

ニューキノロン剤 T-3262 の腸炎起因菌に対する試験管内抗菌力

後藤延一^{*2}・堀内三吉・稲垣好雄・チャルアイ エカタクシン^{*3}検垣 恵・高野秀子・小川正之^{*1}・中谷林太郎

東京医科歯科大学医学部微生物学教室*

^{*1} 川崎市立衛生研究所微生物部^{*2} 現所属：昭和大学歯学部口腔細菌学教室)^{*3} 現所属：東京大学医科学研究所細菌感染研究部)

開発中のニューキノロン（以下 NQ）系経口抗菌剤 T-3262 の，下痢症患者および保菌者から分離された各種腸炎起因菌（*Shigella* spp. 50 株，*Salmonella* spp. 25 株，*Escherichia coli* 25 株，*Campylobacter* spp. 25 株，*Vibrio parahaemolyticus* 25 株）に対する最小発育阻止濃度（MIC）を測定し，nalidixic acid (NA)，pipemidic acid (PPA)，norfloxacin (NFLX)，ofloxacin (OFLX)，enoxacin (ENX) などと比較した。90% の菌の発育を抑制する MIC（MIC₉₀，単位は $\mu\text{g/ml}$ ）は，T-3262 が上記の菌に対して，それぞれ 0.025，0.05，0.05，0.10，0.39 であった。この値は *V. parahaemolyticus* を除くほかの菌種では，他の薬剤の MIC₉₀ の 1/4 以下であった。*V. parahaemolyticus* に対する MIC₉₀ は，NFLX が 0.20 で最も低く，T-3262 は OFLX，ENX と同じく 0.39 であった。*V. parahaemolyticus* を除く菌株に対して T-3262 に次いで MIC₉₀ が低かったのは NFLX と OFLX で，T-3262 のおおむね 4 倍またはそれ以上，ENX がさらにそれらの 2 倍であった。PPA，NA など従来のキノロン剤の MIC は，いずれの菌に対しても，どの NQ 剤よりもはるかに高かった。NA の MIC が 100 以上の耐性菌に対する T-3262 の MIC は，*S. flexneri* 2 株に 0.05，*S. typhimurium* 1 株に 0.20，*C. jejuni* 2 株に 0.10 および 6.25 であった。

Key words : T-3262, 試験管内抗菌力, 腸炎起因菌

T-3262 は Fig. 1 に示す化学構造式をもつニューキノロン（以下 NQ）系の経口抗菌剤である。われわれは各種の腸炎起因菌に対するこの薬剤の試験管内抗菌力を調べるため，下痢症患者および保菌者から分離された *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Campylobacter* spp., *Vibrio parahaemolyticus* などに対する MIC を測定し，同じ NQ 系薬剤 norfloxacin (NFLX)，ofloxacin (OFLX)，enoxacin (ENX)，在

来のキノロン剤 nalidixic acid (NA)，pipemidic acid (PPA) などと比較した。

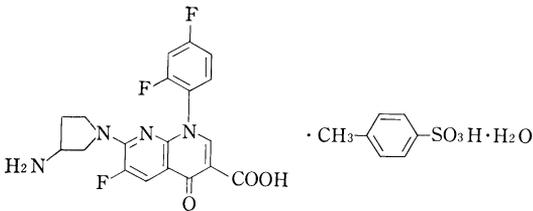
I. 材料と方法

1. 供試菌株

Table 1 に示す菌株を用いた。いずれも 1978 年から 1987 年までの間に腸炎患者および保菌者の糞便から分離され，当教室において保存されていた菌株である。

2. 薬剤

T-3262（富山化学，Lot No. 14；915 μg 力価/mg），norfloxacin (NFLX，杏林製薬，Lot No. 0418150；1,000 μg 力価/mg)，ofloxacin (OFLX，第一製薬，Lot No. 112；1,000 μg 力価/mg)，enoxacin (ENX，大日本製薬，Lot No. 不詳，922 μg 力価/mg)，nalidixic acid (NA，第一製薬，Lot No. 51AF 97；1,000 μg 力価/mg)，pipemidic acid (PPA，大日本製薬，Lot No. 不詳；849 μg 力価/mg) などの薬剤は，最終容量の 1/10 量の 0.05 N NaOH に溶かした後，滅菌水で希釈して 1,000 μg 力価/ml の原液を作った。使用した薬剤は，いずれも各会社から分与された試験用の標品である。



(±)-7-(3-amino-1-pyrrolidinyl)-6-fluoro-1-(2,4-difluorophenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid *p*-toluenesulfonate hydrate

Fig. 1. Chemical structure of T-3262.

Table 1. Bacterial strains tested

Bacterial species	No. of strains
<i>Shigella</i> spp.	50
(<i>S. dysenteriae</i>)	2)
(<i>S. flexneri</i>)	17)
(<i>S. boydii</i>)	1)
(<i>S. sonnei</i>)	30)
<i>Salmonella</i> spp.	25
<i>Escherichia coli</i>	25
(enterotoxigenic)	13)
(enteropathogenic)	12)
<i>Campylobacter</i> spp.	25
(<i>C. jejuni</i>)	24)
(<i>C. coli</i>)	1)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	25

3. MIC の測定

MIC の測定は、原則として日本化学療法学会制定の標準法¹⁾によって行なった。

1) 培地：前培養には感受性グイヨン(栄研)を、測定には感受性ディスク用培地を用いた。ただし *Vibrio* 用には食塩を 0.5% 添加した。また *Campylobacter* の測定用培地にはウマ脱繊維素血液を 5% 添加して使用した。

2) 菌の接種：1 夜 (*Campylobacter* の場合は 2 日) 培養の菌液 (10^8 /ml) と 100 倍希釈 (10^6 /ml) の菌液を、マイクロプランター (佐久間製作所) で平板に接種した。

3) 培養：*Campylobacter* は、ブロス、平板とも GasPak Jar (BBL) 内で、触媒を用いずに、GasPak (BBL) で微好気条件とし、37°C で 44 時間培養した。その他の菌は、好気条件で 37°C、18 時間培養した。

4) 判定：日本化学療法学会制定の標準法に基づき、5 コ以内のコロニーは発育 (－) と判定して MIC を求めた。

II. 結 果

Table 2~7 と Fig. 2~6 に各薬剤の MIC とその分布を菌種ごとに示す。MIC は 10^6 /ml の値と 10^8 /ml の値が異なる場合は後者の値を () 内に示した。ともに MIC の単位 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) は省略した。MIC の分布は 10^6 /ml の値のみ示した。また原則として MIC 100 以上の株を耐性菌とした。

1. *Shigella* spp. (Table 2, Fig. 2)

Shigella spp. 50 株に対する T-3262 の MIC 域は 0.006 (0.013) から 0.05 (0.20) であり、MIC₉₀ は 0.025 であった。これらの値は他のいずれの薬剤よりも低かった。MIC₉₀ の値は T-3262 に次いで NFLX,

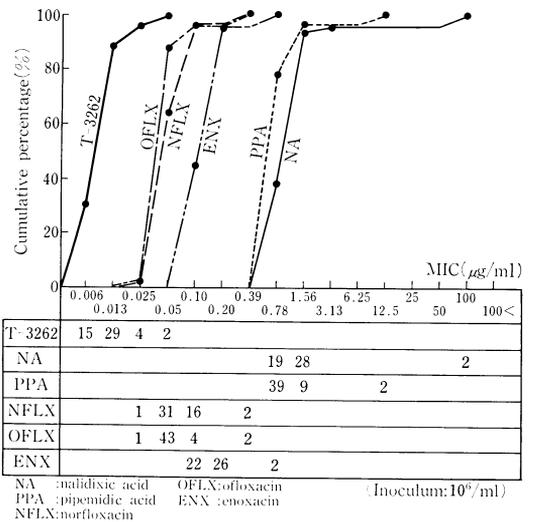
Table 2. MICs of the six quinolones against 50 *Shigella* isolates

Drug	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$) ^a		
	Range	50%	90%
T-3262	0.006- 0.05 (0.013- 0.20) ^b	0.013 (0.025)	0.025 (0.025)
NA	0.78 -100 (0.78 -100<)	1.56 (1.56)	1.56 (3.13)
PPA	0.78 -12.5 (0.78 -25)	0.78 (1.56)	1.56 (1.56)
NFLX	0.025- 0.39 (0.10 - 0.78)	0.05 (0.10)	0.10 (0.10)
OFLX	0.025- 0.39 (0.05 - 0.39)	0.05 (0.10)	0.10 (0.10)
ENX	0.10 - 0.78 (0.10 - 1.56)	0.20 (0.20)	0.20 (0.20)

^a 50% and 90% : MICs inhibiting 50% and 90% of the strains.

^b () : MICs at inoculum of 10^8 cfu/ml.

NA : nalidixic acid PPA : pipemidic acid
NFLX : norfloxacin OFLX : ofloxacin
ENX : enoxacin

Fig. 2. Distribution of MICs against 50 *Shigella* isolates.

OFLX が低く、ともに 0.10, ENX が 0.20 であった。PPA は 1.56, NA は 1.56 (3.13) であった。NA に対する耐性菌が 2 株 (*S. flexneri*) 認められた (後述)。

2. *Salmonella* spp. (Table 3, Fig. 3)

Salmonella spp. 25 株に対する T-3262 の MIC 域は 0.025 から 0.20, MIC₉₉ は 0.05 であった。これ

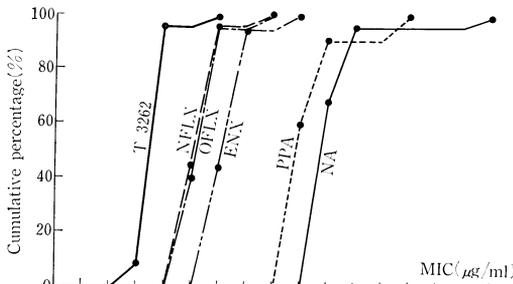
Table 3. MICs of the six quinolones against 25 *Salmonella* isolates

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^a		
	Range	50%	90%
T-3262	0.025-0.20 (0.025-0.20) ^b	0.05 (0.05)	0.05 (0.05)
NA	3.13-100< (3.13-100<)	3.13 (6.25)	6.25 (6.25)
PPA	1.56-25 (1.56-50)	1.56 (3.13)	3.13 (3.13)
NFLX	0.10-0.78 (0.10-1.56)	0.20 (0.20)	0.20 (0.20)
OFLX	0.10-0.78 (0.10-0.78)	0.20 (0.20)	0.20 (0.20)
ENX	0.20-1.56 (0.20-1.56)	0.39 (0.39)	0.39 (0.39)

^a 50% and 90% : MICs inhibiting 50% and 90% of the strains.

^b () : MICs at an inoculum size of 10^8 cfu/ml.

NA : nalidixic acid PPA : pipemidic acid
 NFLX : norfloxacin OFLX : ofloxacin
 ENX : enoxacin



T-3262	2	22	1						
NA					17	7			1
PPA					15	9			1
NFLX		11	13	1					
OFLX		10	14	1					
ENX			11	13	1				

NA : nalidixic acid OFLX : ofloxacin
 PPA : pipemidic acid ENX : enoxacin
 NFLX : norfloxacin
 (Inoculum: 10^8 /ml)

Fig. 3. Distribution of MICs against 25 *Salmonella* isolates.

らの値は他のどの薬剤よりも低かった。他の薬剤の MIC₉₀ は NFLX, OFLX が 0.20 ; ENX, 0.39 ; PPA, 3.13 ; NA, 6.25 であった。NA 耐性菌が 1 株 (*S. typhimurium*) 認められた (後述)。

3. *E. coli* (Table 4, Fig. 4)

E. coli 25 株に対する T-3262 の MIC 域は 0.025 か

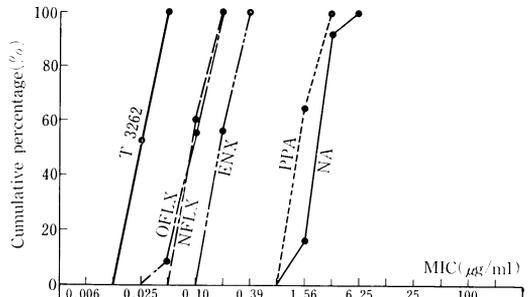
Table 4. MICs of the six quinolones against 25 *Escherichia coli* isolates

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^a		
	Range	50%	90%
T-3262	0.025-0.05 (0.025-0.10) ^b	0.025 (0.05)	0.05 (0.05)
NA	1.56-6.25 (1.56-6.25)	3.13 (6.25)	3.13 (6.25)
PPA	1.56-3.13 (1.56-3.13)	1.56 (3.13)	3.13 (3.13)
NFLX	0.10-0.20 (0.10-0.20)	0.10 (0.20)	0.20 (0.20)
OFLX	0.05-0.20 (0.10-0.20)	0.10 (0.20)	0.20 (0.20)
ENX	0.20-0.39 (0.20-0.39)	0.20 (0.39)	0.39 (0.39)

^a 50% and 90% : MICs inhibiting 50% and 90% of the strains.

^b () : MICs at an inoculum size of 10^8 cfu/ml.

NA : nalidixic acid PPA : pipemidic acid
 NFLX : norfloxacin OFLX : ofloxacin
 ENX : enoxacin



T-3262		13	12						
NA					4	19	2		
PPA					16	9			
NFLX				15	10				
OFLX			2	12	11				
ENX				14	11				

NA : nalidixic acid OFLX : ofloxacin
 PPA : pipemidic acid ENX : enoxacin
 NFLX : norfloxacin
 (Inoculum: 10^8 /ml)

Fig. 4. Distribution of MICs against 25 *Escherichia coli* isolates.

ら 0.05 (0.10), MIC₉₀ は 0.05 であった。これらの値は他のどの薬剤よりも低かった。他の薬剤の MIC₉₀ は NFLX, OFLX が 0.20 ; ENX, 0.39 ; PPA, 3.13 ; NA, 3.13 (6.25) であった。NA 耐性菌は分離されなかった。

4. *Campylobacter* spp. (Table 5, Fig. 5)

Table 5. MICs of the six quinolones against 25 *Campylobacter* isolates

Drug	MIC (μg/ml) ^a		
	Range	50%	90%
T-3262	0.025- 6.25 (0.05 - 6.25) ^b	0.05 (0.10)	0.10 (0.20)
NA	3.13 -100< (3.13 -100<)	6.25 (6.25)	12.5 (12.5)
PPA	3.13 -100 (3.13 -100<)	6.25 (12.5)	12.5 (25)
NFLX	0.20 -50 (0.20 -50)	0.78 (0.78)	1.56 (3.13)
OFLX	0.05 -12.5 (0.10 -12.5)	0.39 (0.39)	0.78 (0.78)
ENX	0.39 -25 (0.78 -50)	0.78 (0.78)	1.56 (1.56)

^a 50% and 90% : MICs inhibiting 50% and 90% of the strains.

^b () : MICs at an inoculum size of 10⁸ cfu/ml.

NA : nalidixic acid PPA : piperidic acid
 NFLX : norfloxacin OFLX : ofloxacin
 ENX : enoxacin

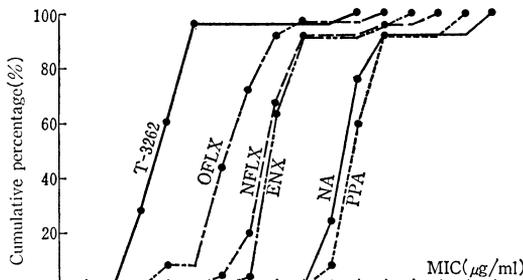
Table 6. MICs of the six quinolones against 25 *Vibrio parahaemolyticus* isolates

Drug	MIC (μg/ml) ^a		
	Range	50%	90%
T-3262	0.013-0.39 (0.013-0.78) ^b	0.20 (0.39)	0.39 (0.78)
NA	0.20 -1.56 (0.39 -1.56)	0.78 (0.78)	1.56 (1.56)
PPA	0.39 -6.25 (0.78 -6.25)	3.13 (3.13)	6.25 (6.25)
NFLX	0.025-0.20 (0.05 -0.39)	0.20 (0.20)	0.20 (0.39)
OFLX	0.025-0.39 (0.025-0.78)	0.39 (0.39)	0.39 (0.39)
ENX	0.10 -0.39 (0.20 -0.78)	0.39 (0.39)	0.39 (0.78)

^a 50% and 90% : MICs inhibiting 50% and 90% of the strains.

^b () : MICs at an inoculum size of 10⁸ cfu/ml.

NA : nalidixic acid PPA : piperidic acid
 NFLX : norfloxacin OFLX : ofloxacin
 ENX : enoxacin

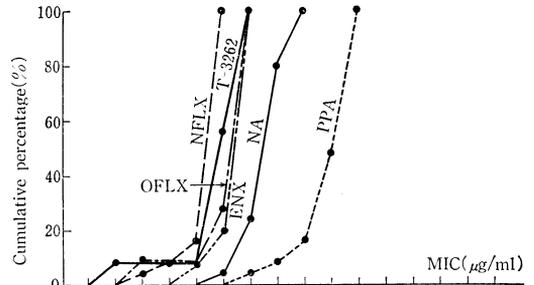


T-3262	7	8	9				1	
NA					6	13	4	2
PPA					2	13	8	2
NFLX			1	4	12	6	1	1
OFLX		2	9	7	5	1	1	
ENX			1	15	7		1	1

NA : nalidixic acid OFLX : ofloxacin
 PPA : piperidic acid ENX : enoxacin
 NFLX : norfloxacin
 (Inoculum: 10⁸/ml)

Fig. 5. Distribution of MICs against 25 *Campylobacter* isolates.

Campylobacter spp. 25 株に対する T-3262 の MIC 域は 0.025 (0.05) から 6.25, MIC₉₀ は 0.10 (0.20) で、他の薬剤よりも低かった。他の薬剤の MIC₉₀ は OFLX, 0.78; NFLX, 1.56 (3.13); ENX, 1.56; PPA, NA, 12.5 (PPA は 25) であった。NA 耐性菌が 2 株 (*C. jejuni*) あった (後述)。



T-3262	2		12	11			
NA			1	5	14	5	
PPA				1	1	2	8
NFLX		1	1	2	21		
OFLX		2		5	18		
ENX			2	3	20		

NA : nalidixic acid OFLX : ofloxacin
 PPA : piperidic acid ENX : enoxacin
 NFLX : norfloxacin
 (Inoculum: 10⁸/ml)

Fig. 6. Distribution of MICs against 25 *Vibrio parahaemolyticus* isolates.

5. *Vibrio parahaemolyticus* (Table 6, Fig. 6)

V. parahaemolyticus 25 株に対する T-3262 の MIC 域は 0.013 から 0.39 (0.78), MIC₉₀ は 0.39 (0.78) であった。他の薬剤の MIC₉₀ は, NFLX が全薬剤中で最も低く 0.20 (0.39), OFLX, 0.39; ENX, 0.39 (0.78); NA, 1.56; PPA, 6.25 であった。どの薬剤に

Table 7. MICs of the six quinolones against five nalidixic acid (NA)-resistant isolates

Strain No. (Species)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)					
	T-3262	NFLX	OFLX	ENX	PPA	NA
N-26 (<i>S. flexneri</i>)	0.05	0.39	0.39	0.78	12.5	100
K309 (<i>S. flexneri</i>)	0.05	0.39	0.39	0.78	12.5	100
5009 (<i>S. typhimurium</i>)	0.20	0.78	0.78	1.56	25	100<
N-03 (<i>C. jejuni</i>)	6.25	50	12.5	25	100	100<
CK14 (<i>C. jejuni</i>)	0.10	12.5	1.56	12.5	100	100<

NA : nalidixic acid
OFLX : ofloxacin

PPA : pipemidic acid
ENX : enoxacin

NFLX : norfloxacin

も耐性菌はなかった。

6. NA 耐性菌に対する MIC (Table 7)

NA には MIC が 100 以上の耐性菌が 5 株あった。*S. flexneri*, *S. typhimurium*, *C. jejuni*, それぞれ, 2 株, 1 株, 2 株である。それらの菌株に対する各薬剤の MIC を Table 7 に示す。

T-3262 は, どの菌株に対してもすべての薬剤のなかで最も低い MIC を示した。最も高い値を示したのは *C. jejuni* N-03 に対してで 6.25 であったが, その場合でも次の OFLX の MIC の 1/2 であった。全菌株を通じて T-3262 耐性菌と呼べるのは, かりうじてこの菌株 1 株のみで, それも T-326 に対する低度の耐性であった。

III. 考 察

NQ 剤 T-3262 の各種腸炎起因菌 (*Shigella* spp., *Salmonella* spp., *E. coli*, *Campylobacter* spp., *V. parahaemolyticus*) に対する MIC を測定して, NFLX,

OFLX, ENX, NA および PPA と比較した。T-3262 は, *Vibrio* を除くすべての菌に対して全 6 薬剤のなかでほとんど常に最低の MIC を示し, ことに NA 耐性 (MIC 100 以上) の 5 菌株 (*S. flexneri* 2 株, *S. typhimurium* 1 株, *C. jejuni* 2 株) に対しても, *C. jejuni* 1 株に対してだけは 6.25 とやや高かったが, 他の菌株にはいずれも 0.20 以下の低い MIC を示した。

また接種菌量を $10^6/\text{ml}$ から $10^8/\text{ml}$ に増したときの T-3262 の MIC₉₀ は *Campylobacter* と *Vibrio* で 2 倍になったが, 他の菌種では変わらなかった。

以上の結果から, T-3262 は, これまでに発売され感染性腸炎の治療に用いられているキノロン剤のなかでも, 際立って MIC の低い薬剤であるといえる。

文 献

- 1) 五島 隆智子, 徐 慶一郎, 河喜多 龍祥, 小酒井 望, 三橋 進, 西野 武志, 大沢 伸孝, 田波 洋: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981

IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF T-3262, A NEW
QUINOLONE DERIVATIVE, AGAINST CLINICAL ISOLATES
OF ENTEROPATHOGENIC BACTERIA

NOBUICHI GOTO*², SANKICHI HORIUCHI, YOSHIO INAGAKI, CHARUAY EKATAKIN*³
MEGUMU HIGAKI, HIDEKO TAKANO, MASAYUKI OGAWA*¹ and RINTARO NAKAYA

Department of Microbiology, School of Medicine, Tokyo Medical and
Dental University

1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

*¹ Department of Microbiology, Public Health Research
Institute of the City of Kawasaki

*² Present address : Department of Oral Microbiology,
School of Dentistry, Showa University

*³ Present address : Department of Bacterial Infection,
Institute of Medical Science, University of Tokyo

We determined the minimum inhibitory concentrations (MICs) of T-3262, a newly developed quinolone-derived antibacterial agent, against 50 strains of *Shigella* and 25 strains each of *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter* and *Vibrio parahaemolyticus* which had been isolated from enteritis patients and carriers, and compared them with those of other quinolone derivatives: norfloxacin (NFLX), ofloxacin (OFLX), enoxacin (ENX), nalidixic acid (NA) and pipemidic acid (PPA). The MIC₉₀s of T-3262 were 0.025, 0.05, 0.05, 0.10 and 0.39 $\mu\text{g/ml}$, respectively. These values, except the one against *V. parahaemolyticus*, were less than 1/4 of those of the other drugs. The MIC₉₀ of NFLX against *V. parahaemolyticus* was lowest (0.20 $\mu\text{g/ml}$) among those of the six drugs. The drugs which showed the second lowest MIC₉₀ were NFLX and OFLX: generally four times or more of those of T-3262, except against *V. parahaemolyticus*. The MIC₉₀s of ENX were mostly twice those of NFLX and OFLX, and MICs of PPA and NA were much higher than those of the other drugs. MICs of T-3262 against NA-resistant strains were 0.05 $\mu\text{g/ml}$ against two strains of *S. flexneri*, 0.20 $\mu\text{g/ml}$ against 1 strain of *S. typhimurium*, and 0.10 and 6.25 $\mu\text{g/ml}$ against 2 strains of *C. jejuni*.