

Temafloxacinの *in vitro* 抗菌作用

松下忠弘・押田忠弘・恩田時男・内藤真智子・山口東太郎

田辺製薬株式会社生物研究所\*#

(\*現 田辺製薬株式会社薬理研究所)

ニューキノロン剤 temafloxacin(TMFX)の臨床分離株に対する抗菌力を ciprofloxacin(CPFX), enoxacin(ENX), ofloxacin(OFLX) および norfloxacin(NFLX)と比較検討した。MRSAを含むグラム陽性菌5菌種に対してTMFXは測定薬剤中最も強い抗菌力を示した。グラム陰性菌10菌種に対するTMFXの抗菌力はOFLXとほぼ同程度であり、CPFXより弱かった。しかし、*Moraxella catarrhalis*および*Haemophilus influenzae*に対してはCPFXと同程度で、*B. fragilis*ではTMFXが最も強い抗菌力を示した。また、マイコプラズマおよびクラミジアの標準菌株に対してTMFXが最も強い抗菌力を示した。

TMFXの抗菌力に及ぼす各種測定培地、接種菌量、馬血清添加の影響は無かったが、 $Mg^{2+}$ イオンの添加および培地 pH の影響を受け酸性およびアルカリ性で抗菌力が低下した。特に培地 pH5 の時に他剤と同様に抗菌力が著しく低下した。

黄色ブドウ球菌、大腸菌および緑膿菌の増殖曲線に対する影響をCPFXおよびOFLXと比較したところ、MIC ないし2MIC以上で殺菌的に作用した。併せて大腸菌及び緑膿菌の形態に及ぼす影響を検討したところ、大腸菌では著しい伸長化が観察され、緑膿菌では8MIC以上の作用で膨化し、溶菌像も一部観察された。

TMFXの作用機序を明らかにするため、*E. coli* KL-16株よりDNA gyraseを精製し、そのスーパーコイル活性の阻害作用を検討した結果、TMFXはOFLXおよびNFLXとほぼ等しい $IC_{50}$ 値を示した。

グラム陽性2菌種、グラム陰性3菌種の標準菌株を用いて自然耐性菌の出現頻度を検討したところ、TMFX耐性株の出現頻度は他剤と同様の傾向を示した。

以上の*in vitro* 抗菌作用の検討成績よりTMFXは各種細菌感染症に対して有効な薬剤であることが示唆された。

**Key words** : 抗菌力, 形態変化, DNA gyrase

Temafloxacin(1-(2,4-difluorophenyl)-6-fluoro-7-(3-methylpiperazin-1-yl)-1,4-dihydro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid hydrochloride)<sup>1)</sup>は米国ABBOTT社にて創製されたニューキノロン系の合成抗菌剤である。その抗菌力は既存のニューキノロン剤と同様広域抗菌スペクトルを有し、グラム陽性菌に対する抗菌力が強いことが報告されている。我々は、temafloxacin(TMFX)の*in vitro*における抗菌作用をciprofloxacin(CPFX), enoxacin(ENX), norfloxacin(NFLX) および ofloxacin(OFLX)と比較検討したので、その成績について報告する。

## I. 実験材料と方法

## 1. 使用薬剤

TMFX(Lot. 17-817-AL)はABBOTT社より入手した。

対照薬剤として用いたCPFX(バイエル薬品), ENX(大日本製薬), NFLX(杏林薬品)およびOFLX(第一製薬)は市販品より精製して使用した。

## 2. 使用菌株

各種標準菌株および臨床分離株は当研究所の保存菌株を用いた。

## 3. MICの測定

日本化学療法学会のMIC測定法<sup>2)</sup>に従い接種菌量 $10^6$ CFU/mlにて実施した。測定培地には感性ディスク用培地-N(SDAと略す; ニッスイ)を用いたが、*Streptococcus*属には5%非動物馬血清を添加、*Haemophilus influenzae*は10%馬血液を用いたチョコレート寒天培地を使用した。嫌気性菌にはGAM寒天培地(ニッスイ)を用い嫌気性菌培養装置(ヒラサワ)を用い培養した。

*Mycoplasma pneumoniae*は試験薬剤を添加したPPLO液体培地(Difco)に $10^5$ から $10^6$ CFU/ml接種し、37°Cで1週間培養後培地の色調が変化しない最小濃度をMICとした。

*Chlamydia*属は24穴プレートを用い、10% Fetal calf serum含有Minimum essential medium(ニッスイ)に $5 \times 10^5$ cells/mlのHeLa229細胞浮遊液に約 $10^5$ CFU/mlの試験菌株を接種した後、薬剤溶液を添加し、5%炭酸ガス存在下で37°C、48時間培養し蛍光抗体染色法(*Chlamydia trachomatis*)ないしギムザ染色(*Chlamydia psittaci*)にて封入体の形成を阻止する最小濃度をMICとした。

#### 4. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

接種菌量、培地pH、血清添加の影響にはSDA培地を用い、測定培地種の影響はTable 6に示す市販品を用いた。また、2価カチオン添加の影響には感受性測定用ブイヨン(STB培地と略す；ニッスイ)を用い接種菌量 $10^5$ CFU/mlにて測定した。

#### 5. MBCの測定

STB培地を用いた液体希釈法により、接種菌量 $10^5$ CFU/mlにてMICを測定し、MIC以上のブイヨン50 $\mu$ lを薬剤無添加のSDA培地に接種し、コロニー形成のみられない最小濃度をMBCとした。

#### 6. 増殖曲線に及ぼす影響

*Staphylococcus aureus*および*Pseudomonas aeruginosa*はSTB培地にて37°C、2時間、*Escherichia coli*は1.5時間振盪培養し対数増殖期に誘導した後、この培養液を各種濃度の試験薬剤を添加したSTB培地に $10^5$ CFU/ml接種し、以後37°Cで振盪培養し経時的に培養液を採取し、混釈法にて生菌数を測定した。

#### 7. 形態変化の観察

各種濃度の試験薬剤を添加したSDA培地をホールガラス上に滴下し、生菌数が約 $10^8$ CFU/mlに達した対数増殖期の*E. coli* NIHJ JC-2および*P. aeruginosa* PI-67の培養液をカバーガラスに塗抹し、これを寒天培地にかぶせた後、パラフィンで封入し37°Cで4時間培養し微分干涉顕微鏡(ニコン製)により観察し、顕微鏡撮影装置にて撮影した。

#### 8. 自然耐性変異株の出現頻度

STB培地で試験菌株の37°C一夜培養液を5000rpm、20分遠沈により10倍に濃縮し、その0.1mlを試験菌株の8MICに相当する薬剤を添加したSDA培地10枚にそれぞれ塗布し、37°Cで一夜培養後出現したコロニー数より耐性変異株の出現頻度を接種菌数に対する比率で算出した。

#### 9. DNA gyraseの阻害作用

Aoyamaら<sup>3)</sup>の方法に準じて*E. coli* KL-16よりDNA gyraseを抽出精製した。DNAのスーパーコイル活性の測定はM. Gellertら<sup>4)</sup>の方法に従って行った。DNA gyraseのスーパーコイル活性を50%阻害する濃度をIC<sub>50</sub>として、各薬剤のDNA gyraseの阻害活性を求めた。

## II. 実験結果

### 1. 抗菌スペクトル

好気性菌ないし通性嫌気性菌の各種標準菌株に対するTMFXおよび対照薬剤の抗菌力をTable 1に示した。TMFXは対照薬剤と同様にグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して抗菌力を示し、対照薬剤と同様に広域抗菌スペクトルを示した。TMFXはグラム陽性菌に対してCPF<sub>X</sub>と同等ないし若干強い抗菌力を示したが、グラム陰性菌に対する抗菌力はCPF<sub>X</sub>より弱くOFL<sub>X</sub>と同等であった。しかし、*H. influenzae*に対する抗菌力はCPF<sub>X</sub>と同等であり、その他の対照薬剤より強かった。

偏性嫌気性菌の標準菌株に対する抗菌力をTable 2に示した。TMFXはグラム陽性菌に対してCPF<sub>X</sub>よりやや強く、他の対照薬剤より強い抗菌力を示した。グラム陰性菌の場合、TMFXが最も強い抗菌力を示した。

*M. pneumoniae*および*Chlamydia*属に対する抗菌力をTable 3に示した。TMFXの*M. pneumoniae*に対する抗菌力はCPF<sub>X</sub>およびOFL<sub>X</sub>とほぼ等しく*C. trachomatis*および*C. psittaci*に対してはTMFXが最も強い抗菌力を示した。

### 2. 臨床分離株に対する抗菌力

グラム陽性菌に対するTMFXおよび対照薬剤のMIC分布範囲、MIC<sub>50</sub>およびMIC<sub>90</sub>をTable 4に示した。Methicillin感受性*S. aureus* (MSSA)およびmethicillin耐性*S. aureus* (MRSA)およびcoagulase (-) staphylococciに対してTMFXは試験薬剤中最も強い抗菌力を示した。また、*Enterococcus faecalis*に対してはCPF<sub>X</sub>よりやや弱いOFL<sub>X</sub>と同等で他の対照薬剤より強い抗菌力を示した。

グラム陰性菌に対する成績をTable 5に示した。*H. influenzae*および*Moraxella catarrhalis*に対するTMFXの抗菌力はCPF<sub>X</sub>と同等で他の対照薬剤より強く、*Bacteroides fragilis*に対してはTMFXが最も強い抗菌力を示した。その他の菌種に対してはCPF<sub>X</sub>が最も強く、TMFXはOFL<sub>X</sub>とほぼ同等の抗菌力を示した。

### 3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

TMFXおよび対照薬剤の抗菌力に及ぼす諸因子の影響について、*S. aureus* 209P JC-1、*E. faecalis* CN-478、*E. coli* NIHJ JC-2 および *P. aeruginosa* No. 12を被験菌

Table 1. Antibacterial spectrum of temafloxacin and reference quinolones against aerobic bacteria

Test organism	Temafloxacin	Ciprofloxacin	Ofloxacin	Norfloxacin	Enoxacin
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P JC-1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	0.39	0.2	0.78	0.39	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	0.05	0.1	0.2	0.39	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> 252R	0.1	0.39	0.39	1.56	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> 199R	0.1	0.39	0.39	1.56	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> No.37	0.1	0.39	0.39	1.56	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> No.10	0.1	0.39	0.39	1.56	1.56
<i>Staphylococcus epidermidis</i> Kawamura	0.05	0.1	0.2	0.39	0.39
<i>Enterococcus faecalis</i> CN-478	0.78	0.39	1.56	1.56	6.25
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type-II	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type-III	0.39	0.78	1.56	6.25	6.25
<i>Streptococcus pneumoniae</i> IID-553	0.78	1.56	1.56	6.25	12.5
<i>Streptococcus pyogenes</i> C-203	0.39	0.39	0.78	1.56	6.25
<i>Streptococcus pyogenes</i> IID-687	0.78	0.78	1.56	3.13	12.5
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC9341	3.13	1.56	3.13	6.25	12.5
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	≦0.013	≦0.013	0.1	0.1	0.2
<i>Listeria monocytogenes</i> 2459	0.39	0.39	1.56	1.56	3.13
<i>Listeria monocytogenes</i> 5348	0.39	0.39	1.56	1.56	3.13
<i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC607	0.78	0.2	1.56	6.25	3.13
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	0.1	≦0.013	0.1	0.05	0.1
<i>Escherichia coli</i> 1346	0.025	≦0.013	0.025	0.05	0.025
<i>Escherichia coli</i> KC-14	0.025	<0.013	0.05	0.025	0.05
<i>Escherichia coli</i> ML-1410 RGN823	1.56	0.39	1.56	1.56	3.13
<i>Escherichia coli</i> ML-1410 RGN238	3.13	0.2	1.56	0.78	3.13
<i>Salmonella typhi</i> T-58	0.1	≦0.013	0.1	0.05	0.2
<i>Salmonella typhimurium</i>	0.1	≦0.013	0.05	0.025	0.1
<i>Shigella sonnei</i>	0.05	≦0.013	0.05	0.025	0.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> PCI-602	0.2	0.05	0.2	0.2	0.39
<i>Klebsiella oxytoca</i> 5075	0.05	≦0.013	0.1	0.05	0.1
<i>Proteus mirabilis</i> IFO 3849	0.78	0.05	0.39	0.2	0.78
<i>Proteus vulgaris</i> IID-874	0.2	≦0.013	0.1	0.025	0.2
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	0.05	≦0.013	≦0.013	0.025	0.1
<i>Proteus vulgaris</i> GN-76/C-1	0.2	≦0.013	0.1	0.025	0.2
<i>Morganella morganii</i> IFO 3848	0.1	≦0.013	≦0.013	0.025	0.05
<i>Morganella morganii</i> Kono	0.2	≦0.013	0.1	0.05	0.1
<i>Providencia rettgeri</i> IFO 3850	0.05	0.025	0.1	0.1	0.1
<i>Providencia rettgeri</i> 6259	0.39	≦0.013	0.2	0.05	0.2
<i>Providencia alcalifaciens</i> NIH118	0.2	≦0.013	0.2	0.05	0.2
<i>Citrobacter freundii</i> 10018-68	3.13	0.05	0.78	0.2	0.2
<i>Citrobacter freundii</i> GN-346	0.05	≦0.013	0.1	0.1	0.1
<i>Hafnia albei</i> NCTC 9540	0.1	≦0.013	0.05	≦0.013	0.05
<i>Enterobacter cloacae</i> 963	0.1	≦0.013	0.1	0.1	0.2
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	0.1	≦0.013	0.1	0.05	0.1
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	0.1	≦0.013	0.1	0.1	0.2
<i>Serratia marcescens</i> 7006	0.78	0.05	0.39	0.1	0.2
<i>Serratia marcescens</i> IAM1184	1.56	0.05	0.2	0.2	0.2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO3445	0.78	0.1	1.56	0.39	0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1	0.78	0.1	0.78	0.39	0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC 10490	0.78	0.1	0.78	0.39	0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PI-67	0.2	0.025	0.39	0.2	0.39
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	0.2	0.05	0.78	0.39	0.39
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 35R	0.78	0.2	0.78	0.39	0.78
<i>Pseudomonas cepacia</i> IID-1340	0.78	0.78	1.56	6.25	1.56
<i>Pseudomonas stutzeri</i> ATCC 17589	0.2	0.025	0.2	0.2	0.2
<i>Pseudomonas putida</i> ATCC 12633	0.05	0.05	0.39	0.39	0.05
<i>Pseudomonas maltophilia</i> ATCC 13637	0.2	0.39	0.78	3.13	1.56
<i>Haemophilus influenzae</i> IID-983	0.006	0.006	0.025	0.05	0.1
<i>Haemophilus influenzae</i> IID-984	0.006	0.006	0.025	0.05	0.1

Inoculum size: 10<sup>6</sup> CFU/ml

MIC (μg/ml)

株に用い検討した。また、一部の実験については、*K. pneumoniae* PCI-602も加えて実施した。

測定培地による影響はSDA培地(日水)、HIA培地(栄研)、ブレインハートインフュージョン寒天培地(BHIAと略す; 栄研)、トリプトソイ寒天培地(TSAと略す; 栄研)および普通寒天培地(NAと略す; 栄研)を用いて検討したが、Table 6に示すように、TMFXおよび対照

薬剤とも明らかなMICの変化は認められなかった。

培地pHの影響をTable 10に示したが、TMFXおよび対照薬剤とも酸性側のpHでMICが大きくなり抗菌力が低下した。特にpH 5における抗菌力の低下は著しかった。

馬血清添加および接種菌量の影響の成績をTable 7およびTable 8にそれぞれ示した。TMFXは対照薬剤

Table 2. Antibacterial spectrum of temafloxacin and reference quinolones against aerobic bacteria

Test organism	Temafloxacin	Ciprofloxacin	Ofloxacin	Norfloxacin	Enoxacin
<i>Peptostreptococcus magnus</i> ATCC 14955	6.25	6.25	25	25	12.5
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	0.39	0.78	0.78	3.13	12.5
<i>Peptostreptococcus micros</i> GAI 5540	0.39	0.78	0.78	3.13	12.5
<i>Eubacterium aerofaciens</i> ATCC 25986	0.39	1.56	1.56	6.25	25
<i>Eubacterium limosum</i> GAI 5456	1.56	1.56	3.13	6.25	12.5
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 11828	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25
<i>Clostridium difficile</i>	3.13	12.5	12.5	50	100
<i>Clostridium tetani</i>	0.39	0.2	0.39	0.78	1.56
<i>Clostridium perfringens</i>	0.78	0.39	0.78	1.56	6.25
<i>Clostridium clostridioforme</i> VOI 0-316-1	25	25	100	50	25
<i>Clostridium botulinum</i> type A	0.05	0.1	0.2	0.2	0.78
<i>Clostridium botulinum</i> type B	0.1	0.1	0.39	0.39	0.78
<i>Clostridium botulinum</i> type C	0.1	0.2	0.39	0.39	1.56
<i>Bacteroides fragilis</i> NCTC 9344	0.78	6.25	1.56	50	12.5
<i>Bacteroides fragilis</i> GM-7004	0.78	6.25	1.56	50	12.5
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	0.39	3.13	1.56	50	25
<i>Bacteroides vulgatus</i> PO 2-48	3.13	25	6.25	100	12.5
<i>Bacteroides vulgatus</i> GAI 0673	0.78	25	3.13	100	25
<i>Bacteroides distasonis</i> ATCC 8503	3.13	6.25	6.25	25	12.5
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> GM-7006	3.13	25	6.25	>100	50
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> NCTC 10528	3.13	25	12.5	>100	25
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> WAL 2926	3.13	25	12.5	>100	50
<i>Prevotella melaninogenica</i> O-33	0.78	1.56	1.56	3.13	6.25
<i>Fusobacterium nucleatum</i> U-5	0.39	1.56	1.56	12.5	6.25
<i>Fusobacterium necrogenes</i> NCTC 10723	1.56	3.13	6.25	25	25
<i>Fusobacterium varium</i> ATCC 8501	12.5	25	25	100	25
<i>Veilonella parvula</i> NH-5	1.56	0.2	0.78	1.56	1.56

Inoculum size:  $10^6$  CFU/ml

MIC ( $\mu$ g/ml)

Table 3. Antibacterial activity of temafloxacin and reference quinolones against *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia* spp.

Test organism	Temafloxacin	Ciprofloxacin	Ofloxacin	Norfloxacin	Enoxacin
<i>M. pneumoniae</i> Mac	0.78	0.78	0.78	6.25	6.25
<i>M. pneumoniae</i> FH	0.78	1.56	1.56	6.25	6.25
<i>C. trachomatis</i> D/UW-3/Cx	0.2	0.78	0.78	12.5	12.5
<i>C. trachomatis</i> E/UW-5/Cx	0.39	1.56	0.78	>12.5	12.5
<i>C. trachomatis</i> L2/434/Bubo	0.2	0.78	0.39	6.25	3.13
<i>C. psittaci</i> budgeregar No. 1	$\leq 0.2$	0.78	0.39	>6.25	6.25

*M. pneumoniae*

Medium: PPLO broth

Inoculum size:  $10^5 \sim 10^6$  CFU/ml

Incubation: 7 days

*Chlamydia* spp.

Cells: HeLa 229 ( $5 \times 10^5$  cell/ml)

Inoculum size:  $10^5$  Inclusion forming units/ml

Incubation: 48 hours

MIC ( $\mu$ g/ml)

と同様にこれら因子の影響を受けなかった。

2価カチオン添加の影響をTable 9に示した。各菌株および薬剤ともCa<sup>2+</sup>添加の影響は著明でなかったが、Mg<sup>2+</sup>添加の影響は添加濃度に応じて影響を受けMICが高くなった。

#### 4. 殺菌作用

MICとMBC：S. aureus 209P JC-1, E. faecalis CN-478, E. coli NIHJ JC-2およびP. aeruginosa No. 12に対するMICとMBCを測定し、その成績をTable 11に示した。TMFXはMICとMBCがほぼ一致し、対照薬剤も同様の傾向であった。しかし、S. aureus 209P JC-1に対するNFLXとENX, E. faecalis CN-478に対するNFLXのMBCはMICより2管高い値を示した。

増殖曲線に及ぼす影響：S. aureus 209P JC-1, E. coli NIHJ JC-2およびP. aeruginosa PI-67を被験菌株に用い、TMFX, OFLXおよびCPFの各菌株に対する液体希釈法によるMICを基準にし、各種濃度の薬剤を添加して、増殖に及ぼす影響を検討した。Fig. 1はS. aureus 209P JC-1における成績を示した。各薬剤とも1/2MICの添加では、薬剤添加6時間後まで増殖を抑制するのみであったが、TMFXおよびOFLXのMIC以上、CPFの2MIC以上の添加で殺菌的に作用した。

また、TMFXは8MIC, OFLXは2MIC, CPFは4MIC以下の作用で24時間後に再増殖した。

E. coli NIHJ JC-2における成績をFig. 2に示した。各薬剤とも1/2MICの添加ではコントロールに比べ、わ

Table 4. Antibacterial activity of temafloracin and reference quinolones against gram-positive clinical isolates

Test organism (no. of strains)	Drug	Range of MIC	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
S. aureus (19)	Temafloracin	0.025~0.39	0.2	0.2
	Ciprofloxacin	0.1~0.78	0.39	0.78
	Ofloxacin	0.2~0.78	0.39	0.39
	Norfloxacin	0.2~3.13	1.56	1.56
	Enoxacin	0.39~3.13	0.78	1.56
MRSA (20)	Temafloracin	0.1~0.78	0.1	0.2
	Ciprofloxacin	0.2~6.25	0.39	1.56
	Ofloxacin	0.39~1.56	0.39	0.78
	Norfloxacin	0.78~25	1.56	6.25
	Enoxacin	0.78~12.5	1.56	3.13
Coagulase(-)staphylococci (12)	Temafloracin	0.025~0.78	0.1	0.2
	Ciprofloxacin	0.05~3.13	0.39	0.78
	Ofloxacin	0.1~1.56	0.39	0.78
	Norfloxacin	0.1~6.25	1.56	3.13
	Enoxacin	0.39~6.25	0.78	6.25
S. pneumoniae (19)	Temafloracin	0.39~1.56	0.78	1.56
	Ciprofloxacin	0.78~3.13	1.56	3.13
	Ofloxacin	1.56~3.13	1.56	3.13
	Norfloxacin	3.13~25	12.5	25
	Enoxacin	6.25~25	12.5	25
α-streptococci (17)	Temafloracin	0.39~1.56	0.78	1.56
	Ciprofloxacin	0.39~3.13	1.56	3.13
	Ofloxacin	1.56~3.13	1.56	3.13
	Norfloxacin	3.13~25	12.5	25
	Enoxacin	6.25~25	25	25
E. faecalis (27)	Temafloracin	0.1~1.56	0.78	1.56
	Ciprofloxacin	0.2~1.56	0.78	0.78
	Ofloxacin	0.39~3.13	1.56	1.56
	Norfloxacin	0.39~3.13	3.13	3.13
	Enoxacin	0.78~6.25	6.25	6.25

Inoculum size: 10<sup>6</sup> CFU/ml

(μg/ml)

Table 5. Antibacterial activity of temafloxacin and reference quinolones against gram-negative clinical isolates

Test organism (no. of strains)	Drug	Range of MIC	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>E. coli</i> (ABPC <sup>r</sup> ) (20)	Temafloxacin	≤ 0.013 – 0.39	0.05	0.2
	Ciprofloxacin	≤ 0.013 – 0.2	≤ 0.013	0.2
	Ofloxacin	≤ 0.013 – 0.39	0.1	0.39
	Norfloxacin	≤ 0.013 – 0.78	0.05	0.39
	Enoxacin	0.025 – 1.56	0.2	1.56
<i>K. pneumoniae</i> (20)	Temafloxacin	0.05 – 1.56	0.1	0.39
	Ciprofloxacin	≤ 0.013 – 0.78	0.025	0.05
	Ofloxacin	0.1 – 0.78	0.1	0.2
	Norfloxacin	0.1 – 3.13	0.2	0.39
	Enoxacin	0.2 – 6.25	0.39	0.39
<i>C. freundii</i> (12)	Temafloxacin	0.05 – 50	0.78	6.25
	Ciprofloxacin	≤ 0.013 – 6.25	0.1	3.13
	Ofloxacin	0.1 – 25	0.39	6.25
	Norfloxacin	0.05 – 25	0.2	6.25
	Enoxacin	0.1 – 50	0.39	12.5
<i>Enterobacter</i> spp. (20)	Temafloxacin	0.05 – 1.56	0.1	0.78
	Ciprofloxacin	≤ 0.013 – 0.78	≤ 0.013	0.2
	Ofloxacin	0.05 – 3.13	0.1	0.78
	Norfloxacin	0.025 – 12.5	0.1	0.78
	Enoxacin	0.1 – 25	0.2	1.56
<i>M. morgani</i> (20)	Temafloxacin	0.05 – 6.25	0.39	3.13
	Ciprofloxacin	≤ 0.013 – 6.25	≤ 0.013	0.2
	Ofloxacin	0.05 – 6.25	0.1	1.56
	Norfloxacin	0.025 – 25	0.05	0.78
	Enoxacin	0.1 – 25	0.2	3.13
<i>S. marcescens</i> (19)	Temafloxacin	1.56 – 100	12.5	100
	Ciprofloxacin	0.2 – 25	1.56	25
	Ofloxacin	0.78 – 50	6.25	50
	Norfloxacin	0.39 – 100	6.25	100
	Enoxacin	0.78 – 100	12.5	100
<i>P. aeruginosa</i> (53)	Temafloxacin	0.05 – 50	0.78	3.13
	Ciprofloxacin	≤ 0.013 – 12.5	0.2	0.78
	Ofloxacin	0.05 – 50	1.56	3.13
	Norfloxacin	0.05 – 50	0.78	3.13
	Enoxacin	0.05 – 100	0.78	3.13
<i>H. influenzae</i> (23)	Temafloxacin	≤ 0.003 – 0.013	0.006	0.013
	Ciprofloxacin	≤ 0.003 – 0.013	≤ 0.003	0.013
	Ofloxacin	0.013 – 0.025	0.013	0.025
	Norfloxacin	0.013 – 0.05	0.025	0.05
	Enoxacin	0.05 – 0.2	0.1	0.1
<i>M. catarrhalis</i> (13)	Temafloxacin	≤ 0.013 – 0.05	0.025	0.05
	Ciprofloxacin	≤ 0.013 – 0.1	0.05	0.05
	Ofloxacin	0.05 – 0.2	0.1	0.1
	Norfloxacin	0.1 – 1.56	0.2	0.39
	Enoxacin	0.2 – 0.78	0.39	0.78
<i>B. fragilis</i> (30)	Temafloxacin	0.39 – 3.13	0.78	1.56
	Ciprofloxacin	3.13 – > 100	3.13	12.5
	Ofloxacin	0.78 – 12.5	1.56	3.13
	Norfloxacin	25 – > 100	25	100
	Enoxacin	12.5 – 100	25	25

Inoculum size: 10<sup>6</sup> CFU/ml  
 ABPC<sup>r</sup>: ampicillin resistant

(µg/ml)

Table 6. Influence of medium on antibacterial activity of temafloracin and reference quinolones

Test organism	Medium	Temafloracin	Ciprofloxacin	Ofloxacin	Norfloxacin	Enoxacin
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	SDA	0.1	0.1	0.39	0.39	0.78
	HIA	0.1	0.1	0.39	0.39	0.78
	BHIA	0.1	0.2	0.39	0.39	0.78
	TSA	0.1	0.2	0.78	0.39	0.78
	NA	0.1	0.2	0.39	0.39	0.78
<i>E. faecalis</i> CN-478	SDA	0.78	0.78	1.56	6.25	6.25
	HIA	0.39	0.39	1.56	3.13	6.25
	BHIA	0.78	0.78	1.56	6.25	6.25
	TSA	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25
	NA	0.39	0.39	0.78	3.13	3.13
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	SDA	0.1	0.025	0.2	0.2	0.2
	HIA	0.05	0.025	0.1	0.1	0.2
	BHIA	0.1	0.05	0.2	0.2	0.39
	TSA	0.05	0.025	0.1	0.1	0.2
	NA	0.1	0.05	0.2	0.2	0.39
<i>K. pneumoniae</i> PCI-602	SDA	0.1	0.1	0.39	0.39	0.78
	HIA	0.1	0.05	0.2	0.2	0.39
	BHIA	0.2	0.1	0.39	0.39	0.78
	TSA	0.1	0.05	0.2	0.2	0.39
	NA	0.2	0.1	0.39	0.39	0.78
<i>P. aeruginosa</i> No. 12	SDA	0.2	0.1	0.78	0.78	0.78
	HIA	0.2	0.05	0.78	0.2	0.39
	BHIA	0.39	0.1	0.78	0.39	0.78
	TSA	0.1	0.2	0.39	0.39	0.39
	NA	0.39	0.2	0.78	0.78	0.78

Inoculum size: 10<sup>6</sup> CFU/ml

MIC (μg/ml)

SDA: Sensitivity Disk agar (Nissui)

TSA: Trypto-Soy agar (Eiken)

HIA: Heart Infusion agar (Eiken)

NA: Nutrient agar (Eiken)

BHIA: Brain Heart Infusion agar (Eiken)

Table 7. Influence of horse serum on antibacterial activity of temafloracin and reference quinolones

Test organism	Serum (%)	Temafloracin	Ciprofloxacin	Ofloxacin	Norfloxacin	Enoxacin
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	0	0.1	0.1	0.39	0.2	0.39
	10	0.1	0.1	0.39	0.2	0.39
	25	0.2	0.2	0.39	0.2	0.78
	50	0.2	0.2	0.39	0.39	0.78
<i>E. faecalis</i> CN-478	0	0.78	0.78	1.56	3.13	6.25
	10	0.78	0.78	1.56	3.13	6.25
	25	0.78	0.78	1.56	3.13	6.25
	50	0.78	0.78	1.56	3.13	6.25
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0	0.1	0.025	0.1	0.1	0.2
	10	0.1	0.025	0.1	0.1	0.2
	25	0.2	0.025	0.2	0.1	0.2
	50	0.2	0.025	0.2	0.1	0.2
<i>K. pneumoniae</i> PCI-602	0	0.2	0.05	0.2	0.2	0.39
	10	0.2	0.05	0.2	0.2	0.39
	25	0.2	0.05	0.39	0.2	0.39
	50	0.39	0.05	0.39	0.2	0.39
<i>P. aeruginosa</i> No. 12	0	0.39	0.1	0.78	0.39	0.39
	10	0.39	0.1	0.78	0.39	0.39
	25	0.78	0.2	1.56	0.39	0.78
	50	0.78	0.2	1.56	0.39	0.78

Inoculum size: 10<sup>6</sup> CFU/ml

MIC (μg/ml)

Table 8. Influence of inoculum size on antibacterial activity of temafloxacin and reference quinolones

Test organism	Inoculum size (10 <sup>n</sup> )	Temafloxacin	Ciprofloxacin	Ofloxacin	Norfloxacin	Enoxacin
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	8	0.1	0.1	0.39	0.39	0.78
	7	0.1	0.1	0.39	0.39	0.78
	6	0.1	0.1	0.39	0.39	0.78
	5	0.1	0.1	0.39	0.39	0.78
	4	0.1	0.1	0.39	0.39	0.39
<i>E. faecalis</i> CN-478	8	0.78	1.56	3.13	12.5	12.5
	7	0.78	0.78	1.56	6.25	12.5
	6	0.78	0.78	1.56	6.25	6.25
	5	0.39	0.78	1.56	6.25	6.25
	4	0.39	0.78	1.56	6.25	6.25
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	8	0.1	0.025	0.2	0.2	0.78
	7	0.1	0.025	0.2	0.2	0.2
	6	0.1	0.025	0.2	0.2	0.2
	5	0.05	0.025	0.2	0.2	0.2
	4	0.05	0.025	0.2	0.2	0.2
<i>K. pneumoniae</i> PCI-602	8	0.2	0.1	0.39	0.78	0.78
	7	0.2	0.1	0.39	0.78	0.78
	6	0.1	0.1	0.39	0.39	0.78
	5	0.1	0.05	0.39	0.39	0.39
	4	0.1	0.05	0.2	0.39	0.39
<i>P. aeruginosa</i> No. 12	8	0.39	0.2	1.56	1.56	0.78
	7	0.39	0.1	0.78	1.56	0.78
	6	0.2	0.1	0.78	0.78	0.78
	5	0.2	0.1	0.78	0.78	0.78
	4	0.2	0.1	0.78	0.78	0.39

Inoculum size: 10<sup>6</sup> CFU/ml MIC (μg/ml)

Table 9. Influence of divalent cation on antibacterial activity of temafloxacin and reference quinolones

Test organism	Ion	Temafloxacin	Ciprofloxacin	Ofloxacin	Norfloxacin	Enoxacin
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	STB	0.2	0.1	0.39	0.2	0.39
	+ Ca <sup>++</sup> 200 mg/l	0.1	0.1	0.39	0.2	0.39
	+ Mg <sup>++</sup> 10 mEq/l	0.39	0.39	0.78	0.78	1.56
	+ Mg <sup>++</sup> 40 mEq/l	1.56	1.56	3.13	1.56	6.25
<i>E. faecalis</i> CN-478	STB	0.78	0.78	1.56	1.56	6.25
	+ Ca <sup>++</sup> 200 mg/l	0.78	0.78	1.56	3.13	6.25
	+ Mg <sup>++</sup> 10 mEq/l	1.56	3.13	3.13	12.5	25
	+ Mg <sup>++</sup> 40 mEq/l	6.25	6.25	12.5	25	50
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	STB	0.05	0.013	0.1	0.05	0.1
	+ Ca <sup>+</sup> 200 mg/l	0.1	0.05	0.1	0.1	0.2
	+ Mg <sup>++</sup> 10 mEq/l	0.1	0.025	0.2	0.2	0.2
	+ Mg <sup>++</sup> 40 mEq/l	0.78	0.1	0.78	0.78	1.56
<i>P. aeruginosa</i> No. 12	STB	0.2	0.05	0.78	0.1	0.2
	+ Ca <sup>++</sup> 200 mg/l	0.39	0.1	0.78	0.2	0.39
	+ Mg <sup>++</sup> 10 mEq/l	0.78	0.1	0.78	0.39	0.78
	+ Mg <sup>++</sup> 40 mEq/l	1.56	0.39	3.13	1.56	3.13

STB: Sensitivity test broth (Nissui) MIC (μg/ml)  
Inoculum size: 10<sup>6</sup> CFU/ml

ずかに増殖を抑制する程度であった。また、TMFXのMICおよびCPFXの2MICの添加では明らかな増殖速度の抑制効果を示し、それ以上の濃度で殺菌的に作用した。また、OFLXはMIC以上の濃度で殺菌的に作用した。

また、TMFXは2MIC、OFLXはMIC、CPFXは4MIC以下の作用で24時間後に再増殖した。

*P. aeruginosa* PI-67における成績をFig. 3に示した。

本菌株においても他の2菌株と同様に1/2MICの添加では増殖速度を抑制する程度の効果であったが、TMFXおよびOFLXのMICの添加では、6時間後まで静菌的に作用し両剤とも2MICの添加で殺菌的に作用した。また、CPFXの場合は、MICの添加では増殖速度を抑制する程度の作用であったが、2MICの添加で弱いながら殺菌的に作用し、4MICの添加で他剤と同様

Table 10. Influence of medium pH on antibacterial activity of temafloxacin and reference quinolones

Test organism	pH	Temafloracin	Ciprofloxacin	Ofloracin	Norfloxacin	Enoxacin
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	5	0.78	0.78	3.13	3.13	6.25
	6	0.2	0.2	0.39	0.39	0.78
	7	0.2	0.1	0.39	0.2	0.78
	8	0.2	0.1	0.39	0.2	0.78
	9	0.39	0.2	0.78	0.39	0.78
<i>E. faecalis</i> CN-478	5	3.13	6.25	12.5	50	50
	6	1.56	1.56	3.13	6.25	12.5
	7	1.56	0.78	1.56	3.13	6.25
	8	1.56	0.78	3.13	3.13	6.25
	9	1.56	0.78	3.13	3.13	6.25
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	5	3.13	1.56	6.25	12.5	12.5
	6	0.39	0.1	0.39	0.78	0.78
	7	0.1	0.025	0.1	0.1	0.2
	8	0.1	0.013	0.1	0.05	0.2
	9	0.39	0.013	0.39	0.05	0.2
<i>K. pneumoniae</i> PCI-602	5	12.5	6.25	25	50	50
	6	1.56	0.78	1.56	3.13	3.13
	7	0.2	0.05	0.2	0.2	0.39
	8	0.2	0.025	0.2	0.1	0.2
	9	0.39	0.05	0.39	0.1	0.39
<i>P. aeruginosa</i> No. 12	5	6.25	6.25	25	25	25
	6	1.56	0.39	3.13	3.13	3.13
	7	0.39	0.1	0.78	0.39	0.39
	8	0.78	0.05	0.39	0.39	0.2
	9	0.78	0.05	1.56	0.39	0.78

Inoculum size:  $10^6$  CFU/ml

MIC ( $\mu$ g/ml)

Table 11. MIC and MBC of temafloxacin and reference quinolones

Test organisms	Temafloracin		Ciprofloxacin		Ofloracin		Norfloxacin		Enoxacin	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	0.2	0.2	0.1	0.2	0.39	0.39	0.2	0.78	0.39	1.56
<i>E. faecalis</i> CN-478	0.78	0.78	0.78	0.78	1.56	1.56	1.56	6.25	6.25	6.25
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.05	0.1	0.013	0.013	0.1	0.1	0.05	0.05	0.1	0.1
<i>P. aeruginosa</i> No. 12	0.2	0.39	0.05	0.1	0.78	0.78	0.1	0.2	0.2	0.39

Medium: Sensitivity test broth (Nissui)

Inoculum size:  $10^5$  CFU/ml

( $\mu$ g/ml)

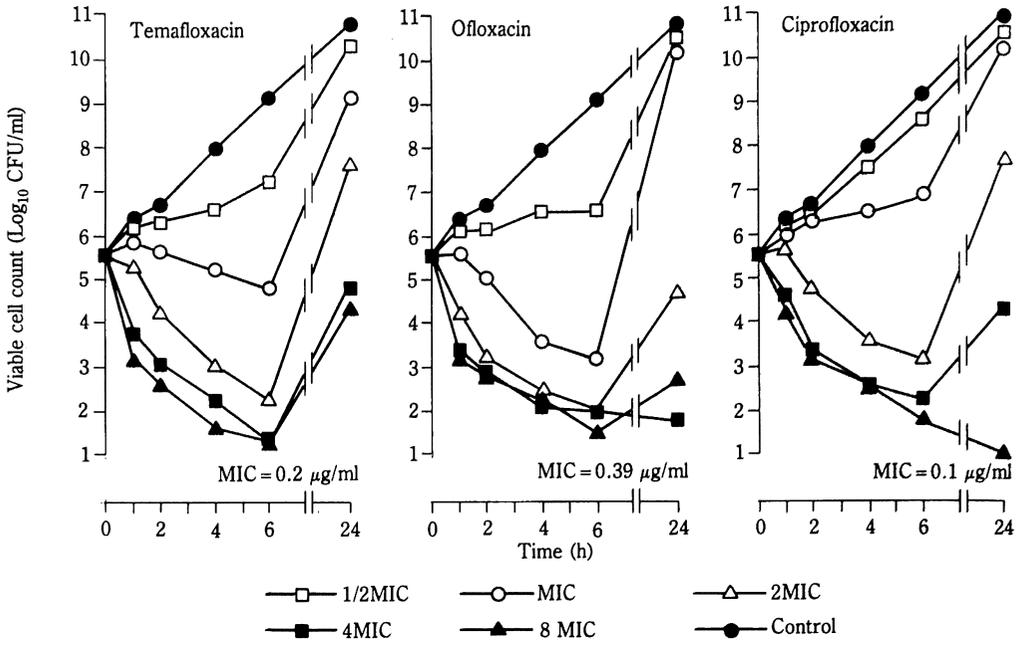


Fig. 1. Bactericidal activity of temafloxacin, ofloxacin and ciprofloxacin against *Staphylococcus aureus* 209P JC-1.

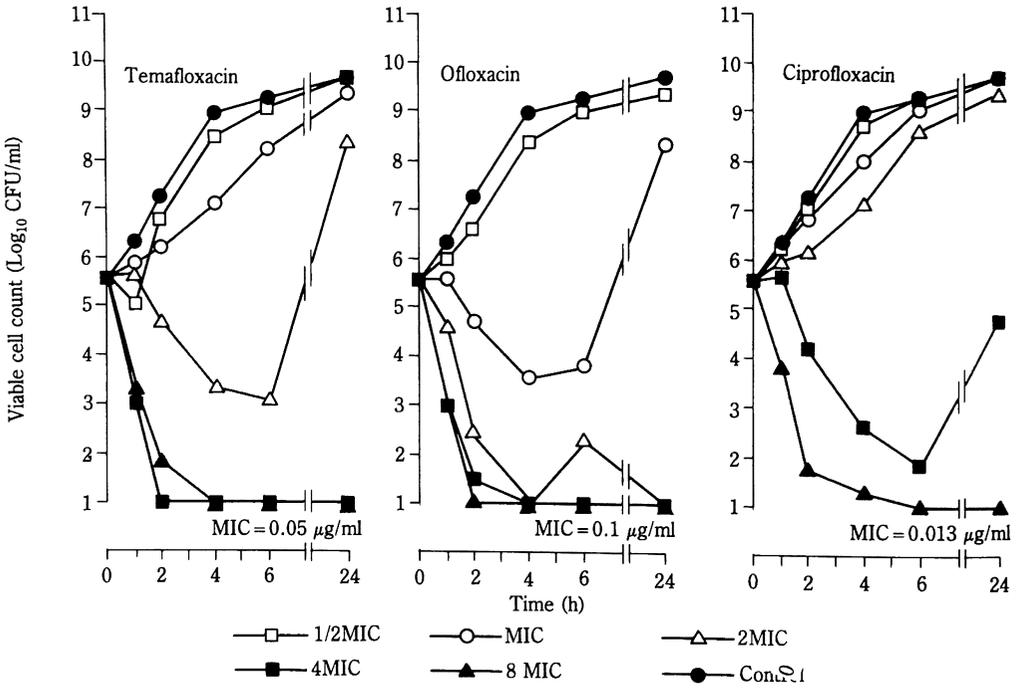


Fig. 2 Bactericidal activity of temafloxacin, ofloxacin and ciprofloxacin against *Escherichia coli* NIHJ JC-2.

強い殺菌作用を示した。

また、各薬剤とも8MICの作用でも24時間後に再増殖した。

##### 5. 細菌の形態に及ぼす影響

OFLXを対照薬剤として、TMFXを作用させた時の *E. coli* および *P. aeruginosa* の形態に及ぼす影響を微分干渉顕微鏡にて観察した。 *E. coli* NIHJ JC-2 に TMFX(MIC:0.05  $\mu\text{g/ml}$ ) および OFLX(MIC:0.1  $\mu\text{g/ml}$ ) の 128MIC から 1/4MIC までの薬剤を作用させ4時間培養後の成績のうち 1/4MIC, MIC, 8MIC および 32MIC の成績を Fig. 4 に示した。両剤とも 1/4MIC の作用で顕著な伸長化が観察された。MIC の作用では、両剤とも膨化した細胞が観察され、膨化した部位には空胞と思われる構造が観察された。8MIC 以上の作用ではむしろ伸長化の程度は小さくなった。

*P. aeruginosa* PI-67 に TMFX および OFLX を *E. coli* NIHJ JC-2 と同様に作用させ、1/2MIC, MIC, 8MIC および 64MIC 作用時の成績を Fig. 5 に示した。両剤とも 1/2MIC の作用では明らかな変化は観察されず、MIC の作用で両剤とも伸長化が観察されたが、その程度は TMFX がわずかに強かった。8MIC の作用では、両剤

ともやや伸長化した細胞と共に卵形化細胞も観察された。また、伸長化細胞には空胞と思われる構造が観察された。64MIC の作用では両剤とも 8MIC とほぼ同様の変化が観察されたが、伸長化した細胞は TMFX でやや多い傾向が見られた。

##### 6. DNA gyrase の阻害作用

*E. coli* KL-16 より DNA gyrase を精製し、TMFX, OFLX, CPFX, ENX および NA による DNA gyrase のスーパーコイル活性の 50% 阻害濃度を  $\text{IC}_{50}$  として Table 12 に示した。試験薬剤中 CPFX が最も強い阻害活性を示し、TMFX は OFLX とほぼ同等の  $\text{IC}_{50}$  値を示し、各薬剤の  $\text{IC}_{50}$  値と本菌株に対する MIC はほぼ相関

Table 12. MIC and  $\text{IC}_{50}$  of quinolones for DNA gyrase

Drugs	MIC	$\text{IC}_{50}$
Temafloracin	0.05	1.8
Ciprofloxacin	0.05	0.64
Ofloxacin	0.1	1.7
Enoxacin	0.2	4.4
Nalidixic acid	6.25	70

Organism: *Escherichia coli* KL-16 ( $\mu\text{g/ml}$ )

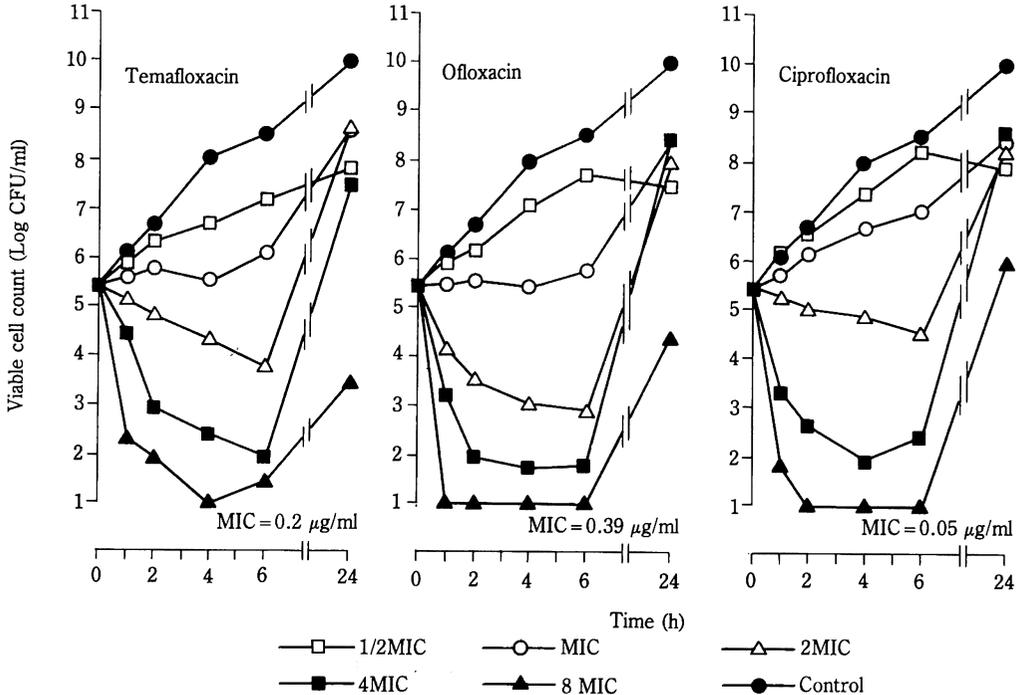


Fig. 3. Bactericidal activity of temafloxacin, ofloxacin and ciprofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa* PI-67.

した。

7. 自然耐性変異株の出現頻度

*S. aureus* 209P JC-1, *E. faecalis* CN-478, *E. coli* NIHJ JC-2, *K. pneumoniae* PCI-602および*P. aeruginosa*

No. 12に対するTMFXおよび対照薬剤の8MICを添加したSDA培地で自然耐性変異株の出現頻度を調べその成績をTable 13に示した。各菌株のTMFX耐性変異株の出現頻度は対照薬剤と同様の傾向を示した。

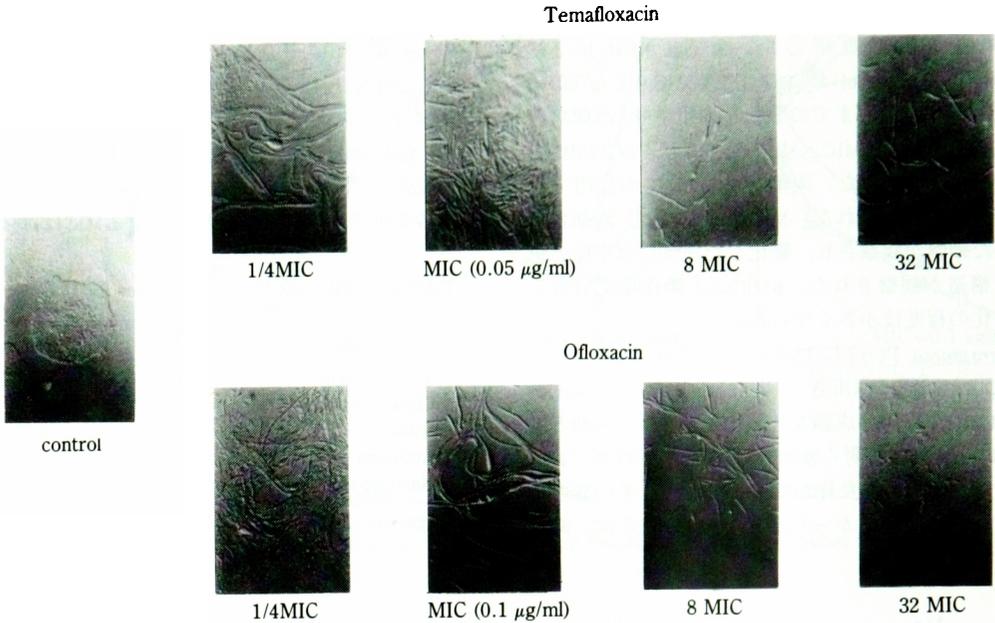


Fig. 4. Morphological changes in *Escherichia coli* NIHJ JC-2 exposed to temafloxacin and ofloxacin for four hours.

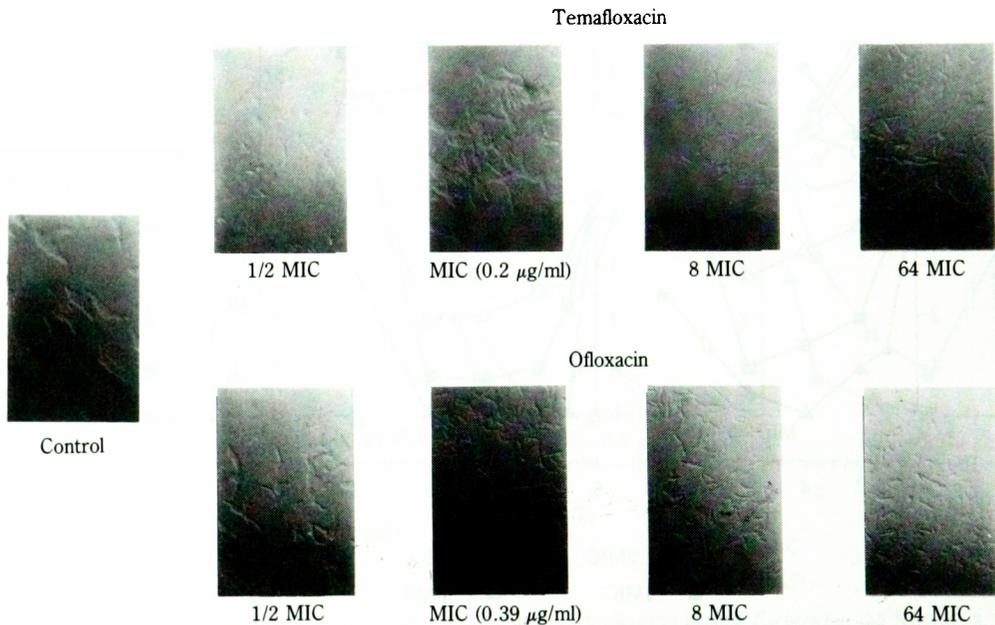


Fig. 5. Morphological changes in *Pseudomonas aeruginosa* PI-67 exposed to temafloxacin and ofloxacin for four hours.

Table 13. Frequency of spontaneous mutants resistant to quinolones

Test organism	Temafloxacin	Ciprofloxacin	Ofloxacin	Norfloxacin	Enoxacin
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	$4.8 \times 10^{-9}$	$<4.8 \times 10^{-9}$	$<4.8 \times 10^{-9}$	$1.5 \times 10^{-7}$	$9.7 \times 10^{-9}$
<i>E. faecalis</i> CN-478	$<2.8 \times 10^{-9}$	$<2.8 \times 10^{-9}$	$<2.8 \times 10^{-9}$	$<2.8 \times 10^{-9}$	$<2.8 \times 10^{-9}$
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	$<6.1 \times 10^{-10}$	$1.2 \times 10^{-8}$	$<6.1 \times 10^{-10}$	$1.2 \times 10^{-9}$	$1.2 \times 10^{-8}$
<i>K. pneumoniae</i> PCI-602	$2.2 \times 10^{-6}$	$2.3 \times 10^{-6}$	$1.7 \times 10^{-6}$	$2.3 \times 10^{-6}$	$1.9 \times 10^{-6}$
<i>P. aeruginosa</i> No. 12	$3.5 \times 10^{-7}$	$4.2 \times 10^{-7}$	$<9.4 \times 10^{-10}$	$3.2 \times 10^{-7}$	$3.0 \times 10^{-7}$

Mutants were selected at 8 MIC

### Ⅲ. 考 察

ニューキノロン系の合成抗菌剤はNFLX<sup>9)</sup>の発見を契機として多くの本系統の薬剤が開発され臨床に供されている。今回米国ABBOTT社にて創製されたニューキノロン系合成抗菌剤であるTMFXの*in vitro*抗菌作用について市販のニューキノロン剤のうちCPFX, ENX, NFLXおよびOFLXと比較検討した。

TMFXの標準菌株および臨床分離株に対する抗菌力をこれら対照薬剤と比較した結果、TMFXはグラム陽性菌に対して最も強い抗菌力を示し、グラム陰性菌に対してはCPFXより弱いが、OFLXとほぼ同等の抗菌力を示した。特に呼吸器感染症の起炎菌、例えば*S. aureus*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*および*M. catarrhalis*の臨床分離株、また標準菌株であるが、*M. pneumoniae*および*C. psittaci*に対してTMFXが最も強い抗菌力を示すことが特徴的であった。また、TMFXの抗菌力の特徴の一つに*B. fragilis*などの嫌気性菌に対する強い抗菌力があげられる。

ニューキノロン系抗菌剤は測定培地中への2価カチオンの添加および培地pHを酸性にすることで抗菌力が低下することが一般に知られている<sup>6)</sup>。TMFXも同様にCa<sup>2+</sup>およびMg<sup>2+</sup>の添加および酸性側の培地pHで他のニューキノロン剤と同様に抗菌力の低下が認められた。また、Ca<sup>2+</sup>よりMg<sup>2+</sup>の方が影響は強く現れた。*S. Valisena*ら<sup>7)</sup>は、*E. coli*を用いてNFLXの細胞内への取り込みに及ぼすCa<sup>2+</sup>またはMg<sup>2+</sup>添加の影響および培地pHの影響について検討している。その結果によれば、培地pHが酸性になるほどNFLXの取り込みが低下し、Ca<sup>2+</sup>およびMg<sup>2+</sup>ともNFLXの細胞内への取り込みを阻害し、その効果はMg<sup>2+</sup>の方が強く現れている。従って、TMFXの抗菌力に及ぼす2価カチオン添加の影響および培地pHの影響は*S. Valisena*らが報告する様に細胞内への取り込みの低下が原因と思われる。

*E. coli* および*P. aeruginosa*の形態に及ぼす影響を検討した結果、*E. coli*および*P. aeruginosa*ともOFLXと同様の形態変化を示した。また、TMFXのDNA gyrase

阻害作用は対照薬剤と同様であり、MICにはほぼ相関した結果であった。従って、TMFXの抗菌作用機序は他のニューキノロン剤と同様にDNA gyraseの阻害<sup>8)</sup>によることが強く示唆された。

以上TMFXの*in vitro*抗菌作用を他剤と比較検討した結果、呼吸器系感染症の起炎菌および嫌気性菌に対して最も強い抗菌力を示すことがTMFXの特徴であり、殺菌的作用を有すること、本剤の高い経口吸収性<sup>9)</sup>と共に肺への移行性の高いこと<sup>10)</sup>から本剤は泌尿器系とともに、特に呼吸器系の感染症および嫌気性菌の関与する感染症に対して優れた有効性が期待される。

### 文 献

- Hardy D J, Swanson R N, Hensey D M, Ramer N R, Bower R R, Hanson C W, Chu D T W and Fernandes P B: Comparative Antibacterial Activity of Temafloxacin Hydrochloride (A-62254) and Two Reference Fluoroquinolones. *Antimicrob Agents & Chemother* 31: 1768 ~ 1774, 1987
- 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度(MIC)測定法再改訂について。 *Chemotherapy* 29: 76 ~ 79, 1981
- Aoyama H, Sato K, Fujii T, Fujimaki K, Inoue M and Mitsuhashi S: Purification of *C. freundii* DNA Gyrase and Inhibition by Quinolones. *Antimicrob agent Chemother* 32: 104 ~ 109, 1988
- Gellert M, Mizuuchi K, O'Dea M H and Nash H A: DNA gyrase: An enzyme that introduces superhelical turns into DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 73: 3872 ~ 3876, 1976
- Ito A, Hirai K, Inoue M, Koga H, Suzue S, Irikura T & Mitsuhashi S: *In vitro* antibacterial activity of AM-715, a new nalidixic acid analog. *Antimicrob Agents & Chemother* 17: 103 ~ 108, 1980
- 西野武志： *in vitro* および *in vivo* 抗菌活性。二

- ューキノロン剤の正しい使い方(藤井良知, 高田 馨 編), p.38~63, 医薬ジャーナル社, 大阪, 1991
- 7) Valisena S, Palumbo M, Parolin C, Palu G and Meloni G A: Relevance of ionic effects on norfloxacin uptake by *Escherichia coli*. *Biochem. Pharmacol.* 40:431~436, 1990
- 8) Gellert M, Mizuuchi K, O'Dea M H, Itoh T and Tomizawa J: Nalidixic acid resistance: A second genetic character involved in DNA gyrase activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 74. : 4772~4776, 1977
- 9) 中島光好, 植松俊彦, 長嶋 悟, 小菅和仁, 金丸光隆: Temafloxacinの臨床第I試験。 *Chemotherapy* 41 (S-5): 242~259, 1993
- 10) 武田勝男, 矢野 茂, 佐久間由光, 小山八重子, 山口東太郎: Temafloxacinの各種実験動物における吸収, 分布および排泄。 *Chemotherapy* 41 (S-5): 128~139, 1993

### *In vitro* antibacterial activity of temafloxacin

Tadahiro Matsushita, Tadahiro Oshida, Tokio Onta, Machiko Naito  
and Totaro Yamaguchi

Pharmacological Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.  
2-2-50 Kawagishi, Toda 335, Japan

The antibacterial activity of a new quinolone, temafloxacin (TMFX), was compared with that of ciprofloxacin (CPF), enoxacin (ENX), norfloxacin (NFLX) and ofloxacin (OFLX), using clinical isolates. The activity of TMFX against gram-positive bacteria was superior to that of the reference quinolones. The activity of CPF was superior to that of TMFX against many kinds of gram-negative bacteria, but against *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis*, TMFX was equal to CPF. Against *Bacteroides fragilis*, TMFX was superior to the reference quinolones.

The antibacterial activity of TMFX was influenced by the pH of the medium and the addition of  $Mg^{2+}$  into the medium, as was that of the reference quinolones.

TMFX acted bactericidally on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* at higher concentrations than MIC or 2MIC for the respective bacteria. Microscopic observation of *E. coli* and *P. aeruginosa* treated with TMFX and OFLX showed that both drugs changed *E. coli* cells to filamentous form, and some *P. aeruginosa* cells to a bulging form at higher concentrations than 8MIC. The  $IC_{50}$  (50% inhibitory concentration) of TMFX for DNA gyrase of *E. coli* KL-16 was the same as that of OFLX.

The frequency of isolation of strains resistant to TMFX at 8MIC was the same as that of the reference quinolones.

It was suggested that TMFX would be effective against many bacterial infections.