

Sparfloxacin の試験管内抗菌力, 血清補体または
マウス培養マクロファージとの協力的殺菌作用,
および動物細胞に対する細胞毒性

横田 健・神田佳代子・新井京子

順天堂大学医学部細菌学教室*

Sparfloxacin (SPFX) の *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, coagulase-negative staphylococci, *Streptococcus pyogenes*, β -streptococci, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* CS2 (R⁺), *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Xanthomonas maltophilia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* および *Bacteroides fragilis* の 14~50 臨床分離株に対する MIC₉₀ は, それぞれ 0.1, 0.2, 0.2, 1.56, 0.78, 0.39, 0.78, 0.78, 0.39, 0.39, 0.39, 0.78, 1.56, 6.25, 1.56, 1.56, 1.56, 12.5, 1.56, 0.39, 0.39, 0.05 および 3.13 $\mu\text{g/ml}$ であった。

SPFX は血清補体との協力的殺菌作用は中等度であったが, マウス培養マクロファージ (M ϕ) との協力的殺菌作用は強く, *Escherichia coli* NIHJ JC-2 の生細胞は 1/4~1/8 MIC の SPFX 共存下で, M ϕ によく食菌, 消化された。

SPFX は ciprofloxacin (CPFX) や ofloxacin (OFLX) より強い増殖抑制作用を HeLa および CHO-K1 細胞に示したが, IMR-32 細胞に対する作用は CPFX と同程度であった。SPFX は 5 $\mu\text{g/ml}$ で IMR-32 の神経線維の一部を短縮した。

Key words : Sparfloxacin, MIC, マウスマクロファージ, 細胞毒性, 神経突起

新しい 4-quinolone, sparfloxacin (SPFX) は N 1 位に cyclopropyl 基, 5 位に amino 基, 7 位に dimethylpiperazinyl 基を持つ誘導体である。本物質はグラム陽性菌に既存の 4-quinolone より抗菌力が強いといわれる。本剤の臨床効果を推定する基礎研究の一つとして, SPFX の 23 菌種 14~50 臨床分離株に対する最小発育阻止濃度 (MIC) を平板法で測定すると共に, 血清補体またはマウス培養マクロファージ (M ϕ) との協力的殺菌作用を検討した。また動物培養細胞に対する増殖抑制作用と, 再分化したヒト神経芽細胞腫細胞の神経突起に対する影響を調べ, SPFX の副作用を考える上の参考にしようとした。

I. 材料および方法

1. 使用薬剤

SPFX は大日本製薬株式会社から純末を分与された。対照薬剤として enoxacin (ENX : 大日本製薬),

norfloxacin (NFLX : 杏林製薬), ofloxacin (OFLX : 第一製薬) および ciprofloxacin (CPFX : バイエル薬品) の純末を使用した。

2. 被検菌株

MIC の測定には順天堂大学付属病院中央検査室および東京都老人研究所付属病院中央検査室から分与された 3 年以内の 23 菌種 14~50 臨床分離株を使用した。また血清補体またはマウス培養 M ϕ との協力的殺菌作用の検討には *Escherichia coli* NIHJ JC-2 を使用した。

3. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定法

日本化学療法学会法¹⁾に従い平板希釈法で測定した。すなわち被検菌を L-broth²⁾ 中で一夜振盪培養し, グラム陽性菌は 100 倍に, グラム陰性菌は 1000 倍に新鮮 L-broth で希釈し, それを 10⁶CFU/ml 菌浮遊液として接種に使用した。マイクロプランター (佐久間製作所) を使い, 接種菌液の一金耳ずつを, 0.013~100 $\mu\text{g/ml}$ の薬剤を含む Mueller Hinton agar (Difco) の表

面に接種し、37°C一夜培養後集落形成の有無からMICを求めた。ただし *Streptococcus pyogenes* は、前培養に HI-broth (Difco) を、MIC 測定には 5% 羊脱線維血液加 HI agar を使用した。 *Streptococcus pneumoniae* は羊血液寒天平板上に 37°C 一夜培養した菌をかきとり、L-broth に 10^8 CFU/ml に浮遊したものを希釈して接種菌液とし、MIC 測定には羊血液寒天平板を使った。 *Haemophilus influenzae* は Fildes Extract (Oxoid) 5% 加 HI broth を前培養に、Fildes Extract 加 HI agar を MIC 測定に用いた。 *Bacteroides fragilis* は前培養に GAM ブイヨン (日水)、MIC 測定に GAM 寒天を使用し、ガスバック法 (BBL) で嫌気培養した。

4. 血清補体またはマウス培養 Mφ と SPFX との協力的殺菌作用の検討法

E. coli NIHJ JC-2 を L-broth 5 ml 中で 37°C 一夜振盪培養した。新鮮 L-broth で 10000 倍に希釈し、4 本の中試験管中に 5 ml ずつ分注した。4 本 1 組とし、1 本は対照、2 本目にはこの菌の増殖に影響を与えない最高補体量 (0.5 units/ml) と 20% 非動化ヒト血清を加えた。3 本目には 5 時間後の生菌数が接種菌数の 50% となる SPFX (ID_{50}) を加え、4 本目には補体・ヒト血清および ID_{50} の SPFX を添加した。37°C で振盪培養を続けながら 0, 1, 3, 5 および 24 時間目にそれぞれからサンプルをとり、適当に対数希釈して、HI 平板上に 0.1 ml を塗布して生菌数を測定した。

Mφ は 5 週齢の ICR 雄マウス腹腔を 8 ml の 10% fetal calf serum 加 F 12 培地 (日水) で洗って採取し、低速遠心で集め、同培地で一回洗浄後新鮮同培地中に 10^8 cells/ml になるように浮遊した。その 0.1 ml を円形カバースリップを沈めた Corning multi dish (24 穴) に接種し、著者らの方法³⁾ で 20% L-CM (conditioned medium L-929) を加えて活性化した。 *E. coli* NIHJ JC-2 の一夜振盪培養液を対数希釈し、Mφ の 50 倍量 (5.0×10^5 CFU/ml) を接種した。一部の well には SPFX を 1 ~ 1/16 MIC になるよう加えて培養した。5% CO₂ 存在下 37°C 4 時間培養後カバースリップを取り出し、saline G で軽く洗浄した後、メタノール固定、Giemsa 染色を行い顕像を撮影した。

5. SPFX の動物細胞増殖抑制作用の検討

教室保存の CHO-K 1 細胞、HeLa 細胞およびヒト神経芽細胞腫 IMR-32 細胞を Corning multi dish に 1×10^4 cells/well ずつ接種した。新鮮 10% fetal calf serum 加 F 12 培地を各 well に 1 ml ずつ加え、37°C 5% CO₂ 存在下 4 日間培養した。一部の well には SPFX を 0.1, 1, 10, 50 または 100 μg/ml になるよ

うに添加して培養した。培養終了後浮遊細胞を除き 0.5 mM の EDTA 処理で生細胞をはがし、低速遠心で集めた後、ISOTON 液に再浮遊して Coulter counter で細胞数を自動測定した。

6. SPFX の再分化 IMR-32 細胞の神経突起に対する影響の検討法

著者らの方法⁴⁾ で検討した。すなわち底面積 25 cm² の Corning 培養フラスコに 10% fetal calf serum 加 F 12 培地を用い、 1×10^6 cells/5 ml になるよう接種した。37°C, 5% CO₂ 存在下で 3 日間培養し、浮遊細胞を除いた後、1 mM の dibutyryl adenosine-3', 5'-cyclic monophosphate (DBcAMP) を含む 5 ml の新鮮 fetal calf serum 加 F 12 培地を加えた。37°C 5% CO₂ 存在下で培養を続け 7 日目に培地交換した後、さらに 3 日間 DBcAMP 存在下で培養を続けた。倒立顕微鏡で神経突起が十分伸長していることを確かめた後、観察箇所印をつけ位相差倒立顕微鏡撮影装置で記録した。終末濃度 5 μg/ml になるように SPFX を加え 3 時間後に同じ観察箇所の顕微鏡撮影を行い、薬剤添加前後における神経突起伸長の状態を比較した。

II. 成績

1. SPFX の各種細菌臨床分離株に対する MIC

Staphylococcus aureus 49 臨床分離株に対する SPFX の MIC₉₀ は Table 1 のごとく 0.1 μg/ml で、CPF₉₀ および OFLX のその 1/10 前後の小さい MIC₉₀ を示した。Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) 47 臨床分離株に対しても SPFX の抗菌力は他剤より強く、その MIC₉₀ は 0.2 μg/ml で、OFLX のその 1/8, CPF₉₀ の 1/16 であった。Coagulase-negative staphylococci (CNS) 41 臨床分離株に対する SPFX の MIC₉₀ も 0.2 μg/ml で CPF₉₀ や OFLX の MIC₉₀ 値より小さく、強い抗菌力を示した。*S. pyogenes* 46 臨床分離株では、SPFX の MIC₉₀ は 1.56 μg/ml で CPF₉₀ および OFLX と同程度であった。*S. pyogenes* 以外の β-streptococci に対する SPFX の MIC₉₀ は 0.78 μg/ml で CPF₉₀, OFLX より若干強かった。*S. pneumoniae* 22 臨床分離株に対する SPFX の MIC₉₀ は 0.39 μg/ml で CPF₉₀ のその 1/4, OFLX の 1/8 の小さい MIC₉₀ を示した。*Enterococcus faecalis* 37 臨床分離株および *Enterococcus faecium* 42 臨床分離株に対する SPFX の MIC₉₀ は、それぞれ 0.78 および 0.78 μg/ml で対照薬剤の 2 ~ 16 倍の抗菌力を示した。

E. coli CS2 株に野外から得られた種々の R plasmid

Table 1. Antibacterial activity of sparfloxacin and other quinolones

Organism (no. of strains)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	sparfloxacin	norfloxacin	enoxacin	ofloxacin	ciprofloxacin
<i>Staphylococcus aureus</i> (49)	range 50% 90%	0.025~0.39 0.1 0.1	0.78~12.5 1.56 1.56	0.39~12.5 1.56 1.56	0.39~0.78 0.39 0.78	0.2~1.56 0.39 1.56
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (47)	range 50% 90%	0.05~0.2 0.1 0.2	0.39~50 3.13 25	0.78~25 1.56 12.5	0.05~1.56 0.78 1.56	0.39~3.13 0.78 3.13
Coagulase-negative staphylococci (41)	range 50% 90%	0.05~0.78 0.1 0.2	0.05~12.5 0.78 1.56	0.39~50 0.78 3.13	0.2~3.13 0.78 1.56	0.2~1.56 0.39 0.39
<i>Streptococcus pyogenes</i> (48)	range 50% 90%	≤ 0.013 ~1.56 0.78 1.56	0.39~8.25 3.13 3.13	1.56~12.5 6.25 12.5	0.2~3.13 1.56 1.56	0.2~1.56 0.78 0.78
β -streptococci (14)	range 50% 90%	0.2~1.56 0.39 0.78	6.25~25 12.5 25	3.13~12.5 6.25 12.5	0.78~3.13 1.56 3.13	0.39~1.56 0.78 1.56
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (22)	range 50% 90%	≤ 0.013 ~0.78 0.2 0.39	1.56~8.25 1.56 3.13	3.13~25 6.25 12.5	0.78~3.13 1.56 3.13	0.39~1.56 0.78 1.56
<i>Enterococcus faecalis</i> (37)	range 50% 90%	0.1~0.78 0.39 0.78	1.56~50 6.25 6.25	1.56~25 6.25 6.25	0.78~3.13 3.13 3.13	0.39~1.56 1.56 1.56
<i>Enterococcus faecium</i> (42)	range 50% 90%	0.1~6.25 0.39 0.78	1.56~25 6.25 6.25	0.05~25 6.25 12.5	1.56~12.5 6.25 6.25	0.2~12.5 3.13 6.25
<i>Escherichia coli</i> CS2(R ⁺) (50)	range 50% 90%	0.1~0.78 0.39 0.39	0.2~0.78 0.39 0.78	0.78~3.13 1.56 1.56	0.2~0.78 0.39 0.78	0.05~0.39 0.2 0.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (47)	range 50% 90%	≤ 0.013 ~3.13 0.05 0.39	0.05~25 0.1 1.56	0.1~50 0.2 6.25	0.05~12.5 0.1 1.56	0.025~6.25 0.1 0.39
<i>Proteus mirabilis</i> (50)	range 50% 90%	0.05~0.78 0.2 0.39	0.025~0.78 0.1 0.2	0.1~1.56 0.39 0.78	0.05~0.78 0.2 0.2	0.025~0.39 0.05 0.1
<i>Proteus vulgaris</i> (35)	range 50% 90%	0.1~6.25 0.2 0.78	0.025~0.2 0.05 0.1	0.2~1.56 0.2 0.78	0.05~0.39 0.1 0.39	≤ 0.013 ~0.1 0.025 0.1
<i>Morganella morganii</i> (50)	range 50% 90%	0.1~6.25 0.2 1.56	0.025~1.56 0.05 0.39	0.05~1.56 0.1 0.39	0.05~6.25 0.1 0.78	≤ 0.013 ~1.56 0.025 0.2
<i>Providencia rettgeri</i> (29)	range 50% 90%	0.1~6.25 1.56 6.25	0.05~50 12.5 50	0.2~50 12.5 25	0.1~6.25 3.13 6.25	≤ 0.013 ~12.5 1.56 12.5
<i>Citrobacter freundii</i> (50)	range 50% 90%	0.05~12.5 0.39 1.56	0.2~12.5 0.39 6.25	0.05~6.25 0.2 6.25	0.1~12.5 0.39 3.13	≤ 0.013 ~3.13 0.1 1.56
<i>Serratia marcescens</i> (50)	range 50% 90%	0.05~12.5 0.39 1.56	0.1~50 0.2 12.5	0.2~50 0.39 12.5	0.1~12.5 0.39 6.25	0.025~12.5 0.1 1.56
<i>Enterobacter cloacae</i> (50)	range 50% 90%	0.025~25 0.1 1.56	0.05~25 0.39 12.5	0.1~25 0.39 12.5	0.05~25 0.39 6.25	≤ 0.013 ~12.5 0.1 3.13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (50)	range 50% 90%	0.1~100 1.56 12.5	0.39~50 1.56 12.5	0.39~100 3.13 12.5	0.78~100 3.13 25	0.1~25 0.39 3.13
<i>Pseudomonas cepacia</i> (33)	range 50% 90%	0.39~1.56 1.56 1.56	6.25~25 12.5 12.5	3.13~12.5 6.25 6.25	3.13~12.5 6.25 6.25	1.56~3.13 1.56 3.13
<i>Xanthomonas maltophilia</i> (47)	range 50% 90%	≤ 0.013 ~0.78 0.2 0.39	0.78~25 6.25 12.5	≤ 0.013 ~12.5 3.13 6.25	0.2~3.13 1.56 3.13	≤ 0.013 ~6.25 1.56 3.13
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (29)	range 50% 90%	≤ 0.013 ~25 ≤ 0.013 0.39	0.1~>100 1.56 12.5	0.39~>100 1.56 6.25	0.1~50 0.2 0.78	0.05~50 0.2 0.78
Ampicillin-resistant <i>Haemophilus influenzae</i> (22)	range 50% 90%	0.025~0.05 0.05 0.05	0.05~0.1 0.1 0.1	≤ 0.013 ~0.1 0.05 0.1	0.05~0.1 0.05 0.05	≤ 0.013 ~0.025 ≤ 0.013 0.025
<i>Bacteroides fragilis</i> (40)	range 50% 90%	0.78~12.5 1.56 3.13	12.5~100 25 50	12.5~100 25 50	1.56~12.5 3.13 6.25	3.13~25 6.25 12.5

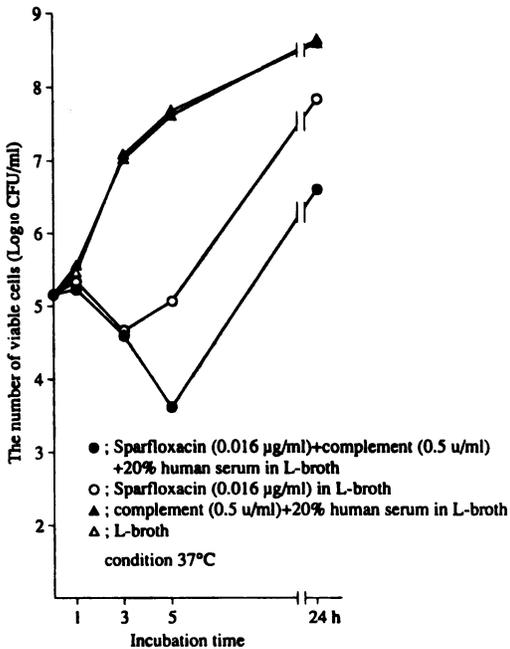


Fig. 1. Influence of ID₅₀ sparfloxacin (0.016 µg/ml) on the bactericidal effect of the serum complement on *Escherichia coli* NIHJ JC-2

を接合伝達した、*E. coli* (R⁺) 50株に対するSPFXのMIC₉₀は0.39 µg/mlでCPFXより若干弱いものの、他剤にはほぼ等しかった。*Klebsiella pneumoniae* 47臨床分離株では、SPFXのMIC₉₀は0.39 µg/mlでCPFXと等しくENXやOFLX、NFLXより強かった。しかし*Proteus mirabilis* 50臨床分離株ではSPFXのMIC₉₀は0.39 µg/mlで、CPFXとOFLXより若干弱かった。*Proteus vulgaris* 35臨床分離株に対するMIC₉₀は0.78 µg/mlで、ENXのそれと同じ値を示したがNFLX、CPFX、OFLXより劣った。*Morganella morganii* 50臨床分離株に対する本剤のMIC₉₀は1.56 µg/mlで対照薬剤より若干弱かった。*Providencia rettgeri* 29臨床分離株に対するMIC₉₀は6.25 µg/mlであるが、対照薬剤の中ではOFLXとともに最も強い抗菌力であった。*Citrobacter freundii* 50臨床分離株に対する本剤のMIC₉₀は1.56 µg/mlでCPFXと同等、他剤よりは若干強かった。*Serratia marcescens* 50臨床分離株に対してもSPFXのMIC₉₀は1.56 µg/mlでCPFXと同等、他剤よりは強かった。*Enterobacter cloacae* 50臨床分離株に対しても

SPFXは1.56 µg/mlのMIC₉₀を示し、CPFXとはほぼ等しく他剤より強かった。*Pseudomonas aeruginosa* 50臨床分離株ではSPFXのMIC₉₀は12.5 µg/mlでCPFXに若干劣り、他の対照薬剤とはほぼ等しい抗菌力であった。*Pseudomonas cepacia* 33臨床分離株では本剤のMIC₉₀は1.56 µg/mlでCPFXよりわずかに強く、他剤よりは強い抗菌力であった。*Xanthomonas maltophilia* 47臨床分離株に対して本剤の抗菌力は最も強く、MIC₉₀は0.39 µg/mlであった。*Acinetobacter calcoaceticus* 29臨床分離株に対しても、SPFXはMIC₉₀が0.39 µg/mlでCPFX、OFLXよりはわずかに強く、ENXやNFLXよりかなり強かった。SPFXに対しampicillin-resistant *H. influenzae* は高い感受性を示し、22株中17株が0.05 µg/mlで増殖阻止された。嫌気性菌*B. fragilis* に対する本剤のMIC₉₀は3.13 µg/mlで、対照薬剤中最も強い抗菌力であった。

2. SPFXと血清補体またはマウス培養Mφとの協力的殺菌作用

SPFXのID₅₀量と単独では増殖に影響を与えない最高補体量を共存させるとFig. 1のごとく、*E. coli* NIHJ JC-2はそれぞれ単独で添加した時より生菌数の低下が著しくなる。すなわちSPFXは血清補体との協力的殺菌作用が明らかな4-quinoloneである。

Sub MICのSPFXが存在した時の、マウス培養Mφによる*E. coli* NIHJ JC-2の食菌殺菌像をFig. 2a~2eに示した。培養Mφは*E. coli*の生細胞をよく食菌するが、Fig. 2aに示すごとく食菌4時間後には培養Mφが生体内ほどの殺菌力を持たないため、*E. coli*は細胞内で増殖しMφを破壊して遊出する。この時1~1/8MICのSPFXがあるとFig. 2b~2eのごとく、薬剤の影響でフィラメント化した細胞はすみやかに消化されMφは破壊されない。すでに菌体を消化した後の大きな食空胞や染色性が弱くなった菌体が見られるが、これらはsub MICのSPFX存在下で食菌された菌細胞がすみやかに消化されたか、あるいは殺菌が進んでいる証拠である。SPFXはMφとの協力作用もよい薬剤である。

3. SPFXの動物細胞増殖抑制作用

種々の濃度の4-quinoloneの存在下で動物細胞を4日間培養した時の、生細胞数の変動をFig. 3a~3cに示した。図では薬剤非存在時での生細胞数を100とした時の相対値で示してある。HeLa細胞ではSPFX、CPFX、NFLXおよびOFLXはすべて10 µg/mlまではほとんど増殖に影響を与えない。50 µg/mlでは

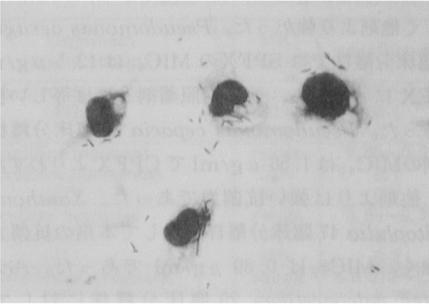


Fig. 2-a. Death of mouse macrophages phagocytizing normal cells of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 grown without drugs at 4h after infection

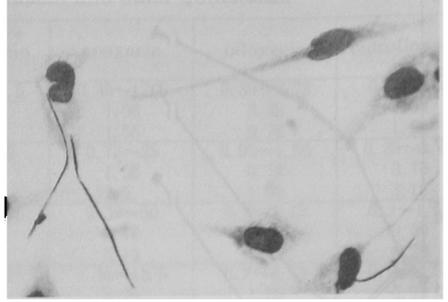


Fig. 2-d. Digestion of long filamentous cells of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 grown with 1/4 MIC of sparfloxacin by cultured mouse macrophages at 4h after infection



Fig. 2-b. Digestion of long filamentous cells of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 grown with 1 MIC of sparfloxacin by cultured mouse macrophages at 4h after infection

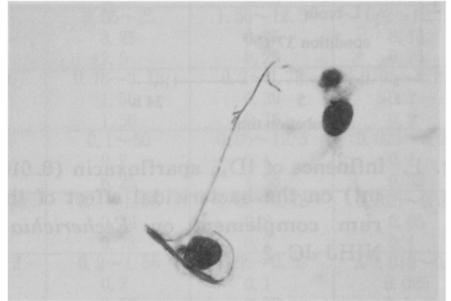


Fig. 2-e. Digestion of long filamentous cells of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 grown with 1/8 MIC of sparfloxacin by cultured mouse macrophages at 4h after infection

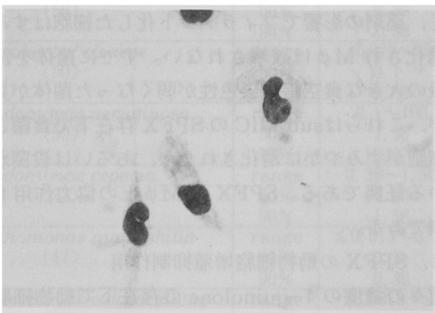


Fig. 2-c. Digestion of long filamentous cells of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 grown with 1/2 MIC of sparfloxacin by cultured mouse macrophages at 4h after infection

OFLXは増殖に影響しないが、NFLXとCPFLEXは軽度、SPFLXは強く増殖を抑制した。100 $\mu\text{g/ml}$ になるとすべての4-quinoloneに増殖抑制作用がみられた。

ハムスター由来のCHO-K1細胞ではFig. 3bのごとく、SPFLXだけが10 $\mu\text{g/ml}$ でも増殖抑制作用を示した。

ヒト神経芽細胞腫IMR-32細胞では、CPFLEXとSPFLXが10 $\mu\text{g/ml}$ で若干の増殖抑制作用を示した。IMR-32細胞に対する影響はSPFLXとCPFLEXが同程度で、OFLXとNFLXより強かった。

4. 再分化したIMR-32細胞の神経突起に対するSPFLXの影響

伸長に10日間を要したIMR-32再分化細胞の神経突起はFig. 4のとおり、5 $\mu\text{g/ml}$ のSPFLX添加により

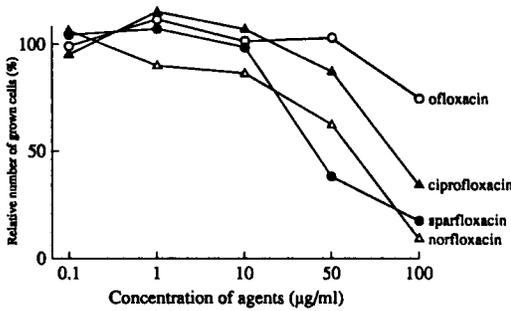


Fig. 3-a. Influence of sparfloxacin and other new quinolones on the growth of HeLa cells

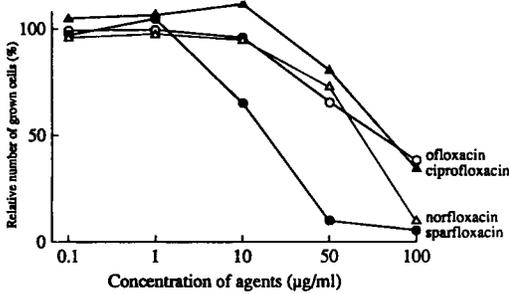


Fig. 3-b. Influence of sparfloxacin and other new quinolones on the growth of CHO-K1 cells

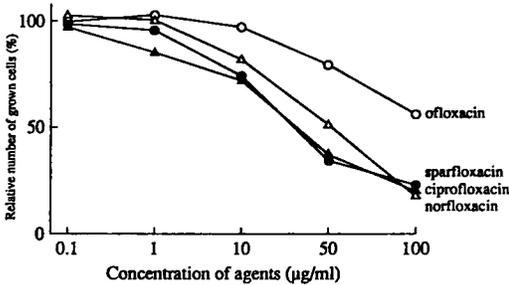


Fig. 3-c. Influence of sparfloxacin and other new quinolones on the growth of IMR-32 cells

Fig. 3. Cytostatic activities of new quinolones against mammalian cells

その一部分が3時間で短縮した。この効果はOFLXやそのs体であるDR 3355より強く⁴⁾NFLXのそれと同程度であった⁵⁾。

III. 考 察

Sparfloxacin (SPFX) はグラム陽性菌に対する抗

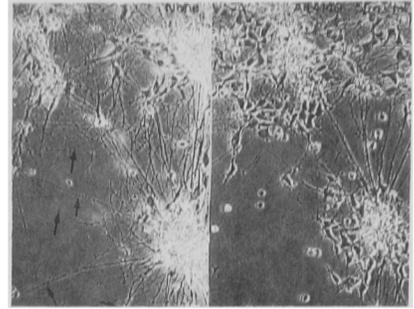


Fig. 4. Axone dendrites of IMR-32 cells grown with 1mM DBcAMP before (None) and 3h after the addition of sparfloxacin

菌力が, NFLX, OFLX, CFPX より強く, グラム陰性菌に対する抗菌力は OFLX や CFPX にほぼ匹敵する新しい 4-quinolone である。また血清補体やマウス培養 Mφ との協力的殺菌作用も強いので, その体内動態に適した投与方法が確立すれば臨床効果の高い薬剤になることが考えられる。しかし, 動物細胞に対する増殖抑制作用と神経細胞の神経突起に対する影響が比較的強い薬剤なので, 過量な投与や短い投与間隔は避けるべきことが, 今回検討した基礎成績から想像される。

文 献

- 1) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定再改訂について. *Chemotherapy* 29 : 76~79, 1981
- 2) Lennox E G : Transduction of linked genetic characters of the host by bacteriophage P 1. *Virology* 1 : 190~206, 1955
- 3) 横田 健, 新井京子, 鈴木映子: Cefotiam hexetil のペニシリン結合蛋白質に対する結合親和性およびマウス培養マクロファージとの協力的食菌・殺菌作用について. *Chemotherapy* 36 (S-6) : 37~45, 1988
- 4) Yokota T, Kanda K and Arai K : Influence of DR-3355 and other new quinolones on the extension of axones in redifferentiated human neuroblastoma IMR-32 cells. Extracted from the Proceedings of the 16th International Congress of Chemotherapy : 406.1~406.2, 1989
- 5) Yokota T and Kanda K : Influence of new quinolones on the extension of nerve fibers

in redifferentiated human neuroblastoma
IMR-32 cells. The Reviews of Infectious

Diseases vol. 11 (S-5) : 1399~1400, 1989

IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF
SPARFLOXACIN, ITS SYNERGY WITH THE
COMPLEMENT OR MOUSE CULTURED
MACROPHAGES ($M\phi$) IN THE BACTERICIDAL
EFFECT, AND CYTOTOXICITY TO
MAMMALIAN CELLS

Takeshi Yokota, Kayoko Kanda and Kyoko Arai
Department of Bacteriology, School of Medicine, Juntendo University,
2-1-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

The MIC_{90} s of sparfloxacin (SPFX) for 14-50 clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), coagulase-negative staphylococci (CNS), *Streptococcus pyogenes*, β -streptococci, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* CS2 (R⁺), *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Xanthomonas maltophilia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* and *Bacteroides fragilis* were 0.1, 0.2, 0.2, 1.56, 0.78, 0.39, 0.78, 0.78, 0.39, 0.39, 0.39, 0.78, 1.56, 6.25, 1.56, 1.56, 1.56, 12.5, 1.56, 0.39, 0.39, 0.05, and 3.13 μ g/ml, respectively. SPFX manifested stronger activities against *Staphylococcus aureus*, MRSA, CNS, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* than ciprofloxacin (CPFX) and ofloxacin (OFLX), and the same activity against *Streptococcus pyogenes* as CPFX. SPFX, however, showed slightly weaker activities against Gram-negative bacilli (including *Pseudomonas aeruginosa*) than CPFX, except *Klebsiella pneumoniae*, *Xanthomonas maltophilia* and *Acinetobacter calcoaceticus* against which the activities of SPFX were prominent. SPFX collaborated with the serum complement in the bactericidal effect on *Escherichia coli* NIHJ JC-2, and the cells of *Escherichia coli* NIHJ JC-2 were well engulfed and digested by mouse cultured macrophage in the presence of this agent at 1/4 MIC or higher. The cytostatic activity of SPFX was found to be stronger than that of CPFX and OFLX against HeLa and CHO-K1 cells, and similar to CPFX against human neuroblastoma IMR-32 cells. SPFX withdrew some parts of axon dendrites in redifferentiated IMR-32 cells at 5 μ g/ml after 3 hr incubation.