

新規キノロン系抗菌剤levofloxacin(DR-3355)に関する細菌学的評価

藤元輝男・三橋 進
エピゾーム研究所*

新規キノロン系抗菌剤levofloxacin[(S)-(-)-ofloxacin, LVFX, DR-3355]は、ofloxacin (OFLX)と同じ抗菌スペクトラムおよびOFLXの2倍の抗菌活性を有し、その作用は殺菌的であった。この抗菌活性の差は、これら薬剤のDNAジャイレース阻害活性の差を反映していた。LVFXのグラム陽性菌および偏性嫌気性菌の臨床分離株に対する活性は、ciprofloxacin (CPFV)のそれと同等以上であった。一方、LVFXの腸内細菌および*Pseudomonas aeruginosa*に対する活性はCPFVのそれよりもやや劣っていた。LVFXの抗菌活性は、外膜porinタンパク欠損およびLPS欠損の影響をうけにくかったが、他のニューキノロン剤と同様にDNAジャイレースsubunit Aの変異により低下した。*Staphylococcus aureus*の臨床分離株のうち、norfloxacin中等度耐性株はLVFXに感受性であったが、CPFVにはやや耐性を示した。

Key words : Levofloxacin, 光学活性体, Ofloxacin, 抗菌活性, 作用機作

近年、norfloxacin (NFLX)¹⁾の合成を機として、数多くのニューキノロン剤が開発されている。それらのうちNFLX, ofloxacin (OFLX)²⁾, ciprofloxacin (CPFV)³⁾, およびenoxacin (ENX)⁴⁾はすでに国内外で市販され、尿路、呼吸器、および外科感染症等に対する主要な経口治療薬として広く使用されている。新規キノロン系抗菌剤levofloxacin (LVFX, DR-3355, Fig.1)は、上記OFLXの光学活性体[(S)-(-)体]であり、OFLXよりも2倍強い抗菌活性⁵⁻⁷⁾およびDNAジャイレース阻害活性⁸⁾を有し、さらにOFLXと同等の良好な体内動態を有することが知られている⁹⁾。

今回我々は、LVFXの新鮮臨床分離株に対する抗菌活性を、OFLX, CPFVのほか、主として他系統市販抗生物質のceftoram (CFTM), ceftazidime (CAZ), およびamikacin (AMK)のそれと比較するとともに、外膜透過性変異株を含むキノロン剤耐性機作の明らかな菌株に対するLVFXおよび他のキノロン剤の抗菌活性を検討した。

I. 材料および方法

1. 菌株

当研究所保存の標準株38株および主として1985~1988年の臨床分離株2,404株を用いた。

2. 薬剤

LVFX, DR-3354[(R)-(+)-OFLX], OFLX, nalidixic acid (NA), およびrifampicin (RFP) (第一製薬株式会社), CPFV(バイエル薬品株式会社), NFLX

(杏林製薬株式会社), CFTM (富山化学株式会社), CAZ (日本グラクソ株式会社), AMK, methicillin (DMPPC), およびcefoxitin (CFX) (萬有製薬株式会社), ampicillin (ABPC; 明治製薬株式会社), erythromycin (EM; Abbott Laboratories)ならびにclindamycin (CLDM; 日本アップジョン株式会社)を用いた。

3. 抗菌活性の測定

最小発育阻止濃度(MIC)の測定は、日本化学療法学会標準法¹⁰⁾および同学会の嫌気性菌感受性測定法¹¹⁾に準拠して行った。使用した培地をTable 1に示した。

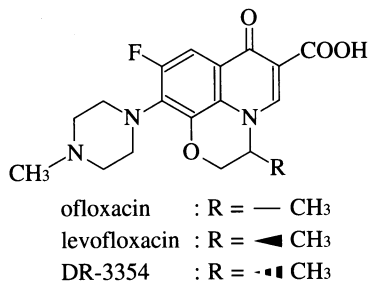


Fig. 1. Chemical structure of ofloxacin and its optical isomers levofloxacin [(S)-(-)-ofloxacin] and DR-3354 [(R)-(+)-ofloxacin]. Ofloxacin, the racemic mixture of (S)-(-)- and (R)-(+)-ofloxacin at a 1 : 1 ratio, is an anhydrous compound, whereas each isomer is a hemihydrate.

特にことわらない場合、前培養菌液はゼラチン加緩衝食塩水(11あたりNaCl 8.5g, KH₂PO₄ 0.3g, Na₂HPO₄ 0.6g, およびgelatin 0.1gを含む)を用いて希釈し、約2×10⁶あるいは約2×10⁸ CFU/mlの接種用菌液を調製した。*Legionella* spp.および偏性嫌気性菌の場合には希釈液としてそれぞれBCYAα broth (BCYAα agar¹²⁾の組成からagarを除く)およびGAM broth (日本製薬株式会社)を用いた。この菌液をマイクロプランター(佐久間製作所株式会社)を用いて5μlずつ薬剤含有平板上に接種した。*Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*および*Legionella* spp.の培養はローソク培養とし、偏性嫌気性菌の培養は嫌気培養とした。*Legionella* spp.の場合は37℃, 3日間培養後、その他の菌種では37℃, 18~24時間培養後、肉眼的に菌の発育の認められない最小薬剤濃度をMICとした。

4. 最小殺菌濃度(MBC)の測定

MBCの測定は、Taylor et al.の方法¹³⁾に準拠して行った。増菌用培地として、感受性測定用ブイヨン(STB; 日本製薬株式会社)を用い、*Pseudomonas aeru-*

*ginosa*の場合はこれに0.4%の割合にKNO₃を添加した。最終接種菌量は5×10⁵~2×10⁶ CFU/mlとし、MIC以上の濃度を含む培地から各10μlを採取して残存菌数を測定した。接種菌数の99.9%以上を殺菌した最小薬剤濃度をMBCとした。

5. DNAジャイレースに対する阻害活性

Escherichia coli KL-16株, およびそのNA耐性株(*gyrA*耐性)のMH-5株¹⁴⁾, ならびに*P. aeruginosa* PA01株¹⁵⁾からのDNAジャイレースの部分精製, およびこれら酵素に対する各キノロン剤の阻害活性の測定はAoyama et al.の方法¹⁶⁾に準拠して行った。

II. 成 績

1. 抗菌スペクトラム(Table 2)

LVFXはグラム陽性菌および緑膿菌を含むグラム陰性菌に対して、幅広くかつ高い抗菌活性を示した。その活性は、対応する他方の光学活性体DR-3354の32~128倍、ラセミ体であるOFLXの約2倍であった。他のキノロン剤の場合と同様に、LVFXの抗菌活性は接種菌量の影響をほとんどうけなかった。なお、LVFX

Table 1. Media used

Media	Organisms
For preculture	
BHIB	<i>Streptococcus pyogenes</i>
BHIB+5% horse blood	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
BHIB+5% Fildes Enrichment (Difco)	<i>Haemophilus influenzae</i>
GCA+1% Hemoglobin (Difco) 1% Iso Vitalex (BBL)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
BCYEαB	<i>Legionella</i> spp.
GAMB	anaerobes
STB+0.4% KNO ₃	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
STB	the other organisms
For MIC determination	
SDA-N+5% horse blood	streptococci
SDA-N+5% Fildes Enrichment (Difco)	<i>Haemophilus influenzae</i>
GCA+1% Hemoglobin (Difco) 1% Iso Vitalex (BBL)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
BCYEαA ¹²⁾	<i>Legionella</i> spp.
GAMA	anaerobes
SDA-N	the other organisms

Abbreviations : BHIB, Brain heart infusion broth (Difco) ; GCA, GC agar (Difco) ; BCYEαB, BCYEα broth, subtract agar from the composition of BCYEα agar (BCYEαA)¹²⁾ ; GAMB, GAM broth (Nissui) ; STB, Sensitivity test broth (Nissui) ; SDA-N, Sensitivity Disk agar-N (Nissui) ; GAMA, GAM agar (Nissui).

とDR-3354のグラム陽性菌に対する抗菌活性の比はグラム陰性菌の場合よりも大きな傾向を示したが、この傾向は*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, および*P. aeruginosa*の臨床分離株各100株ずつを用いた場合にも同様であった (Table 3)。

2. DNAジャイレース阻害活性 (Table 4)

E. coli K-12 KL-16株およびMH-5株, ならびに*P. aeruginosa* PA01株由来DNAジャイレースに対するLVFX, DR-3354, OFLX, およびCPFXの阻害活性を検討した。その結果, LVFXのDNAジャイレース阻害活性は, いずれの菌株においてもOFLXの約2倍, DR-3354の18~65倍の強さであった。LVFX, DR-3354, OFLX, およびCPFXのこれら菌株に対する抗菌活性の強さは, DNAジャイレース阻害活性の強さをよく反映していた。

3. 臨床分離株に対する抗菌活性 (Table 5)

2,400株余りの臨床分離株に対するLVFXの抗菌活性を検討したが, 本剤の抗菌活性はいずれの菌種に対

してもOFLXのそれに比べて2倍優れていた。

LVFXの, DMPPC感受性および耐性の*S. aureus*に対する50%菌株発育阻止濃度(MIC₅₀)は, いずれも0.19 μg/mlであった。一方, 本剤のDMPPC感受性および耐性の*S. aureus*に対する90%菌株発育阻止濃度(MIC₉₀)は, それぞれ0.39および3.13 μg/mlであった。LVFXの活性は, MIC₅₀値を指標とした場合CPFXよりも約2倍優れ, MIC₉₀値を指標とした場合CPFXよりも約8倍優れていた。LVFXのコアグラウゼ陰性staphylococciに対するMIC₅₀およびMIC₉₀は, DMPPC感受性および耐性の別なく, 0.19および0.39 μg/mlであった。この活性はCPFXのそれと同等かやや優れていた。DMPPC耐性staphylococciに対して, CFTM, CAZ, およびAMKのいずれの薬剤も低活性であった。

LVFXは*Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes*, および*Enterococcus faecalis*の90%の菌株を1.56 μg/mlの濃度で, *Enterococcus faecium*の90%の菌株を3.13 μg/mlの濃度で発育阻止した。この活性はCPFXのそれと同等であった。CFTMおよびCAZはstreptococciに対して

Table 2. Antibacterial spectrum of levofloxacin

Organism	MIC (μg/ml) ^{a)}							
	levofloxacin		DR-3354		ofloxacin		ciprofloxacin	
	10 ⁶ b)	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁸
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P JC-1	0.19	0.19	12.5	25	0.39	0.39	0.19	0.19
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	0.19	0.39	12.5	25	0.19	0.39	0.19	0.39
<i>Staphylococcus pyogenes</i> Cook	0.39	1.56	>100	>100	0.78	3.13	0.39	0.78
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	0.05	0.05	3.13	3.13	0.10	0.10	0.05	0.05
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC9341	1.56	3.13	100	>100	3.13	6.25	3.13	3.13
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.05	0.05	1.56	3.13	0.10	0.10	0.025	0.025
<i>Escherichia coli</i> K-12 C600	0.05	0.10	3.13	3.13	0.10	0.10	0.025	0.025
<i>Klebsiella pneumoniae</i> PCI-602	0.013	0.025	0.78	0.78	0.025	0.05	0.013	0.013
<i>Salmonella typhimurium</i> IID971	0.10	0.10	3.13	3.13	0.10	0.10	0.025	0.05
<i>Salmonella typhi</i> 901	0.025	0.025	1.56	1.56	0.05	0.05	0.013	0.013
<i>Salmonella paratyphi</i> 1015	0.025	0.025	0.78	0.78	0.05	0.05	0.013	0.013
<i>Salmonella enteritidis</i> G14	0.013	0.025	0.39	0.78	0.025	0.05	0.013	0.013
<i>Enterobacter cloacae</i> 963	0.10	0.19	3.13	6.25	0.19	0.19	0.05	0.05
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC13048	0.19	0.19	3.13	12.5	0.19	0.19	0.05	0.10
<i>Proteus mirabilis</i> IFO3849	0.39	0.39	25	50	0.39	0.78	0.10	0.19
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	0.025	0.025	0.78	1.56	0.05	0.05	0.025	0.025
<i>Providencia rettgeri</i> IFO3850	0.10	0.19	6.25	6.25	0.10	0.10	0.025	0.05
<i>Morganella morgani</i> IFO3848	0.025	0.10	1.56	3.13	0.05	0.10	0.013	0.025
<i>Serratia marcescens</i> IAM1184	0.19	0.39	6.25	6.25	0.39	0.39	0.10	0.10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO3445	0.78	3.13	50	100	1.56	6.25	0.39	0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC10490	0.78	6.25	50	>100	1.56	12.5	0.39	3.13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA01	0.39	0.78	25	50	0.78	1.56	0.19	0.19

^{a)} Agar dilution method

^{b)} Inoculum size (CFU/ml)

高活性を示したが、enterococciに対しては低活性であった。AMKはstreptococciおよびenterococciのいずれに対しても無効であった。

腸内細菌科のうち、ほとんどの菌種に対するLVFXのMIC₉₀は0.05~0.78 µg/mlであったが、*Providencia rettgeri* および *Serratia marcescens* に対するLVFXのMIC₉₀はそれぞれ3.13および12.5 µg/mlであった。この活性はCPF₉₀のそれよりも1~2管劣っていた。LVFXは、ニューキノロン剤耐性の菌株に対して低活性であったが、CFTMおよびCAZ耐性の*Citrobacter freundii* および *Enterobacter cloacae* に対して良好な活性を示した。

ブドウ糖非発酵菌のうち *P. aeruginosa* に対する

LVFXのMIC₉₀は3.13 µg/mlであった。この活性は、CPF₉₀のそれよりも劣っていた。LVFXは、CAZおよびAMK耐性菌に対して良好な活性を示したが(データ示さず)、キノロン剤耐性菌に対しては低活性であった。*Pseudomonas cepacia*, *Xanthomonas maltophilia*, および *Acinetobacter calcoaceticus* に対するLVFXのMIC₉₀はそれぞれ12.5, 3.13, および0.39 µg/mlであった。この活性はCPF₉₀のそれよりも優れていた。

LVFXは、ABPC耐性菌を含む *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae*, および *Branhamella catarrhalis* に対してCPF₉₀に匹敵する高い抗菌活性を示した(MIC₉₀: 0.025~0.10 µg/ml)。

偏性嫌気性菌のうち、CLDM耐性株を含む *Bacter-*

Table 3. Comparison of antibacterial activity of levofloxacin with those of ofloxacin and DR-3354

Organism (no. of strains)	Compound	MIC (µg/ml) ^{a)}		
		range	50%	90%
<i>Staphylococcus aureus</i> (100)	levofloxacin	0.10 ~ 12.5	0.19	0.39
	ofloxacin	0.19 ~ 25	0.39	0.78
	DR-3354	6.25 ~ >100	25	25
<i>Streptococcus pyogenes</i> (100)	levofloxacin	0.39 ~ 1.56	0.78	1.56
	ofloxacin	0.39 ~ 3.13	1.56	1.56
	DR-3354	100 ~ >100	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> (100)	levofloxacin	0.025 ~ 6.25	0.05	0.10
	ofloxacin	0.05 ~ 12.5	0.10	0.19
	DR-3354	0.78 ~ >100	1.56	3.13
<i>Proteus mirabilis</i> (100)	levofloxacin	0.025 ~ 0.39	0.10	0.19
	ofloxacin	0.05 ~ 0.78	0.19	0.39
	DR-3354	3.13 ~ 25	3.13	6.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (100)	levofloxacin	0.39 ~ 100	0.78	3.13
	ofloxacin	0.39 ~ >100	1.56	6.25
	DR-3354	12.5 ~ >100	25	>100

^{a)} Agar dilution method : 10⁶ CFU/ml

Table 4. Inhibitory activity of levofloxacin and the other quinolones on supercoiling of pBR322 by DNA gyrase

Organism	Inhibitory activity	Concentration (µg/ml)			
		levofloxacin	DR-3354	ofloxacin	ciprofloxacin
<i>Escherichia coli</i> KL-16	MIC ^{a)}	0.025	1.56	0.05	0.013
	IC ₅₀ ^{b)}	0.47	14.0	0.72	0.16
<i>E. coli</i> MH 5 (<i>gyrA</i> mutant of strain KL-16)	MIC ^{a)}	0.19	12.5	0.39	0.05
	IC ₅₀ ^{b)}	8.0	520	13.6	4.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1	MIC ^{a)}	0.39	25	0.78	0.19
	IC ₅₀ ^{b)}	2.2	40	4.0	1.2

^{a)} Agar dilution method : 10⁶ CFU/ml

^{b)} 50% inhibitory concentration on supercoiling

Table 5-1. Antibacterial activity of levofloxacin and the other compounds against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Compound	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}		
		range	50%	90%
Methicillin-susceptible <i>Staphylococcus aureus</i> (124)	levofloxacin	0.10 ~ >100	0.19	0.39
	ofloxacin	0.19 ~ >100	0.39	0.78
	ciprofloxacin	0.10 ~ >100	0.39	0.78
	cefteram	0.39 ~ 100	3.13	12.5
	ceftazidime	3.13 ~ 100	12.5	12.5
	amikacin	0.78 ~ >100	1.56	12.5
	methicillin	0.78 ~ 6.25	1.56	3.13
	Methicillin-resistant <i>S. aureus</i> (80)	levofloxacin	0.10 ~ 50	0.19
ofloxacin		0.19 ~ 100	0.39	6.25
ciprofloxacin		0.19 ~ >100	0.39	25
cefteram		25 ~ >100	>100	>100
ceftazidime		12.5 ~ >100	>100	>100
amikacin		1.56 ~ >100	12.5	50
methicillin		12.5 ~ >100	100	>100
Methicillin-susceptible coagulase-negative staphylococci (98)		levofloxacin	0.10 ~ 25	0.19
	ofloxacin	0.19 ~ 50	0.39	0.78
	ciprofloxacin	0.10 ~ 100	0.39	0.39
	cefteram	0.39 ~ 50	3.13	25
	ceftazidime	1.56 ~ 50	6.25	12.5
	amikacin	0.39 ~ 50	1.56	12.5
	methicillin	0.19 ~ 6.25	3.13	6.25
	Methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci (87)	levofloxacin	0.10 ~ 3.13	0.19
ofloxacin		0.19 ~ 6.25	0.39	0.78
ciprofloxacin		0.19 ~ 6.25	0.39	0.39
cefteram		6.25 ~ >100	50	>100
ceftazidime		6.25 ~ >100	25	100
amikacin		0.39 ~ >100	12.5	25
methicillin		12.5 ~ >100	25	>100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (50)		levofloxacin	0.39 ~ 12.5	0.78
	ofloxacin	1.56 ~ 25	1.56	3.13
	ciprofloxacin	0.78 ~ 25	1.56	1.56
	cefteram	≤ 0.006 ~ 0.10	0.013	0.013
	ceftazidime	0.05 ~ 1.56	0.19	0.39
	amikacin	25 ~ >100	>100	>100
	ampicillin	0.013 ~ 0.10	0.025	0.05
	<i>Streptococcus pyogenes</i> (99)	levofloxacin	0.39 ~ 1.56	0.78
ofloxacin		0.39 ~ 3.13	1.56	1.56
ciprofloxacin		0.19 ~ 3.13	0.78	0.78
cefteram		≤ 0.006 ~ 0.013	0.013	0.013
ceftazidime		0.025 ~ 0.19	0.10	0.10
amikacin		25 ~ >100	100	100
ampicillin		0.013 ~ 0.025	0.013	0.025

a) Agar dilution method : 10^6 CFU/ml

Table 5-2. Antibacterial activity of levofloxacin and the other compounds against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Compound	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}		
		range	50%	90%
<i>Enterococcus faecalis</i> (96)	levofloxacin	0.39 ~ 3.13	0.78	1.56
	ofloxacin	0.78 ~ 6.25	1.56	3.13
	ciprofloxacin	0.39 ~ 3.13	0.78	1.56
	cefteram	6.25 ~ >100	100	>100
	ceftazidime	25 ~ >100	>100	>100
	amikacin	25 ~ >100	>100	>100
	ampicillin	0.39 ~ 3.13	0.78	1.56
<i>Enterococcus faecium</i> (26)	levofloxacin	0.39 ~ 6.25	1.56	3.13
	ofloxacin	0.78 ~ 12.5	3.13	6.25
	ciprofloxacin	0.78 ~ 6.25	1.56	6.25
	cefteram	100 ~ >100	>100	>100
	ceftazidime	>100	>100	>100
	amikacin	25 ~ >100	50	100
	ampicillin	0.78 ~ 100	25	100
<i>Escherichia coli</i> (146)	levofloxacin	0.025 ~ 6.25	0.05	0.10
	ofloxacin	0.05 ~ 12.5	0.10	0.19
	ciprofloxacin	≤ 0.006 ~ 1.56	0.025	0.05
	cefteram	0.05 ~ 12.5	0.39	0.78
	ceftazidime	0.025 ~ 12.5	0.10	0.19
	amikacin	1.56 ~ 12.5	3.13	6.25
<i>Shigella</i> sp. (102)	levofloxacin	0.013 ~ 0.78	0.05	0.05
	ofloxacin	0.025 ~ 1.56	0.05	0.10
	ciprofloxacin	≤ 0.006 ~ 0.19	0.013	0.013
	cefteram	0.05 ~ 0.78	0.19	0.39
	ceftazidime	0.05 ~ 0.39	0.05	0.19
	amikacin	0.78 ~ 12.5	12.5	12.5
<i>Salmonella</i> sp. (100)	levofloxacin	0.05 ~ 0.10	0.10	0.10
	ofloxacin	0.05 ~ 0.19	0.19	0.19
	ciprofloxacin	0.013 ~ 0.025	0.013	0.025
	cefteram	0.19 ~ 1.56	0.39	0.78
	ceftazidime	0.10 ~ 0.78	0.19	0.39
	amikacin	0.78 ~ 6.25	1.56	3.13
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (100)	levofloxacin	0.05 ~ 1.56	0.10	0.10
	ofloxacin	0.05 ~ 3.13	0.19	0.19
	ciprofloxacin	0.013 ~ 1.56	0.05	0.05
	cefteram	0.025 ~ 6.25	0.19	0.39
	ceftazidime	0.025 ~ 1.56	0.10	0.19
	amikacin	0.78 ~ 3.13	1.56	3.13
<i>Klebsiella oxytoca</i> (99)	levofloxacin	0.025 ~ 0.39	0.10	0.10
	ofloxacin	0.05 ~ 0.39	0.10	0.19
	ciprofloxacin	≤ 0.006 ~ 0.10	0.025	0.05
	cefteram	0.025 ~ 3.13	0.19	0.39
	ceftazidime	0.025 ~ 0.39	0.05	0.10
	amikacin	1.56 ~ 6.25	1.56	3.13

a) Agar dilution method : 10^6 CFU/ml

Table 5-3. Antibacterial activity of levofloxacin and the other compounds against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Compound	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}		
		range	50%	90%
<i>Proteus mirabilis</i> (100)	levofloxacin	0.025 ~ 0.39	0.10	0.19
	ofloxacin	0.05 ~ 0.78	0.19	0.39
	ciprofloxacin	0.013 ~ 0.39	0.05	0.05
	cefteram	0.025 ~ 0.39	0.05	0.10
	ceftazidime	0.025 ~ 0.39	0.05	0.05
	amikacin	0.78 ~ 25	1.56	3.13
	<i>Proteus vulgaris</i> (114)	levofloxacin	0.025 ~ 0.19	0.05
ofloxacin		0.025 ~ 0.39	0.10	0.19
ciprofloxacin		≤ 0.006 ~ 0.10	0.025	0.05
cefteram		≤ 0.006 ~ 6.25	0.19	0.39
ceftazidime		0.025 ~ 0.78	0.10	0.19
amikacin		0.39 ~ 25	1.56	3.13
<i>Morganella morganii</i> (37)		levofloxacin	0.05 ~ 12.5	0.05
	ofloxacin	0.05 ~ 25	0.10	0.19
	ciprofloxacin	0.013 ~ 6.25	0.025	0.05
	cefteram	0.05 ~ 25	0.10	3.13
	ceftazidime	0.025 ~ 12.5	0.10	1.56
	amikacin	0.39 ~ 50	1.56	3.13
	<i>Providencia rettgeri</i> (50)	levofloxacin	0.025 ~ 12.5	0.39
ofloxacin		0.05 ~ 25	0.78	6.25
ciprofloxacin		≤ 0.006 ~ 3.13	0.19	0.78
cefteram		≤ 0.006 ~ 25	0.05	0.78
ceftazidime		0.013 ~ 3.13	0.10	0.19
amikacin		0.19 ~ 12.5	1.56	3.13
<i>Providencia stuartii</i> (75)		levofloxacin	0.05 ~ 0.78	0.39
	ofloxacin	0.10 ~ 1.56	0.78	0.78
	ciprofloxacin	0.025 ~ 0.78	0.19	0.39
	cefteram	0.025 ~ 6.25	0.39	3.13
	ceftazidime	0.05 ~ 3.13	0.19	0.39
	amikacin	0.19 ~ >100	1.56	12.5
	<i>Citrobacter freundii</i> (93)	levofloxacin	0.05 ~ 50	0.10
ofloxacin		0.05 ~ 100	0.19	1.56
ciprofloxacin		0.013 ~ 12.5	0.05	0.39
cefteram		0.39 ~ >100	1.56	>100
ceftazidime		0.10 ~ >100	0.39	50
amikacin		0.39 ~ >100	1.56	3.13
<i>Enterobacter cloacae</i> (100)		levofloxacin	0.025 ~ 12.5	0.10
	ofloxacin	0.05 ~ 12.5	0.10	0.78
	ciprofloxacin	≤ 0.006 ~ 6.25	0.025	0.10
	cefteram	0.10 ~ >100	1.56	>100
	ceftazidime	0.05 ~ >100	0.39	50
	amikacin	0.78 ~ 50	1.56	3.13

a) Agar dilution method : 10^6 CFU/ml

Table 5-4. Antibacterial activity of levofloxacin and the other compounds against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Compound	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}		
		range	50%	90%
<i>Enterobacter aerogenes</i> (10)	levofloxacin	0.10 ~ 0.19	0.10	0.10
	ofloxacin	0.19 ~ 0.39	0.19	0.19
	ciprofloxacin	0.05	0.05	0.05
	cefteram	0.39 ~ 50	0.39	0.78
	ceftazidime	0.10 ~ 25	0.10	0.19
	amikacin	1.56 ~ 3.13	3.13	3.13
<i>Serratia marcescens</i> (119)	levofloxacin	0.05 ~ 100	0.78	12.5
	ofloxacin	0.10 ~ >100	1.56	25
	ciprofloxacin	0.025 ~ 50	0.39	12.5
	cefteram	0.78 ~ >100	6.25	>100
	ceftazidime	0.10 ~ >100	0.78	100
	amikacin	0.78 ~ >100	6.25	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (127)	levofloxacin	0.10 ~ 100	0.78	3.13
	ofloxacin	0.19 ~ >100	1.56	6.25
	ciprofloxacin	0.05 ~ 50	0.19	0.78
	cefteram	25 ~ >100	>100	>100
	ceftazidime	0.19 ~ 100	1.56	25
	amikacin	0.78 ~ >100	12.5	25
<i>Pseudomonas cepacia</i> (30)	levofloxacin	0.39 ~ 12.5	6.25	12.5
	ofloxacin	0.78 ~ 25	12.5	25
	ciprofloxacin	0.19 ~ 25	6.25	12.5
	cefteram	3.13 ~ 100	12.5	25
	ceftazidime	0.39 ~ 3.13	1.56	3.13
	amikacin	1.56 ~ >100	100	>100
<i>Xanthomonas maltophilia</i> (50)	levofloxacin	0.39 ~ 6.25	0.78	3.13
	ofloxacin	0.39 ~ 12.5	1.56	6.25
	ciprofloxacin	0.78 ~ 12.5	1.56	6.25
	cefteram	50 ~ >100	>100	>100
	ceftazidime	0.78 ~ >100	50	>100
	amikacin	3.13 ~ >100	>100	>100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (35)	levofloxacin	0.10 ~ 0.78	0.19	0.39
	ofloxacin	0.19 ~ 1.56	0.19	0.78
	ciprofloxacin	0.10 ~ 3.13	0.19	0.78
	cefteram	25 ~ >100	50	>100
	ceftazidime	3.13 ~ 25	6.25	12.5
	amikacin	0.39 ~ 50	1.56	12.5
<i>Haemophilus influenzae</i> (116)	levofloxacin	0.013 ~ 0.10	0.025	0.025
	ofloxacin	0.025 ~ 0.19	0.05	0.05
	ciprofloxacin	0.013 ~ 0.025	0.025	0.025
	cefteram	≤ 0.006 ~ 0.025	0.013	0.025
	ceftazidime	0.05 ~ 0.19	0.10	0.10
	amikacin	3.13 ~ 50	12.5	12.5
	ampicillin	0.19 ~ 100	0.39	6.25

^{a)} Agar dilution method : 10^6 CFU/ml

Table 5-5. Antibacterial activity of levofloxacin and the other compounds against clinical isolates

Organism (no. of strains)	Compound	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^{a)}		
		range	50%	90%
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (24)	levofloxacin	$\leq 0.006 \sim 0.19$	0.013	0.025
	ofloxacin	$\leq 0.006 \sim 0.39$	0.013	0.05
	ciprofloxacin	$\leq 0.006 \sim 0.10$	≤ 0.006	0.013
	cefteram	$\leq 0.006 \sim 1.56$	0.013	0.05
	ceftazidime	$\leq 0.006 \sim 0.39$	0.05	0.19
	amikacin	3.13 ~ >100	25	50
	ampicillin	0.05 ~ 50	0.19	12.5
<i>Branhamella catarrhalis</i> (38)	levofloxacin	0.05 ~ 0.10	0.05	0.10
	ofloxacin	0.05 ~ 0.19	0.10	0.10
	ciprofloxacin	0.013 ~ 0.19	0.05	0.05
	cefteram	0.05 ~ 1.56	0.19	1.56
	ceftazidime	0.013 ~ 0.10	0.05	0.10
	amikacin	0.19 ~ 1.56	0.78	0.78
	ampicillin	$\leq 0.006 \sim 12.5$	0.19	3.13
<i>Bacteroides fragilis</i> (27)	levofloxacin	0.39 ~ 25	1.56	6.25
	ofloxacin	1.56 ~ 50	3.13	12.5
	ciprofloxacin	3.13 ~ 100	6.25	25
	cefteram	0.78 ~ >100	12.5	>100
	ceftazidime	3.13 ~ >100	25	>100
	cefoxitin	6.25 ~ 50	6.25	25
	clindamycin	0.10 ~ >100	0.10	>100
<i>Clostridium perfringens</i> (16)	levofloxacin	0.19 ~ 1.56	0.39	0.78
	ofloxacin	0.39 ~ 3.13	0.39	1.56
	ciprofloxacin	0.39 ~ 0.78	0.39	0.78
	cefteram	0.025 ~ 0.39	0.05	0.39
	ceftazidime	0.013 ~ 0.78	0.025	0.05
	cefoxitin	0.19 ~ 0.78	0.39	0.78
	clindamycin	0.025 ~ >100	0.19	0.78
<i>Clostridium difficile</i> (21)	levofloxacin	6.25 ~ 12.5	6.25	6.25
	ofloxacin	12.5	12.5	12.5
	ciprofloxacin	12.5 ~ 25	12.5	25
	cefteram	100 ~ >100	100	>100
	ceftazidime	50 ~ >100	100	>100
	cefoxitin	50 ~ 100	50	100
	clindamycin	0.19 ~ >100	>100	>100
<i>Legionella</i> spp. (15)	levofloxacin	0.025 ~ 0.05	0.025	0.05
	ofloxacin	0.05 ~ 0.10	0.05	0.10
	ciprofloxacin	0.013 ~ 0.10	0.05	0.05
	erythromycin	0.39 ~ 3.13	0.78	3.13
	rifampicin	$\leq 0.006 \sim 0.013$	≤ 0.006	≤ 0.006

a) Agar dilution method : 10^6 CFU/ml

oides fragilis, および *Clostridium difficile* に対する LVFX の MIC₉₀ はいずれも 6.25 µg/ml であった。この活性は CPFIX のそれよりも明らかに優れていた。CFTM および CAZ はこれら菌種に対して低活性であった。*Clostridium perfringens* に対して LVFX は CPFIX と同等の活性を示した (MIC₉₀: 0.78 µg/ml)。

Legionella spp. に対する LVFX の MIC₉₀ は 0.05 µg/ml であった。この活性は CPFIX のそれと同等であり、RFP より劣るものの、EM よりもはるかに優れていた。

4. 臨床分離株に対する殺菌力 (Table 6)

S. aureus, *E. coli*, および *P. aeruginosa* の臨床分離株各 20 株に対する LVFX の MBC を測定した。その結果、*S. aureus* および *E. coli* では MBC は MIC 濃度に一致し、*P. aeruginosa* においても MBC は 2 MIC 濃度であった。なお、*P. aeruginosa* の同一の菌株を用いて OFLX およ

び CPFIX の MBC を測定したところ、これら薬剤においても MBC は 2 MIC 濃度であった。(データ示さず)。

5. キノロン剤耐性株に対する抗菌活性 (Table 7)

E. coli K-12 KL-16 株由来の DNA ジャイレース変異株^{14, 17)}, *E. coli* K-12 MC4100 株由来の外膜 porin タンパク (omp) 変異株^{18, 19)}, および *Salmonella typhimurium* SL3770 由来の LPS 変異株²⁰⁾ と、それらの親株に対する LVFX および他のキノロン剤の抗菌活性を検討した。なお、実験は 3 回繰り返して行い、その平均値を抗菌活性値とした。

DNA ジャイレース変異株のうち、*gyrA* 変異株の MH-5 および N51 株に対する LVFX の活性は、親株に対するその 1/8 倍であった。*GyrB* 変異株の N31 および N24 株に対する LVFX の活性は、親株に対するそのそれぞれ 4 および 1/4 倍であった。これら DNA ジャ

Table 6. Bactericidal activity of levofloxacin against clinical isolates

Organism (no. of strains)	MIC (µg/ml) ^{a)}		MBC (µg/ml) ^{b)}	
	50%	90%	50%	90%
<i>Staphylococcus aureus</i> (20)	0.39	0.78	0.39	0.78
<i>Escherichia coli</i> (20)	0.05	0.10	0.05	0.10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (20)	0.78	1.56	1.56	3.13

^{a)} Broth dilution method : $5 \times 10^5 \sim 2 \times 10^6$ CFU/ml

^{b)} $\geq 99.9\%$ killing

Table 7. Antibacterial activity of levofloxacin and the other quinolones against quinolone-resistant strains of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*

Organism	Gene (phenotype)	MIC (µg/ml) ^{a)}						
		levofloxacin	DR-3354	ofloxacin	ciprofloxacin	norfloxacin	nalidixic acid	
<i>E. coli</i> K-12	KL-16 Parent	0.025	1.56	0.05	0.013	0.05	3.13	
	MH5 <i>gyrA</i>	0.19	12.5	0.39	0.05	0.39	200	
	N51 <i>gyrA</i>	0.19	25	0.39	0.10	0.39	400	
	N31 <i>gyrB</i>	0.006	0.19	0.013	0.003	0.013	50	
	N24 <i>gyrB</i>	0.10	12.5	0.19	0.05	0.19	25	
	MC4100 Parent	0.05	1.56	0.10	0.013	0.05	3.13	
	MH1160 (ompF-, ompC-)	0.05	1.56	0.10	0.013	0.10	3.13	
	MH760 (ompF+, ompC-)	0.025	0.78	0.05	0.006	0.05	3.13	
	MH1461 (ompF-, ompC+)	0.10	3.13	0.10	0.025	0.19	3.13	
<i>S. typhimurium</i>	SL3770 Smooth	0.10	3.13	0.19	0.025	0.10	6.25	
	SL3749 <i>rfaL</i>	0.05	1.56	0.10	0.013	0.10	6.25	
	SL3750 <i>rfaJ</i>	0.10	3.13	0.19	0.025	0.19	6.25	
	SL3769 <i>rfaG</i>	0.05	1.56	0.10	0.013	0.10	1.56	
	SL3789 <i>rfaF</i>	0.05	1.56	0.10	0.025	0.10	0.78	
	SL1102 <i>rfaE</i>	0.05	1.56	0.10	0.025	0.10	0.78	

^{a)} Agar dilution method : 10^6 CFU/ml

イレース変異株におけるLVFXの抗菌活性変化の割合は、DR-3354, OFLX, CPFX, およびNFLXとほぼ等しかった。NAの抗菌活性は、*gyrA*および*gyrB*変異株のいずれにおいても、親株に対するその1/8~1/128倍であった。

Omp変異株のうち、MH1160株[ompF-, ompC-], MH760株[ompF+, ompC-], およびMH1461株[ompF-, ompC+]に対するLVFXの活性は、親株に対するその、それぞれ1, 1/2, および2倍であった。これらomp変異株に対する抗菌活性変化の割合は、DR-3354, OFLX, CPFXのそれと等しく、NFLXのそれよりもやや小さかった。NAの活性は、omp変異によって影響をうけなかった。

*S. typhimurium*のLPS変異株のうち、LPS糖鎖の短いSL3769株, SL3789株, およびSL1102株に対するLVFX, OFLX, およびDR-3354の活性は、親株のSL3770株に対するその2倍であった。CPFXおよびNFLXのこれら3株に対する活性は、親株に対するそれと同等であり、NAのこれら菌株に対する活性は、親株に対するその4~8倍であった。

6. NFLX耐性*S. aureus*臨床分離株に対する抗菌活性(Table 8)

NFLX中等度耐性の*S. aureus*臨床分離株(NFLXのMIC: 12.5~25 µg/ml)に対するLVFXのMICは0.39~0.78 µg/mlであり、CPFXのそれは3.13 µg/mlであった。また、NFLX高度耐性の菌株(NFLXのMIC: 50~100 µg/ml)に対するLVFXのMICは1.56~6.25 µg/mlであり、CPFXのそれは12.5~25 µg/mlであった。NFLXおよびCPFXの両薬剤に高度耐性の菌株はLVFXに対しても耐性であった(LVFXのMIC: 3.13~>100 µg/ml)。

Ⅲ. 考 察

最近の抗菌化学療法剤の分野の中で、ニューキノロン剤に関する研究は特にめざましく進展したものの一つである。いわゆるニューキノロン剤が登場してから10年に満たないが、この間に集積されたNFLX,

OFLX, CPFX, およびENX等の豊富な臨床知見を背景として、活性、体内動態、および安全性面での改良研究が精力的に進められている。今回評価を行った新規キノロン系抗菌剤LVFXは、OFLX周辺化合物の光学活性体の合成および主薬理研究の中から見いだされたOFLXの(S)-(-)体である。

我々はこれまでに合計2,400株余りの菌株を用いてLVFXの抗菌活性評価を行ったが、本剤の抗菌スペクトラムはOFLXのそれと全く一致し、かつ抗菌活性はOFLXよりも2倍強かった。この抗菌活性の差は、従来の報告⁸⁾どおり、これら薬剤のDNAジャイレース阻害活性の差をよく反映していた。臨床分離株に対する活性成績からは、LVFXの抗菌活性上の特徴として、これまでOFLXについて認められてきた数々の特徴²⁾, すなわち幅広い抗菌スペクトラム, 優れた抗菌力, 殺菌的な作用, および他系統抗菌剤耐性菌に対する有効性のすべてが確認された。LVFXの抗菌力をCPFXのそれと比較した場合、既報⁶⁾と同様に、腸内細菌および*P. aeruginosa*に対してはやや劣るものの、グラム陽性菌および偏性嫌気性菌に対しては優れるという特徴が認められた。一方、LVFXの経口吸収性および尿中排泄はOFLXと同様に良好であることが動物⁶⁾およびヒト⁹⁾で確認されていることから、上記の優れた抗菌力の臨床効果への反映が期待される。

一方、今回の成績において、LVFX, DR-3354, およびOFLXの抗菌活性に及ぼすPorinタンパク欠損およびLPS欠損などの外膜透過性変異の影響は等しかったが、このことはOFLXの2つの光学活性体が同様の外膜透過性を有することを示した。また、標的酵素に対するOFLXの阻害活性がLVFXの1/2であったことは、LVFXの阻害活性がDR-3354の影響をほとんど受けないことを示した。すなわちラセミ体のOFLXではその中に半量含まれるLVFXの活性がほとんどそのまま発現されるため、LVFXとOFLXの抗菌活性の比は感受性菌, 耐性菌の別なく2:1の一定値を示す。LVFXと

Table 8. Antibacterial activity of levofloxacin and the other quinolones against norfloxacin-resistant isolates of *Staphylococcus aureus*

No. of strains	Range of MIC (µg/ml) ^{a)}			
	norfloxacin	levofloxacin	ofloxacin	ciprofloxacin
10	12.5 ~ 25	0.39 ~ 0.78	0.78 ~ 1.56	3.13
8	50 ~ 100	1.56 ~ 6.25	3.13 ~ 12.5	12.5 ~ 25
9	>100	3.13 ~ >100	6.25 ~ >100	50 ~ >100

^{a)} Agar dilution method : 10⁶ CFU/ml

CPFXおよびNFLXの間にも交差耐性が認められるが、グラム陰性菌における耐性度が各薬剤ともほぼ等しいのに対し、*S. aureus*のLVFXに対する耐性度はCPFXおよびNFLXに対するそれよりも明らかに小さかった。最近、本菌種におけるキノロン剤耐性機作についても、DNAジャイレース^{21,22)}、膜透過^{21,23)}の両面から解析が進められており、上記の知見もこれらの研究の中で説明が可能となろう。いずれにしろ、このようにLVFXがNFLXおよびCPFX耐性の*S. aureus*に対して比較的良好的な活性を有することは、本剤の抗菌活性上の一つの特徴と考えられる。

以上のことから、LVFXは高い臨床評価を受けているOFLXよりも2倍高い抗菌活性を有し、OFLXと同等の体内動態を有する点で、臨床的意義のある薬剤と結論される。

文 献

- 1) Ito S, Hirai K, Inoue M, Koga H, Suzue S, Irikura T, and Mitsunashi S: *In vitro* antibacterial activity of AM-715, a new nalidixic acid analog. *Antimicrob Agents Chemother* 17: 103~108, 1980
- 2) Sato K, Matsuura Y, Inoue M, Une T, Osada Y, Ogawa H, and Mitsunashi S: *In vitro* and *in vivo* activity of DL-8280, a new oxazine derivative. *Antimicrob Agents Chemother* 22: 548~553, 1982
- 3) Wise R, Andrews J M, and Edwards L J: *In vitro* activity of Bay 09867, a new quinolone derivative, compared with those of other antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 23: 559~564, 1983
- 4) Kouno K, Inoue M, and Mitsunashi S: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of AT-2266. *Antimicrob Agents Chemother* 24: 78~84, 1983
- 5) Hayakawa I, Atarashi S, Yokohama S, Imamura M, Sakano K, and Furukawa M: Synthesis and antibacterial activities of optically active ofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 29: 163~164, 1986
- 6) Une T, Fujimoto T, Sato K, and Osada Y: *In vitro* activity of DR-3355, an optically active ofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 32: 1336~1340, 1988
- 7) Neu H C and Chin N-X: *In vitro* activity of S-ofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 33: 1105~1107, 1989
- 8) Imamura M, Shibamura S, Hayakawa I, and Osada Y: Inhibition of DNA gyrase by optically active ofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 31: 325~327, 1987
- 9) Nakashima M, Uematsu T, Kanamaru M, Okazaki O, Hashimoto S, and Tachizawa H: Pharmacokinetics of DR-3355, a new quinolone, in healthy volunteers. 28th Intersci Conf Antimicrob Agents Chemother, abstr no. 951, Los Angeles, 1988
- 10) 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度(MIC)の測定法再改定について。 *Chemotherapy* 29: 76~79, 1981
- 11) 嫌気性菌MIC測定法検討委員会：嫌気性菌の最小発育阻止濃度(MIC)測定法。 *Chemotherapy* 27: 559~560, 1979
- 12) Edelstein P H: Legionnaires' disease laboratory manual. National Technical Information Service, Springfield, Va. 1984
- 13) Taylor P C, Schoenknecht F D, Sherris J C, and Linner E C: Determination of minimum bactericidal concentrations of oxacillin for *Staphylococcus aureus*: influence and significance of technical factors. *Antimicrob Agents Chemother* 23: 559~564, 1983
- 14) Hane M and Wood T: *Escherichia coli* K-12 mutants resistant to nalidixic acid: genetic mapping and dominance studies. *J Bacteriol* 99: 238~241, 1979
- 15) Holloway B, Krishnapillai W V, and Morgan A F: Chromosomal genetics of *Pseudomonas*. *Microbiol Rev* 43: 73~102, 1979
- 16) Aoyama H, Sato K, Fujii T, Fujimaki K, Inoue M, and Mitsunashi S: Purification of *Citrobacter freundii* DNA gyrase and inhibition by quinolones. *Antimicrob Agents Chemother* 32: 104~109, 1988
- 17) Yamagishi J, Furutani Y, Inoue S, Ohue T, Nakamura S, and Shimizu M: New nalidixic acid-resistance mutations related to deoxyribonucleic acid gyrase activity. *J Bacteriol* 148: 450~458, 1981
- 18) Casadaban M J: Transposition and fusion of *lac* genes to selected promoters in *Escherichia coli* using bacteriophage lambda and Mu. *J Mol*

- Biol 104: 541~555, 1976
- 19) Hall M N and Silhavy T J: The *ompB* locus and the regulation of the major outer membrane proteins of *Escherichia coli* K-12. J Mol Biol 146: 23~43, 1981
- 20) Hirai K, Aoyama H, Irikura T, Iyobe S, and Mitsuhashi S: Difference in susceptibility to quinolones of outer membrane mutants of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother 29: 533 ~ 538, 1986
- 21) Nakanishi N, Yoshida S, Wakebe H, Inoue M, Yamaguchi T, and Mitsuhashi S: Mechanisms of clinical resistance to fluoroquinolones in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 35: 2562~2567, 1991
- 22) Okuda J, Okamoto S, Takahata M, and Nishino T: Inhibitory effects of ciprofloxacin and sparfloxacin on DNA gyrase purified from fluoroquinolone-resistant strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 35: 2288~2293, 1991
- 23) Yoshida S, Kojima T, Inoue M, and Mitsuhashi S: Uptake of sparfloxacin and norfloxacin by clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 35: 368 ~ 370, 1991

IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF LEVOFLOXACIN, THE (S)-(-)-OFLOXACIN

Teruo Fujimoto and Susumu Mituhashi

Episome Institute,

2220 Kogure, Fujimi-mura, Seta-gun, Gunma-ken, 371-01, Japan

Levofloxacin (LVFX, DR-3355), the (S)-(-)-isomer of ofloxacin(OFLX), showed generally twice the antibacterial activity of OFLX, and its action was bactericidal. This difference in the antibacterial activity of these compounds was attributed to differences in their inhibitory activity against DNA gyrase. LVFX showed higher activity against gram-positive cocci and obligate anaerobes than ciprofloxacin (CPFX). LVFX was somewhat less potent than CPFX against *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*. The activity of LVFX was decreased by *gyrA* mutation, as in the case of the other quinolones, although it was not significantly altered by deficiency of the outer membrane protein F or lipopolysaccharide of the bacteria. LVFX showed good activity against isolates of *Staphylococcus aureus* moderately-resistant to norfloxacin, but CPFX did not.