

Mycoplasma pneumoniae に対するマクロライド系、
テトラサイクリン系、ニューキノロン系薬剤の
Postantibiotic effect (PAE)

渡辺 忠洋・長谷川裕美・深田 智子・菊池 賢
柴田 雄介・片平 潤 ・戸塚 恭 ・清水喜八郎
東京女子医大臨床中央検査部*

(平成2年10月13日受付・平成2年12月4日受理)

マクロライド系薬剤として、エリスロマイシン (EM)、ジョサマイシン (JM)、酢酸ミデカマイシン (MOM)、ロキタマイシン (RKM)、テトラサイクリン系薬剤として、テトラサイクリン (TC)、ミノサイクリン (MINO)、ニューキノロン系薬剤として、オフロキサシン (OFLX)、シプロフロキサシン (CPFX) を用い *Mycoplasma pneumoniae* FH 株に対する Postantibiotic effect (PAE) を検討した。各薬剤を 4 MIC, 3 時間作用させた場合、EM, JM, MOM, RKM, TC は 9~13 時間の PAE を、MINO, OFLX, CPFX は 30~39 時間と長い PAE を示した。ヒト血清濃度動態を考慮し各薬剤を作用させた場合、MOM, RKM が最も長い PAE を示し (53~56 時間)、EM, JM およびテトラサイクリン系薬剤は 15~17 時間の、ニューキノロン系薬剤は 5~6 時間の PAE を示した。これらの結果よりマイコプラズマ感染症に対する抗菌薬の投与法に関する示唆が得られた。

Key words : PAE, *Mycoplasma pneumoniae*

近年、グラム陽性菌、グラム陰性菌に対して、マクロライド、テトラサイクリン、ニューキノロン系薬剤の Postantibiotic effect (PAE) が報告されており^{1,2)}、これら蛋白合成阻害や、DNA 合成阻害作用を有する物質が一般的に多くの細菌に対し長い PAE を誘導することが知られている³⁻⁷⁾。これら薬剤は *Mycoplasma pneumoniae* に対して抗菌力を有することが知られている³⁻⁷⁾。しかし、*Mycoplasma pneumoniae* に対するこれら薬剤の PAE に関する報告は見られない。今回、我々はマクロライド系薬剤としてエリスロマイシン、ジョサマイシン、酢酸ミデカマイシン、ロキタマイシン、テトラサイクリン系薬剤としてテトラサイクリン、ミノサイクリン、ニューキノロン系薬剤としてオフロキサシン、シプロフロキサシンの *Mycoplasma pneumoniae* FH 株に対する PAE を検討した。

1. 材料および方法

使用薬剤：マクロライド系薬剤としてエリスロマイシン (EM, シグマ)、ジョサマイシン (JM, 和光純薬)、酢酸ミデカマイシン (MOM, 明治製薬)、ロキタマイシン (RKM, 東洋醸造) を、テトラサイクリン系薬剤としてテトラサイクリン (TC, 明治製薬)、ミノ

サイクリン (MINO, 日本レダリー)、ニューキノロン系薬剤としてオフロキサシン (OFLX, 第一製薬)、シプロフロキサシン (CPFX, バイエル薬品) を用いた。マクロライド系薬剤はメタノールで、ニューキノロン系薬剤は 0.1N NaOH で溶解後、下記の液体培地で所要濃度に調整した。テトラサイクリン系薬剤は同液体培地で直接所用濃度に調整した。

使用菌株：本実験には当室保存の、*M. pneumoniae* FH 株を用いた。

使用培地：液体培地、寒天培地はそれぞれ PPLO 液体培地 (Difco)、または PPLO 寒天培地 (Difco) に、馬血清を 20%、イースト抽出液を 2.5%、フェノールレッドを 0.002%、ペニシリン G を 1,000 IU/ml となるよう添加したものを用いた。

MIC 測定：上記液体培地で 37°C, 5 日間培養し、同液体培地で 100 倍希釈した菌液 (約 10⁵ cfu/ml) を、マクロライド系薬剤は 1 μg/ml より 2 倍段階希釈系列の、テトラサイクリン系、キノロン系薬剤は 10 μg/ml より 2 倍段階希釈系列の薬剤含有の上記寒天培地に、マイクロプランターで接種し、37°C, 7 日間培養後、

実体顕微鏡下でコロニーの有無を観察し、MIC を判定した。判定基準は日本化学療法学会標準法に準じた。

殺菌作用：5日間前培養した菌液を 2.5×10^5 cfu/ml に液体培地で調整し、各薬剤を 1/2, 1, 4, 16 MIC とするよう添加後、37°C で静置培養し、経時的に寒天培地上に各菌液を滴下し、7日間培養後、顕微鏡下で生菌数を測定し殺菌作用を検討した。

PAE の測定：5日間前培養し、 4×10^5 cfu/ml とするよう調整した菌液に、各薬剤を 4 MIC、3時間作用後、遠沈洗浄後 (1,600 g, 30 min.) 液体培地にて 100 倍希釈し薬剤の影響を除去し、経時的に菌数を測定した。PAE は次式により求めた。

$$PAE = T - C$$

(T : 薬剤除去直後の生菌数が $1 \log_{10}$ cfu/ml 増殖するに要した時間)

(C : コントロールの菌が $1 \log_{10}$ cfu/ml 増殖するに要した時間)

また、ヒト血清濃度を考慮した場合の PAE は 5日間前培養し 5×10^5 cfu/ml とするよう調整した菌液に、各薬剤所要濃度を添加し一定時間作用後、上記と同様の方法で PAE を求めた。すなわち、薬剤濃度、作用時間は、マクロライド系薬剤は、30 MIC、4時間、テトラサイクリン系薬剤は、1 MIC、3時間、ニューキノロン系薬剤は、1 MIC、2時間作用後の PAE を上記と同様の方法で求めた。これらの薬剤濃度はほぼ各薬剤の血清濃度ピーク値と MIC 値の平均であり、作用時間は、ほぼこの薬剤濃度を維持する時間である。生菌数は殺菌作用の場合と同様の方法で測定した。

II. 結 果

MIC : 使用した *M. pneumoniae* FH 株の寒天希釈法による MIC は Table 1 に示す通りであり、マクロライド系薬剤は $0.016 \sim 0.032 \mu\text{g/ml}$ とテトラサイクリン系、キノロン系薬剤に比し優れた感受性を示した。

殺菌作用：マクロライド系薬剤では、EM, MOM は JM, RKM より優れた殺菌作用を示した。RKM は、16 MIC では優れた殺菌作用を示したにもかかわらず、4 MIC 以下ではほとんど殺菌作用を示さず、JM は 16 MIC を作用させた場合でも弱い殺菌作用を示したにとどまった (Fig. 1-1)。テトラサイクリン系薬剤である TC, MINO は、16 MIC を作用させた場合でも強い殺菌作用は示さなかったが、1/2 MIC 作用でも静菌作用を示した (Fig. 1-2)。ニューキノロン系薬剤である OFLX, CPFX は MIC 以上の濃度作用で強い殺菌作用を示し、1/2 MIC 作用でも静菌作用を示した (Fig. 1-3)。

PAE : 各薬剤を *M. pneumoniae* FH 株に 4 MIC、

3時間作用させた場合、薬剤除去後の増殖曲線は Fig. 2 に、この増殖曲線より求めた PAE を、Table 2 に示した。すなわち、MINO, OFLX, CPFX の PAE は 30 ~ 39 時間であり、EM, JM, MOM, RKM, TC の PAE は 9 ~ 13 時間であった。ヒト血清濃度を考慮し、各薬剤を作用させた場合、薬剤除去後の増殖曲線は Fig. 3 に示した。PAE を求め、その成績を Table 3 に示した。MOM, RKM は、各々、53 時間、56 時間と最も長い PAE を示し、他のマクロライド系薬剤や、テトラサイクリン系薬剤は 15 ~ 17 時間の、ニューキノロン系薬剤は 5 ~ 6 時間の PAE を示した。

III. 考 察

マクロライド系薬剤、テトラサイクリン系薬剤、ニューキノロン系薬剤など蛋白合成阻害作用や DNA 合成阻害作用のある薬剤は、グラム陽性菌、グラム陰性菌に対して PAE を示すことが知られている^{1,2)}。一方、マクロライド系、テトラサイクリン系薬剤は強い抗マイコプラズマ作用を示し、マイコプラズマ感染症の第一選択剤として用いられており³⁻⁶⁾、近年、ニューキノロン系薬剤もマイコプラズマに抗菌作用のあることも報告されている⁷⁾。

我々は、*M. pneumoniae* FH 株に対する、マクロライド系薬剤として、EM, JM, MOM, RKM の、テトラサイクリン系薬剤として、TC, MINO の、ニューキノロン系薬剤として、OFLX, CPFX の殺菌作用、および PAE を検討した。

M. pneumoniae に対して、ニューキノロン系薬剤は、MIC を基準に比較するとマクロライド系薬剤より優れた殺菌作用を示したが、絶対濃度 ($\mu\text{g/ml}$) で比較すると、その殺菌作用はマクロライド系薬剤より劣った成績を示した。マクロライド系薬剤間で比較すると、MOM と RKM は高濃度で他のマクロライド系抗生物質より強い殺菌作用を示した。

各薬剤の常用投与量での血清ピーク値および半減期を見てみるとマクロライド系では、ピーク値は、 $0.5 \sim 0.7 \mu\text{g/ml}$ (各薬剤の約 30 ~ 40 MIC)、半減期は約 1.5 ~ 2.5 時間、テトラサイクリン系では、ピーク値が $1 \sim 2 \mu\text{g/ml}$ (各薬剤の約 1 ~ 1/2 MIC)、半減期は 8 ~ 9 時間、ニューキノロン系では、ピーク値は $1 \sim 2 \mu\text{g/ml}$ (各薬剤の 1 ~ 2 MIC)、半減期は約 2 ~ 3 時間であり⁸⁻¹²⁾、これらヒト血清濃度を考慮した場合のマクロライド系薬剤の殺菌作用は、テトラサイクリン系、ニューキノロン系薬剤より優れていた。

4 MIC、3時間作用させた場合、マクロライド系薬剤は、MINO やニューキノロン系薬剤より短い PAE を示したが、上記ヒト血清濃度を考慮し、「方法」で述

Table 1. Minimum inhibitory concentrations (MICs) of macrolides, tetracyclines and quinolones against *Mycoplasma pneumoniae* strain FH

Antimicrobial agent	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
Erythromycin	0.016
Josamycin	0.032
Midecamycin acetate	0.032
Rokitamycin	0.016
Tetracycline	2.5
Minocycline	1.25
Ofloxacin	1.25
Ciprofloxacin	0.63

Table 2. Postantibiotic effects (PAEs) of macrolides, tetracyclines and quinolones against *Mycoplasma pneumoniae* strain FH when exposed to four times the MIC for 3 h

Antimicrobial agent	Duration of PAE (h)
Erythromycin	9
Josamycin	11
Midecamycin acetate	10
Rokitamycin	13
Tetracycline	13
Minocycline	31
Ofloxacin	39
Ciprofloxacin	30

Table 3. Postantibiotic effects (PAEs) of macrolides, tetracyclines and quinolones against *Mycoplasma pneumoniae* strain FH in serum levels of humans

Antimicrobial agent	Drug concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Exposure time (h)	PAE (h)
Erythromycin	0.48 (30 MIC)	4	15
Josamycin	0.96 (30 MIC)	4	15
Midecamycin acetate	0.96 (30 MIC)	4	53
Rokitamycin	0.48 (30 MIC)	4	56
Tetracycline	2.5 (1 MIC)	3	17
Minocycline	1.25 (1 MIC)	3	17
Ofloxacin	1.25 (1 MIC)	2	5
Ciprofloxacin	0.63 (1 MIC)	2	6

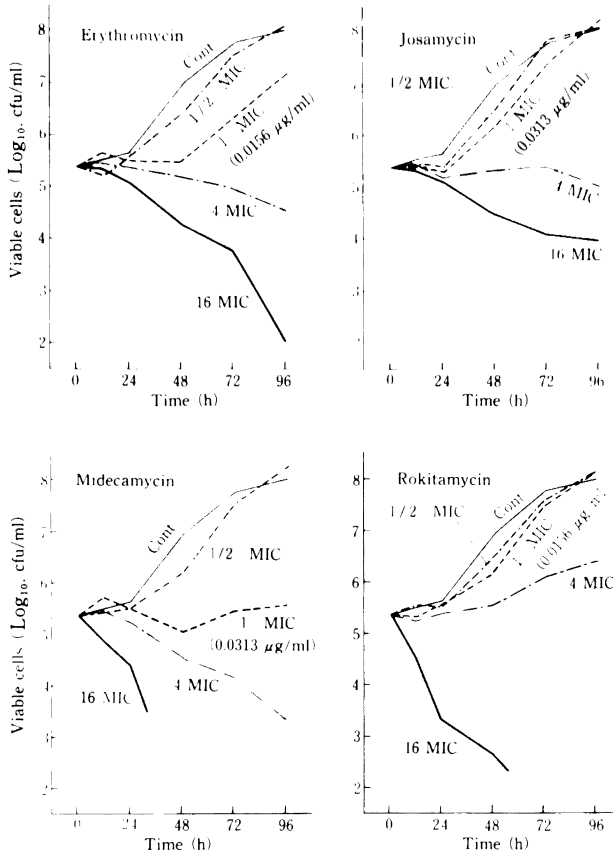


Fig. 1-1. Killing activities of erythromycin, josamycin, midecamycin acetate and rokitamycin against *Mycoplasma pneumoniae* strain FH

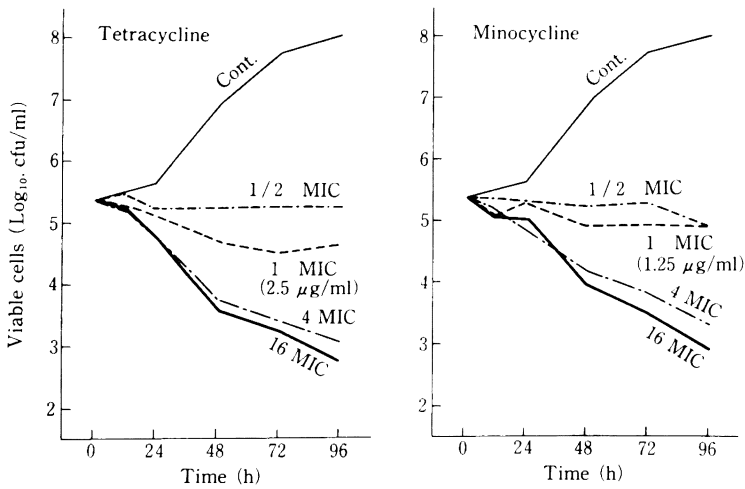


Fig. 1-2. Killing activities of tetracycline and minocycline against *Mycoplasma pneumoniae* strain FH

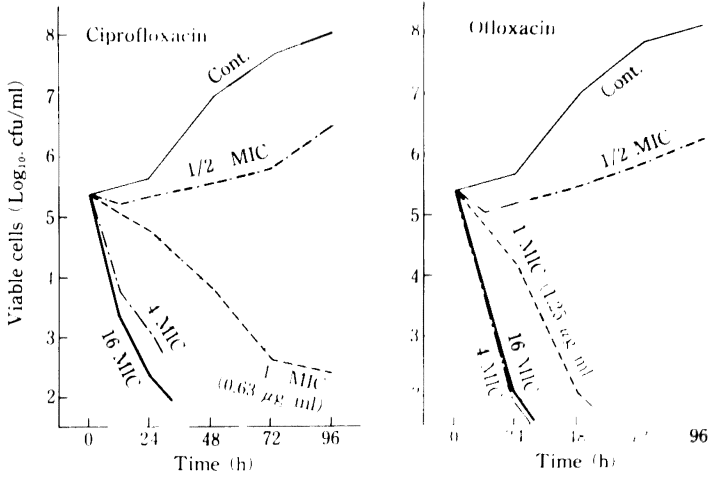


Fig. 1-3. Killing activities of ofloxacin and ciprofloxacin against *Mycoplasma pneumoniae* strain FH

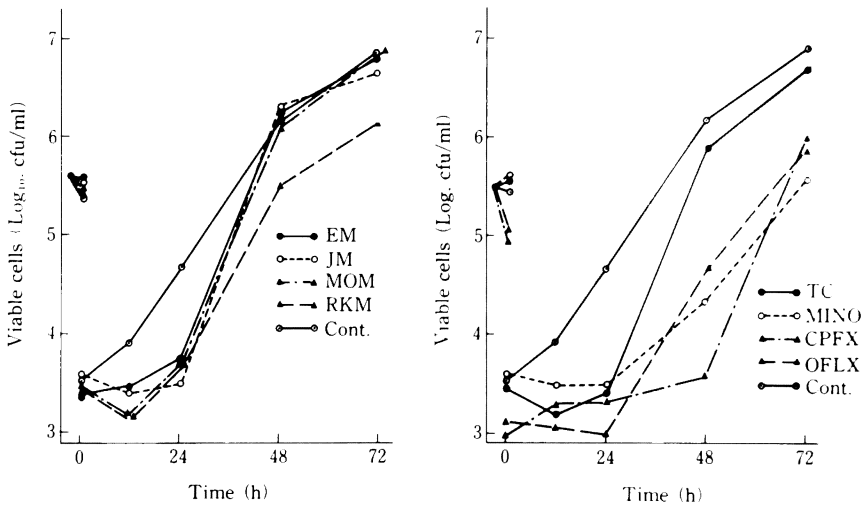


Fig. 2. Regrowth of *Mycoplasma pneumoniae* strain FH following exposure for 3 h to macrolides, tetracycline and quinolones at concentrations four times the MIC

べた薬剤濃度、作用時間でPAEを測定すると、MOM、RKMは他のマクロライド系や、テトラサイクリン系、ニューキノロン系薬剤より明らかに長いPAEを示した。MOMやRKMが長いPAEを示すことの一因は、これら薬剤が高濃度で強い殺菌作用を示すことも考えられる。また、これら薬剤が、グラム陽性菌、陰性菌に比して、*M. pneumoniae*に長いPAEを示すことは、*M. pneumoniae*と他の菌種との増殖速度の違いも影響していると思われるが、そのメカニズムにつ

いては今後の検討を必要とする。

これら薬剤が長いPAEを示すことは、その薬剤の投与間隔を拉长すること、あるいは投与量を減量できることが可能であり、その結果、副作用を軽減させることや、あるいはcost-effectiveの面での貢献が期待され得るであろう。

今後、*M. pneumoniae*感染症に対して、これらPAEの長い薬剤の投与方法について、臨床的に検討する必要があると考えられる。

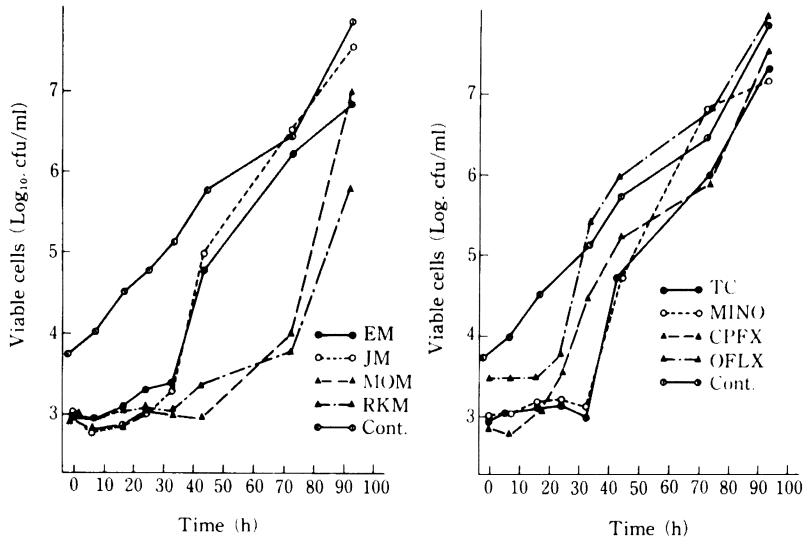


Fig. 3. Regrowth of *Mycoplasma pneumoniae* strain FH following exposure to macrolides, tetracyclines and quinolones in serum levels of humans

文 献

- 1) Craig W A, Gudmadsson S: The post antibiotic effect. In Antibiotic in Laboratory Medicine (Lorian V. ed.), p.515~536, Williams and Wilkins, Baltimore. 1986
- 2) Kuenzi B, Segessenmann Ch, and Gerber A U: Postantibiotic effect of roxithromycin, erythromycin, and clindamycin against selected Gram-positive bacteria and Haemophilus influenzae. J. Antimicrob Chemother 20(Suppl. B.) : 39~46, 1987
- 3) Waites K B, Kasell G H, Cannup K C, Fernandes P B: *In vitro* susceptibilities of mycoplasmas and ureaplasmas to new macrolisea and aryl-fluoroquinolones. Antimicrob Agent Chemotherer 32: 1500~1502, 1988
- 4) Wenzel R P, Hendley J O, Dodd W K, Gwaltney J W Jr: Comparison of josamycin and erythromycin in the therapy of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. Antimicrob Agent Chemother 10: 899~901, 1976
- 5) Rodolfo L J: Susceptibility of *Mycoplasma pneumoniae* to 21 antibiotics *in vitro*. Amer. J. Med Sci. 253: 639~650, 1967
- 6) Watanabe T, Miyauchi K, Kazuno Y, Kojima T, Inouye S, Hayatu E, Kawakubo Y, Yoshioka M: *In vitro* and *in vivo* activity of Miocamycin and metabolite, Mb-12, against *Mycoplasma pneumoniae*. Drugs Exptl. Clin. Res. 6: 371~378, 1984
- 7) Osada Y, Ogawa H: Antimycoplasmal activity of ofloxacin (DL-8280). Antimicrob Agent Chemother 23: 509~511, 1983
- 8) 深谷一大, 庄村知子, 染谷佐和子, 村田信二郎, 梅村甲子郎, 鬼海庄一郎: 9, 3"-diacetylmidecamycin (MOM) のヒトにおける吸収・代謝・排泄。Chemotherapy 29: 448~457, 1981
- 9) Maesen F P V, Davies B I, Van den Bergh J J A M: Doxycycline and minocycline in the treatment of respiratory infections: a double-blinded comparative clinical, microbiological and pharmacokinetic study. Antimicrob Chemother 23: 123~129, 1989
- 10) 森下真孝, 鈴木忠清, 酒井敦史, 遠藤里子, 渡辺真由美, 永田明穂, 石岡忠夫: 健康人における TMS-19-Q の吸収, 代謝および排泄に関する研究。Chemotherapy 32: 99~116, 1984
- 11) 中山一誠, 秋枝洋三, 川村弘志, 川口 広, 山地恵美子: 外科領域における新ピリドンカルボン酸系抗菌剤 BAYo9867 (Ciprofloxacin) の抗菌力・吸収・排泄・代謝および臓器移行性について。Chemotherapy 33: 64~75, 1985
- 12) Wise R, Donovan I A: Tissue penetration and metabolism of ciprofloxacin. Amer J Med 82: 103~107, 1987

POSTANTIBIOTIC EFFECT OF MACROLIDES, TETRACYCLINE AND
QUINOLONE ANTIMICROBIAL AGENTS AGAINST *MYCOPLASMA PNEUMONIAE*

Tadahiro Watanabe, Hiromi Hasegawa, Tomoko Fukada,
Ken Kikuchi, Yusuke Shibata, Junichi Katahira,
Kyoichi Totsuka and Kihachiro Shimizu
Department of Medicine, Tokyo Woman's Medical College,
8-1 Kawada-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 162, Japan

The postantibiotic effect (PAE) of erythromycin (EM), josamycin (JM), midecamycin acetate (MOM) and rokitamycin (RKM) (macrolides), tetracycline (TC) and minocycline (MINO) (tetracyclines), and ofloxacin (OFLX) and ciprofloxacin (CPFX) (quinolones) against *Mycoplasma pneumoniae* strain FH were investigated. Upon exposure to four times the MIC for 3 h, EM, JM, MOM, RKM and TC induced PAEs of 9–13 h, and MINO, OFLX and CPFX induced longer PAEs (30–39 h). In humans, the serum levels of MOM and RKM induced the longest PAEs (53–56 h). Among test agents, other macrolides, and tetracyclines and quinolones produced PAEs of 15–17 h and 5–6 h. These results suggest the necessity for further clinical studies on *M. pneumoniae* infections with new experimental dosage schedules for macrolides, tetracyclines and quinolones.