

ニューキノロン系Fleroxacinの*in vitro*, *in vivo*抗菌活性の基礎的評価

五島瑳智子・宮崎修一・辻 明良・金子康子

東邦大学医学部微生物学教室*

キノロン系新物質fleroxacinの*in vitro*, *in vivo*抗菌活性をciprofloxacin, ofloxacin, enoxacin, norfloxacinと比較し、下記の成績を得た。

1. Fleroxacinは広域スペクトルを有し、メチシリン耐性*Staphylococcus aureus* (MRSA)を含む*Staphylococcus*属に対する抗菌力は、ciprofloxacin, ofloxacinと同等、他の2剤より強かった。腸内細菌科の各菌種および*Pseudomonas aeruginosa*を含むブドウ糖非発酵菌に対してはciprofloxacinよりやや弱い¹⁾が、他の菌種については他剤と同等ないしは強い抗菌力を示した。

2. マウス全身感染モデル(*S. aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *P. aeruginosa*)、経鼻肺感染モデル(*K. pneumoniae*)および尿路感染モデル(*E. coli*, *S. marcescens*)におけるfleroxacinの治療効果は、ciprofloxacinやofloxacinとほぼ同様に良好であった。

3. マウス血清中、肺内および腎内濃度推移は、最高濃度および持続性において他の4剤に比べわずかに優っていた。

Key words : Fleroxacin, 抗菌活性, 体内動態, キノロン

Fleroxacinはnorfloxacinを基に化学修飾を加えたキノロン系薬剤である。本剤はnorfloxacinより優れた経口吸収と代謝的に安定な持続性をもつ薬剤として開発された。

抗菌スペクトルはnorfloxacinとほぼ同様であるが、抗菌力はメチシリン・セフェムなどの多剤耐性*Staphylococcus aureus*およびgentamicin耐性グラム陰性菌を含む幅広い菌種に対し、既存のニューキノロン剤と同等とされている。

本報は、fleroxacinの*in vitro*, *in vivo*抗菌力をciprofloxacin, enoxacin, ofloxacin, norfloxacinを対照とし、細菌学的に検討した成績である。

I. 実験材料及方法

1. 使用菌株

教室保存の標準菌株および1986年から1989年の間に臨床材料から分離したグラム陽性および陰性菌を使用した。

2. 使用薬剤

Fleroxacin (杏林製薬)

Ciprofloxacin (CPFX, バイエル薬品)

Enoxacin (ENX, 大日本製薬)

Ofloxacin (OFLX, 第一製薬)

Norfloxacin (NFLX, 杏林製薬)

3. 薬剤感受性測定法

前培養にMueller-Hinton broth (MHB : Difco), 感受性測定にMueller-Hinton medium (MHM : Difco)を用いる日本化学療法学会最小発育阻止濃度(MIC)測定法に準じて

行った¹⁾。

なお、*Streptococcus pyogenes*および*Streptococcus pneumoniae*では、前培養にTodd Hewitt broth (Difco)を使用し、測定培地はMHMに5% (V/V)の馬脱繊維素血液を加え使用した。*Haemophilus influenzae*用培地は、MHMに5% (V/V)のFildes enrichment (Difco)を加えたものを使用した。*Bordetella pertussis*の場合、10% (V/V)馬脱繊維素血液添加Bordet-Gengou培地 (Difco)を用いた。*Neisseria gonorrhoeae*では、supplement (cocarboxylase ; 0.001g, glucose ; 20g, glutamine ; 0.5g, 蒸留水 ; 100ml)をろ過滅菌後、2%の割合でGC medium base (Difco)を加えた培地を用い、ローソク培養法にて培養した。

嫌気性菌では、日本化学療法学会嫌気性菌用標準法に準じた²⁾。前培養にGAMブイヨン (日水), 測定用培地にGAM寒天培地 (日水)を使用し、嫌気培養装置 (Forma社製)にて48時間培養後MICを測定した。

4. 殺菌作用

Pseudomonas aeruginosa E7株をMHBにて37℃, 18時間培養後、滅菌MHBに接種し、約1時間振とう培養後、fleroxacinおよび対照薬剤を1/4, 1/2, 1, 2および4MIC量添加し、37℃で振とう培養した。なお、生菌数測定は、薬剤添加後1, 2, 4, 6および24時間目に行った。

5. マウス実験感染における治療効果

マウスはICR系, 4週齢, 雄, 体重19±1g (但し, 尿

* 〒143 東京都大田区大森西5-21-16

路感染モデルでは同条件の雌)を1群6匹として用いた。

1) 全身感染モデル

S. aureus Smith TMS33, TMS64, *Escherichia coli* C11, *Klebsiella pneumoniae* 3K-25, *Serratia marcescens* No. 2, および *P. aeruginosa* E7, TMS11を感染菌として用いた。Heart infusion agar (Difco) 平板で一夜培養後、菌体を集菌し、生理食塩液で所定の菌量に調製し、この菌液に10% (W/V) gastric mucin (Difco) を等量加え、腹腔内に接種した。感染1時間後に各抗菌薬を1回経口投与し、7日間マウスの生死を観察し、Van der Waerden法によりED₅₀値を算出した。

2) 局所感染モデル

マウス経鼻的呼吸器感染には *K. pneumoniae* 3K-25 を用いた。宮崎ら³⁾の方法により経鼻感染後6時間、1, 2, 3日目の計4回floxacinとCPFXを1mg/mouse経口投与した。感染後経日的に肺を無菌的に摘出し、生理食塩液2mlを加えホモジナイズし、生菌数を測定した。

マウス上行性尿路感染には *E. coli* KU-3, *S. marcescens* KU-21を用いた。大森ら⁴⁾の方法に従い感染させた後、24時間目より1日2回3日間各薬剤を0.5mg/mouse経口投与した。最終投与24時間後に両腎を無菌的に摘出し、生理食塩液2mlを加えてホモジナイズし、生菌数を

測定した。

6. 体内動態

実験感染に用いた同条件の雄マウスを1群6匹として使用した。Fleroxacinおよび対照薬剤を2mgまたは1mg/mouse経口投与後15分、30分、1時間、2時間、4時間および6時間目にエーテル麻酔下で心臓採血(0.5ml/mouse)し、6匹のマウスの血液をプールして血清を採取した。また同時に腎および肺を摘出し、2mlの生理食塩液を加えホモジナイズし、遠心分離により上清を得た。これらの各試料中の薬剤濃度をfloxacinとNFLXは *E. coli* NIHJ JC2, CPFX, OFLXおよびENXは *E. coli* KPを検定菌とする薄層ディスク法にて測定した。

II. 実験成績

1. 抗菌スペクトラム

好気性および嫌気性のグラム陽性、陰性菌37菌種50株に対するfloxacinの抗菌スペクトルをNFLX, OFLX, ENX, CPFXと比較した成績をTable 1, 2に示した。接種菌量10⁶cells/mlにおいて、*Streptococcus* 属, *Micrococcus luteus* ATCC9341, *Enterococcus faecalis* 64を除く好気性菌に対するfloxacinのMICは1.56 μg/ml以下を示した。本剤の抗菌活性はCPFXより若干弱い⁵⁾が、他の比較抗菌薬とはほぼ同等であった。嫌気性菌に対するfloxacinの

Table 1. Antibacterial spectrum of floxacin and other antimicrobial agents against aerobic bacteria

Organism	Floxacin		Norfloxacin		Ofloxacin		Enoxacin		Ciprofloxacin	
	10 ⁸	10 ⁶								
<i>S. aureus</i> 209P	0.39*	0.20*	0.10	0.10	0.20	0.10	0.20	0.20	0.10	0.05
<i>S. epidermidis</i> ATCC 13228	1.56	0.39	3.13	0.78	0.78	0.39	1.56	0.78	0.78	0.39
<i>S. pneumoniae</i> type II	50	12.5	25	6.25	3.13	1.56	50	12.5	3.13	1.56
<i>S. pneumoniae</i> type III	50	6.25	25	3.13	3.13	1.56	50	12.5	3.13	0.78
<i>S. pyogenes</i> ATCC 10389	6.25	3.13	6.25	3.13	1.56	0.78	12.5	3.13	1.56	0.39
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	12.5	12.5	12.5	6.25	3.13	3.13	12.5	12.5	1.56	1.56
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.39	0.20	0.39	0.20	0.78	0.39	0.39	0.20	0.39	0.20
<i>E. faecalis</i> 64	6.25	3.13	3.13	3.13	1.56	1.56	6.25	6.25	0.78	0.39
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.10	0.10	0.05	0.05	0.025	0.025	0.10	0.10	0.006	0.006
<i>K. pneumoniae</i> IFO 3512	0.78	0.20	0.10	0.05	0.012	0.012	0.20	0.10	0.006	0.006
<i>K. oxytoca</i> 1	1.56	0.20	0.39	0.05	0.10	0.10	0.20	0.10	0.025	0.025
<i>S. typhi</i> S60	0.78	0.05	0.025	0.012	0.05	0.025	0.10	0.05	0.012	0.006
<i>V. cholerae</i> 569B	0.012	0.012	0.006	0.006	0.006	0.006	0.012	0.012	0.006	0.006
<i>P. mirabilis</i> 1287	0.10	0.10	0.05	0.025	0.10	0.025	0.10	0.10	0.05	0.012
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	0.39	0.10	0.39	0.025	0.20	0.20	0.10	0.10	0.39	0.10
<i>M. morgani</i> IFO 3848	0.10	0.05	0.025	0.025	0.025	0.025	0.10	0.05	0.006	0.006
<i>P. rettgeri</i> IFO 13501	0.10	0.05	0.10	0.025	0.10	0.05	0.10	0.05	0.025	0.012
<i>P. inconstans</i> IFO 12930	0.39	0.20	0.78	0.05	0.05	0.05	0.39	0.20	0.012	0.006
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	0.20	0.20	0.10	0.05	0.20	0.10	0.20	0.10	0.05	0.05
<i>C. freundii</i> 2	0.10	0.05	0.025	0.025	0.10	0.05	0.10	0.05	0.012	0.012
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	3.13	1.56	6.25	3.13	12.5	3.13	6.25	0.78	3.13	0.39

Inoculum size: 10⁶, 10⁸ cells/ml, agar dilution method

*MIC; μg/ml

抗菌活性はCPFX, OFLXより弱く, NFLX, ENXより強かった。10⁸cells/ml接種時の各菌株に対する各抗菌薬のMICは10⁶cells/ml接種時のMICに比べ, ほとんどの株で4倍大きい値となった。

2. 臨床分離株に対する抗菌力

10⁶cells/ml接種時の各抗菌薬のMIC₅₀とMIC₉₀をTable 3に, 10⁸cells/ml接種時のMIC₅₀, MIC₉₀をTable 4に示し, 10⁶cells/ml接種時の成績に基づいて各抗菌薬の抗菌力を比較するとメチシリン感受性(76株)および耐性(59株) *S. aureus* に対するMIC₉₀は0.78 μg/mlで, OFLX, CPFXと同等で, NFLX, ENXより小さく, 抗菌力が強いことが示された。

Staphylococcus epidermidis (49株) に対してはfloxacinの抗菌力はOFLX, CPFXよりもやや弱かった。

S. pneumoniae (37株), *S. pyogenes* (23株) に対するfloxacinの抗菌力(MIC₉₀は共に12.5 μg/ml)はNFLX,

ENXと同等であるが, OFLX, CPFXより弱かった。

E. faecalis (38株) に対するfloxacinのMIC₉₀は12.5 μg/mlであり, NFLX, OFLX, ENXと同等で, CPFX(MIC₉₀: 1.56 μg/ml)より弱い抗菌活性を示した。FloxacinのMIC₅₀はMIC₉₀よりenoxacinを除く他剤同様1管小さい値を示した。一方10⁸cells/ml接種では, NFLXのMIC₉₀が最も小さく, floxacinを含む他剤のMIC₉₀は50 μg/ml以上となり他菌種に比べ接種菌量の影響が大きくなり, 10⁶cells/ml接種時のMIC₉₀より明らかに大きい値となった。

E. coli (50株) に対するfloxacinの抗菌力(MIC₉₀: 0.1 μg/ml)はNFLX, OFLX, ENX同様強く, CPFXの抗菌力(MIC₉₀: 0.025 μg/ml)よりも弱かった。

K. pneumoniae (39株) に対する各被験抗菌薬のMIC₉₀は0.1~0.2 μg/mlと強い抗菌力を示した。

Klebsiella oxytoca (27株) に対するfloxacinの抗菌力

Table 2. Antibacterial spectrum of floxacin and other antimicrobial agents against anaerobic bacteria

Organism	Floxacin		Norfloxacin		Ofloxacin		Enoxacin		Ciprofloxacin	
	10 ⁸	10 ⁶								
<i>P. anaerobius</i> GAI 5506	1.56*	0.78*	3.13	3.13	0.78	0.39	12.5	12.5	0.20	0.10
<i>P. magnus</i> ATCC 14956	6.25	6.25	25	12.5	6.25	3.13	50	12.5	3.13	3.13
<i>P. asaccharolyticus</i> GM 1003	6.25	6.25	100	50	3.13	1.56	25	25	0.78	0.39
<i>P. asaccharolyticus</i> TMS 83	6.25	6.25	12.5	6.25	1.56	0.78	12.5	12.5	0.39	0.20
<i>E. limosum</i> GAI 5456	6.25	3.13	50	12.5	3.13	3.13	25	12.5	6.25	3.13
<i>C. botulinum</i> type A	0.20	0.20	0.39	0.39	0.20	0.10	1.56	0.78	0.10	0.05
<i>C. botulinum</i> type B	12.5	12.5	12.5	12.5	6.25	3.13	100	50	1.56	0.39
<i>C. botulinum</i> type C	0.78	0.39	0.39	0.39	0.39	0.20	1.56	0.78	0.10	0.05
<i>C. botulinum</i> type D	0.10	0.10	0.20	0.10	0.10	0.10	0.39	0.39	0.025	0.025
<i>C. botulinum</i> type E	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.20	1.56	0.78	0.10	0.05
<i>C. botulinum</i> type F	0.20	0.10	0.39	0.20	0.10	0.10	0.78	0.39	0.025	0.025
<i>C. difficile</i> TMS 29	50	25	>100	100	25	12.5	100	50	6.25	3.13
<i>C. perfringens</i> ATCC 13123	3.13	1.56	6.25	3.13	1.56	0.78	3.13	3.13	0.39	0.20
<i>C. perfringens</i> GM 1006	3.13	1.56	6.25	3.13	1.56	0.78	3.13	3.13	0.39	0.20
<i>C. tetani</i> TMS 89	0.39	0.20	0.78	0.39	0.20	0.20	1.56	0.78	0.10	0.05
<i>C. sporogenes</i> TMS 118	0.78	0.39	0.39	0.39	0.39	0.20	1.56	0.78	0.10	0.05
<i>B. fragilis</i> TMS 7004	6.25	6.25	100	50	6.25	3.13	50	25	1.56	0.78
<i>B. fragilis</i> TMS 26	6.25	6.25	100	50	6.25	3.13	50	25	1.56	0.78
<i>B. vulgatus</i> ATCC 29327	25	6.25	25	6.25	6.25	1.56	50	50	3.13	0.39
<i>B. vulgatus</i> TMS 129	25	6.25	25	6.25	6.25	1.56	50	50	3.13	0.39
<i>B. distasonis</i> TMS 58	100	50	>100	>100	100	25	50	25	6.25	3.13
<i>B. distasonis</i> TMS 128	100	50	>100	>100	50	25	50	25	6.25	3.13
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL 3304	100	50	>100	>100	100	25	50	25	6.25	3.13
<i>B. thetaiotaomicron</i> TMS 126	100	50	>100	>100	100	25	50	25	6.25	3.13
<i>F. nucleatum</i> TMS 110	25	12.5	6.25	3.13	12.5	12.5	50	50	6.25	3.13
<i>F. varium</i> TMS 112	25	12.5	6.25	3.13	12.5	3.13	6.25	3.13	0.39	0.20
<i>F. varium</i> GAI 5566	50	50	100	100	12.5	12.5	50	50	6.25	3.13
<i>F. necrophorum</i> TMS 82	25	12.5	6.25	3.13	6.25	3.13	6.25	3.13	0.39	0.20
<i>V. parvula</i> GAI 5602	25	25	50	50	3.13	3.13	50	50	0.78	0.78

Inoculum size: 10⁶, 10⁸ cells/ml, agar dilution method

*MIC; μg/ml

はENXより強く、NFLX, OFLXと同等、CPFYより弱かった。

Shigella (30株), *Salmonella* (30株)に対するfleroxacinのMIC₉₀は0.1~0.2 µg/mlであり、本剤の抗菌活性はNFLX, OFLXおよびENXと同等で、CPFYより弱かった。

Proteus mirabilis (30株), *Proteus vulgaris* (30株), *Morganella morganii* (30株)に対するfleroxacinの抗菌力はOFLX, ENXと同等かやや強く、NFLX, CPFYより弱かった。

Providencia rettgeri (29株), *Providencia stuartii* (30株)に対するfleroxacinの抗菌力はCPFYとほぼ同等で、NFLX, OFLX, ENXより強い傾向を示した。

Enterobacter cloacae (24株), *Citrobacter freundii* (25株), および*S. marcescens* (50株)に対するfleroxacinのMIC₅₀は0.1~0.2 µg/mlであるが、MIC₉₀は1.56~3.13 µg/mlと大きな値となっていた。NFLX, OFLXおよびENXのMIC₅₀とMIC₉₀はfleroxacinとほぼ同等であるが、CPFYのMIC₅₀とMIC₉₀はそれぞれ0.012~0.1 µg/mlと0.39~0.78 µg/mlと最も強い抗菌活性を示した。なお、これら4薬剤のMIC₅₀とMIC₉₀との差がfleroxacinも他剤と同様に認められ、臨床菌株のMICが広範囲に分布していることが認められた。

P. aeruginosa (40株) およびgentamicin耐性*P. aeruginosa* (26株)に対するfleroxacinのMIC₉₀はそれぞれ6.25

Table 3. MIC_{50s}, MIC_{90s} of fleroxacin and other antimicrobial agents against clinically isolated strains

Organism	Fleroxacin		Norfloxacin		Ofloxacin		Enoxacin		Ciprofloxacin	
	MIC ₅₀	MIC ₉₀								
<i>S. aureus</i> (MSSA) ¹⁾ (76)	0.39	0.78	0.78	6.25	0.39	0.78	0.78	6.25	0.39	1.56
<i>S. aureus</i> (MRSA) ²⁾ (59)	0.39	0.78	0.78	6.25	0.2	0.78	0.78	6.25	0.39	1.56
<i>S. epidermidis</i> (49)	0.78	1.56	0.39	1.56	0.39	0.39	0.39	0.78	0.2	0.39
<i>S. pneumoniae</i> (37)	12.5	12.5	6.25	6.25	1.56	3.13	12.5	12.5	1.56	1.56
<i>S. pyogenes</i> (23)	6.25	12.5	3.13	6.25	1.56	1.56	12.5	12.5	0.78	0.78
<i>E. faecalis</i> (38)	6.25	12.5	3.13	6.25	3.13	6.25	6.25	6.25	0.78	1.56
<i>E. coli</i> (50)	0.1	0.1	0.05	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.025	0.025
<i>K. pneumoniae</i> (39)	0.1	0.2	0.05	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2	0.05	0.1
<i>K. oxytoca</i> (27)	0.1	0.1	0.05	0.05	0.1	0.1	0.1	0.78	≦0.006	0.012
<i>Shigella</i> spp. (30)	0.05	0.1	0.05	0.05	0.05	0.1	0.1	0.1	≦0.006	0.012
<i>Salmonella</i> spp. (30)	0.05	0.2	0.025	0.2	0.025	0.1	0.2	0.2	≦0.006	0.012
<i>P. mirabilis</i> (30)	0.1	0.1	≦0.006	0.012	0.1	0.2	0.2	0.39	0.025	0.025
<i>P. vulgaris</i> (30)	0.05	0.1	≦0.006	≦0.006	0.1	0.1	0.1	0.2	0.012	0.025
<i>M. morganii</i> (30)	0.05	0.1	≦0.006	≦0.006	0.1	0.2	0.1	0.2	0.012	0.025
<i>P. rettgeri</i> (29)	0.1	0.78	0.1	0.39	0.2	1.56	0.2	0.78	0.025	0.2
<i>P. stuartii</i> (30)	0.1	0.2	0.1	0.78	0.2	0.78	0.39	0.78	0.025	0.2
<i>E. cloacae</i> (24)	0.1	3.13	0.1	3.13	0.05	0.78	0.2	3.13	0.012	0.39
<i>C. freundii</i> (25)	0.2	1.56	0.1	1.56	0.1	1.56	0.2	6.25	0.012	0.78
<i>S. marcescens</i> (50)	0.2	1.56	0.2	3.13	0.39	3.13	0.2	3.13	0.1	0.78
<i>P. aeruginosa</i> (40)	1.56	6.25	0.78	1.56	1.56	3.13	1.56	3.13	0.2	0.39
GM-r- <i>P. aeruginosa</i> ⁴⁾ (26)	3.13	12.5	0.78	6.25	1.56	3.13	1.56	6.25	0.2	1.56
<i>P. cepacia</i> (26)	3.13	6.25	6.25	12.5	6.25	12.5	6.25	12.5	1.56	3.13
<i>X. maltophilia</i> (28)	0.78	1.56	3.13	12.5	0.78	1.56	1.56	6.25	0.78	1.56
<i>A. calcoaceticus</i> (24)	0.1	0.39	0.78	1.56	0.05	0.2	0.78	1.56	0.025	0.1
<i>A. xylosoxydans</i> (19)	0.39	6.25	6.25	100	0.78	25	1.56	25	0.39	12.5
<i>F. meningosepticum</i> (21)	1.56	3.13	6.25	12.5	0.78	1.56	6.25	12.5	0.78	1.56
<i>N. gonorrhoeae</i> (46)	≦0.006	0.05	0.012	0.025	≦0.006	0.012	0.012	0.025	≦0.006	≦0.006
PPNG ³⁾ (27)	0.05	0.1	0.025	0.05	0.012	0.012	0.05	0.05	≦0.006	≦0.006
<i>H. influenzae</i> (33)	0.025	0.05	0.025	0.025	0.025	0.025	0.05	0.05	≦0.006	≦0.006
<i>B. fragilis</i> (42)	6.25	6.25	50	100	3.13	3.13	25	25	0.78	0.78
<i>C. difficile</i> (18)	25	25	100	100	12.5	12.5	50	50	3.13	3.13

Inoculum size: 10⁶ cells/ml, agar dilution method, MIC₅₀, MIC₉₀ : µg/ml

- 1) Methicillin-sensitive *S. aureus*
- 2) Methicillin-resistant *S. aureus*
- 3) Penicillinase-producing *N. gonorrhoeae*
- 4) Gentamicin-resistant *P. aeruginosa*

$\mu\text{g/ml}$ と $12.5 \mu\text{g/ml}$ であり、本剤の抗菌力はNFLX, OFLX, ENXと同等か若干弱く、CPFEX ($\text{MIC}_{90} : 0.39 \sim 1.56 \mu\text{g/ml}$)より明らかに弱かった。接種菌量 10^8 cells/mlにおいて、gentamicin耐性*P. aeruginosa*に対する各抗菌薬の MIC_{90} は $6.25 \sim 50 \mu\text{g/ml}$ となり、*E. cloacae*と同様に接種菌量の影響を受ける傾向がみられた。

Pseudomonas cepacia (26株)に対するfloxacinの MIC_{50} と MIC_{90} はそれぞれ $3.13 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$ であり、CPFEXより大きく、NFLX, OFLX, ENXより小さい値であった。

Xanthomonas maltophilia (28株)に対するfloxacinの抗菌力 ($\text{MIC}_{90} : 1.56 \mu\text{g/ml}$)はNFLX, ENXより強く、

OFLX, CPFEXと同等であった。

Acinetobacter calcoaceticus (24株)に対するfloxacinの MIC_{90} は $0.39 \mu\text{g/ml}$ であり、本剤の抗菌力はNFLX, ENXより強く、OFLXと同等、CPFEXより弱かった。

Achromobacter xylosoxidans (19株)に対するfloxacinの MIC_{50} と MIC_{90} はそれぞれ $0.39 \mu\text{g/ml}$ と $6.25 \mu\text{g/ml}$ であり、本剤の抗菌力が対照薬剤に比べ強かった。本菌種は各抗菌薬に対し感受性の差が大きく、MICは幅広く分布した。

Flavobacterium meningosepticum (21株)に対するfloxacinの抗菌力はNFLX, ENXより強く、OFLX, CPFEXより若干弱かった。

Table 4. MIC_{50} , MIC_{90} of floxacin and other antimicrobial agents against clinically isolated strains

Organism	Floxacin		Norfloxacin		Ofloxacin		Enoxacin		Ciprofloxacin	
	MIC_{50}	MIC_{90}								
<i>S. aureus</i> (MSSA) ¹⁾ (76)	0.78	1.56	1.56	12.5	0.39	1.56	1.56	6.25	0.78	3.13
<i>S. aureus</i> (MRSA) ²⁾ (59)	0.78	1.56	1.56	12.5	0.39	1.56	1.56	6.25	0.78	3.13
<i>S. epidermidis</i> (49)	6.25	12.5	0.78	3.13	0.39	0.78	0.78	3.13	0.39	0.78
<i>S. pneumoniae</i> (37)	12.5	12.5	6.25	50	3.13	3.13	12.5	25	1.56	3.13
<i>S. pyogenes</i> (23)	25	25	12.5	25	1.56	6.25	25	100	1.56	3.13
<i>E. faecalis</i> (38)	100	>100	6.25	12.5	12.5	50	25	50	12.5	50
<i>E. coli</i> (50)	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.025	0.05
<i>K. pneumoniae</i> (39)	0.2	0.78	0.2	0.78	0.2	0.78	0.2	0.78	0.1	0.2
<i>K. oxytoca</i> (27)	0.1	0.2	0.78	0.78	0.1	0.2	1.56	1.56	0.1	0.2
<i>Shigella</i> spp. (30)	0.1	0.1	0.05	0.1	0.05	0.1	0.1	0.2	≤ 0.006	0.012
<i>Salmonella</i> spp. (30)	0.2	0.78	0.1	0.2	0.05	0.1	0.2	0.78	≤ 0.006	0.012
<i>P. mirabilis</i> (30)	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	0.39	0.78	0.05	0.05
<i>P. vulgaris</i> (30)	0.1	0.2	≤ 0.006	0.2	0.1	0.2	0.2	0.39	0.025	0.05
<i>M. morgani</i> (30)	0.1	0.1	0.012	0.1	0.2	0.2	0.2	0.39	0.025	0.05
<i>P. rettgeri</i> (29)	0.2	0.78	0.2	0.78	0.39	3.13	0.39	1.56	0.025	0.39
<i>P. stuartii</i> (30)	0.1	0.39	0.2	1.56	0.39	0.78	0.39	1.56	0.05	0.39
<i>E. cloacae</i> (24)	0.39	3.13	0.2	3.13	0.1	6.25	0.39	12.5	0.025	1.56
<i>C. freundii</i> (25)	0.39	3.13	0.2	1.56	0.2	6.25	0.2	6.25	0.025	1.56
<i>S. marcescens</i> (50)	0.39	3.13	0.39	3.13	0.78	6.25	0.39	6.25	0.2	1.56
<i>P. aeruginosa</i> (40)	3.13	12.5	1.56	3.13	3.13	6.25	1.56	6.25	0.39	0.78
GM-r- <i>P. aeruginosa</i> ⁴⁾ (26)	6.25	50	1.56	25	3.13	25	3.13	12.5	0.39	6.25
<i>P. cepacia</i> (26)	6.25	12.5	25	25	6.25	12.5	12.5	12.5	1.56	6.25
<i>X. maltophilia</i> (28)	1.56	3.13	6.25	25	0.78	3.13	3.13	12.5	0.78	3.13
<i>A. calcoaceticus</i> (24)	0.39	0.78	1.56	6.25	0.1	0.39	0.78	3.13	0.05	0.39
<i>A. xylosoxidans</i> (19)	3.13	25	12.5	100	1.56	25	6.25	50	0.78	25
<i>F. meningosepticum</i> (21)	1.56	3.13	12.5	25	1.56	3.13	6.25	12.5	0.78	1.56
<i>N. gonorrhoeae</i> (46)	0.025	0.1	0.012	0.05	≤ 0.006	0.012	0.025	0.05	≤ 0.006	≤ 0.006
PPNG ³⁾ (27)	0.1	0.1	0.05	0.05	0.012	0.025	0.05	0.05	≤ 0.006	≤ 0.006
<i>H. influenzae</i> (33)	0.05	0.05	0.025	0.05	0.025	0.025	0.20	0.039	≤ 0.006	0.025
<i>B. fragilis</i> (42)	6.25	12.5	100	>100	6.25	6.25	25	50	1.56	1.56
<i>C. difficile</i> (18)	50	50	>100	>100	12.5	25	50	50	3.13	3.13

Inoculum size: 10^8 cells/ml, agar dilution method, MIC_{50} , MIC_{90} : $\mu\text{g/ml}$

1) Methicillin-sensitive *S. aureus*

2) Methicillin-resistant *S. aureus*

3) Penicillinase-producing *N. gonorrhoeae*

4) Gentamicin-resistant *P. aeruginosa*

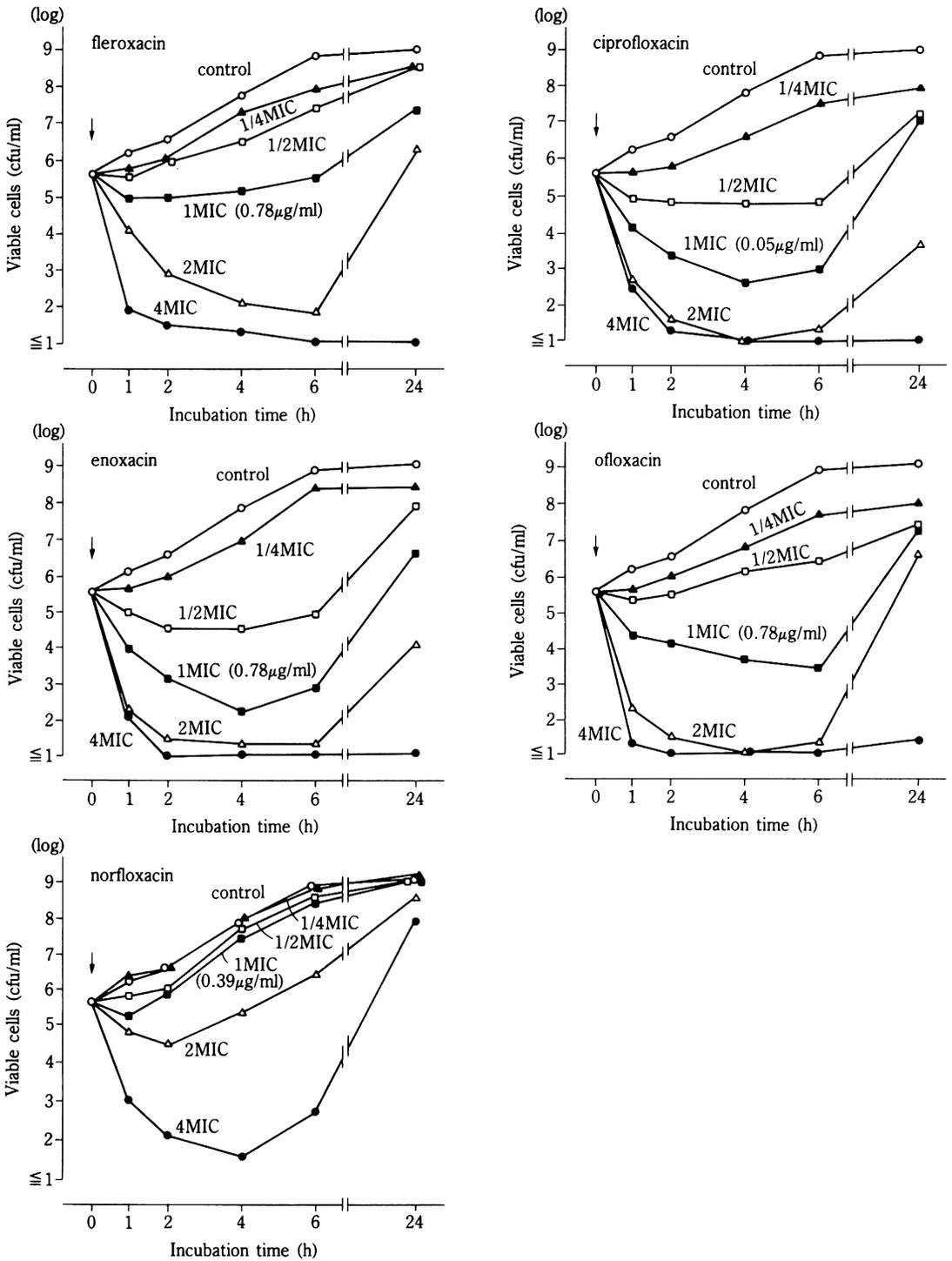


Fig. 1. Bactericidal activity of fleroxacin, ciprofloxacin, enoxacin, ofloxacin and norfloxacin against *P. aeruginosa* E7.

N. gonorrhoeae (46株), penicillinase-producing *N. gonorrhoeae* (PPNG: 27株) および *Haemophilus influenzae* (33株) に対する fleroxacin の MIC₉₀ は 0.05 ~ 0.1 µg/ml と小さく, 本剤の抗菌力は NFLX, OFLX, ENX とほぼ同等で, CPFX より弱かった。

Bacteroides fragilis (42株) と *Clostridium difficile* (18株) に対する fleroxacin の抗菌力は NFLX, ENX より強く, OFLX, CPFX より弱かった。

3. 殺菌作用

各抗菌薬 4, 2, 1, 1/2 および 1/4 MIC 添加時の *P. aeruginosa* E7 株の生菌数変動パターンを Fig. 1 に示した。

Fleroxacin を 2MIC 濃度添加時, 生菌数は薬剤添加 6 時間後 10² cfu/ml 以下に減少したが, 24 時間後再増殖した。4MIC 濃度添加時, 生菌数は経時的に減少し, 24 時間後も生菌数は検出限界以下であった。本剤の殺菌力は CPFX, ENX, OFLX と同程度であり, NFLX より強かった。

4. マウス全身感染モデルでの治療効果

S. aureus 3 株を用いた場合の成績を Table 5 に示した。

メチシリン感受性 *S. aureus* Smith 株感染群では, fleroxacin の治療効果は OFLX, ENX と同等で, *in vitro* 抗菌力の最も強かった CPFX, NFLX より優れていた。

メチシリン・セフェム耐性 *S. aureus* の中で, イミペネム感性の TMS33 株またはイミペネム耐性の TMS64 株を

用いた場合, fleroxacin の ED₅₀ はそれぞれ 0.4 mg/mouse と 0.159 mg/mouse を示し, OFLX と同等かやや小さく, 他の 3 剤より 1/3 ~ 1/8 小さい ED₅₀ 値で, 両菌株の感染に対し最も強い *in vivo* 効果を示した。

グラム陰性桿菌による感染モデルに対する治療効果を Table 6 に示した。

E. coli C11 株感染群では, fleroxacin の ED₅₀ は 0.0020 mg/mouse と小さく, 優れた治療効果を示したが, CPFX, OFLX および ENX よりは劣っていた。

K. pneumoniae 3K-25 株を用いた場合, fleroxacin の治療効果は CPFX, OFLX と同等で, ENX, NFLX より優れていた。

S. marcescens No.2 株感染群での各抗菌薬の ED₅₀ は fleroxacin : 0.010 mg/mouse, CPFX : 0.020 mg/mouse, OFLX : 0.025 mg/mouse, ENX : 0.032 mg/mouse, NFLX : 0.040 mg/mouse を示し, fleroxacin の治療効果が最も優れていた。

P. aeruginosa E7 株感染群における fleroxacin の治療効果 (ED₅₀ : 0.159 mg/mouse) は NFLX より優れ, OFLX, ENX と同等, CPFX より劣っていた。Gentamicin 耐性 *P. aeruginosa* TMS11 株を用いた場合, fleroxacin の治療効果 (ED₅₀ : 0.252 mg/mouse) は CPFX, OFLX, ENX と同等で, NFLX より優れていた。

Table 5. Therapeutic efficacy of fleroxacin and other antimicrobial agents in genus *Staphylococcus* systemically infected mice

Infected strain (challenge dose: cfu/mouse)	Antibiotic	MIC (µg/ml)		ED ₅₀ (mg/mouse)
		10 ⁸	10 ⁶	
<i>S. aureus</i> Smith (1.6 × 10 ⁸)	fleroxacin	0.20	0.05	0.635 (0.474 ~ 0.851)
	ciprofloxacin	0.05	≤ 0.006	1.270 (1.008 ~ 1.600)
	ofloxacin	0.10	0.012	0.635 (0.431 ~ 0.935)
	enoxacin	0.20	0.025	0.635 (0.431 ~ 0.935)
	norfloxacin	0.10	≤ 0.006	3.200 (2.347 ~ 4.363)
<i>S. aureus</i> TMS33 (1.5 × 10 ⁹) imipenem-sensitive	fleroxacin	0.39	0.20	0.400 (0.289 ~ 0.555)
	ciprofloxacin	0.20	0.20	1.600 (1.154 ~ 2.218)
	ofloxacin	0.20	0.20	0.504 (0.400 ~ 0.635)
	enoxacin	1.56	0.78	3.200 (2.347 ~ 4.363)
	norfloxacin	0.78	0.78	3.200 (2.347 ~ 4.363)
<i>S. aureus</i> TMS64 (1.1 × 10 ⁹) imipenem-resistant	fleroxacin	0.20	0.20	0.159 (0.119 ~ 0.213)
	ciprofloxacin	0.20	0.10	0.504 (0.400 ~ 0.635)
	ofloxacin	0.20	0.10	0.252 (0.188 ~ 0.338)
	enoxacin	1.56	0.78	0.504 (0.400 ~ 0.635)
	norfloxacin	0.39	0.39	1.008 (0.753 ~ 1.350)

Mouse: ICR, 4W, Male, 19 ± 1 g, 6 animals/group

ED₅₀: Van der Waerden method

MLD: *S. aureus* Smith (6.5 × 10⁶ cfu/mouse), *S. aureus* TMS33 (6.1 × 10⁸), *S. aureus* TMS64 (4.0 × 10⁸)

Antimicrobial agents were administered orally to mice at 1 h after infection.

Mucin was added at a final concentration of 5%.

5. 局所感染モデルにおける治療効果

K. pneumoniae 3K-25株による経鼻的肺感染マウスにおけるfloxacinとCPFXの治療効果をFig. 2に示した。

無治療群では、感染7日後まで肺組織ホモジネート中から 10^7 cfu/gレベルの生菌が検出された。一方、floxacin経口投与群では、経口的に生菌数が減少し、感染5日後から6匹すべての肺組織ホモジネート中の生菌数は検出限界以下となった。本剤の治療効果は、CPFXと同等であった。

E. coli KU-3株による上行性尿路感染症マウスに対するfloxacin, CPFX, ENX, OFLXおよびNFLXの治療効果をFig. 3に示した。

無治療群における感染4日後の腎組織ホモジネート中の生菌数は $10^4 \sim 10^9$ cfu/gで、6匹中4匹からは 10^8 cfu/g

以上検出された。Floxacin, CPFXおよびOFLX治療群では、 10^4 cfu/g以下の生菌が検出され、特にfloxacinとOFLX投与群では、6匹中3匹の生菌数は検出限界以下であった。ENXとNFLX投与群では、6匹中2匹から 10^5 cfu/g以上の生菌が検出された。Floxacinの治療効果はCPFX, OFLXと同等で、ENX, NFLXよりやや優れていた。

S. marcescens KU21株による上行性尿路感染マウスにおいて、無治療群の感染4日後の腎組織ホモジネート中の生菌数は 10^5 cfu/g以上であった(Fig. 4)。一方floxacin, ENXおよびOFLX投与群の腎組織ホモジネート中の生菌数は 10^3 cfu/g以下に減少し、しかも6匹中2~3匹からの生菌数は検出限界以下であった。CPFX投与群では、1匹から 7×10^4 cfu/gの生菌が検出されたが、2匹の

Table 6. Therapeutic efficacy of floxacin and antimicrobial agents in Gram-negative bacteria systemically infected mice

Infected strain (challenge dose: cfu/mouse)	Antibiotic	MIC (μ g/ml)		ED ₅₀ (mg/mouse)
		10 ⁸	10 ⁶	
<i>E. coli</i> C11 (7.5×10^4)	floxacin	0.20	0.025	0.0020 (0.0020 ~ 0.0024)
	ciprofloxacin	0.006	0.006	0.0006 (0.0001 ~ 0.0008)
	ofloxacin	0.012	0.012	0.0005 (0.0001 ~ 0.0007)
	enoxacin	0.10	0.05	0.0006 (0.0001 ~ 0.0008)
	norfloxacin	0.025	0.025	0.0039 (0.0024 ~ 0.0053)
<i>K. pneumoniae</i> 3K-25 (1.1×10^3)	floxacin	6.25	0.10	0.005 (0.004 ~ 0.006)
	ciprofloxacin	0.025	0.012	0.008 (0.005 ~ 0.013)
	ofloxacin	1.56	0.05	0.008 (0.005 ~ 0.013)
	enoxacin	3.13	0.20	0.016 (0.012 ~ 0.021)
	norfloxacin	3.13	0.10	0.063 (0.041 ~ 0.098)
<i>S. marcescens</i> No. 2 (7.4×10^6)	floxacin	3.13	0.10	0.010 (0.007 ~ 0.015)
	ciprofloxacin	0.20	0.025	0.020 (0.016 ~ 0.025)
	ofloxacin	1.56	0.20	0.025 (0.018 ~ 0.035)
	enoxacin	0.78	0.39	0.032 (0.025 ~ 0.040)
	norfloxacin	1.56	0.10	0.040 (0.027 ~ 0.058)
<i>P. aeruginosa</i> E7 (1.5×10^5)	floxacin	1.56	0.78	0.159 (0.102 ~ 0.246)
	ciprofloxacin	0.20	0.05	0.032 (0.025 ~ 0.040)
	ofloxacin	1.56	0.78	0.252 (0.171 ~ 0.371)
	enoxacin	0.78	0.78	0.200 (0.138 ~ 0.290)
	norfloxacin	0.78	0.39	0.400 (0.265 ~ 0.605)
<i>P. aeruginosa</i> TMS11 (3.6×10^5) gentamicin-resistant	floxacin	3.13	1.56	0.252 (0.163 ~ 0.391)
	ciprofloxacin	0.39	0.20	0.200 (0.138 ~ 0.290)
	ofloxacin	3.13	1.56	0.317 (0.198 ~ 0.510)
	enoxacin	1.56	1.56	0.317 (0.219 ~ 0.461)
	norfloxacin	1.56	0.78	0.400 (0.246 ~ 0.649)

Mouse: ICR, 4W, Male, 19 ± 1 g, 6 animals/group

ED₅₀: Van der Waerden method

MLD: *E. coli* C11 (1.0×10^3 cfu/mouse), *K. pneumoniae* 3K25 (1.0×10^3), *S. marcescens* no. (1.0×10^6), *P. aeruginosa* E7 (5.5×10^3), *P. aeruginosa* TMS11 (1.7×10^4)

Antimicrobial agents were administered perorally to mice at 1 h after infection.

Mucin was added at final concentration of 5%

生菌数は検出限界以下であった。NFLX投与群の治療効果は前述の4剤に比べやや劣っていた。

6. 体内動態

Fleroxacinと対照薬剤を2mg/mouseおよび1mg/mouse経口投与後のマウス血清中、肺組織ホモジネート中および腎組織ホモジネート中各薬剤濃度測定結果をFig. 5～7に示した。なお、NFLX 1mg/mouse投与群では測定したいずれの試料からも測定限界以下であったので、2mg/mouse投与群について比較する。

1) 血清中濃度

Fleroxacinの血清中ピーク値は投与30分後の31 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり、この値は対照薬剤のピーク値(CPFX: 8.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$, ENX: 8.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$, OFLX: 20.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$, NFLX: 1.9 $\mu\text{g}/\text{ml}$)より高かった。Fleroxacinの投与6時間後までの血清中濃度推移パターンはENXと同様で、CPFV, NFLXに比べ血清中濃度維持が良好であった。

2) 肺内濃度

Fleroxacinの肺内濃度ピーク値は投与後30分にみられ、その濃度は15 $\mu\text{g}/\text{g}$ である。本剤のピーク値はNFLXより高く、CPFV, ENXと同等で、OFLXよりやや低かった。経口投与6時間後の各抗菌薬の濃度を比較した場合、fleroxacinの濃度は3～9 $\mu\text{g}/\text{g}$ と他のいずれの対照薬剤より高く、持続性も良好であった。

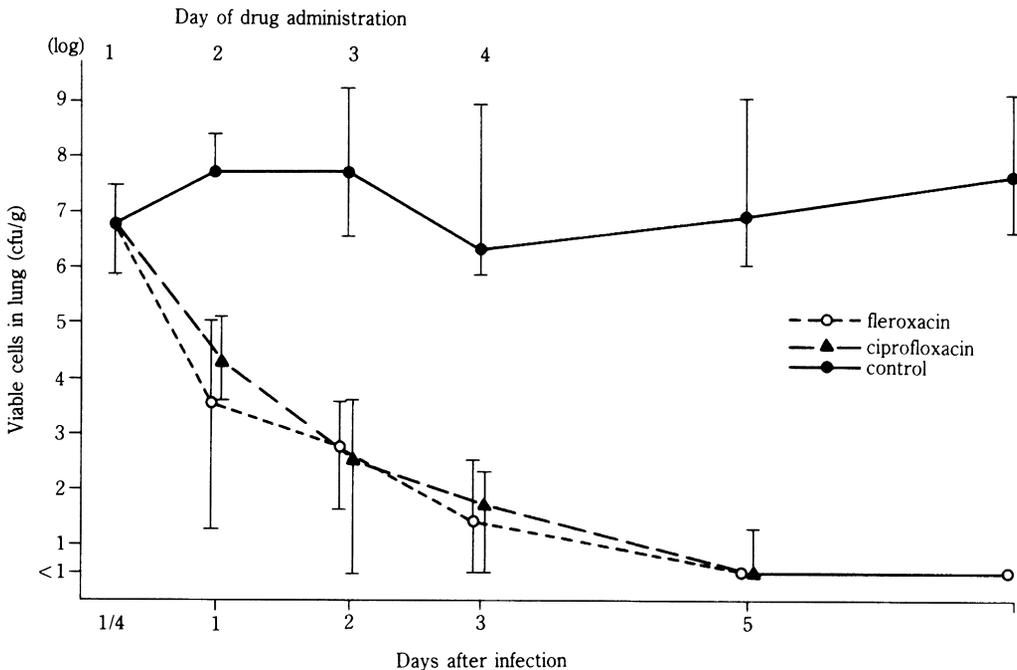
3) 腎内濃度

各薬剤の腎内濃度のピーク値は投与30分後にみられ、その値はfleroxacin: 22 $\mu\text{g}/\text{g}$, CPFV: 9.7 $\mu\text{g}/\text{g}$, ENX: 22 $\mu\text{g}/\text{g}$, OFLX: 23 $\mu\text{g}/\text{g}$, NFLX: 9.8 $\mu\text{g}/\text{g}$ であった。

以上の結果は、肺内および腎内濃度には血清中濃度が反映していることを示している。また各薬剤の体内動態にはdose responseが認められた。

Ⅲ. 考 察

Fleroxacinの*in vitro*, *in vivo*の抗菌活性はOFLX同様強いことが認められたが、とくに現在臨床で問題となっているMRSA感染症に対し、*in vivo*効果は他剤より強く臨



Organism: *K. pneumoniae* 3K-25

Mouse: ICR, 4W, male, 19 ± 1 g, 6 animals/group

Challenge dose: transnasal inoculation ($20 \mu\text{l}$: 1.3×10^7 cfu/mouse)

Therapy: p.o., once a day for 4 days, 1 mg/mouse

MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$, 10^6 cfu/ml): fleroxacin, ciprofloxacin (0.20, 0.012)

—| : The data represent the range of each value of 6 animals

Fig. 2. Therapeutic effect of fleroxacin and ciprofloxacin in respiratory tract infection due to *K. pneumoniae*.

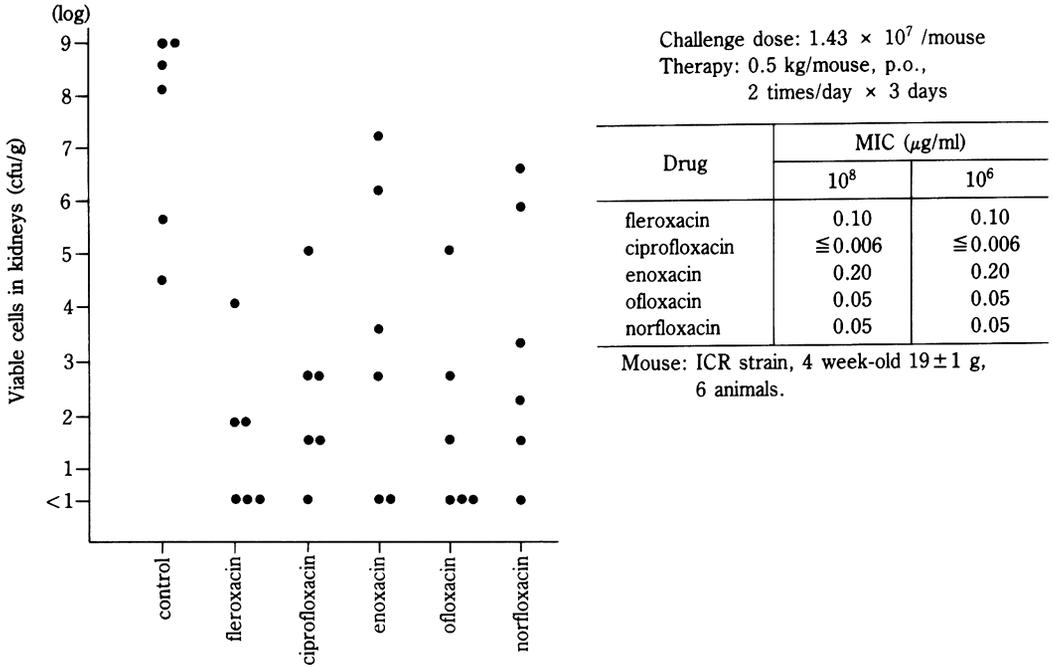


Fig. 3. Therapeutic effect of fleroxacin and other drugs against experimental urinary tract infection in mice due to *E. coli* KU-3.

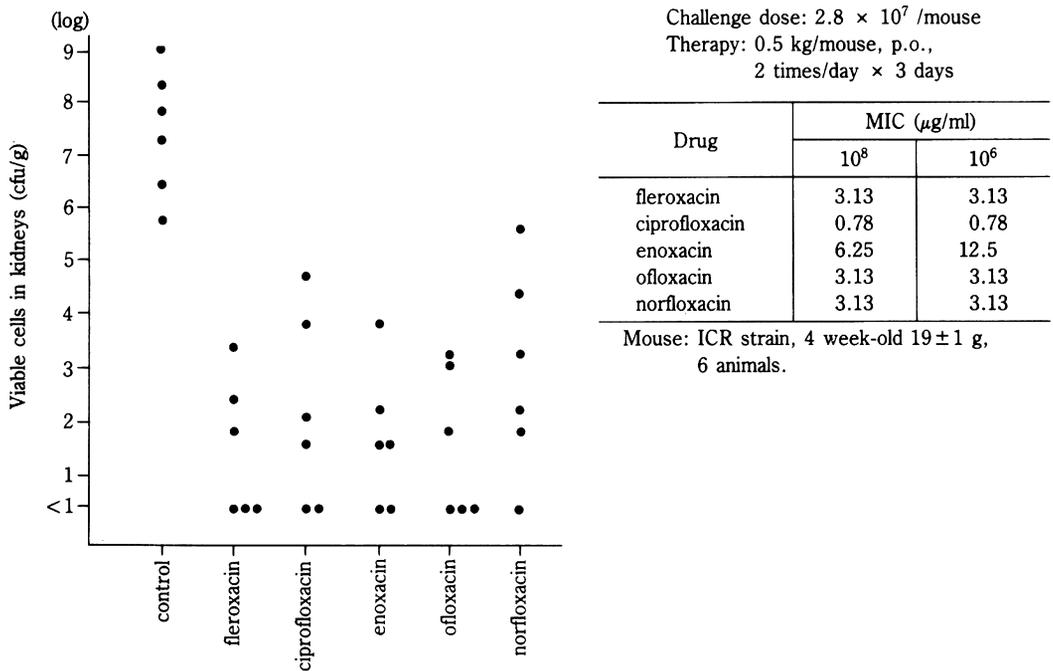


Fig. 4. Therapeutic effect of fleroxacin and other drugs against experimental urinary tract infection in mice due to *S. marcescens* KU-21.

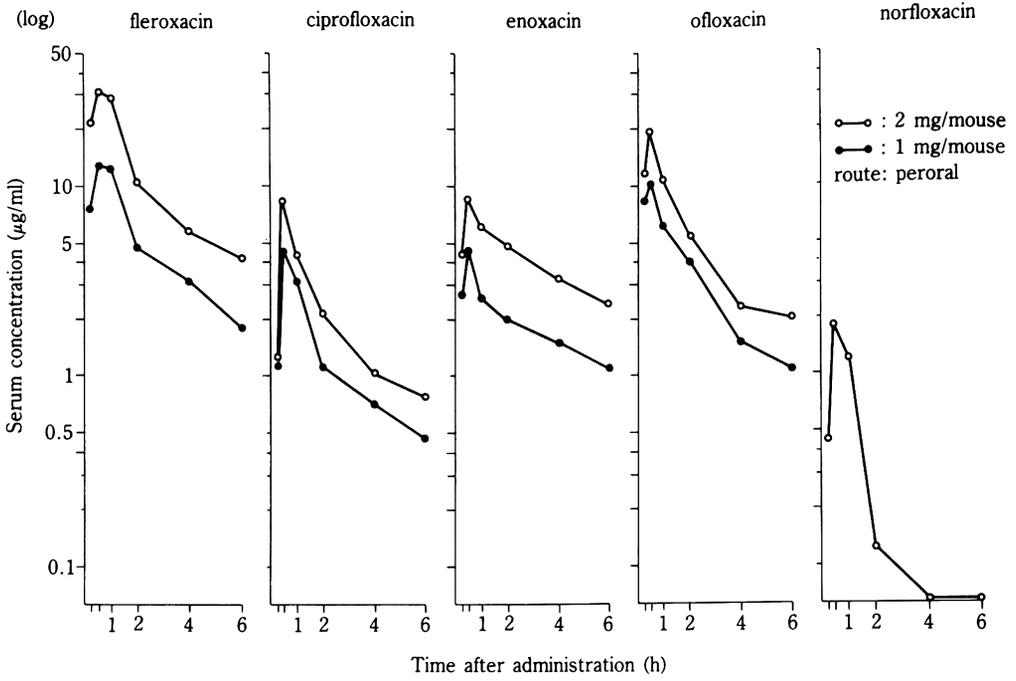


Fig. 5. Drug concentration in mouse serum.

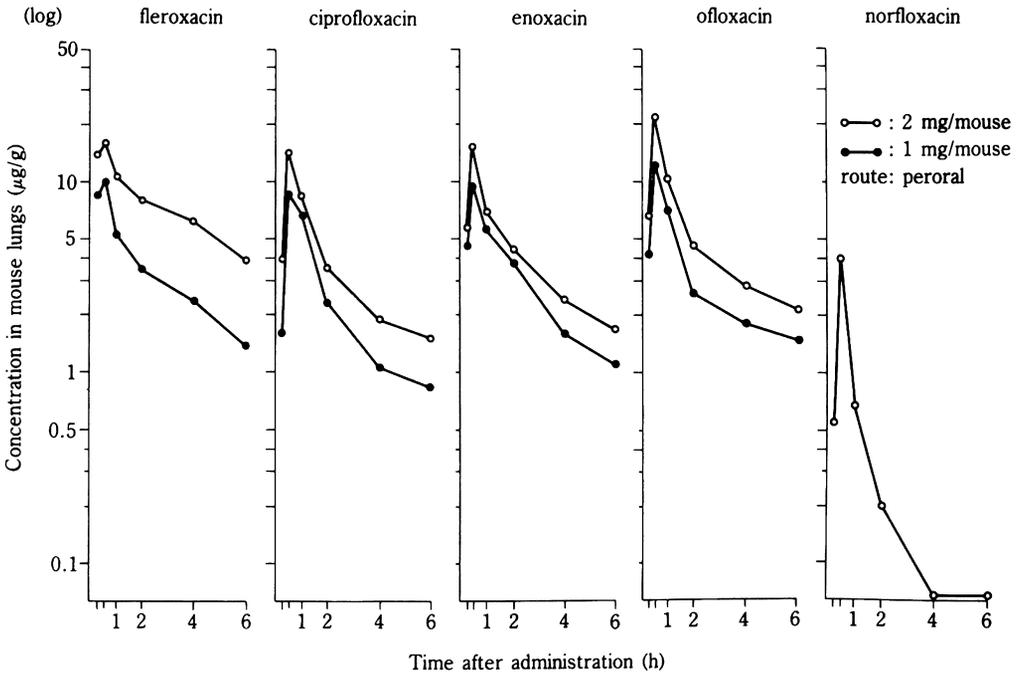


Fig. 6. Drug concentration in mouse lung.

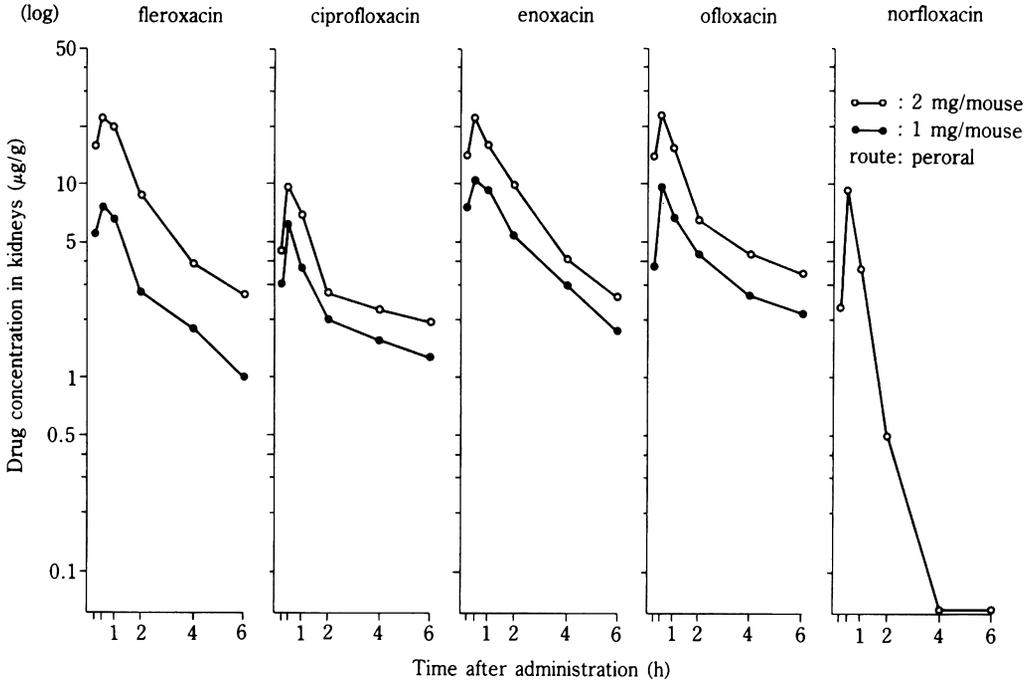


Fig. 7. Drug concentration in mouse kidney.

床上の効果が期待される結果といえよう。

腸内細菌科の各菌種に対するfleroxacinの*in vitro* 抗菌力はCPFXより若干弱い、他のOFLX, ENX, NFLXとほぼ同等であった。しかし、*in vivo* マウス全身感染モデルに対する本剤の治療効果は、ENX, NFLXより優れ、CPFX, OFLXと同等であった。この*in vivo* 成績には、fleroxacinおよび比較薬剤の*in vitro* 抗菌力以外に抗菌薬の体内動態、特にマウス血清中濃度推移が反映されていると考えられる。具体的には、本剤の血清中濃度推移パターンはOFLXと同等ないしはやや優れ、CPFX, NFLXより明らかに良好であった。

ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌およびPPNGを含む*N. gonorrhoeae*に対する本剤の*in vitro* 抗菌力は腸内細菌科の菌種同様CPFXより弱く、OFLX, ENX, NFLXと同等の傾向を示した。*P. aeruginosa*を用いたマウス全身感染モデルにおける本剤および他剤の治療効果には、前述した如く*in vitro* 抗菌力とマウス血清中濃度が反映していた。

このことはgentamicin耐性*P. aeruginosa*感染においても認められ、CPFXの*in vitro* 抗菌力は明らかに強いのに*in vivo* 治療効果においては、有意差を認めない結果を得たことから推考される。

局所感染モデルにおける治療効果においても、全身感

染モデルでの治療効果同様少なくとも上記2要因の影響を受け、fleroxacinはCPFX同様優れた治療効果を示した。

本剤の*in vivo* 効果は、体内移行が良好なことが大きく影響していると考えられるため、抗菌力に限っていえば臨床ではヒトの体内動態が本剤の有効性を左右するものと考えられる。

文 献

- 1) 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度(MIC)の測定法改訂について。Chemotherapy 29：76～79, 1981
- 2) 日本化学療法学会：嫌気性菌の最小発育阻止濃度(MIC)測定法。Chemotherapy 27：559～560, 1979
- 3) 宮崎修一, 大野 章, 北矢 進, 草地信也, 五島嵯智子：呼吸器感染における*H. influenzae*および*S. pneumoniae*の組織親和性と発症機序に関する実験的研究。感染症学雑誌 61：310～317, 1987
- 4) 大森康男, 小川正俊, 宮崎修一, 五島嵯智子：各種グラム陰性桿菌による実験的尿路感染症に関する基礎的研究。Chemotherapy 30 1237～1250, 1982

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF FLEROXACIN,
A NEW QUINOLONE

SACHIKO GOTO, SHUICHI MIYAZAKI, AKIYOSHI TSUJI and YASUKO KANEKO

Department of Microbiology, School of Medicine, Toho University,

5-21-16, Omori-nishi, Ota-ku, Tokyo 143, Japan

We compared the *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of fleroxacin, a new quinolone, with those of ciprofloxacin, ofloxacin, enoxacin and norfloxacin.

1. Fleroxacin proved to have a broad antibacterial spectrum, and its *in vitro* activity against *Staphylococcus* spp., including MRSA, was the same as those of ciprofloxacin and ofloxacin, and stronger than those of the other two drugs. Against the family of enterobacteriaceae and glucose-nonfermenting bacteria, including *Pseudomonas aeruginosa*, fleroxacin was slightly less potent than ciprofloxacin, but the same or more potent than the reference drugs.

2. In systemic infection (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens* and *P. aeruginosa*), intranasal respiratory infection (*K. pneumoniae*) and urinary tract infection (*E. coli* and *S. marcescens*) models, the therapeutic efficacy of fleroxacin was the same as that of ciprofloxacin or ofloxacin.

3. In serum, lung and kidney levels of fleroxacin, the maximum concentration was a little higher and the retention time a little longer than for the other four drugs.