

嫌気性菌に対する NY-198 の抗菌力

加藤 直樹・宮内 正幸・渡辺 邦友・上野 一恵

岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設

新規 pyridonecarboxylic acid 系合成抗菌剤である NY-198 の *in vitro* および *in vivo* における抗菌力の検討, *in vitro* 耐性獲得試験およびマウス盲腸内容における *Clostridium difficile* 出現実験を行なった。本剤は Gram 陰性と陽性の嫌気性菌に対し比較的幅広い抗菌スペクトラムを有していたが, 全般に抗菌力は ofloxacin よりは若干弱く, norfloxacin よりは強いほぼ同等の成績であった。Reference strain の中でとくに本剤に高い感受性がみられたのは, *Bacteroides gracilis*, *Bacteroides ureolyticus* と *Capnocytophaga ochracea* であった。臨床分離株を用いた検討では, NY-198 の *Bacteroides fragilis* に対する MIC₇₀ が 12.5 μg/ml とやや高く, ラット・パウチを用いた *in vivo* 実験では *B. fragilis* に対し効果は認められなかった。しかし, *Peptostreptococcus magnus* などの Gram 陽性球菌の臨床分離株に対する MIC₇₀ は 3.13 μg/ml と比較的低い値であった。*In vitro* 耐性獲得試験では, 嫌気性菌は通性嫌気性菌に比べて NY-198 に対する耐性を獲得しにくい成績であった。抗菌薬投与に関連した下痢症と関係のある腸内の *C. difficile* の異常増殖は, NY-198 の 7 日間連続投与によって 5 匹中 2 匹に 10² CFU/g と少ない菌数がみられたのみであった。

NY-198 は北陸製薬株式会社研究所で新規に合成された pyridonecarboxylic acid 系合成抗菌剤である。化学名は (±)-1-ethyl-6, 8-difluoro-1, 4-dihydro-7-(3-methyl-1-piperazinyl)-4-oxo-3-quinolonecarboxylic acid hydrochloride で, quinolone 環の 6 位と 8 位にフッ素を有する特徴を持つ。分子量は 387.81 で, 構造式は Fig. 1 に示した。

著者らは NY-198 の嫌気性菌に対する *in vitro* と *in vivo* における抗菌力を既存の pyridonecarboxylic acid 系抗菌剤と比較検討した。一方, マウスを用いた実験系で, 薬剤投与による盲腸内の *Clostridium difficile* の出現も合わせて行ない, 本剤の下痢症誘発性の点から見た安全性についても検討した。また, *in vitro* における耐性獲得試験も行なった。

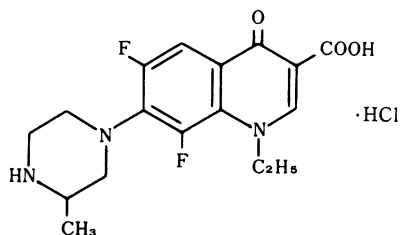


Fig. 1. Chemical structure of NY-198

I 材料と方法

1. 抗菌スペクトラム

当教室が保有する ATCC (American Type Culture Collection), VPI (Virginia Polytechnic Institute), WAL (Wadsworth Anaerobic Laboratory) および GAI (Gifu Anaerobic Institute) 由来の 10 菌属, 33 菌種, 35 菌株の reference strain に対する MIC (minimum inhibitory concentration) を測定した¹⁾。培地は 5% ヒツジ溶血血液加 Brucella 培地を用いた。

2. 新鮮臨床分離株に対する抗菌力

過去 3 年間に分離された嫌気性 Gram 陰性菌の *Bacteroides fragilis* 39 株, *Bacteroides vulgatus* 2 株, *Bacteroides distasonis* 2 株, *Bacteroides ovatus* 5 株, *Bacteroides thetaiotaomicron* 10 株, *Bacteroides uniformis* 13 株, *Bacteroides intermedius* 13 株, *Bacteroides corporis* 7 株, *Bacteroides bivius* 27 株および嫌気性 Gram 陽性菌の *Peptostreptococcus anaerobius* 19 株, *Peptostreptococcus asaccharolyticus* 21 株, *Peptostreptococcus magnus* 37 株, *Clostridium difficile* 22 株に対する MIC を測定した。接種菌量は 10⁶ CFU/ml とした。培地は *B. intermedius* と *B. corporis* では 5% ヒツジ溶血血液加 Brucella 培地を, それ以外では GAM 寒天培地を用いた。

3. 使用薬剤

NY-198 (北陸製薬, 906 μ g/mg) および抗菌力の検討では対照薬剤として ofloxacin (OFLX, 第一製薬, 1000 μ g/mg), norfloxacin (NFLX, 杏林製薬, 1000 μ g/mg), pipemidic acid (PPA, 第一製薬, 1000 μ g/mg) を用いた。

4. MIC と MBC の比較

菌株は *B. fragilis* GAI 5562 (GM 7000) 株を用いた。接種菌液は GAM 寒天培地に 24 時間培養した菌株を 0.03% yeast extract 溶液に 10⁸CFU/ml になるように懸濁し、これをさらに 1000 倍に希釈して作製した。この菌液は 2 倍段階希釈された薬剤を含む vitamin K₁ (0.1 μ g/ml) 加 GAM broth に 10 μ l 接種し、48 時間培養後、肉眼的に培地の濁りがみられない最小薬剤濃度を MIC として求めた。MBC は濁りのみられない GAM broth を薬剤を含まない GAM 寒天培地に接種、培養し、接種菌の 99.9% が死滅した最小薬剤濃度とした。

5. ラット・パウチ内感染の治療実験

方法の詳細はすでに報告した²⁾。略述すると、ラットは Wister 系、雄、5 週齢を用い、背部皮下に作製したパウチに *B. fragilis* GAI 5562 株を 10⁸CFU 接種し、24 時間後より NY-198 による治療を開始した。NY-198 は 1 回 4 mg/kg または 40 mg/kg を 1 日 2 回、7 日間経口投与した。この間、経時的にパウチ内菌数を平板塗布法により測定し、治療効果を検討した。

パウチ内薬剤濃度は *Bacillus subtilis* MB32 を検定菌としたペーパー・ディスクを用いた bioassay 法により測定した。培地は 1% 寒天濃度の Brain Heart Infusion Agar (BBL) を用いて行った。

6. マウス盲腸内における *C. difficile* 出現実験

方法の詳細は既に報告した³⁾。マウスは ICR 系、雄、4 週齢 (20 $\pm$ 2 g) を用いた。投与量、投与日数は 1 回 2 mg, 1 日 1 回、7 日間とし、NY-198 は経口投与した。盲腸内の *C. difficile* は薬剤投与終了後、1 日目と 5 日目に定量培養法により菌数を測定した。

7. In vitro における耐性獲得試験

B. fragilis GAI 5562, *B. vulgatus* ATCC 8482 および *Escherichia coli* ATCC 25922 を用いて増量の継代法により行なった⁴⁾。培地は vitamin K₁ (0.1 μ g/ml) 加 GAM 半流動培地 (日水) を用いた。MIC は薬剤を含まない培地での菌の発育と比較し、明らかに菌の増殖が抑制されている最小薬剤濃度とした。

継代前後の菌の薬剤感受性 population は GAM 寒天培地上の菌を 0.03% yeast extract に 10¹⁰CFU/ml 以上の高濃度に懸濁後、各種濃度の薬剤を含む GAM 寒天培地上に 0.1 ml ずつ分注し、各寒天平板に発育したコロニー数を算出した。

II 結 果

1. 抗菌スペクトラム

Gram 陰性菌の 10⁸CFU/ml と 10⁶CFU/ml 接種時の MIC はそれぞれ Table 1 と 2 に示した。NY-198 の MIC は他の pyridonecarboxylic acid と同様に、*Capnocytophaga* 属を除き、接種菌量による変動はほとんどみられなかった。

臨床材料からの分離頻度が高い *B. fragilis* group に対しては、NY-198 は 6.25~25 μ g/ml の MIC を示し、OFLX よりはやや劣るものの、NFLX よりはやや優れていた。NY-198 は *Fusobacterium* 属の菌には 6.25 μ g/ml 以上の MIC で、*B. fragilis* group における成績とほぼ同様であった。また Gram 陰性球菌の *Veillonella* には 10⁸CFU/ml 接種で 0.78 μ g/ml の MIC を示し、比較的低い値であった。

Gram 陽性球菌に対しては、NY-198 の MIC は 10⁸, 10⁶CFU/ml 接種でともに 0.78~50 μ g/ml に分布し、*C. difficile* を除けば比較的幅広い抗菌力を示した (Table 3, 4)。

2. 新鮮臨床分離株に対する抗菌力

B. fragilis に対しては、NY-198 の MIC のピークは 12.5 μ g/ml にあり、OFLX のピーク MIC 3.13 μ g/ml よりは 2 管以上劣っていた (Fig. 2)。各株ごとの MIC の相関関係は各薬剤間でほぼ前述のごとくの差が認められたが、NFLX に 200 μ g/ml の MIC を示した 1 株は PPA に 200 μ g/ml, OFLX に 6.25 μ g/ml, NY-198 に 12.5 μ g/ml の MIC を示し、検討した 4 剤すべてに高い MIC 値を有していた。

B. fragilis と同様に indole 陰性の *B. vulgatus* と *B. distasonis* は各々 2 株を用いて検討したが、NY-198 にはそれぞれ 6.25 μ g/ml, 50 μ g/ml と 12.5 μ g/ml, 25 μ g/ml, OFLX には 3.13 μ g/ml, 25 μ g/ml と 6.25 μ g/ml, 12.5 μ g/ml, NFLX には 100 μ g/ml, >200 μ g/ml と 100 μ g/ml 2 株, PPA には 100 μ g/ml 2 株と 100 μ g/ml 2 株で、*B. fragilis* における成績と比較的似た値であった。

B. ovatus と *B. thetaiotaomicron* の感受性はそれぞれ Fig. 3 と 4 に示した。ともによく似た感受性を示し、OFLX, NY-198, PPA, NFLX の順で MIC が低かった。

B. uniformis に対しては、NY-198 は OFLX と同様に MIC が 0.2~25 μ g/ml の間に幅広く分布した (Fig. 5)。抗菌力の強い順序は他の *B. fragilis* group の菌種とほぼ同様で、NY-198 は OFLX よりはやや劣るものの、NFLX や PPA よりは明らかに強い抗菌力を持っていた。

B. bivius に対しては、NY-198 をはじめ検討したすべ

Table 1. Antibacterial spectrum of NY-198, ofloxacin, norfloxacin and pipemidic acid against Gram-negative anaerobic bacteria

Inoculum size : 10^8 CFU/ml

Organism	MIC (μ g/ml)			
	NY-198	OFLX	NFLX	PPA
<i>Bacteroides</i>				
<i>B. fragilis</i> GAI 0558	6.25	1.56	25	200
<i>B. fragilis</i> GM 7000	6.25	1.56	25	200
<i>B. vulgatus</i> ATCC 8482	12.5	6.25	100	100
<i>B. distasonis</i> ATCC 8503	12.5	3.13	25	100
<i>B. ovatus</i> ATCC 8483	25	25	100	200
<i>B. thetaiotaomicron</i> ATCC 29741	25	25	200	200
<i>B. uniformis</i> GAI 5466	25	12.5	50	200
<i>B. oris</i> ATCC 33573	6.25	3.13	6.25	50
<i>B. oralis</i> ATCC 33269	12.5	3.13	12.5	50
<i>B. melaninogenicus</i> ATCC 29147	6.25	3.13	6.25	50
<i>B. bivia</i> ATCC 29303	6.25	1.56	12.5	50
<i>B. intermedius</i> ATCC 25611	3.13	1.56	3.13	25
<i>B. asaccharolyticus</i> ATCC 25260	1.56	0.39	3.13	12.5
<i>B. gracilis</i> GAI 10428	0.78	0.39	6.25	12.5
<i>B. ureolyticus</i> NCTC 10941	0.39	0.20	0.20	12.5
<i>Fusobacterium</i>				
<i>F. nucleatum</i> ATCC 25586	12.5	3.13	25	200
<i>F. varium</i> ATCC 8501	50	12.5	100	200
<i>F. necrophorum</i> ATCC 25286	6.25	3.13	6.25	200
<i>F. mortiferum</i> GAI 5576	6.25	3.13	12.5	200
<i>Veillonella</i>				
<i>V. parvula</i> ATCC 10790	1.56	0.78	1.56	50
<i>Capnocytophaga</i>				
<i>C. ochracea</i> * Lo-ori	1.56	0.39	0.78	25

* *C. ochracea* is a capnophilic bacterium, which was previously designated as *Bacteroides ochraceus*.

ての薬剤が急峻な MIC 累積曲線を示した (Fig. 6)。NY-198 の MIC は 12.5~25 μ g/ml に分布し、OFLX よりは 2 管程劣っていた。Pigmenting *Bacteroides* として知られる *B. corporis* および *B. intermedius* では、*B. intermedius* に対する PPA の MIC を除き、全体に MIC 分布の幅が狭かった (Fig. 7, 8)。これらの菌種に対する NY-198 の MIC は 6.25 μ g/ml 以下で、OFLX よりは高く、NFLX とは同等かやや弱い抗菌力であった。

嫌気性 Gram 陽性球菌の *P. anaerobius*, *P. magnus* および *P. asaccharolyticus* に対する MIC はそれぞれ Fig. 9, 10, 11 に示した。NY-198 はこれらの菌種の中で *P. magnus* に対し最も強い抗菌力を示し、MIC 分布のピーク値は 1.56 μ g/ml であった。*P. asaccharolyticus* に対しては 6.25~25 μ g/ml の MIC を示し、比較的高い値

であった。他剤との比較では、OFLX よりは 1 管程劣るものの、NFLX とはほぼ同等の抗菌力を示した。

C. difficile に対しては、NY-198 の MIC は 25~50 μ g/ml と、比較的高い値を示し、抗菌力は弱かった (Fig. 12)。

3. *B. fragilis* に対する MIC と MBC の比較

B. fragilis GAI 5562 株を用いた検討では、PPA を除き、NY-198 は OFLX や NFLX と同様に、MIC 値と MBC 値が 2 倍違いで、強い殺菌的效果を示した (Table 5)。

4. ラット・パウチ内感染の治療実験

NY-198 の 4 mg/kg および 40 mg/kg、1 日 2 回の連続投与によつては、*B. fragilis* の増殖はまったく影響されず、本剤の効果は認められなかった (Fig. 13)。

Table 2. Antibacterial spectrum of NY-198, ofloxacin, norfloxacin and pipemidic acid against Gram-negative anaerobic bacteria

Inoculum size : 10^6 CFU/ml

Organism	MIC (μ g/ml)			
	NY-198	OFLX	NFLX	PPA
<i>Bacteroides</i>				
<i>B. fragilis</i> GAI 0558	6.25	1.56	25	200
<i>B. fragilis</i> GM 7000	6.25	1.56	25	200
<i>B. vulgatus</i> ATCC 8482	6.25	6.25	100	100
<i>B. distasonis</i> ATCC 8503	12.5	3.13	12.5	100
<i>B. ovatus</i> ATCC 8483	25	12.5	100	200
<i>B. thetaiotaomicron</i> ATCC 29741	25	12.5	200	200
<i>B. uniformis</i> GAI 5466	12.5	6.25	50	100
<i>B. oris</i> ATCC 33573	3.13	0.78	3.13	25
<i>B. oralis</i> ATCC 33269	6.25	3.13	3.13	12.5
<i>B. melaninogenicus</i> ATCC 29147	3.13	3.13	1.56	12.5
<i>B. bivius</i> ATCC 29303	3.13	0.78	1.56	25
<i>B. intermedius</i> ATCC 25611	3.13	0.78	3.13	25
<i>B. asaccharolyticus</i> ATCC 25260	1.56	0.39	3.13	12.5
<i>B. gracilis</i> GAI 10428	0.78	0.39	6.25	6.25
<i>B. ureolyticus</i> NCTC 10941	0.39	0.10	0.20	6.25
<i>Fusobacterium</i>				
<i>F. nucleatum</i> ATCC 25586	6.25	3.13	25	100
<i>F. varium</i> ATCC 8501	50	6.25	50	200
<i>F. necrophorum</i> ATCC 25286	6.25	3.13	3.13	200
<i>F. mortiferum</i> GAI 5576	6.25	3.13	6.25	100
<i>Veillonella</i>				
<i>V. parvula</i> ATCC 10790	0.78	0.39	0.78	25
<i>Capnocytophaga</i>				
<i>C. ochracea</i> * Lo-ori	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025

* *C. ochracea* is a capnophilic bacterium, which was previously designated as *Bacteroides ochraceus*.

使用菌株に対する NY-198 の MIC は $12.5 \mu\text{g/ml}$ であったが、パウチ内薬剤濃度は 40mg/kg の投与量でも、投与後 3, 6, 9 時間目に検出されたのは $1 \mu\text{g/ml}$ 前後で、MIC 値を 6 倍下回る薬剤濃度しか移行がみられなかった。

5. マウス盲腸内 *C. difficile* の出現実験

NY-198 では盲腸内に本剤が十分残っていると思われる薬剤投与終了 1 日後に、*C. difficile* の出現はみられなかったものの、残留薬剤がないと考えられる投与終了 5 日後には 5 匹中 2 匹に *C. difficile* の出現をみた (Table 6)。しかし、菌数は 10^2CFU/g で、検出下限の最も少ない菌数であった。

6. In vitro における耐性獲得試験

E. coli は NY-198 を含む培地中で容易に耐性獲得が

みられるものの、*B. fragilis* と *B. vulgatus* では 12 回の継代によっても 4 倍の MIC 上昇しか認められなかった (Fig.14)。

この時の継代前の菌株と薬剤含有培地で 12 回継代後の菌株の薬剤感受性 population を比較検討すると、*E. coli* では継代後大半は 64 倍以上耐性化し、 10^6CFU/ml の population は $200 \mu\text{g/ml}$ の NY-198 で発育を阻止されなかった (Fig.15)。

B. fragilis では、4 倍までの耐性化が継代後の株の大半の population でみられ (Fig.16)、*B. vulgatus* でも同程度の上昇が認められた (Fig.17)。

III 考 察

近年, NFLX, OFLX, enoxacin, ciprofloxacin と

Table 3. Antibacterial spectrum of NY-198, ofloxacin, norfloxacin and pipemidic acid against Gram-positive anaerobic bacteria

Inoculum size: 10⁸ CFU/ml

Organism	MIC (μg/ml)			
	NY-198	OELX	NFLX	PPA
<i>Peptostreptococcus</i>				
<i>P. anaerobius</i> ATCC 27337	1.56	0.39	6.25	100
<i>P. magnus</i> ATCC 29328	6.25	0.39	3.13	100
<i>P. asaccharolyticus</i> WAL 3218	12.5	6.25	6.25	100
<i>P. prevotii</i> ATCC 29328	12.5	6.25	6.25	100
<i>Streptococcus</i>				
<i>S. intermedius</i> ATCC 27335	12.5	3.13	12.5	200
<i>Staphylococcus</i>				
<i>S. saccharolyticus</i> ATCC 14953	1.56	0.78	0.78	50
<i>Propionibacterium</i>				
<i>P. acnes</i> ATCC 11828	6.25	1.56	6.25	50
<i>Eubacterium</i>				
<i>E. lentum</i> ATCC 25559	3.13	0.78	6.25	50
<i>Clostridium</i>				
<i>C. difficile</i> GAI 10029	50	12.5	100	>200
<i>C. difficile</i> GAI 10038	50	12.5	100	>200
<i>C. perfringens</i> ATCC 13123	1.56	0.78	3.13	50
<i>C. ramosum</i> ATCC 25582	1.56	0.78	1.56	25
<i>C. septicum</i> ATCC 12464	0.78	0.39	1.56	25

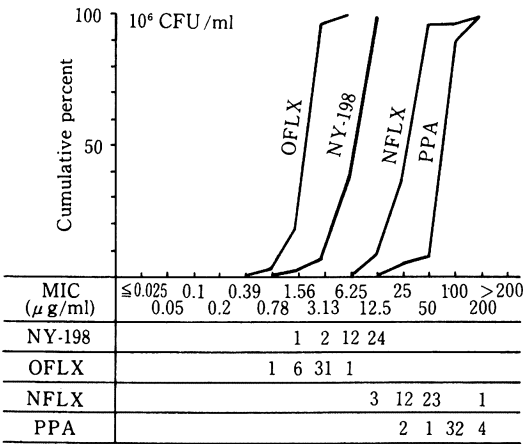


Fig. 2. Comparative *in vitro* activity of NY-198 and related agents against clinical isolates of *Bacteroides fragilis* (39 strains)

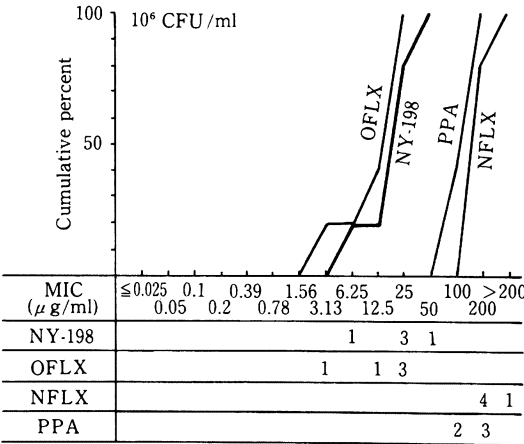
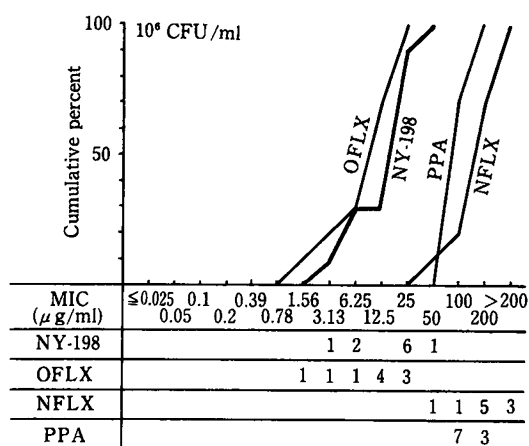
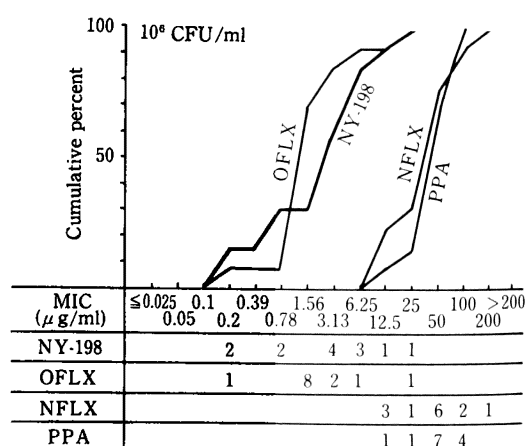


Fig. 3. Comparative *in vitro* activity of NY-198 and related agents against clinical isolates of *Bacteroides ovatus* (5 strains)

Table 4. Antibacterial spectrum of NY-198, ofloxacin, norfloxacin and pipemidic acid against Gram-positive anaerobic bacteria

Inoculum size: 10^6 CFU/ml

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	NY-198	OFLX	NFLX	PPA
<i>Peptostreptococcus</i>				
<i>P. anaerobius</i> ATCC 27337	1.56	0.78	6.25	50
<i>P. magnus</i> ATCC 29328	0.78	0.39	0.78	100
<i>P. asaccharolyticus</i> WAL 3218	12.5	1.56	6.25	50
<i>P. prevotii</i> ATCC 29328	12.5	0.10	6.25	0.20
<i>Streptococcus</i>				
<i>S. intermedius</i> ATCC 27335	12.5	1.56	12.5	200
<i>Staphylococcus</i>				
<i>S. saccharolyticus</i> ATCC 14953	1.56	0.78	0.78	25
<i>Propionibacterium</i>				
<i>P. acnes</i> ATCC 11828	3.13	0.78	3.13	25
<i>Eubacterium</i>				
<i>E. lentum</i> ATCC 25559	3.13	0.78	6.25	50
<i>Clostridium</i>				
<i>C. difficile</i> GAI 10029	25	12.5	50	>200
<i>C. difficile</i> GAI 10038	50	12.5	100	>200
<i>C. perfringens</i> ATCC 13123	1.56	0.39	3.13	25
<i>C. ramosum</i> ATCC 25582	0.78	0.39	0.78	12.5
<i>C. septicum</i> ATCC 12464	0.78	0.39	0.78	12.5

Fig. 4. Comparative *in vitro* activity of NY-198 and related agents against clinical isolates of *Bacteroides thetaiotaomicron* (10 strains)Fig. 5. Comparative *in vitro* activity of NY-198 and related agents against clinical isolates of *Bacteroides uniformis* (13 strains)

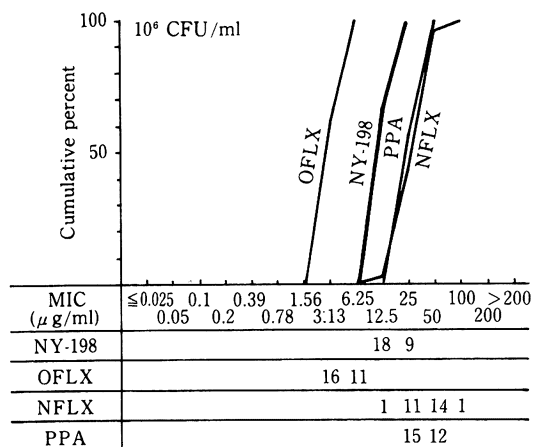


Fig. 6. Comparative *in vitro* activity of NY-198 and related agents against clinical isolates of *Bacteroides bivius* (27 strains)

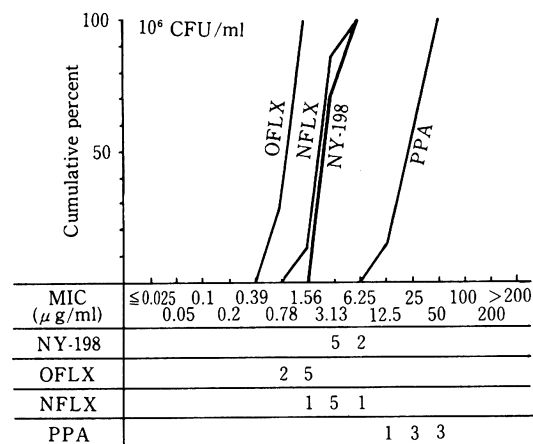


Fig. 7. Comparative *in vitro* activity of NY-198 and related agents against clinical isolates of *Bacteroides corporis* (7 strains)

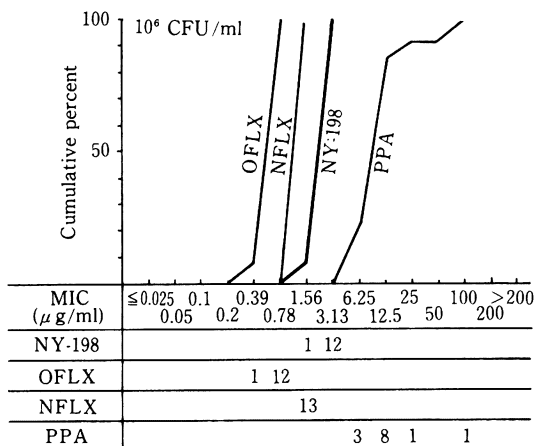


Fig. 8. Comparative *in vitro* activity of NY-198 and related agents against clinical isolates of *Bacteroides intermedius* (13 strains)

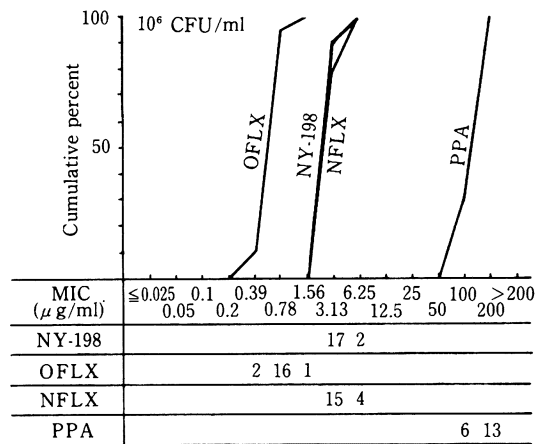


Fig. 9. Comparative *in vitro* activity of NY-198 and related agents against clinical isolates of *Peptostreptococcus anaerobius* (19 strains)

いった, naphthyridine 環もしくは quinoline 環骨格の 6 位にフッ素を導入するとともに, 1 位や 7 位に種々の置換基を持たせた合成抗菌剤がつぎつぎと開発されている。これらの薬剤は, 従来の合成抗菌剤と比較し, スペクトラムが Gram 陰性菌のみならず, Gram 陽性菌にも及び, また個々の菌種に対する抗菌力も格段に増強していることから, ニュービリドンもしくはニューキノロンと言われている⁵⁾。NY-198 もこの系統に属する抗菌剤で, Gram 陰性菌および陽性菌にわたる強い抗菌力が期待される。

今回の検討では, 嫌気性菌において幅広い抗菌スペクトラムが確認されたが, OFLX よりは抗菌力は弱く, NFLX や PPA よりは強い成績であった。

臨床分離株を用いた検討でも同様で, ほとんどの菌種で OFLX よりは劣るものの NFLX よりは優れているか同等の成績であった。この中で, 臨床的にとくに分離頻度が高い *B. fragilis* に対しては, NY-198 の MIC ピークおよび MIC₇₀ はともに 12.5 μg/ml で, 本剤の常用投与量である 1 回 200mg では血清中ピーク値が 1.5 μg/ml 前後であることを考え合えるとやや高い値であった。こ

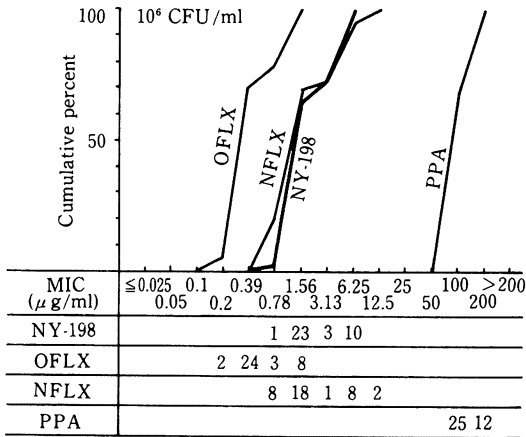


Fig. 10. Comparative *in vitro* activity of NY-198 and related agents against clinical isolates of *Peptostreptococcus magnus* (37 strains)

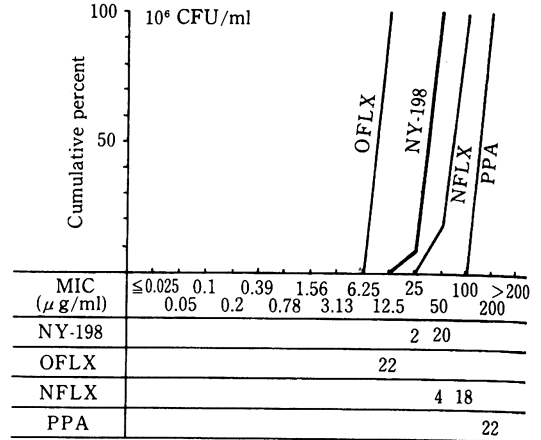


Fig. 12. Comparative *in vitro* activity of NY-198 and related agents against clinical isolates of *Clostridium difficile* (22 strains)

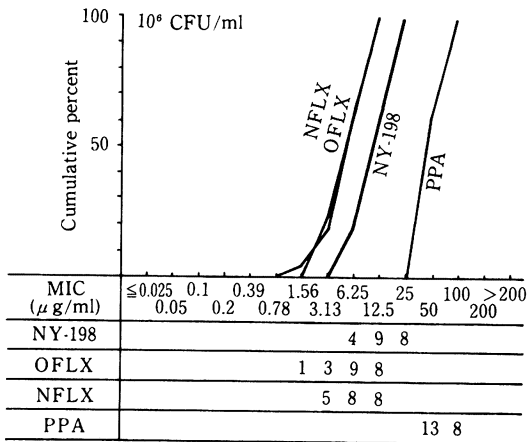


Fig. 11. Comparative *in vitro* activity of NY-198 and related agents against clinical isolates of *Peptostreptococcus asaccharolyticus* (21 strains)

のことはラット・パウチを用いた動物感染実験でも示され、使用菌株の MIC 値 6.25 μg/ml を上回るパウチ内濃度は得られず、膿瘍性の嫌気性菌感染には本剤はやや効果が弱いことが示唆された。

しかし、骨髄炎や軟部組織感染からよく分離される Gram 陽性球菌の *P. magnus* や *P. anaerobius*⁶⁾ に対しては、MIC₇₀ が 3.13 μg/ml で、ことに *P. magnus* では MIC のピークが 1.56 μg/ml と比較的低いことから、臨床的有用性が示唆された。

また、近年、歯周炎や歯周症患者から分離され、問題になっている *B. gracilis*⁷⁾、*B. ureolyticus* および *Capno-*

Table 5. MIC and MBC of NY-198 and related agents against *B. fragilis* GAI 5562

Antimicrobials	MIC	MBC
NY-198	12.5*	25
OFLX	0.78	1.56
NFLX	50	100
PPA	200	>200

* μg/ml

*cytophaga*⁸⁾ の reference strain では、NY-198 は 1.56 μg/ml 以下の比較的低い MIC を有することから、これらの菌種に対する有効性が期待される。

In vitro の耐性獲得試験では、NY-198 に対し *E. coli* は容易に耐性化がみられたものの、嫌気性菌はその度合が低く、OFLX との比較では本剤の方が耐性化の傾向が弱かった。

抗菌薬投与と関係のある下痢症の病原体の 1 つとして重要である *C. difficile* のマウス盲腸内異常増殖を検討した実験では、*C. difficile* は出現しないか出現しても 10² CFU/g とごく少数であった。したがって、NY-198 は下痢症を誘発する可能性が極めて低いものと考えられた。

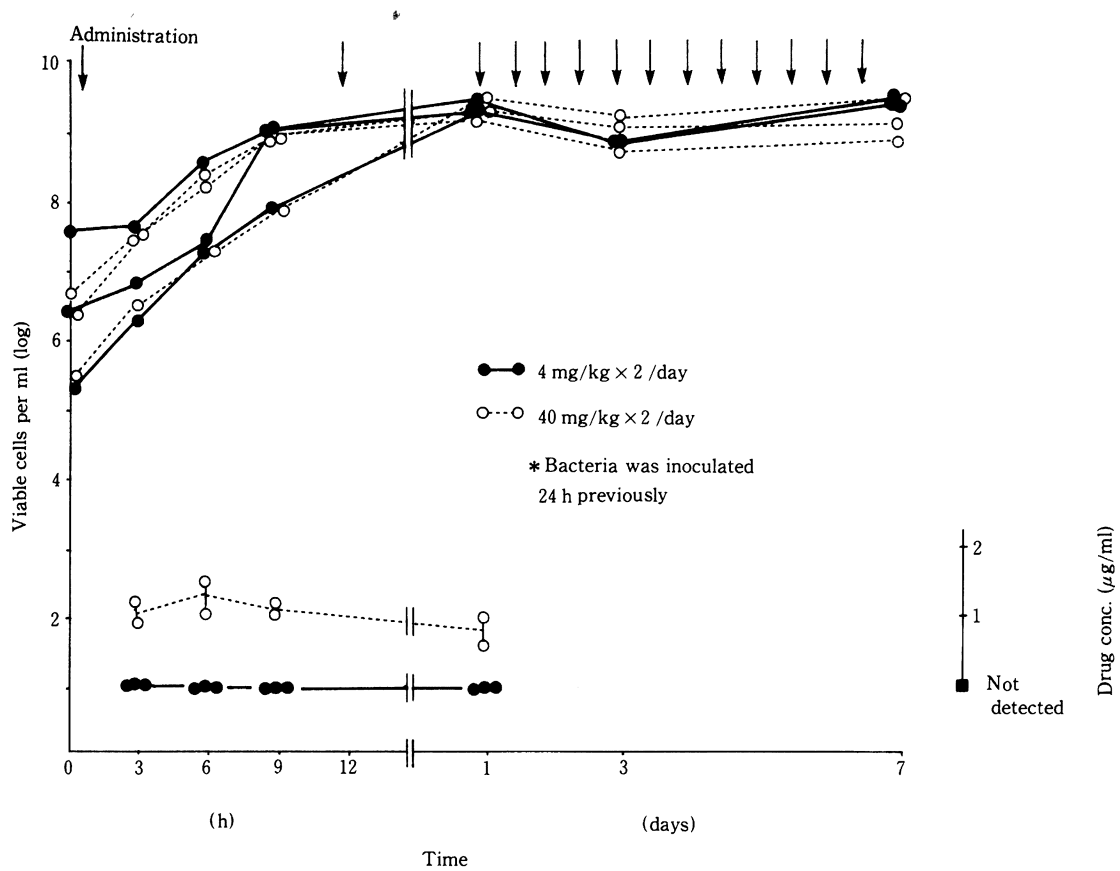


Fig. 13. Viable cell count of *B. fragilis* GAI 5562 and NY-198 concentration in rat pouch after treatment with NY-198

Table 6. Appearance of *Clostridium difficile* in caecum contents of mice administered NY-198

Antimicro- bials	Dose (mg/mouse) and route	Days after end of administration	Colony forming units/g of <i>C. difficile</i>					
			—	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
NY-198	2 p. o.	1 day	5*					
		5 days	3	2				
Control	none	1 day	5					
		5 days	5					

*: Number of mice

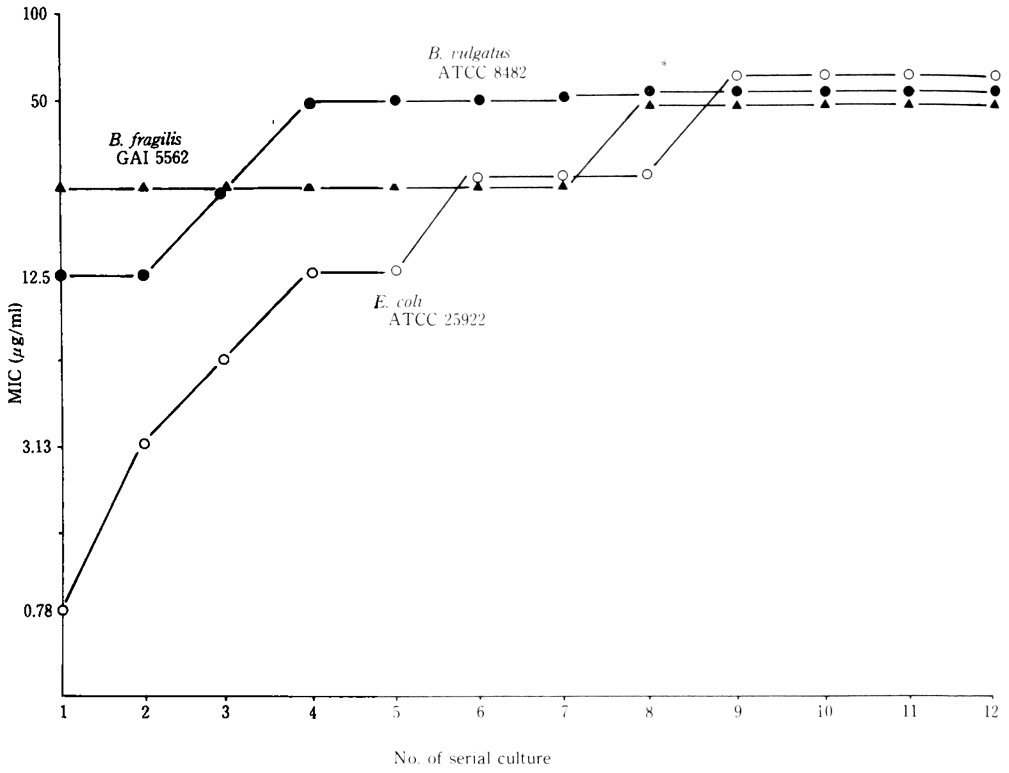


Fig. 14. *In vitro* development of bacterial resistance to NY-198 in serial culture

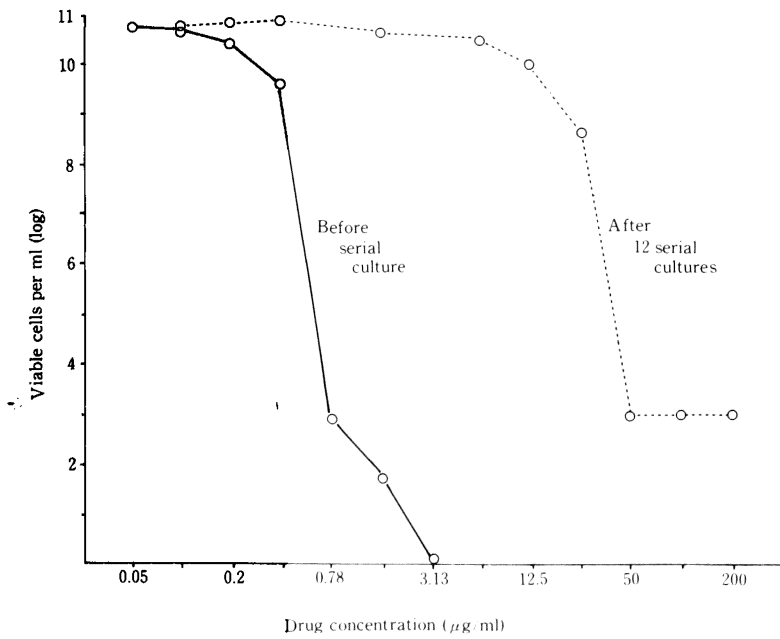


Fig. 15. Susceptibility of *E. coli* ATCC 25922 to NY-198

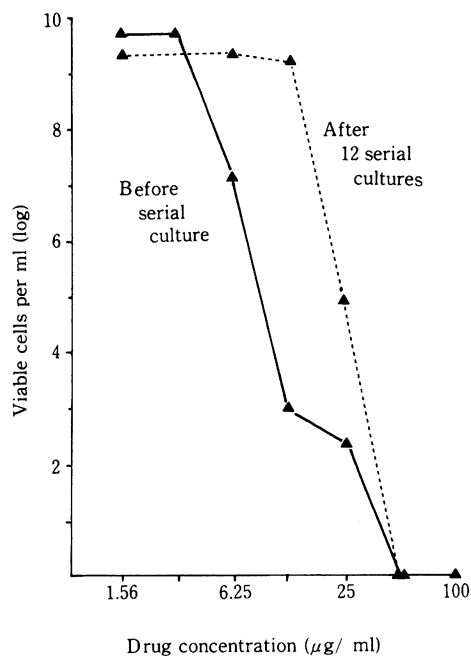


Fig. 16. Susceptibility of *B. fragilis* GAI 5562 to NY-198

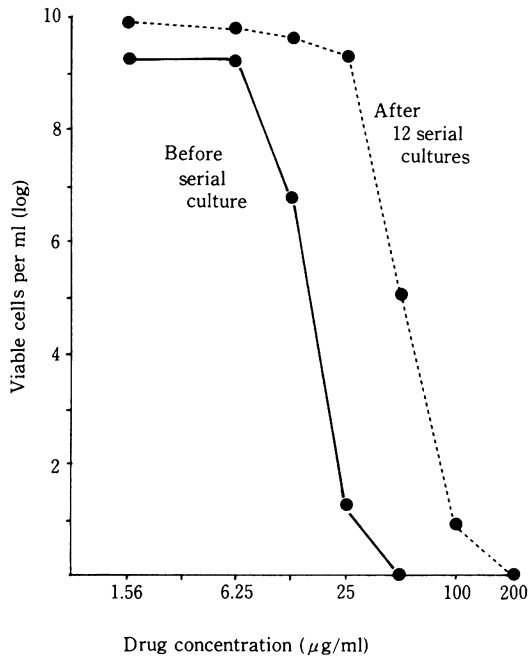


Fig. 17. Susceptibility of *B. vulgatus* ATCC 8482 to NY-198

IV 謝 辞

本研究に協力いただいた中川朗子, 中川季子両氏に感謝します。

文 献

- 1) 嫌気性菌 MIC 測定法検討委員会 (小酒井望, 他) : 嫌気性菌の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法。Chemotherapy 27 : 559-560, 1979
- 2) 加藤直樹, 大橋葉津希, 渡辺邦友, 上野一恵 : ラット・パウチ内における嫌気性菌の増殖。感染症誌, 投稿中
- 3) 青木 誠, 小林とよ子, 渡辺邦友, 上野一恵 : 化学療法剤投与によるマウス盲腸内 *C. difficile* の変動について。Chemotherapy 33 : 617-624, 1985
- 4) 上野一恵, 二宮敬字, 神谷春子, 渡辺邦友, 鈴木祥一郎 : Sulfobenzyl penicillin の嫌気性菌に対する抗

菌作用について。Chemotherapy 19 : 875-880, 1971

- 5) 北本 治 : いわゆるニューキノロンについて。診断と治療 74 : 1313-1315, 1986
- 6) ROSENBLATT, J. E. : Anaerobic cocci. In : Manual of clinical microbiology, 4 th ed. (eds. LENNETTE, E. H. ; A. BALOWS, W. J. HAUSLER, Jr. & H. J. SHADOMY), PP445-449, American Society for Microbiology, Washington, D. C., 1985
- 7) BADGER, S. J. ; & A. C. R. TANNER : Serological studies of *Bacteroides gracilis*, *Campylobacter concisus*, *Wolinella recta*, and *Eikenella corrodens*, all from humans with periodontal disease. Int. J. Syst. Bacteriol. 31 : 446-451, 1981
- 8) SHURIN, S. B. ; S. S. SOCRONSKY, E. SWEENEY & T. P. STOSSEL : A neutrophil diso der induced by *Capnocytophaga*, a dental micro-organism. N. Engl. J. Med. 301 : 849-854, 1979

IN VITRO AND IN VIVO EVALUATION OF THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF A NEW QUINOLONE, NY-198

NAOKI KATO, MASAYUKI MIYAUCHI, KUNITOMO WATANABE and KAZUE UENO

Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University School of Medicine, Gifu

The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of a novel pyridonecarboxylic acid, NY-198, was evaluated and compared with ofloxacin (OFLX), norfloxacin (NFLX), and piperidic acid (PPA). The *in vitro* development of resistance and appearance of *Clostridium difficile* in murine cecum were also studied.

NY-198 showed a relatively broad spectrum against Gram-positive and -negative anaerobic bacteria, being less active than OFLX against most anaerobes but more active than NFLX and PPA. Reference strains of *Bacteroides gracilis*, *Bacteroides ureolyticus*, and *Capnocytophaga ochracea* (which are frequently isolated from the gingival cavity in patients with gingivitis) were rather susceptible with lower MICs (c. 1.56 µg/ml). The MIC₇₀ of NY-198 against clinical isolates of *Bacteroides fragilis* was 12.5 µg/ml. This value was relatively high, considering a peak serum concentration of c. 1.5 µg/ml when 200mg of NY-198 was administered to healthy males.

In an *in vivo* experimental infection in rat pouch, NY-198 40mg/kg twice daily for 7 days had little effect against *B. fragilis*. Against *Peptostreptococcus magnus* and other Gram-positive anaerobic cocci, the MIC₇₀ of NY-198 was relatively low at 3.13 µg/ml.

The *in vitro* resistance test for *B. fragilis* and *Bacteroides vulgatus* showed gradual and slight elevation of MICs of NY-198. *C. difficile* appeared in 2 of 5 mice tested, with 10² CFU/g in cecal contents 5 days after 7 day-administration of 2 mg/kg of NY-198.