後7日間、生死の観察を行ない生存率を求め、LITCHFIELD-WILCOXON 法⁹⁾により ED₅₀値を算出した。

2) 呼吸器感染

K. pneumoniae DT-S を Nutrient agar (NA, ニッスイ) slant で37°C 18時間培養後、NB に懸濁し、噴霧感染装置で感染を行なった。感染15時間後1回、0.5% CMC に懸濁させた薬剤を経口投与した。その後10日間、生死の観察を行ない、LITCHFIELD-WILCOXON 法によって ED₅₀値を算出した。

II. 実験結果

1. 抗菌スペクトラム

教室保存のグラム陽性菌群、陰性菌群および嫌気性菌群に対する試験管内抗菌力について検討した結果を Table 1~6 に示した。BAY o 9867 は、すべてのグラム陽性菌に対して感受性を示し、その抗菌力は、NFLX, PPA より優れ、OFLX とほぼ同等であった。また、グラム陰性菌群に対しては、他の3剤より優れていた。嫌気性菌群に対しては、BAY o 9867 は NFLX, PPA より優れ、OFLX とほぼ同等もしくはやや劣っていた。

2. 臨床分離株に対する感受性分布

臨床的に分離された *S. aureus* 31株, *S. pyogenes* 14株, *E. coli* 31株, *K. pneumoniae* 32株, *E. cloacae* 32株, *E. aerogenes* 21株, *H. influenzae* 27株, *S. marcescens* 32株, *P. vulgaris* 30株, *P. mirabilis* 29株, *M. morgani* 24株, *P. rettgeri* 16株, *P. aeruginosa* 31株, *A. calcoaceticus* 29株に対する感受性分布、累積分布を検討した結果を Fig. 2~29 に示した。

1) *S. aureus* の場合

接種菌量が10⁸cells/ml の場合は、Fig. 2 に示すように、BAY o 9867 は0.78 μg/ml にピークがあり、すべての株が0.10~3.13 μg/ml に分布していた。NFLX は、ピークが1.56 μg/ml にあり、0.20~6.25 μg/ml に分布していた。PPA は12.5 μg/ml 以上に分布し、100 μg/ml がピーク値であった。OFLX は0.78 μg/ml にピークがあり、0.20~0.78 μg/ml に分布していた。10⁶cells/ml 接種の場合は、Fig. 3 に示すように、10⁶cells/ml 接種の場合に比較して感受性パターンにそれほど大きな変動は認められず、いずれの菌量においても、OFLX > BAY o 9867 > NFLX > PPA の順に優れていた。

Table 1 Antibacterial spectrum of gram-positive bacteria

(10⁸ cells/ml)

Organism	BAY o 9867	NFLX	PPA	OFLX
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0.39	0.39	12.5	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> SMITH	0.39	0.39	12.5	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> TERAJIMA	0.39	0.78	25	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> NEUMANN	0.39	0.78	12.5	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	0.78	1.56	12.5	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 80	0.78	1.56	25	0.78
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.56	6.25	100	1.56
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23*	0.78	1.56	>100	0.78
<i>Streptococcus pyogenes</i> COOK*	0.78	1.56	>100	0.78
<i>Streptococcus faecalis</i> *	6.25	1.56	>100	1.56
<i>Streptococcus viridans</i> *	6.25	1.56	>100	1.56
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type I*	0.78	3.13	>100	1.56
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type II*	0.78	3.13	>100	1.56
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type III*	0.39	1.56	>100	1.56
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	0.20	0.39	100	0.39
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	1.56	25	>100	3.13
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.10	0.20	1.56	0.10
<i>Bacillus anthracis</i>	0.10	0.39	3.13	0.20

Medium: Heart infusion agar (Nissui) * Supplemented with 10% horse blood

MIC ($\mu\text{g/ml}$)

Method: Agar dilution (Streak)

2) *S. pyogenes* の場合

10⁸cells/ml 接種の場合, Fig. 4 に示すように, BAY o 9867 は 0.39~12.5 $\mu\text{g/ml}$ に分布していた。NFLX は 0.78~50 $\mu\text{g/ml}$ に分布し, PPA はすべての株が >100 $\mu\text{g/ml}$ を示した。OFLX は 0.78~12.5 $\mu\text{g/ml}$ に分布していた。10⁶cells/ml 接種の場合は, Fig. 5 に示すように, BAY o 9867 は 0.20 $\mu\text{g/ml}$ にピークがあり, 0.20~0.39 $\mu\text{g/ml}$ に分布していた。NFLX, OFLX は 0.78 $\mu\text{g/ml}$ がピークであり, PPA はすべての株が ≥ 100 $\mu\text{g/ml}$ を示した。いずれの場合も BAY o 9867 > OFLX \geq NFLX > PPA の順に優れた抗菌力を示した。

3) *E. coli* の場合

10⁸cells/ml 接種の場合, Fig. 6 に示すように, BAY o 9867 は 0.012 $\mu\text{g/ml}$ と 0.05 $\mu\text{g/ml}$ にピークのある二峰性の分布を示した。NFLX は 0.025~0.20 $\mu\text{g/ml}$, PPA は 0.78~3.13 $\mu\text{g/ml}$, OFLX は 0.025~0.20 $\mu\text{g/ml}$ に分布していた。10⁶cells/ml 接種の場合も, Fig. 7 に示すようにほぼ同様で, BAY o 9867 > OFLX \geq NFLX > PPA の順に優れていた。

4) *K. pneumoniae* の場合

10⁸cells/ml 接種の場合, Fig. 8 に示すように, BAY

o 9867 は ≤ 0.006 ~0.39 $\mu\text{g/ml}$ に分布し, NFLX が 0.05~0.78 $\mu\text{g/ml}$ に, PPA が 1.56~25 $\mu\text{g/ml}$ に, OFLX が 0.10~0.78 $\mu\text{g/ml}$ に分布していた。ピークは各々, 0.05, 0.20, 3.13, 0.20 $\mu\text{g/ml}$ であった。10⁶cells/ml 接種の場合も Fig. 9 に示すように, 10⁸cells/ml 接種の場合と同様で, BAY o 9867 > OFLX \geq NFLX > PPA の順に優れた抗菌力を示した。

5) *E. cloacae* の場合

10⁸cells/ml 接種の場合, Fig. 10 に示すように, BAY o 9867 は ≤ 0.006 ~0.20 $\mu\text{g/ml}$ に分布し, ピークは 0.012 $\mu\text{g/ml}$ であった。NFLX は 0.39 $\mu\text{g/ml}$ にピークがあり, 0.05~1.56 $\mu\text{g/ml}$ に分布していた。PPA は 0.78~25 $\mu\text{g/ml}$ に分布し, 1.56 $\mu\text{g/ml}$ でピークを示した。OFLX は 0.10 $\mu\text{g/ml}$ にピークをもち, 0.05~0.78 $\mu\text{g/ml}$ に分布していた。Fig. 11 に示すように, 10⁶cells/ml 接種の場合もほぼ同様であった。

6) *E. aerogenes* の場合

10⁸cells/ml 接種時には, Fig. 12 に示すように, BAY o 9867 は 0.025~0.39 $\mu\text{g/ml}$ に, NFLX および OFLX は 0.10~1.56 $\mu\text{g/ml}$ に, PPA は 1.56~25 $\mu\text{g/ml}$ に分布していた。10⁶cells/ml 接種の場合も, ほぼ同様の結果を

Table 2 Antibacterial spectrum of gram-positive bacteria

(10⁶ cells/ml)

Organism	BAY o 9867	NFLX	PPA	OFLX
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0.20	0.39	12.5	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> SMITH	0.20	0.39	6.25	0.20
<i>Staphylococcus aureus</i> TERAJIMA	0.39	0.78	12.5	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> NEUMANN	0.39	0.78	3.13	0.20
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	0.39	0.39	6.25	0.20
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 80	0.39	0.78	3.13	0.39
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.78	3.13	50	0.78
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23*	0.39	1.56	100	0.78
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook*	0.39	0.78	>100	0.78
<i>Streptococcus faecalis</i> *	0.78	1.56	>100	1.56
<i>Streptococcus viridans</i> *	0.78	1.56	>100	1.56
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type I*	0.39	1.56	>100	1.56
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type II*	0.78	3.13	>100	1.56
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type III*	0.10	0.39	>100	0.78
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	0.05	0.39	50	0.20
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	1.56	12.5	100	1.56
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.025	0.20	0.78	0.05
<i>Bacillus anthracis</i>	0.10	0.20	0.78	0.20

Medium : Heart infusion agar (Nissui) * Supplemented with 10% horse blood

MIC ($\mu\text{g/ml}$)

Method : Agar dilution (Streak)

示した (Fig.13)。

7) *H. influenzae* の場合

10⁶cells/ml 接種の場合, Fig.14に示すように, BAY o 9867 は $\leq 0.006 \sim 0.025 \mu\text{g/ml}$ に, NFLX は $0.025 \sim 0.10 \mu\text{g/ml}$ に, PPA は $1.56 \sim 3.13 \mu\text{g/ml}$ に, OFLX は $0.012 \sim 0.05 \mu\text{g/ml}$ に分布していた。10⁶cells/ml 接種の場合も同様であり (Fig.15), いずれの菌量においても, BAY o 9867 > OFLX > NFLX > PPA の順に優れた抗菌力を示した。

8) *S. marcescens* の場合

10⁶cells/ml 接種の場合, Fig.16に示すように, BAY o 9867 は $0.05 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$ に, NFLX は $0.10 \sim 50 \mu\text{g/ml}$ に, PPA は $1.56 \sim >100 \mu\text{g/ml}$ に, OFLX は $0.20 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$ のいずれも広い範囲に分布していた。10⁶cells/ml 接種時にも, Fig.17に示すように, 10⁶cells/ml 接種の場合と同様, 広い範囲に分布し, その抗菌力は, BAY o 9867 > NFLX \approx OFLX > PPA の順に優れていた。

9) *P. vulgaris* の場合

10⁶cells/ml 接種の場合, Fig.18に示すように, BAY o 9867 は $0.012 \sim 0.20 \mu\text{g/ml}$ に分布していた。NFLX

は $0.10 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$ の範囲に二峰性の分布を示した。PPA は $3.13 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$ に, OFLX は $0.10 \sim 0.39 \mu\text{g/ml}$ に分布していた。10⁶cells/ml の場合も, Fig.19に示すように, ほぼ同様の結果を示した。

10) *P. mirabilis* の場合

10⁶cells/ml 接種時には, Fig.20に示すように, BAY o 9867 は $0.05 \sim 0.39 \mu\text{g/ml}$ に分布し, ピークは $0.10 \mu\text{g/ml}$ であった。NFLX は $0.20 \sim 1.56 \mu\text{g/ml}$ に, PPA は $3.13 \sim 12.5 \mu\text{g/ml}$ に, OFLX は $0.20 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$ に分布していた。10⁶cells/ml 接種の場合も, Fig.21に示すように, ほぼ同様の結果を示し, BAY o 9867 > NFLX \geq OFLX > PPA の順に優れた抗菌力を示した。

11) *M. morgani* の場合

10⁶cells/ml 接種時には, Fig.22に示すように, BAY o 9867 は $0.05 \mu\text{g/ml}$ にピークがあり, $0.012 \sim 0.20 \mu\text{g/ml}$ に分布していた。NFLX は $0.05 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$ に分布し, 二峰性を示した。PPA は $1.56 \sim 50 \mu\text{g/ml}$, OFLX は $0.10 \sim 1.56 \mu\text{g/ml}$ に分布し, BAY o 9867 > NFLX > OFLX > PPA の順に優れた抗菌力を示した。

10⁶cells/ml 接種時にも同様の結果であった (Fig.23)。

Table 3 Antibacterial spectrum of gram-negative bacteria

(10⁸ cells/ml)

Organism	BAY o 9867	NFLX	PPA	OFLX
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	0.025	0.10	6.25	0.10
<i>Escherichia coli</i> NIH	0.012	0.05	12.5	0.05
<i>Escherichia coli</i> K-12	0.012	0.10	25	0.05
<i>Escherichia coli</i> KC-14	0.012	0.05	12.5	0.05
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	0.39	0.78	>100	1.56
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.012	0.05	12.5	0.025
<i>Salmonella typhi</i> O-901	≤0.006	0.05	6.25	0.025
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.012	0.05	50	0.05
<i>Salmonella paratyphi</i> B	0.012	0.10	25	0.05
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.05	0.20	50	0.10
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.05	0.20	12.5	0.10
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.05	0.10	25	0.10
<i>Shigella flexneri</i> KOMAGOME	0.05	0.20	12.5	0.10
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.05	0.20	12.5	0.10
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.025	0.20	12.5	0.10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	0.05	0.20	25	0.20
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	0.05	0.20	12.5	0.10
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	0.10	0.39	25	0.10
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.05	0.20	25	0.39
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	0.20	0.39	25	0.39
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	0.05	0.20	50	0.20
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	0.20	0.39	50	0.39
<i>Serratia marcescens</i> T-55	0.20	0.39	25	0.39
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	0.025	0.20	6.25	0.10
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.025	0.20	12.5	0.10
<i>Morganella morganii</i> KONO	0.10	0.39	100	0.39
<i>Proteus rettgeri</i> NIH 96	0.39	0.78	6.25	0.20
<i>Proteus inconstans</i> NIH 118	0.05	0.10	100	0.39
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	0.39	0.78	>100	1.56
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NC-5	0.10	0.39	50	0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	0.78	1.56	100	3.13
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> Ac-54	0.78	6.25	>100	0.78
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> *	≤0.006	0.05	1.56	0.025
<i>Neisseria meningitidis</i> *	≤0.006	0.05	1.56	0.012

Medium : Heart infusion agar (Nissui)

* GC medium

MIC (μg/ml)

Method : Agar dilution (Streak)

12) *P. rettgeri* の場合

10⁸cells/ml 接種時には, Fig.24に示すように, BAY o 9867 は0.025~3.13 μg/ml, NFLX は0.10~6.25 μg/ml, PPA は6.25~>100 μg/ml, OFLX は0.20~12.5 μg/ml の広範囲に分布していた。10⁶cells/ml 接種の場合も同

様に, 広範囲に分布が認められた (Fig.25)。

13) *P. aeruginosa* の場合

10⁸cells/ml 接種の場合は, Fig.26に示すように, BAY o 9867 は0.05~1.56 μg/ml に分布していた。NFLX は0.20~6.25 μg/ml に, PPA は6.25~100 μg/ml に,

Table 4 Antibacterial spectrum of gram-negative bacteria

(10⁶ cells/ml)

Organism	BAY o 9867	NFLX	PPA	OFLX
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	0.025	0.10	3.13	0.10
<i>Escherichia coli</i> NIH	≤0.006	0.025	3.13	0.025
<i>Escherichia coli</i> K-12	0.012	0.05	25	0.05
<i>Escherichia coli</i> KC-14	0.012	0.05	12.5	0.05
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	0.20	0.39	100	0.78
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.012	0.05	12.5	0.025
<i>Salmonella typhi</i> O-901	≤0.006	0.025	6.25	0.012
<i>Salmonella paratyphi</i> A	≤0.006	0.05	12.5	0.05
<i>Salmonella paratyphi</i> B	0.012	0.05	25	0.05
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.012	0.05	25	0.05
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.025	0.20	12.5	0.10
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.012	0.10	12.5	0.05
<i>Shigella flexneri</i> KOMAGOME	0.025	0.10	12.5	0.10
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.05	0.10	12.5	0.05
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.025	0.10	12.5	0.10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	0.05	0.20	6.25	0.20
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	0.05	0.20	12.5	0.10
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	0.10	0.20	12.5	0.10
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.05	0.20	12.5	0.10
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	0.05	0.20	12.5	0.20
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	0.025	0.10	50	0.10
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	0.20	0.39	25	0.39
<i>Serratia marcescens</i> T-55	0.20	0.20	12.5	0.20
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	0.025	0.10	3.13	0.10
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.025	0.10	6.25	0.10
<i>Morganella morganii</i> KONO	0.05	0.20	50	0.20
<i>Proteus rettgeri</i> NIH 96	0.10	0.78	3.13	0.20
<i>Proteus inconstans</i> NIH 118	0.025	0.10	50	0.39
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	0.20	0.78	>100	1.56
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NC-5	0.05	0.20	25	0.20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	0.39	0.78	50	1.56
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> Ac-54	0.39	3.13	50	0.39
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> *	≤0.006	0.025	1.56	0.012
<i>Neisseria meningitidis</i> *	≤0.006	0.025	0.78	0.012

Medium : Heart infusion agar (Nissui)

* GC medium

MIC (μg/ml)

Method : Agar dilution (Streak)

OFLX は0.78~12.5 μg/ml に分布していた。10⁶cells/ml 接種時も Fig.27 に示すとおり、10⁶cells/ml 接種の場合と同様で、BAY o 9867 > NFLX > OFLX > PPA の順に優れた抗菌力を示した。

14) *A. calcoaceticus* の場合

10⁶cells/ml 接種の場合、Fig.28 に示すように、BAY o 9867 は、0.10~1.56 μg/ml、NFLX は0.78~12.5 μg/ml、PPA は25~>100 μg/ml、OFLX は0.20~0.78 μg/ml に分布していた。10⁶cells/ml 接種時にも同様の結果

Table 5 Antibacterial spectrum of anaerobic bacteria

Organism	(10 ⁸ cells/ml)			
	BAY o 9867	NFLX	PPA	OFLX
<i>Clostridium tetani</i>	0.39	0.78	25	0.78
<i>Clostridium perfringens</i>	0.78	3.13	50	0.78
<i>Clostridium sporogenes</i> GAI 0005	0.39	0.78	12.5	0.20
<i>Bacteroides fragilis</i> GM 7000	12.5	>100	>100	3.13
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	6.25	50	>100	3.13
<i>Bacteroides fragilis</i> V-240-2	6.25	50	>100	3.13
<i>Bacteroides fragilis</i> V-283	6.25	50	>100	3.13
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> 5600	50	>100	>100	12.5
<i>Bacteroides distasonis</i> clin-99-3	25	>100	>100	12.5
<i>Bacteroides vulgatus</i> ES-14	50	>100	>100	25
<i>Bacteroides ovatus</i> Ju-6-1	>100	>100	>100	50

MIC (μ g/ml)

Medium : GAM agar (Nissui)

Method : Agar dilution (Streak)

Table 6 Antibacterial spectrum of anaerobic bacteria

Organism	(10 ⁶ cells/ml)			
	BAY o 9867	NFLX	PPA	OFLX
<i>Clostridium tetani</i>	0.39	0.78	12.5	0.20
<i>Clostridium perfringens</i>	0.20	0.78	12.5	0.10
<i>Clostridium sporogenes</i> GAI 0005	0.20	0.39	12.5	0.20
<i>Bacteroides fragilis</i> GM 7000	6.25	25	>100	1.56
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	6.25	25	>100	1.56
<i>Bacteroides fragilis</i> V-240-2	6.25	50	100	1.56
<i>Bacteroides fragilis</i> V-283	6.25	25	>100	3.13
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> 5600	50	>100	>100	6.25
<i>Bacteroides distasonis</i> clin-99-3	12.5	100	50	12.5
<i>Bacteroides vulgatus</i> ES-14	25	100	>100	3.13
<i>Bacteroides ovatus</i> Ju-6-1	100	>100	>100	50

MIC (μ g/ml)

Medium : GAM agar (Nissui)

Method : Agar dilution (Streak)

を示し (Fig.29), いずれの場合も, BAY o 9867 = OFLX > NFLX > PPA の順に優れていた。

3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

S. aureus 209-P JC, *E. coli* NIH JC-2, *K. pneumoniae* KC-1, *P. aeruginosa* E-2 を用いて, 培地, 培地 pH, 馬血清添加および接種菌量の抗菌力に及ぼす影響について検討した結果を, Table 7~10に示した。すなわち, 培地の影響では, 3薬剤ともあまり大きな影響を受けなかった。培地 pH の影響では, 4薬剤ともに酸性側より

アルカリ性側で抗菌力が高まる傾向があった。馬血清添加の場合は, 4剤ともあまり大きな影響を受けなかった。また, 接種菌量の影響では, 高菌量になっても, 4剤ともほとんど影響を受けなかった。

4. 増殖曲線に及ぼす影響

1) *S. aureus* SMITH について

Fig.30に示すように, BAY o 9867 は, 1/4 MIC の 0.10 μ g/ml 作用で1時間目まで静菌的にその後は殺菌的に作用した。また, それ以上の濃度ではすべて殺菌性

Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates
Staphylococcus aureus 31 strains
(10⁸cells/ml)

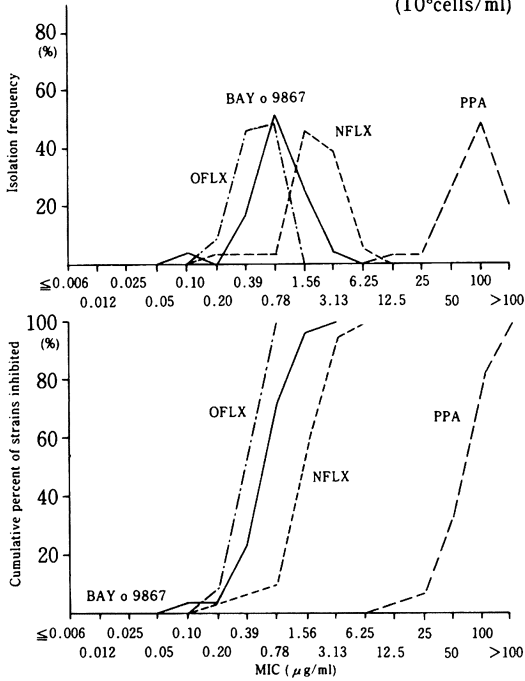


Fig. 3 Sensitivity distribution of clinical isolates
Staphylococcus aureus 31 strains
(10⁶cells/ml)

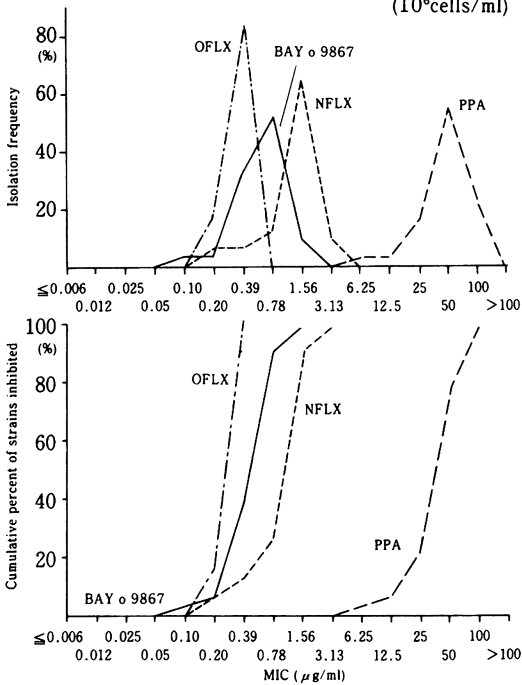


Fig. 4 Sensitivity distribution of clinical isolates
Streptococcus pyogenes 14 strains
(10⁸cells/ml)

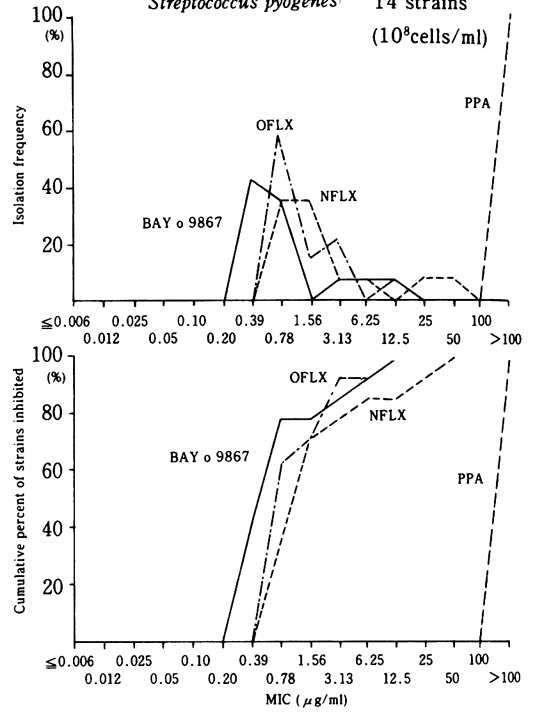


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates
Streptococcus pyogenes 14 strains
(10⁶cells/ml)

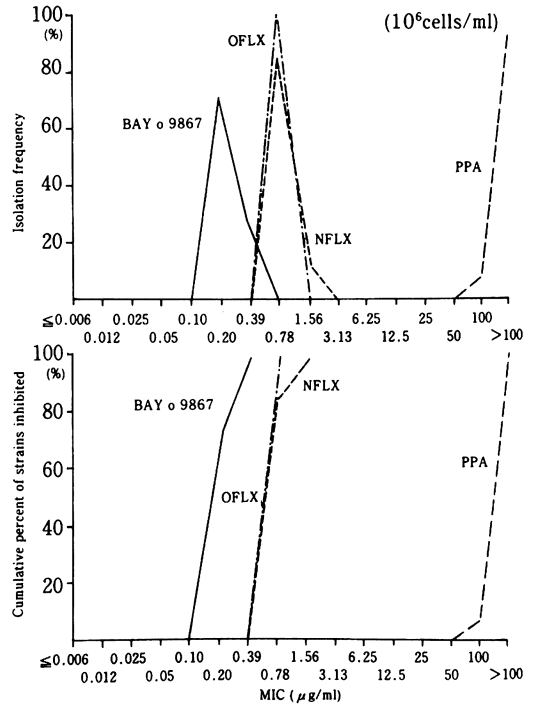


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates
Escherichia coli 31 strains

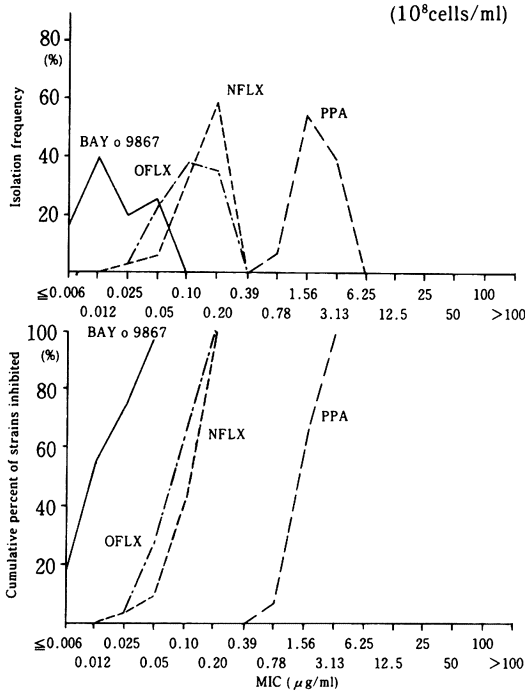


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates
Escherichia coli 31 strains

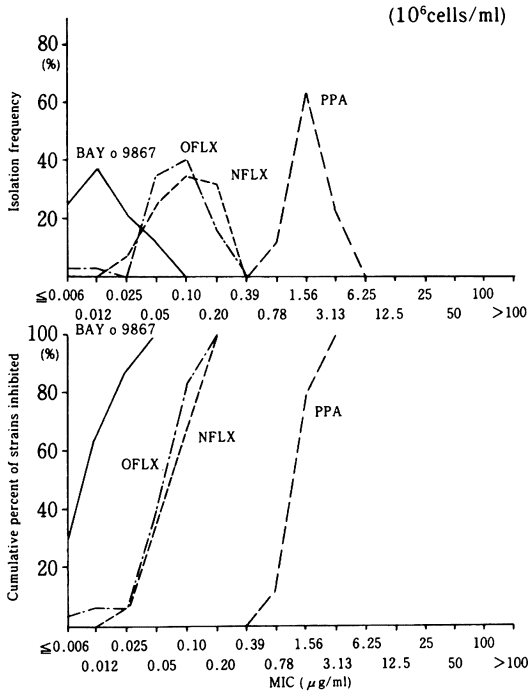


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates
Klebsiella pneumoniae 32 strains

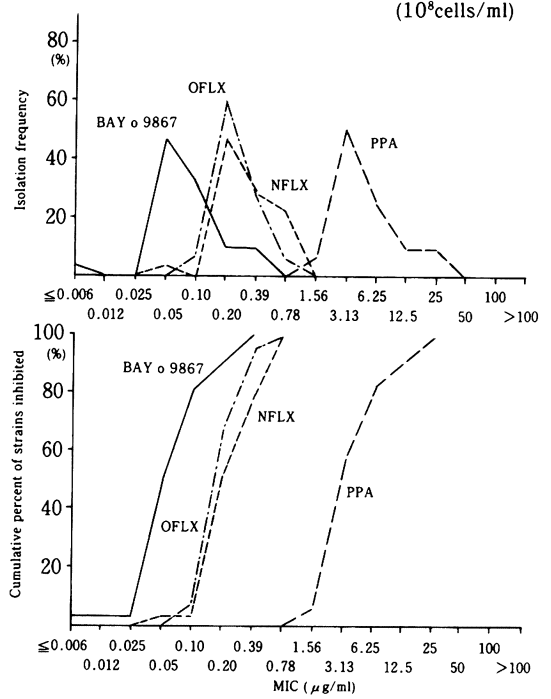


Fig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates
Klebsiella pneumoniae 32 strains

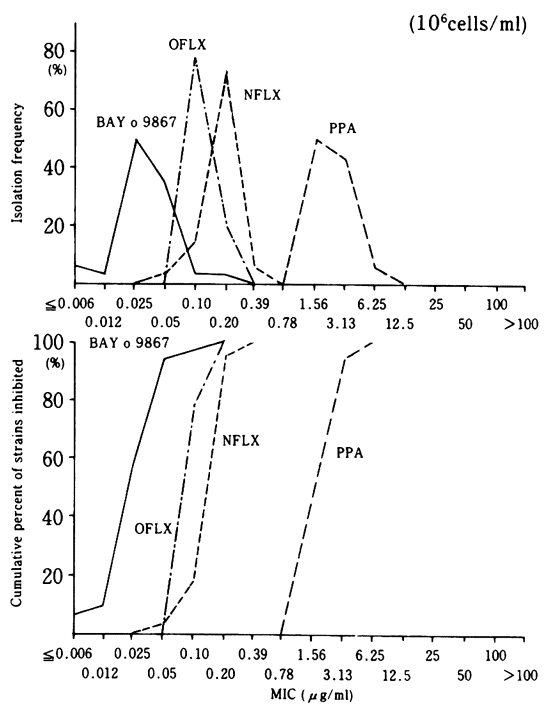


Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates
Enterobacter cloacae 32 strains
(10⁸cells/ml)

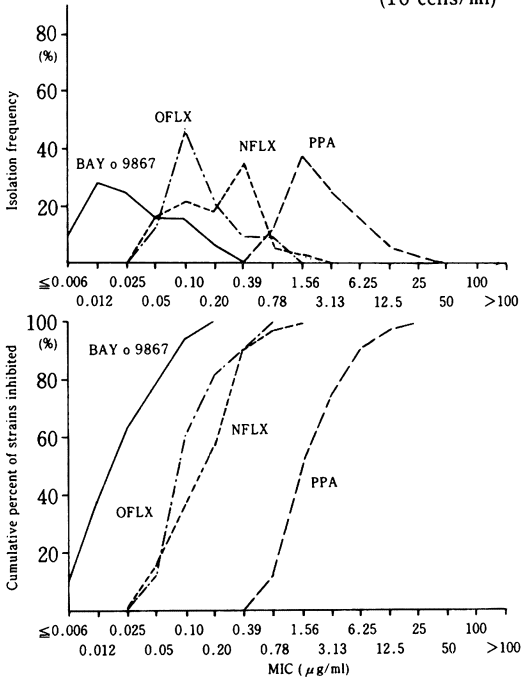


Fig. 12 Sensitivity distribution of clinical isolates
Enterobacter aerogenes 21 strains
(10⁸cells/ml)

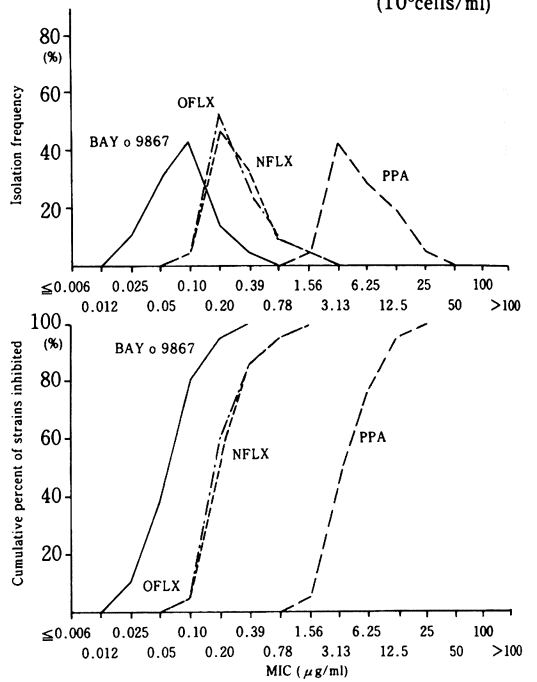


Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates
Enterobacter cloacae 32 strains
(10⁶cells/ml)

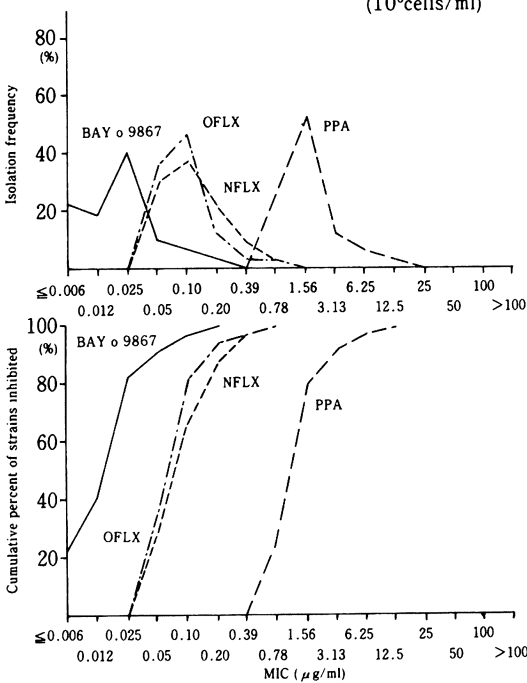


Fig. 13 Sensitivity distribution of clinical isolates
Enterobacter aerogenes 21 strains
(10⁶cells/ml)

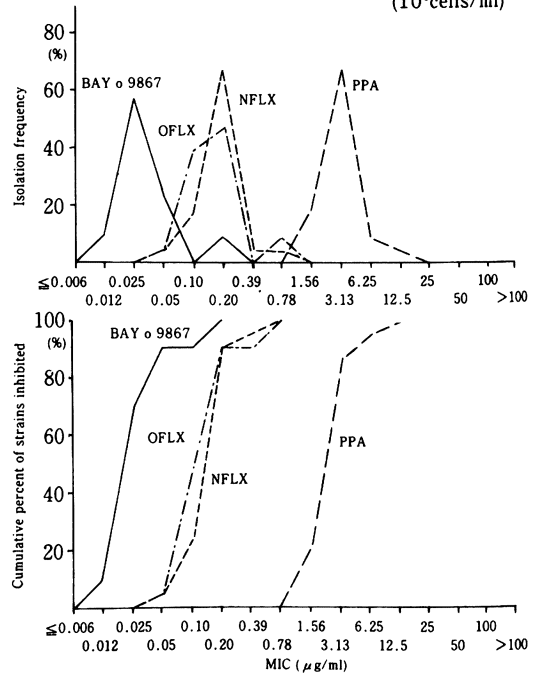


Fig.14 Sensitivity distribution of clinical isolates
Haemophilus influenzae 27 strains
(10⁸cells/ml)

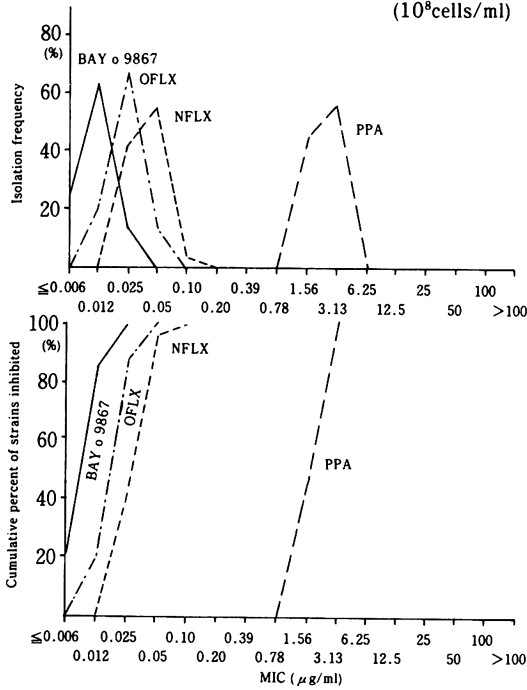


Fig.15 Sensitivity distribution of clinical isolates
Haemophilus influenzae 27 strains
(10⁶cells/ml)

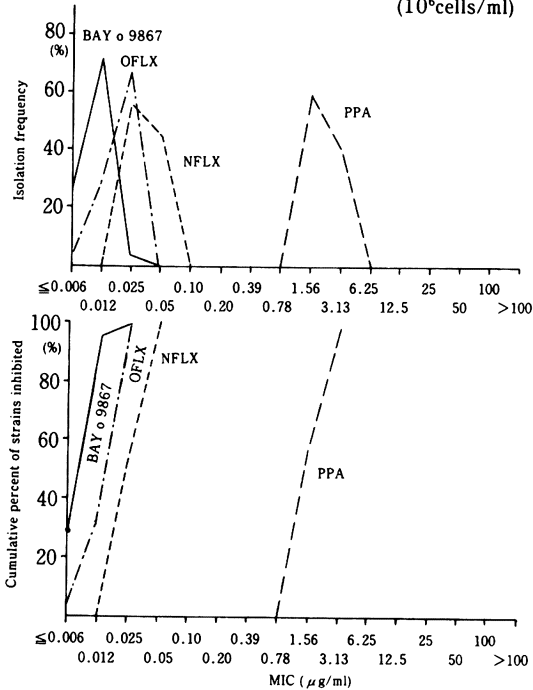


Fig.16 Sensitivity distribution of clinical isolates
Serratia marcescens 32 strains
(10⁸cells/ml)

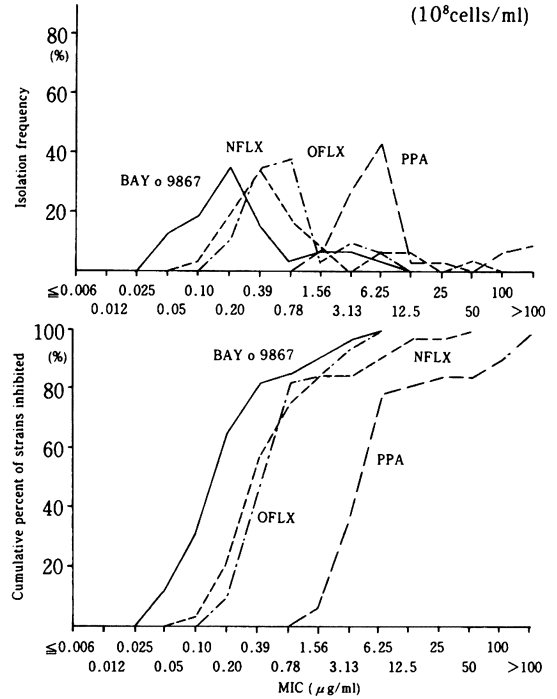


Fig.17 Sensitivity distribution of clinical isolates
Serratia marcescens 32 strains
(10⁶cells/ml)

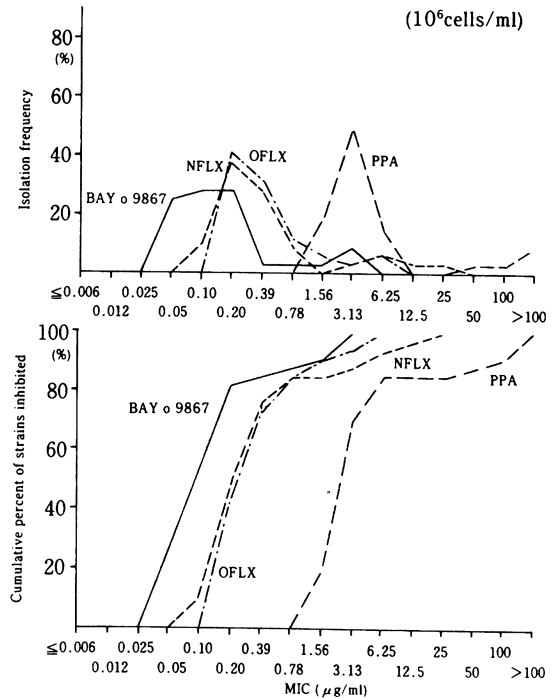


Fig. 18 Sensitivity distribution of clinical isolates
Proteus vulgaris 30 strains
(10⁸cells/ml)

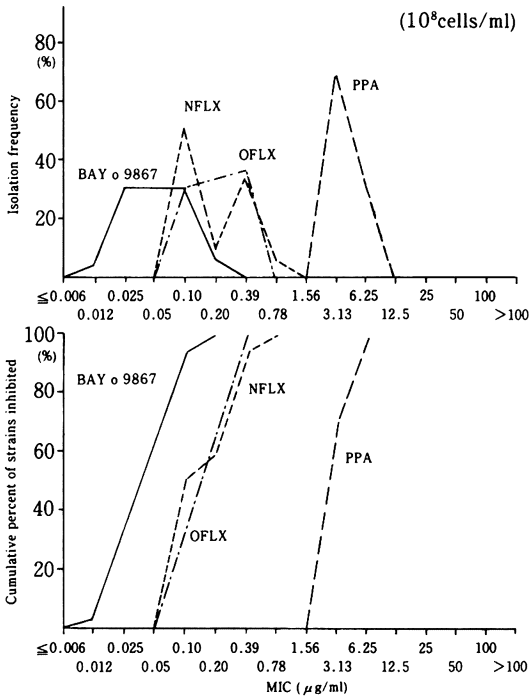


Fig. 19 Sensitivity distribution of clinical isolates
Proteus vulgaris 30 strains
(10⁶cells/ml)

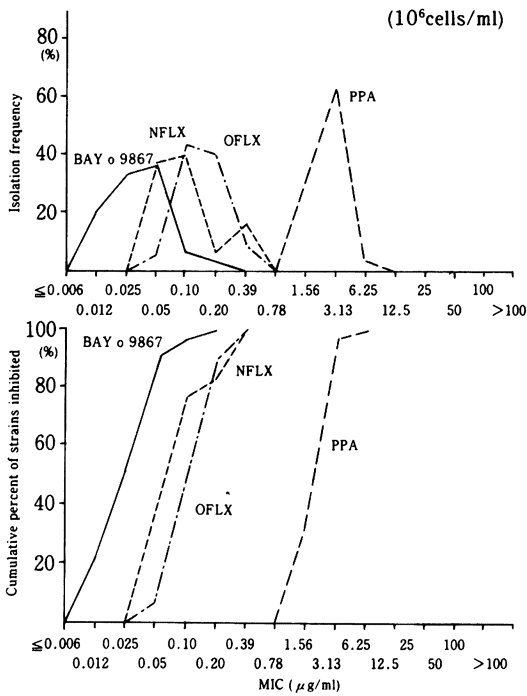


Fig. 20 Sensitivity distribution of clinical isolates
Proteus mirabilis 29 strains
(10⁸cells/ml)

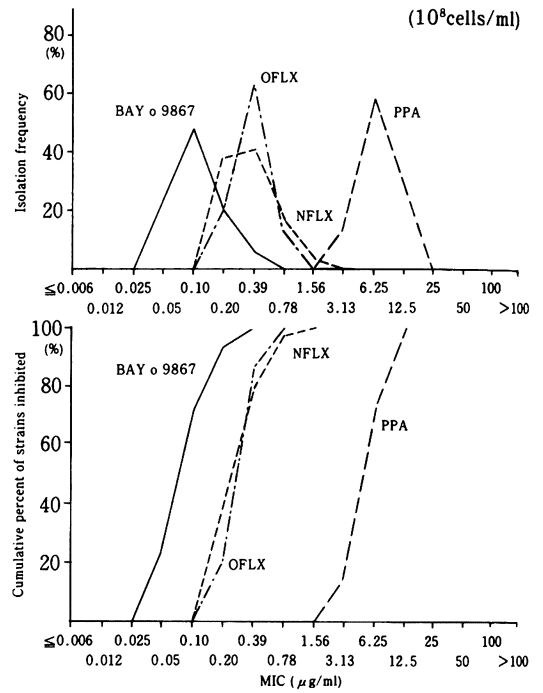


Fig. 21 Sensitivity distribution of clinical isolates
Proteus mirabilis 29 strains
(10⁶cells/ml)

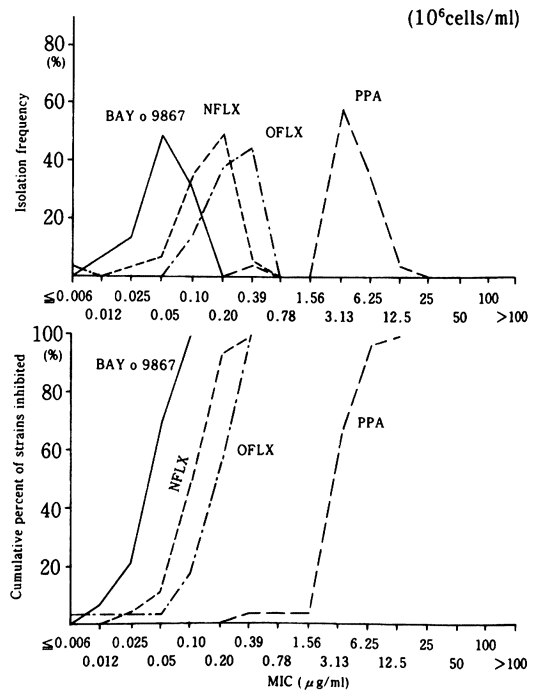


Fig.22 Sensitivity distribution of clinical isolates *Morganella morganii* 24 strains

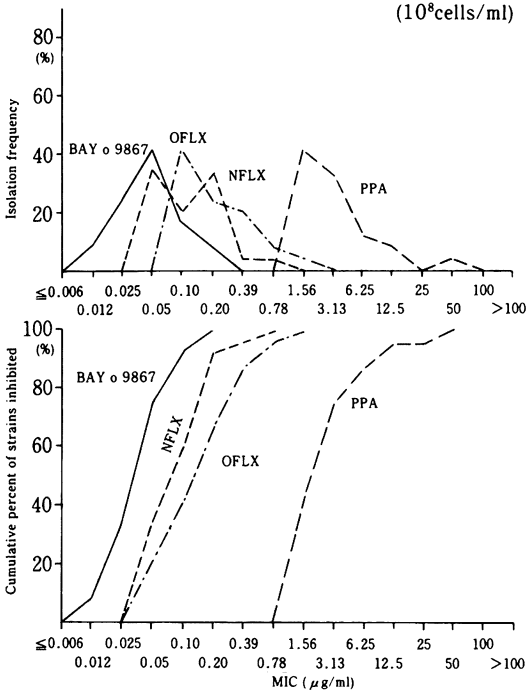


Fig.24 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus rettgeri* 16 strains

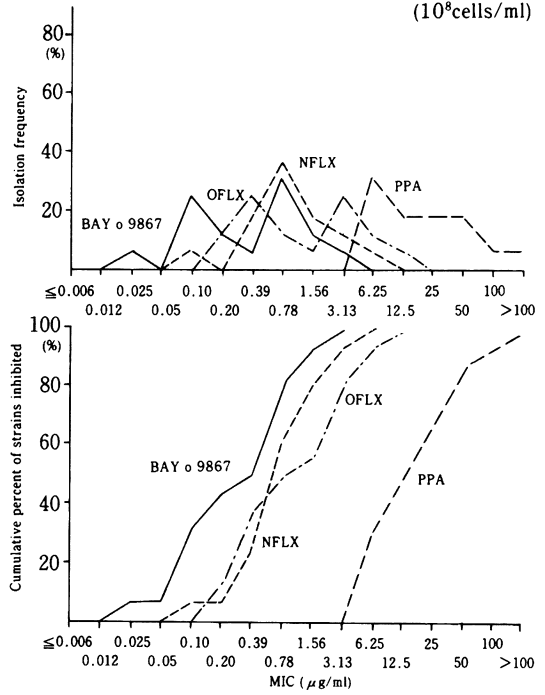


Fig.23 Sensitivity distribution of clinical isolates *Morganella morganii* 24 strains

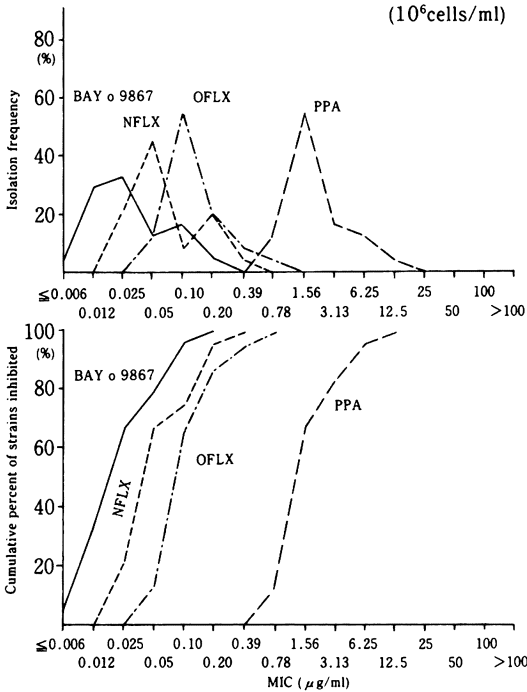


Fig.25 Sensitivity distribution of clinical isolates *Proteus rettgeri* 16 strains

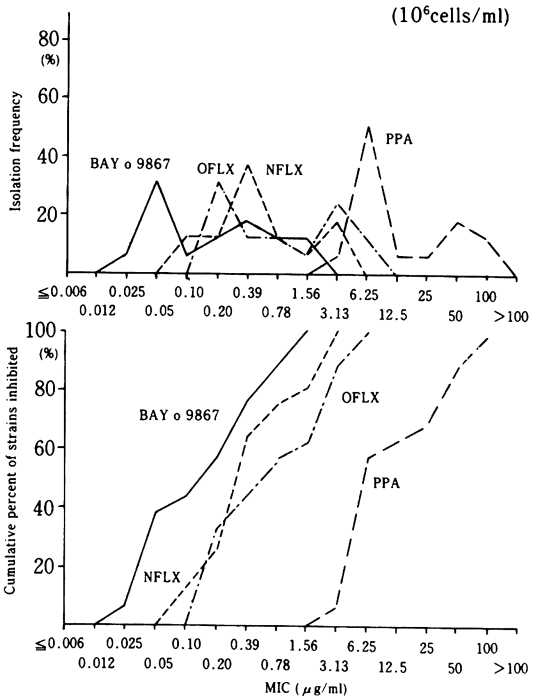


Fig. 26 Sensitivity distribution of clinical isolates
Pseudomonas aeruginosa 31 strains
(10⁸cells/ml)

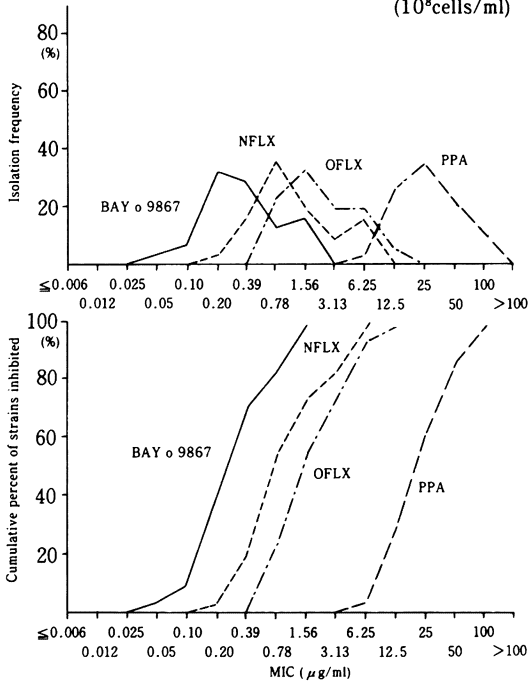


Fig. 28 Sensitivity distribution of clinical isolates
Acinetobacter calcoaceticus 29 strains
(10⁸cells/ml)

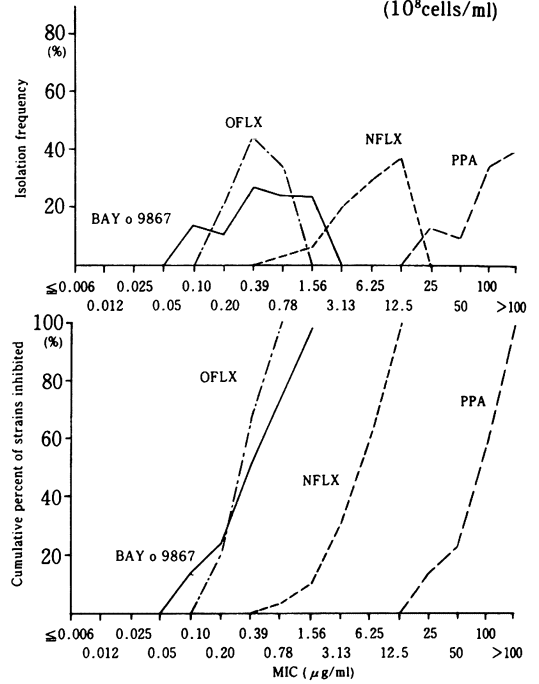


Fig. 27 Sensitivity distribution of clinical isolates
Pseudomonas aeruginosa 31 strains
(10⁶cells/ml)

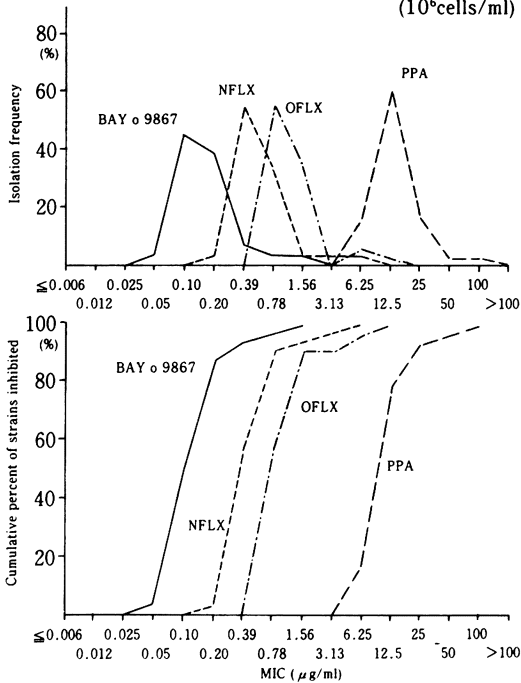


Fig. 29 Sensitivity distribution of clinical isolates
Acinetobacter calcoaceticus 29 strains
(10⁶cells/ml)

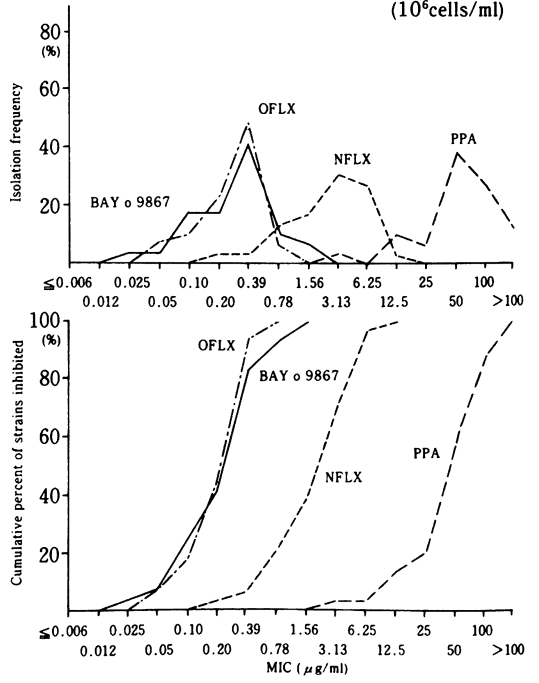


Table 7 Influence of various medium on the antibacterial activity

Organism	Medium	MIC (10^6 cells/ml)		
		BAY o 9867	NFLX	OFLX
<i>S. aureus</i> 209-P JC	MHA	0.10	0.20	0.39
	HIA	0.10	0.20	0.39
	NA	0.10	0.20	0.39
	TSA	0.20	0.39	0.39
	BHIA	0.20	0.39	0.39
<i>E. coli</i> NIH JC-2	MHA	0.012	0.20	0.10
	HIA	0.012	0.10	0.10
	NA	0.012	0.20	0.10
	TSA	0.012	0.20	0.20
	BHIA	0.05	0.39	0.39
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	MHA	0.012	0.10	0.10
	HIA	≤ 0.006	0.05	0.05
	NA	0.025	0.20	0.10
	TSA	≤ 0.006	0.05	0.10
	BHIA	0.05	0.39	0.20
<i>P. aeruginosa</i> E-2	MHA	0.20	0.78	3.13
	HIA	0.20	0.39	1.56
	NA	0.39	1.56	1.56
	TSA	0.39	0.78	1.56
	BHIA	0.39	1.56	3.13

MHA : Mueller - Hinton agar

HIA : Heart infusion agar

NA : Nutrient agar

TSA : Triptosoya agar

BHIA : Brain heart infusion agar

MIC ($\mu\text{g/ml}$)

Table 8 Influence of medium pH on the antibacterial activity

Organism	Medium pH	BAY o 9867	NFLX	PPA	OFLX
<i>S. aureus</i> 209-P JC	6	0.39	0.78	25	0.78
	7	0.20	0.78	12.5	0.39
	8	0.20	0.39	12.5	0.39
<i>E. coli</i> NIH JC-2	6	0.20	0.78	12.5	0.78
	7	0.05	0.20	3.13	0.20
	8	0.012	0.10	1.56	0.10
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	6	0.10	0.78	12.5	0.78
	7	0.05	0.20	6.25	0.10
	8	0.012	0.05	6.25	0.05
<i>P. aeruginosa</i> E-2	6	1.56	6.25	50	6.25
	7	0.39	1.56	25	1.56
	8	0.39	0.78	25	1.56

MIC ($\mu\text{g/ml}$)

Table 9 Influence of horse serum on the antibacterial activity

Organism	Horse serum (%)	BAY o 9867	NFLX	PPA	OFLX
<i>S. aureus</i> 209-P JC	0	0.20	0.39	12.5	0.39
	10	0.20	0.39	25	0.39
	25	0.20	0.78	25	0.78
	50	0.39	0.78	50	0.78
<i>E. coli</i> NIH JC-2	0	0.025	0.10	1.56	0.10
	10	0.025	0.10	1.56	0.10
	25	0.025	0.10	1.56	0.10
	50	0.025	0.10	3.13	0.10
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	0	0.05	0.20	6.25	0.05
	10	0.05	0.20	6.25	0.05
	25	0.05	0.20	6.25	0.05
	50	0.05	0.20	6.25	0.10
<i>P. aeruginosa</i> E-2	0	0.39	0.78	50	3.13
	10	0.39	0.78	50	3.13
	25	0.39	0.78	50	3.13
	50	0.39	0.78	100	6.25

MIC ($\mu\text{g/ml}$)

Table 10 Influence of inoculum size on the antibacterial activity

Organism	Inoculum size (cells/ml)	BAY o 9867	NFLX	PPA	OFLX
<i>S. aureus</i> 209-P JC	6.9×10^8	0.39	0.78	25	0.78
	6.9×10^7	0.20	0.78	25	0.78
	6.9×10^6	0.20	0.78	12.5	0.39
	6.9×10^5	0.20	0.39	12.5	0.39
	6.9×10^4	0.20	0.39	12.5	0.39
<i>E. coli</i> NIH JC-2	6.3×10^8	0.05	0.20	6.25	0.20
	6.3×10^7	0.05	0.20	6.25	0.20
	6.3×10^6	0.05	0.20	3.13	0.20
	6.3×10^5	0.05	0.20	3.13	0.20
	6.3×10^4	0.05	0.20	3.13	0.20
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	6.2×10^8	0.05	0.20	25	0.20
	6.2×10^7	0.05	0.20	12.5	0.20
	6.2×10^6	0.05	0.20	6.25	0.10
	6.2×10^5	0.025	0.10	6.25	0.10
	6.2×10^4	0.025	0.10	3.13	0.10
<i>P. aeruginosa</i> E-2	5.1×10^8	0.78	3.13	50	3.13
	5.1×10^7	0.78	1.56	25	3.13
	5.1×10^6	0.39	1.56	25	1.56
	5.1×10^5	0.39	1.56	25	1.56
	5.1×10^4	0.39	0.78	12.5	1.56

MIC ($\mu\text{g/ml}$)

がみられた。NFLX では1/2 MIC の0.20 $\mu\text{g/ml}$ 作用時に1時間目まで静菌的にそれ以後は殺菌的に作用した。またMIC 以上では殺菌作用を示した。PPA では1時間目まで静菌的に作用し、それ以後も、どの濃度でもあまり強い殺菌作用は示さなかった。OFLX では、1/2 MIC の0.20 $\mu\text{g/ml}$ 作用時には、1時間目まで静菌的にそれ以後は殺菌的に作用した。またそれ以上の濃度では殺菌性が認められた。

2) *E. coli* KC-14 について

Fig.31に示すように、BAY o 9867 はいずれの濃度においても殺菌性がみられた。NFLX では、1/2 MIC 作用時にやや殺菌作用がみられた。PPA では、1/4 MIC である3.13 $\mu\text{g/ml}$ 作用でやや殺菌作用がみられ、それ以上の濃度ではあまり差のない殺菌性が認められた。OFLX では、1/2 MIC の0.025 $\mu\text{g/ml}$ 作用時にやや殺菌性がみられ、それ以上の濃度では dose response のある殺菌作用がみられた。

3) *K. pneumoniae* KC-1 について

Fig.32に示すように、BAY o 9867 は、1/4 MIC の0.012 $\mu\text{g/ml}$ 作用で1時間目まで静菌的にそれ以後は殺菌的に作用した。NFLX は1/2 MIC でやや殺菌的に、それ以上の濃度では殺菌的に作用した。PPA はいずれの濃度でも1時間目まで静菌作用を示し、その後殺菌作用が見られた。OFLX は、いずれの濃度でも dose response のある殺菌作用を示した。

4) *P. aeruginosa* E-2 について

Fig.33に示すように、BAY o 9867 は1/4 MIC 以上で殺菌的に作用した。NFLX, OFLX は、1/4 MIC では静菌作用を示し、1/2 MIC 以上での殺菌性が認められた。PPA では、MIC の4倍の濃度で弱い殺菌作用がみられた。

5. 試験管内耐性獲得

試験管内耐性獲得の結果を Fig.34に示した。

S. aureus 209-P JC において、NA, PPA, NFLX は、4代目までに16倍のMIC 値を示し、速やかに耐性を獲得したが、OFLX は10代目で8倍、BAY o 9867 は4倍であった。

E. coli KC-14 においては、いずれの薬剤も10代目に32~256倍のMIC 値を示した。

S. marcescens T-55 では、NA, PPA は1代培養後に、NFLX は5代目に $>800 \mu\text{g/ml}$ を示した。BAY o 9867 は、10代目に128倍、OFLX は256倍のMIC 値を示した。

P. aeruginosa E-2 においては、BAY o 9867 が64倍、NFLX 128倍、OFLX 512倍のMIC 値を示した。

6. 位相差顕微鏡による形態観察

S. aureus SMITH に、BAY o 9867 を作用させた時の形

態変化を位相差顕微鏡で観察した結果を、Fig.35, 36に示した。0.05 $\mu\text{g/ml}$ では control と同様の増殖がみられ、0.10 $\mu\text{g/ml}$ 以上で菌体は膨化し、0.78 $\mu\text{g/ml}$ 以上で溶菌像が観察された。

E. coli KC-14 に、BAY o 9867 を作用させたところ、Fig.37,38に示すように、0.0015, 0.003 $\mu\text{g/ml}$ では菌は増殖した。また、0.003 $\mu\text{g/ml}$ 以上で菌体は伸長化し、特に0.025 $\mu\text{g/ml}$ で顕著であった。

P. aeruginosa E-2 に、BAY o 9867 を作用させたところ、Fig.39, 40に示すように、0.10, 0.20 $\mu\text{g/ml}$ では増殖がみられたが、それ以上の濃度では、あまり伸長化せずに溶菌する像が観察された。

7. マウス実験の感染症に対する治療効果

1) 全身感染症

全身感染症に対する治療効果を Table 11に示した。

S. aureus SMITH 感染症に対する治療効果をED₅₀値と比較すると、BAY o 9867 は0.135 mg/mouse (p. o.) とOFLX の0.06 mg/mouse より劣っていたが、NFLX の0.36 mg/mouse, PPA の3.8 mg/mouse より優れていた。

E. coli KC-14 感染症に対しても、BAY o 9867 は、0.013 mg/mouse (p. o.) というED₅₀値を示し、NFLX, PPA より優れ、OFLX より劣っていた。

K. pneumoniae KC-1 感染症に対しては、BAY o 9867 は0.023 mg/mouse (p. o.) であり、OFLX とほぼ同等で、NFLX, PPA より優れていた。

S. marcescens T-55 感染症に対する治療効果は、BAY o 9867 \approx OFLX $>$ NFLX $>$ PPA の順に優れていた。

P. aeruginosa E-2 感染症に対しては、BAY o 9867 のED₅₀値が0.29 mg/mouse (p. o.) であり、OFLX の0.50 mg/mouse, NFLX の2.05 mg/mouse, PPA の16.0 mg/mouse 以上に比べ優れた効果を示した。

いずれの感染症に対しても、BAY o 9867 を皮下投与した。

2) 呼吸器感染症

K. pneumoniae DT-S の噴霧感染による実験的呼吸器感染症モデルでの治療効果を、Table 12に示した。BAY o 9867 のED₅₀値は、皮下投与で0.252 mg/mouse, 経口投与で0.295 mg/mouse であり、NFLX の $>10 \text{ mg/mouse}$, PPA の $>15 \text{ mg/mouse}$ に比し優れ、OFLX と同等の効果を示した。

Ⅲ. 総括および考察

新しい合成化学療法剤 BAY o 9867 に関する細菌学的評価を既知のNFLX, PPA およびOFLX を比較薬として行なった。その結果、本剤はグラム陽性菌群に対してはOFLX とほぼ同等の、グラム陰性菌群に対しては、他の3剤より優れた抗菌力を示した。嫌気性菌群に対し

Fig. 30 Effect of BAY o 9867, OFLX, PPA and NFLX on viability of *S. aureus* SMITH

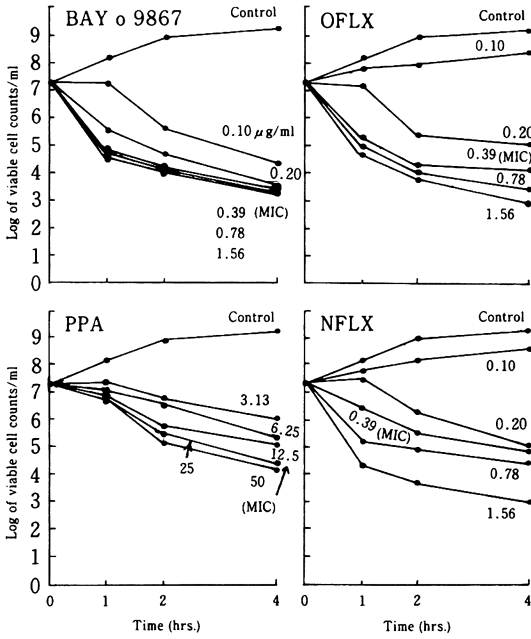


Fig. 31 Effect of BAY o 9867, OFLX, PPA and NFLX on viability of *E. coli* KC-14

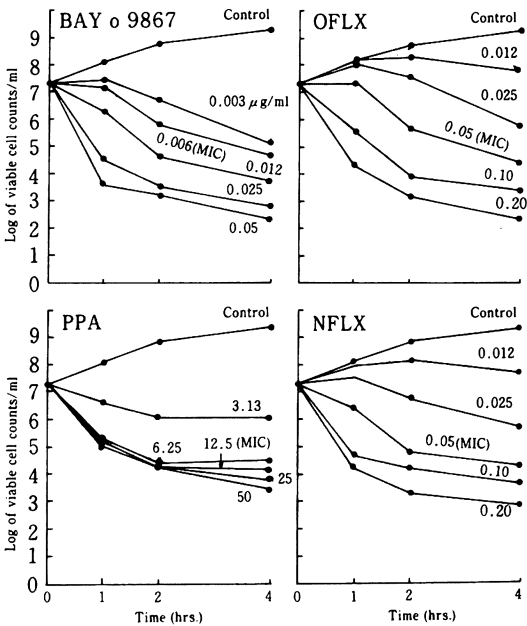


Fig. 32 Effect of BAY o 9867, OFLX, PPA and NFLX on viability of *K. pneumoniae* KC-1

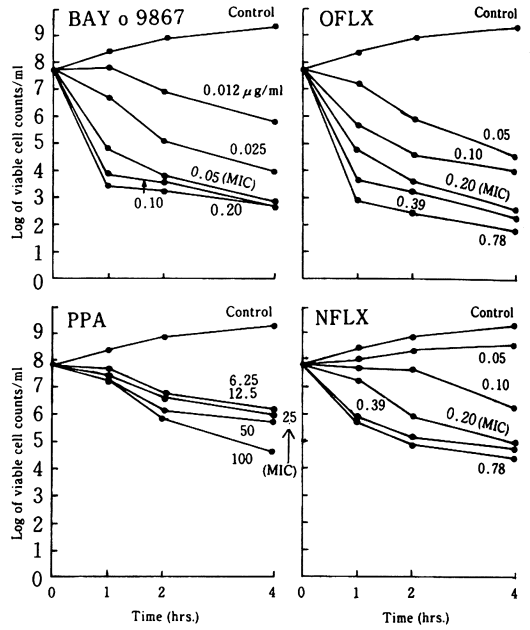


Fig. 33 Effect of BAY o 9867, OFLX, PPA and NFLX on viability of *P. aeruginosa* E-2

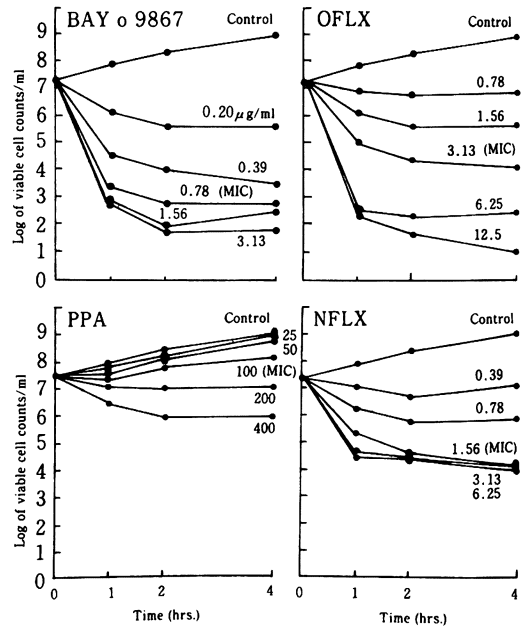
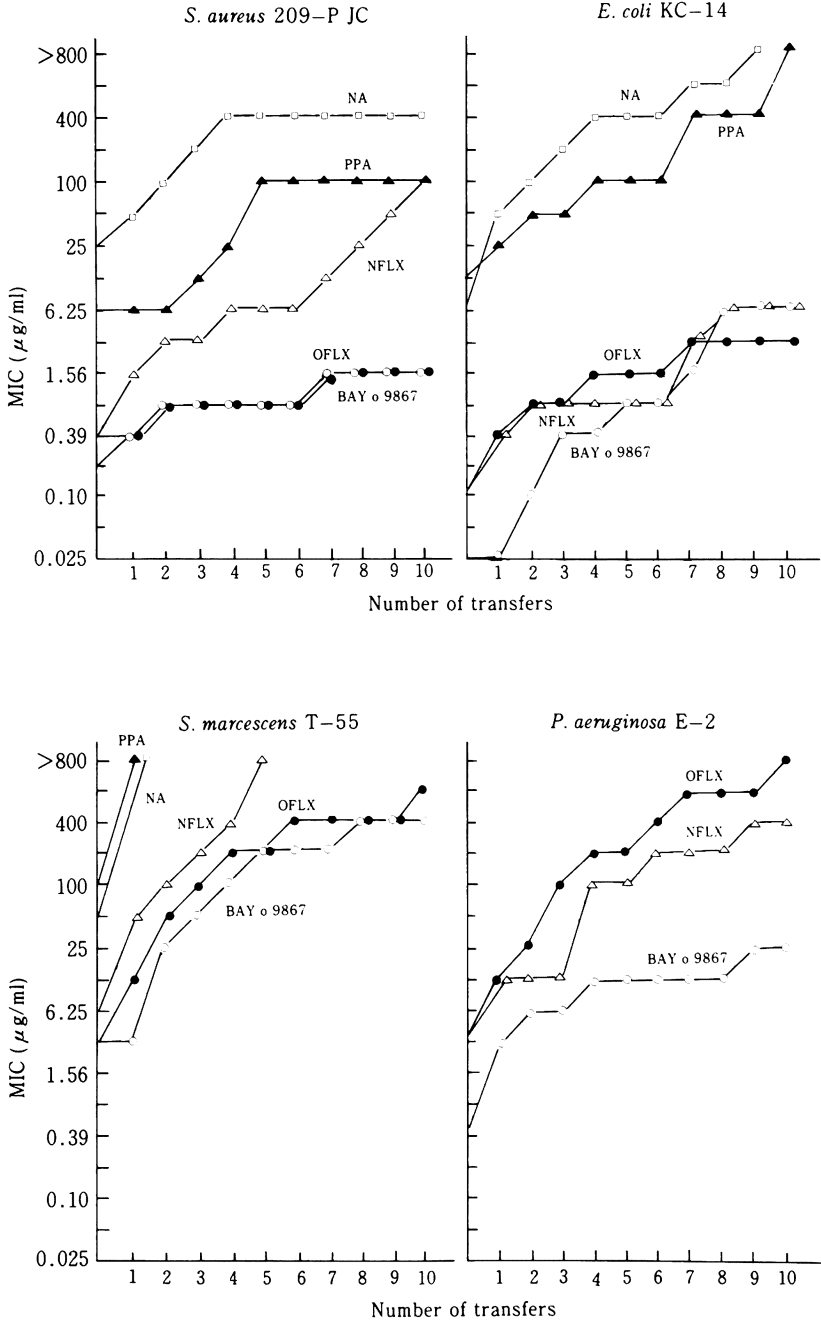


Fig. 34 Development of drug resistance to BAY o 9867, OFLX, NFLX, PPA and NA
(in vitro)



Inoculum size : 10^8 cells/ml

Medium : Heart infusion broth

Fig. 35 Phase-contrast micrographs of *S. aureus* SMITH exposed to BAY o 9867 for 2 hours

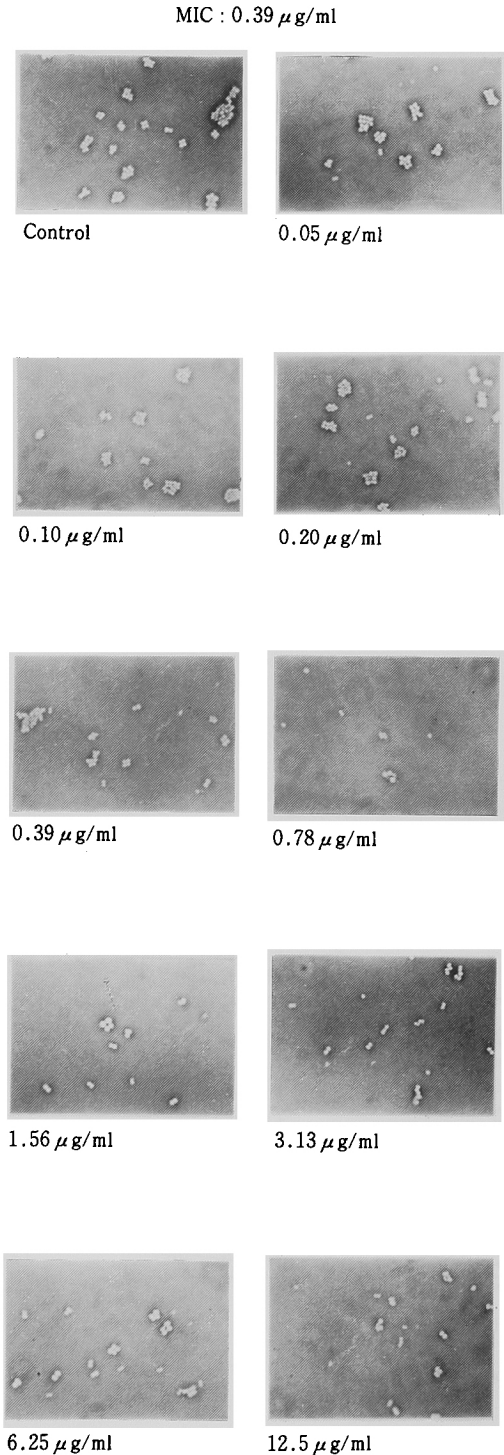


Fig. 36 Phase-contrast micrographs of *S. aureus* SMITH exposed to BAY o 9867 for 3 hours

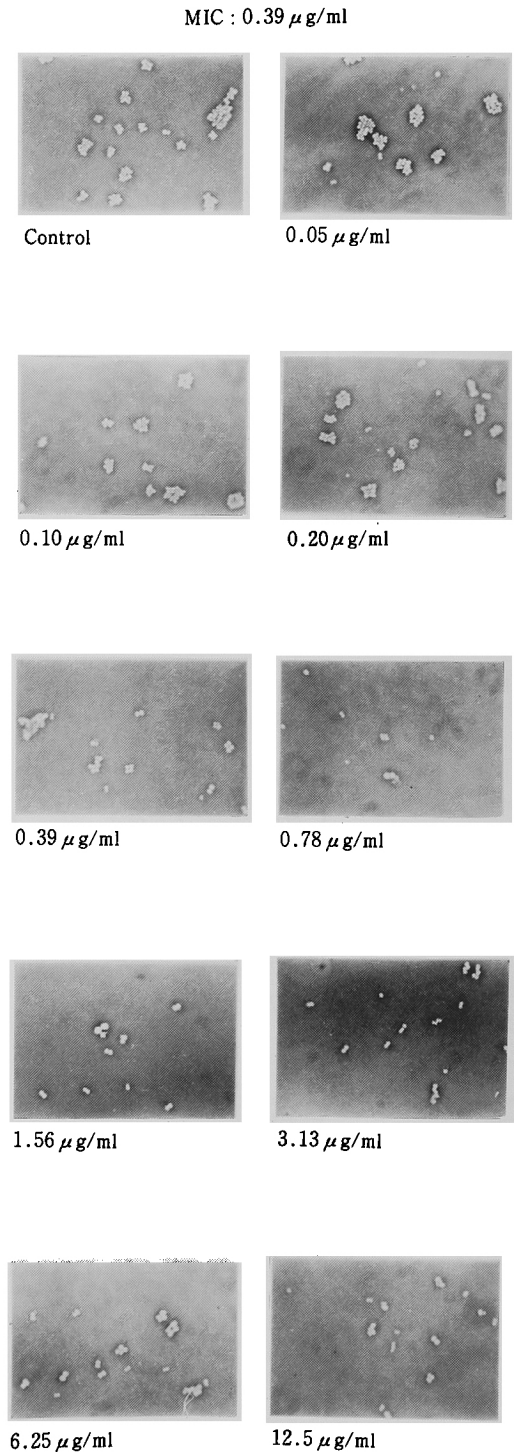


Fig. 37 Phase-contrast micrographs of *E. coli* KC-14 exposed to BAY o 9867 for 2 hours

Fig. 38 Phase-contrast micrographs of *E. coli* KC-14 exposed to BAY o 9867 for 3 hours

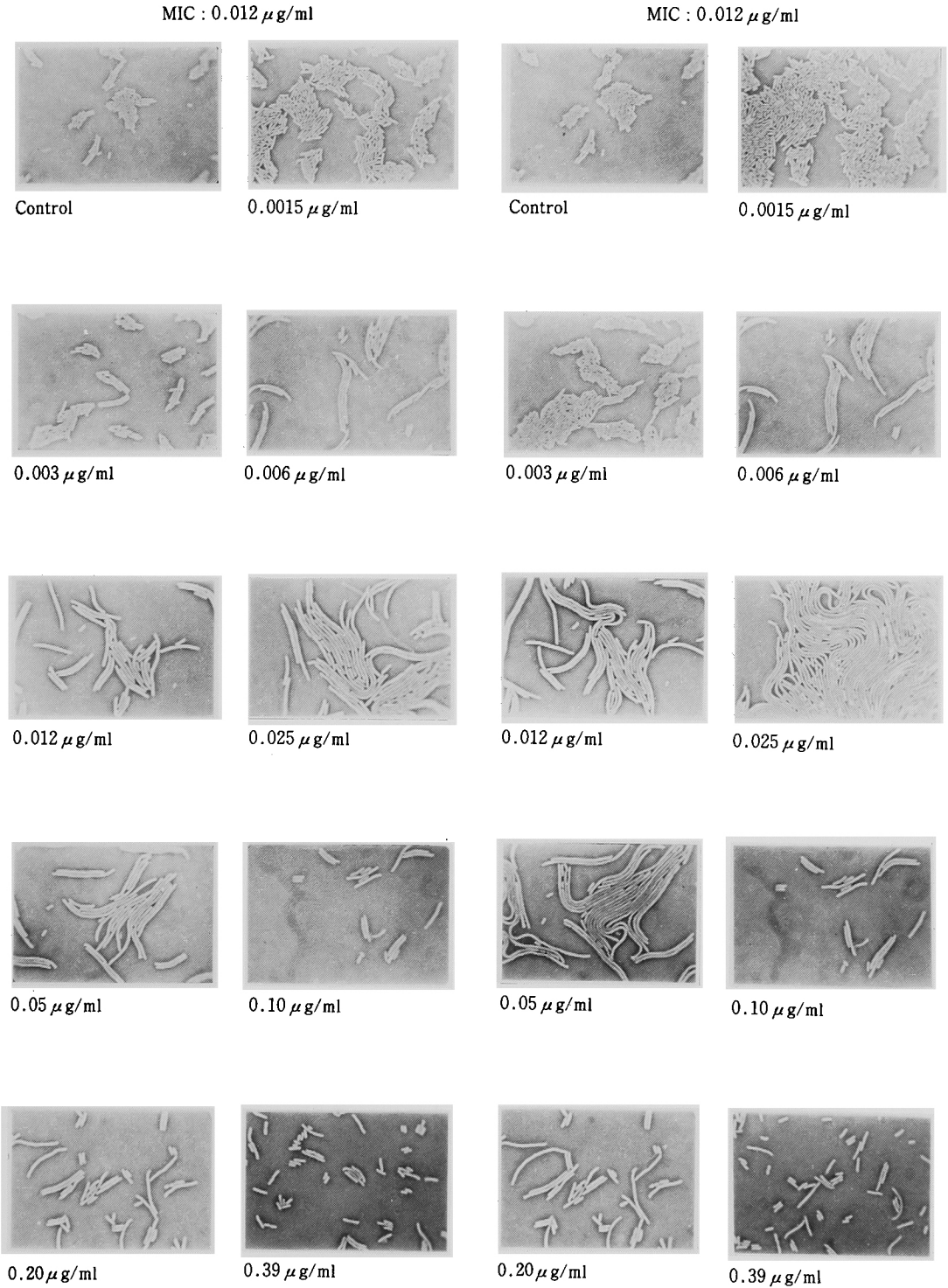


Fig. 39 Phase-contrast micrographs of *P. aeruginosa* E-2 exposed to BAY o 9867 for 2 hours

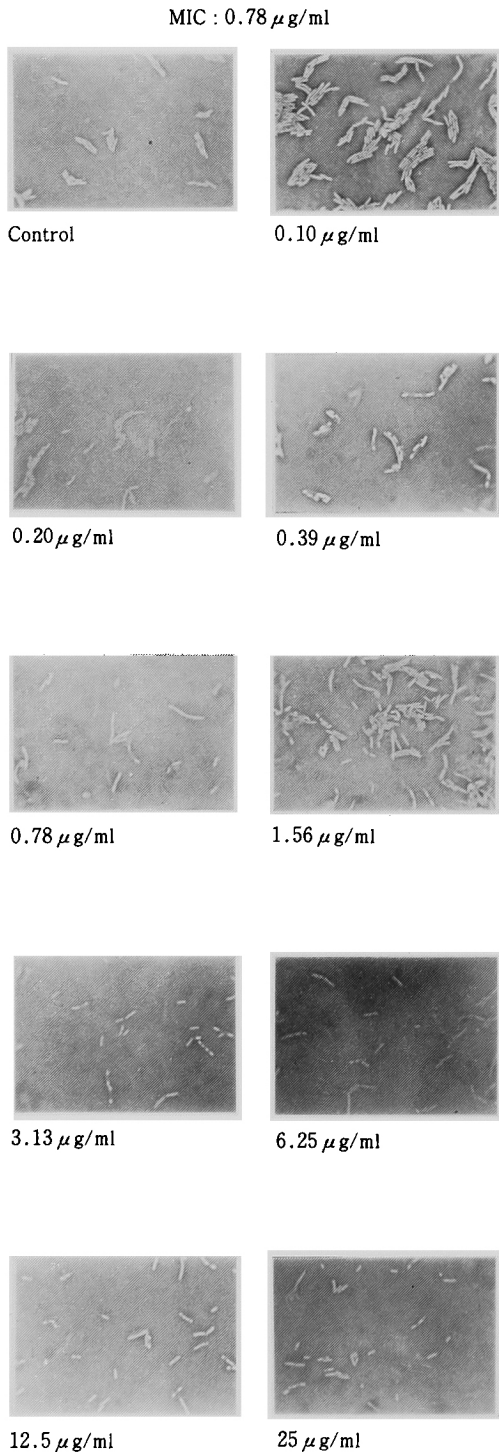


Fig. 40 Phase-contrast micrographs of *P. aeruginosa* E-2 exposed to BAY o 9867 for 3 hours

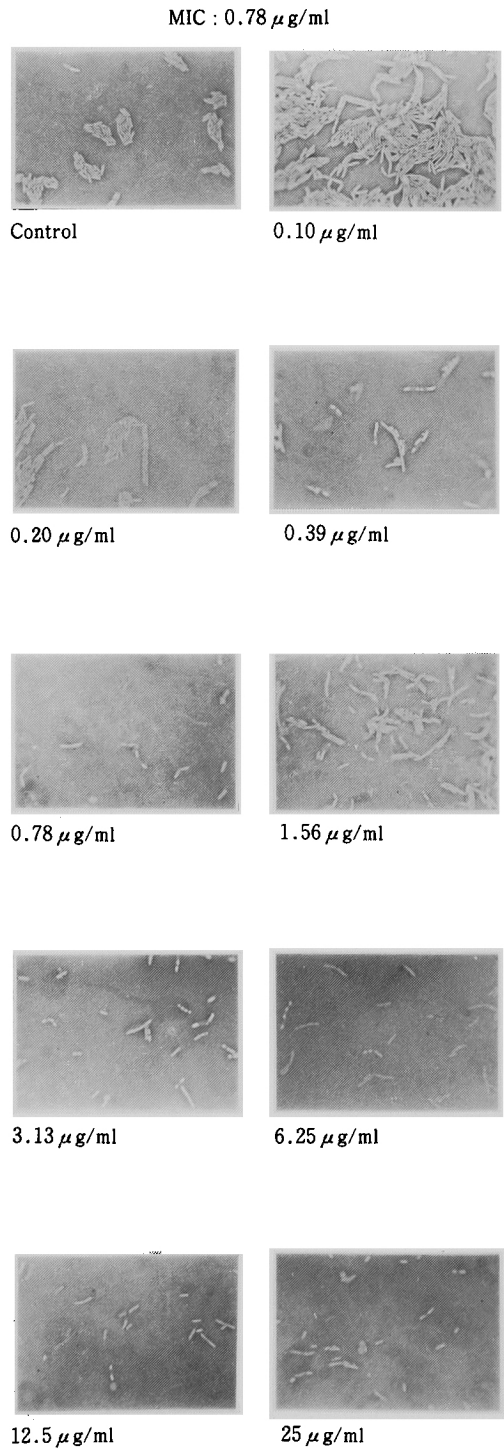


Table 11 Protecting effect of BAY o 9867, NFLX, PPA and OFLX against experimental infections in mice

Organism	Challenge dose (cells/mouse)	Administra- tion route	Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ * (mg/mouse)	
				10 ⁸	10 ⁶		
<i>S. aureus</i> SMITH	7.6×10 ⁵ (32 LD ₅₀)	s. c.	BAY o 9867	0.39	0.20	0.0086	(0.00566~0.0131)
		p. o.	BAY o 9867	0.39	0.20	0.135	(0.0964 ~ 0.189)
		p. o.	NFLX	0.39	0.39	0.36	(0.275 ~ 0.472)
		p. o.	PPA	12.5	6.25	3.8	(2.53 ~ 5.70)
		p. o.	OFLX	0.39	0.20	0.06	(0.0414 ~ 0.087)
<i>E. coli</i> KC-14	9.0×10 ³ (98 LD ₅₀)	s. c.	BAY o 9867	0.012	0.012	0.0010	(0.00077~0.0013)
		p. o.	BAY o 9867	0.012	0.012	0.013	(0.0113 ~ 0.0157)
		p. o.	NFLX	0.05	0.05	0.054	(0.0386 ~ 0.0756)
		p. o.	PPA	12.5	12.5	0.59	(0.331 ~ 1.05)
		p. o.	OFLX	0.05	0.05	0.0084	(0.00636~0.0111)
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	4.5×10 ³ (110 LD ₅₀)	s. c.	BAY o 9867	0.05	0.05	0.0042	(0.00344~0.00512)
		p. o.	BAY o 9867	0.05	0.05	0.023	(0.0159 ~ 0.0344)
		p. o.	NFLX	0.20	0.20	0.20	(0.129 ~ 0.31)
		p. o.	PPA	25	25	1.8	(1.16 ~ 2.79)
		p. o.	OFLX	0.20	0.20	0.025	(0.0180 ~ 0.0348)
<i>S. marcescens</i> T-55	1.5×10 ⁶ (16 LD ₅₀)	s. c.	BAY o 9867	0.20	0.20	0.0025	(0.00176~0.00355)
		p. o.	BAY o 9867	0.20	0.20	0.043	(0.0326 ~ 0.0568)
		p. o.	NFLX	0.39	0.20	0.086	(0.0555 ~ 0.133)
		p. o.	PPA	25	12.5	0.34	(0.270 ~ 0.428)
		p. o.	OFLX	0.39	0.20	0.04	(0.0296 ~ 0.054)
<i>P. aeruginosa</i> E-2	1.1×10 ⁶ (46 LD ₅₀)	s. c.	BAY o 9867	0.78	0.39	0.048	(0.0364 ~ 0.0607)
		p. o.	BAY o 9867	0.78	0.39	0.29	(0.212 ~ 0.397)
		p. o.	NFLX	1.56	0.78	2.05	(1.37 ~ 3.08)
		p. o.	PPA	100	100	>16.0	
		p. o.	OFLX	3.13	1.56	0.50	(0.352 ~ 0.710)

*Calculated by LITCHFIELD-WILCOXON method

() : 95% confidence limits

Table 12 Therapeutic effect of BAY o 9867, NFLX, PPA and OFLX in mice infected with *Klebsiella pneumoniae* DT-S by inhalation

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Administration route	ED ₅₀ (mg/mouse)
BAY o 9867	0.025	s. c.	0.252 (0.115 ~ 0.554)
BAY o 9867	0.025	p. o.	0.295 (0.0893~0.974)
NFLX	0.20	p. o.	>10
PPA	6.25	p. o.	>15
OFLX	0.05	p. o.	0.34 (0.166 ~ 0.697)

Administration : 15 hrs. after inhalation

Observation : 7 days

() : 95% confidence limits

ては、OFLX とほぼ同等もしくはやや劣っていた。臨床分離株に対する感受性分布では *S. aureus*, *A. calcoaceticus* では、OFLX とほぼ同等もしくはやや劣っていたが、他のすべての菌種においては、他の3剤より優れていた。抗菌力に及ぼす諸因子の影響では、*S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* のいずれの菌株においてもさほど大きな影響はみられなかった。

抗菌作用形式では、BAY o 9867 は *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* で、最小発育阻止濃度の1/4以上で殺菌性が認められた。マウス実験の感染症に対する治療効果では、*S. aureus*, *E. coli* 感染症に対して、BAY o 9867 は、OFLX より劣っていたが、*K. pneumoniae*, *S. marcescens* 感染症に対しては、OFLX とほぼ同等の、*P. aeruginosa* 感染症に対しては、他の3剤より優れた治療効果を示した。

このように、BAY o 9867 は *in vitro* ではほとんどの菌種において、NFLX, PPA, OFLX より優れた抗菌力を示したが、*in vivo* では、OFLX とほぼ同等の治療効果を示した。このことは、皮下投与した場合の BAY o 9867 の治療効果が、経口投与の場合より優れていた点からわかるように、本剤を投与した際の経口吸収の問題があると考えられる。

また、BAY o 9867 の作用機作は、Nalidixic acid と同様、DNA gyrase の阻害によるといわれているが、その抗菌力は Nalidixic acid と比較すると、ほとんどすべての菌種で優れており、特に *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides* 等で顕著であった。これは、

DNA gyrase への親和性が増加したこと、また外膜の透過性が良好となったためと思われるが、詳細は今後の研究に待たれるところである。

文 献

- 1) SHIMIZU, M; Y. TAKASE, S. NAKAMURA, H. KATAE, A. MINAMI, K. NAKATA & N. KUROBE : Pipemidic acid : Its activities against various experimental infections. *Antimicrob. Agents Chemother* 9 : 569 ~ 574, 1976
- 2) 中澤昭三, 西野武志, 浜洲泰久, 石山正光 : 合成化学療法剤 Pipemidic acid に関する細菌学的研究。 *Chemotherapy* 23 : 2647~2658, 1975
- 3) 西野武志, 後藤直正, 石村富喜子, 永田昌宏, 松野和弘, 谷野輝雄 : 新しい合成化学療法剤 AM-715 に関する細菌学的評価。 *Chemotherapy* 29 (S-4) : 27~44, 1981
- 4) 西野武志, 田中真由美, 河端繁勝, 藪千晶, 山中邦俊, 谷野輝雄 : 新しい合成化学療法剤 DL-8280 に関する細菌学的評価。 *Chemotherapy* 32 (S-1) : 62~83, 1984
- 5) MIC 測定法改訂委員会 : 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改訂について。 *Chemotherapy* 22 : 1126~1128, 1974
- 6) LITCHFIELD, J. T. & F. WILCOXON : A simplified method of evaluating dose effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 96 : 99~113, 1949

BACTERIOLOGICAL EVALUATION OF BAY o 9867, A NEW SYNTHETIC ANTIMICROBIAL AGENT

TAKESHI NISHINO, MAYUMI TANAKA, HIDEO KENMOTSU and TERUO TANINO

Department of Microbiology, Kyoto Pharmaceutical University

Bacteriological evaluation of BAY o 9867, a synthetic antimicrobial agent, was carried out compared with Norfloxacin (NFLX), Pipemidic acid (PPA) and Ofloxacin (OFLX), and the following results were obtained:

1. BAY o 9867 showed a broad spectrum of antibacterial activity against gram-positive and gram-negative bacteria including anaerobic bacteria. The antibacterial activity of BAY o 9867 was similar to that of OFLX against gram-positive bacteria, superior to those of NFLX, PPA and OFLX against gram-negative bacteria and similar or a little inferior to that of OFLX against anaerobic bacteria.

2. The MICs of BAY o 9867 for clinical isolates were slightly higher than those of OFLX for *Staphylococcus aureus*, almost equal to those of OFLX for *Acinetobacter calcoaceticus*, and the lowest for all other bacteria tested, followed by those of OFLX, NFLX and PPA.

3. The kind of medium, addition of horse serum and inoculum size did not affect the antibacterial activity of BAY o 9867 against *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. The antibacterial activity of BAY o 9867 against these bacteria was enhanced in alkaline medium.

4. The bactericidal activity of BAY o 9867 against *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* was dose-dependent.

5. As for morphological alterations of bacteria treated with BAY o 9867, swollen cells of *S. aureus* and elongated cells of *E. coli* were observed. However, the elongation of *P. aeruginosa* was hardly noted, and the spheroplast-like structure and lysis of *P. aeruginosa* were observed.

6. Therapeutic effect of BAY o 9867 against experimental systemic infections in mice was a little inferior to that of OFLX against *S. aureus* and *E. coli*, similar to that of OFLX against *K. pneumoniae* and *S. marcescens*, superior to that of OFLX against *P. aeruginosa*, and superior to those of NFLX and PPA against all the bacteria tested.