

## キノロン系抗菌薬grepafloxacinの感染性腸炎起因菌臨床分離株に対する試験管内抗菌力

福山正文・川上久美子・今川八東

麻布大学環境保健学部環境微生物学講座\*

キノロン系抗菌薬grepafloxacin (GPFX)の臨床試験におけるすべての感染性腸炎患者、保菌者から分離された*Shigella* spp. 37株, *Salmonella* spp. 23株, *Campylobacter* spp. 15株, *Vibrio* spp. 11株, *Escherichia coli* 9株, *Aeromonas* spp. 2株および*Plesiomonas shigelloides* 3株に対する最小発育阻止濃度(MIC)を測定し, norfloxacin (NFLX), ofloxacin (OFLX), enoxacin (ENX), ciprofloxacin (CPFX)およびnalidixic acid (NA)のMICと比較した。GPFXのMIC<sub>90</sub>は, *Shigella* spp. および*E. coli*に対しては0.1μg/ml, *Salmonella* spp. に対しては0.2μg/ml, *Campylobacter* spp. に対しては0.39μg/mlおよび*Vibrio parahaemolyticus*に対しては0.78μg/mlであった。株数の少なかった*Aeromonas* spp. および*P. shigelloides*に対してはそれぞれ0.39, 0.05μg/ml以下の濃度で全株の発育を阻止した。*Campylobacter* spp. を除く菌株に対するキノロン系薬剤の抗菌力(MIC<sub>90</sub>)はCPFXが最も強く, 次いでGPFX, NFLX, OFLXがほぼ同等の抗菌力を示した。GPFXの*Campylobacter* spp. に対する抗菌力は, CPFX, OFLXと同等の抗菌力であった。全ての感染性腸炎患者から分離された菌株(100株)に対する各薬剤のMIC<sub>90</sub>はそれぞれGPFX: 0.39, NFLX: 0.39, OFLX: 0.39, ENX: 0.78, CPFX: 0.2およびNA: 12.5μg/mlであった。

**Key words :** grepafloxacin (GPFX), *in vitro*, causative organisms, infectious enteritis

Grepafloxacin (GPFX)は大塚製薬株式会社で開発された新しいキノロン系抗菌薬である。本剤は嫌気性菌を含むグラム陽性菌, グラム陰性菌に対して強い抗菌力を有し, 感染性腸炎の主たる起因菌である*Shigella* spp. や*Salmonella* spp. に対する抗菌力は, MIC<sub>90</sub>値でciprofloxacin (CPFX)より1管劣るが, norfloxacin (NFLX)やofloxacin (OFLX)より1管優れていることが報告されている<sup>1)</sup>。本剤はその広い抗菌スペクトラムと強い抗菌力を有する外に, ヒトでの血中消失半減期が約11~12時間で1日1回投与が可能なことも特徴の一つである<sup>2)</sup>。また血中を介して各組織への移行が良く<sup>3)</sup>, 一部が胆汁を介して, 投与量の約33%が糞便中に排泄される<sup>2)</sup>。以上のことから, GPFXは感染性腸炎に対してNFLX, OFLXあるいはCPFXと同様にその臨床応用が期待された。

今回, 著者らは, GPFXの各種の感染性腸炎起因菌に対する抗菌力を調べるために, 感染性腸炎患者および保菌者からの新鮮臨床分離株(*Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Vibrio* spp., *Escherichia coli*, *Aeromonas* spp. および*Plesiomonas shigelloides*)に対する抗菌力を測定し, 既に臨床応用されているキノロン系抗菌薬のNFLX, OFLX, enoxacin (ENX), CPFXおよびnalidixic acid (NA)のMICと比較した。

### I. 材料と方法

#### 1. 供試菌株

供試菌株はTable 1に示す菌株を用いた。1991年6月から1992年5月までの間に全国の指定都市立伝染病院を中心として, 16の国公立病院において, すべての感染性腸炎患者および保菌者の糞便から分離された, 起因菌と目される100株である。

#### 2. 使用薬剤

GPFX(大塚製薬), NFLX(杏林製薬), OFLX(第一製

Table 1. Bacterial strains tested

<i>Shigella</i> spp.	37	
<i>S. sonnei</i>		30
<i>S. flexneri</i>		4
<i>S. boydii</i>		2
<i>S. dysenteriae</i>		1
<i>Salmonella</i> spp.	23	
<i>Campylobacter</i> spp.	15	
<i>C. jejuni</i>		12
<i>Campylobacter</i> sp.		3
<i>Escherichia coli</i>	9	
<i>Vibrio</i> spp.	11	
<i>V. cholerae</i> 0-1		1
<i>V. cholerae</i> non 0-1		2
<i>V. parahaemolyticus</i>		8
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	3	
<i>Aeromonas</i> spp.	2	
<i>A. hydrophila</i>		1
<i>A. sobria</i>		1
Total	100	

薬), ENX (大日本製薬), CFPX (バイエル・ジャパン) およびNA (第一製薬)を用いた。

### 3. MIC測定法

MICの測定は原則として日本化学療法学会標準法<sup>4)</sup>に準拠して行った。

MIC測定は1991年11月, 1992年2月及び6月の計3回に分けて実施した。

#### 1) 培地

前培養はMueller Hinton broth (Difco) を, MICの測定にはMueller Hinton medium (Difco) を用いた。ただし, *Vibrio*用にはNaClを0.5%添加し, また*Campylobacter*の測定用培地にはウマ脱繊維血液を5%添加して用いた。

#### 2) 菌の接種

37℃一夜(*Campylobacter*の場合は2日)培養した菌液を100倍希釈(10<sup>6</sup>CFU/ml)して, ミクロプランター(佐久間製作所)を用いて平板に接種した。

#### 3) 培養

*Campylobacter*はプロス, 平板ともGasPak Jar (BBL) を用いて微好気条件で37℃, 48時間培養した。その他の菌は好気条件で37℃, 18時間培養した。

#### 4) 判定

日本化学療法学会標準法<sup>4)</sup>に基づき, 5コ以内のコロニーは発育(-)と判定してMICを求めた。

## II. 成 績

1. 感染性腸炎からの新鮮臨床分離株に対する各薬剤のMICの分布をTable 2, 3およびFig. 1~4に示す。

#### 1) *Shigella* spp. (Fig. 1)

*Shigella* spp. は菌種間で各薬剤のMICに著明な相違が認められなかったので, *Shigella* spp. 37株(*Shigella sonnei* 30株, *Shigella flexneri* 4株, *Shigella boydii* 2株, *Shigella dysenteriae* 1株)をまとめ, そのMICの分布を比較した。GPFXのMIC分布は0.0125~0.2μg/mlであり, MIC<sub>90</sub>値は0.1μg/mlであった。対照薬剤との比較では感受性分布は, 1峰性のピークを示し, そのピーク値はGPFX: 0.05, NFLX: 0.1, OFLX: 0.1, ENX: 0.2, CFPX: 0.025およびNA: 1.56μg/mlであり, 抗菌力の強さはCFPX>GPFX>OFLX>NFLX>ENX>NAの順であった。MIC<sub>90</sub>値で比較するとGPFXはCFPXより1管劣り, OFLX, NFLXと同等, ENXより1管優れ, NAより5管優れた抗菌力であった。*S. sonnei* 1株で, NAに対するMIC

Table 2. Susceptibility of clinical isolates of enteritis-causing bacteria to grepafloxacin and five quinolones

Organism	No.		range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>Shigella</i> spp.	37	grepafloxacin	0.0125~0.2	0.05	0.1
		norfloxacin	0.025~0.39	0.1	0.1
		ofloxacin	0.0125~0.78	0.1	0.1
		enoxacin	0.025~1.56	0.2	0.2
		ciprofloxacin	≤0.006~0.2	0.025	0.025
		nalidixic acid	0.2~50	1.56	3.13
<i>Salmonella</i> spp.	23	grepafloxacin	0.05~0.39	0.1	0.2
		norfloxacin	0.1~0.39	0.2	0.39
		ofloxacin	0.1~0.78	0.2	0.39
		enoxacin	0.1~0.78	0.2	0.39
		ciprofloxacin	0.025~0.2	0.05	0.05
		nalidixic acid	3.13~25	6.25	6.25
<i>Campylobacter</i> spp.	15	grepafloxacin	0.025~0.78	0.1	0.39
		norfloxacin	0.2~1.56	0.39	0.78
		ofloxacin	0.1~0.78	0.2	0.39
		enoxacin	0.39~3.13	0.78	0.78
		ciprofloxacin	0.1~0.78	0.2	0.39
		nalidixic acid	3.13~25	6.25	12.5
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	8	grepafloxacin	0.78~1.56	0.78	1.56
		norfloxacin	0.20~3.13	0.20	3.13
		ofloxacin	0.20~3.13	0.20	3.13
		enoxacin	0.39~6.25	0.39	6.25
		ciprofloxacin	0.10~1.56	0.20	1.56
		nalidixic acid	0.78~25	0.78	25
<i>Escherichia coli</i>	9	grepafloxacin	≤0.006~0.1	0.05	0.1
		norfloxacin	0.05~0.1	0.1	0.1
		ofloxacin	0.05~0.1	0.05	0.1
		enoxacin	0.1~0.2	0.2	0.2
		ciprofloxacin	0.0125~0.025	0.025	0.025
		nalidixic acid	1.56~3.13	3.13	3.13

が $50\mu\text{g/ml}$ を示したが、他剤に対するMICはGPFX: 0.2, NFLX: 0.39, OFLX: 0.78, ENX: 1.56およびCPFX:  $0.2\mu\text{g/ml}$ であった。

2) *Salmonella* spp. (Fig. 2)

*Salmonella* spp. 23株に対するGPFXのMICは0.05～

$0.39\mu\text{g/ml}$ に分布し、 $\text{MIC}_{90}$ は $0.2\mu\text{g/ml}$ であった。対照薬剤との比較では感受性分布は、1峰性のピークを示し、そのピーク値はGPFX: 0.1, NFLX: 0.2, OFLX: 0.2, ENX: 0.2, CPFX: 0.05およびNA:  $6.25\mu\text{g/ml}$ であった。GPFXの $\text{MIC}_{90}$ は、CPFXより2管劣っており、NFLX, OFLX,

Table 3. Susceptibility of clinical isolates of enteritis-causing bacteria to grepafloxacin and five quinolones

Organism	(number)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )					
		grepafloxacin	norfloxacin	ofloxacin	enoxacin	ciprofloxacin	nalidixic acid
<i>V. cholerae</i> 0-1	(1)	$\leq 0.006$	0.025	0.025	0.05	$\leq 0.006$	0.39
<i>V. cholerae</i> non 0-1	(2)	0.025 0.025	0.025 0.025	0.025 0.025	0.10 0.05	$\leq 0.006$ $\leq 0.006$	0.39 0.39
<i>P. shigelloides</i>	(3)	0.025 0.025 0.025	0.05 0.05 0.05	0.05 0.025 0.05	0.10 0.10 0.10	0.0125 0.0125 0.0125	1.56 1.56 1.56
<i>A. hydrophila</i>	(1)	0.39	0.20	0.39	0.39	0.10	1.56
<i>A. sobria</i>	(1)	0.05	0.05	0.025	0.10	0.025	0.39

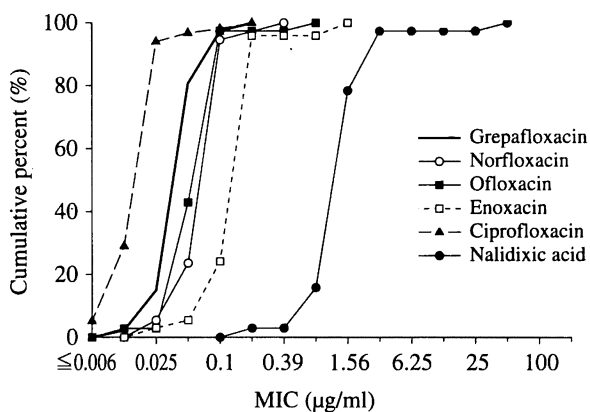


Fig. 1. Sensitivity distribution of *Shigella* spp. (37 strains).

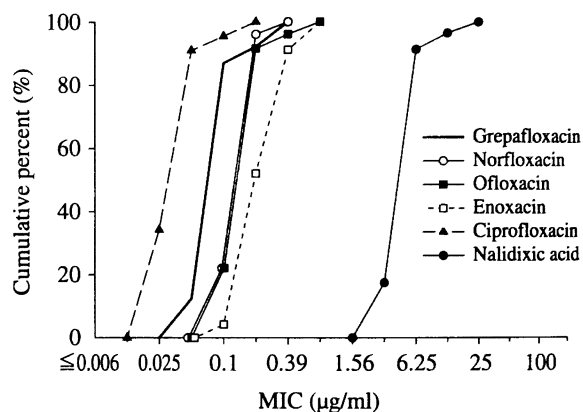


Fig. 2. Sensitivity distribution of *Salmonella* spp. (23 strains).

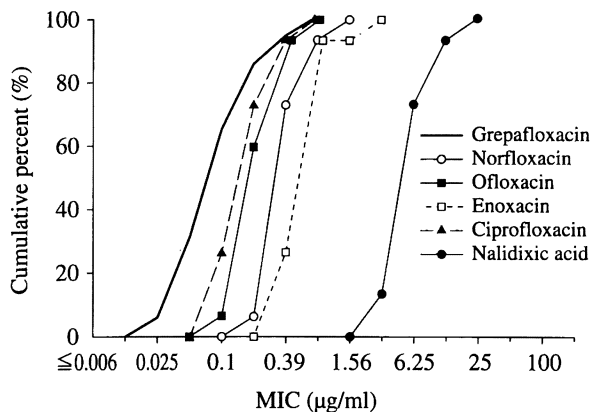


Fig. 3. Sensitivity distribution of *Campylobacter* spp. (15 strains).

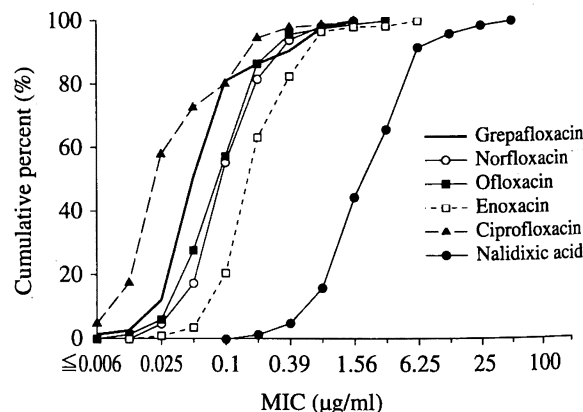


Fig. 4. Sensitivity distribution of all clinical isolates (100 strains).

ENXより1管, NAより5管優れていた。NAに対し25 $\mu$ g/mlのMICを示す株が1株に認められたが, この株に対する他剤のMICはそれぞれGPFX: 0.39, NFLX: 0.39, OFLX: 0.78, ENX: 0.78およびCPFX: 0.2 $\mu$ g/mlであった。

### 3) *E. coli*

*E. coli* 9株に対するGPFXのMICは $\leq$ 0.006~0.1 $\mu$ g/mlに分布し, MIC<sub>90</sub>値は0.1 $\mu$ g/mlであった。GPFXの抗菌力を他剤のMIC<sub>90</sub>値と比較すると, CPFXはMIC<sub>90</sub>が0.025 $\mu$ g/mlであり, 2管劣り, OFLX, NFLXとは同じ0.1 $\mu$ g/mlであり, ENXでは0.2 $\mu$ g/mlで1管, NAでは3.13 $\mu$ g/mlで5管優れていた。

### 4) *Campylobacter* spp. (Fig. 3)

*Campylobacter* spp. 15株に対するGPFXのMIC分布は, 0.025~0.78 $\mu$ g/mlであり, MIC<sub>90</sub>は0.39 $\mu$ g/mlであった。同系薬剤と比較すると, いずれの薬剤も, 1峰性のピークを示し, そのピーク値はそれぞれGPFX: 0.05~0.1, NFLX: 0.39, OFLX: 0.2~0.39, ENX: 0.78, CPFX: 0.2およびNA: 6.25 $\mu$ g/mlであった。MIC<sub>90</sub>値で比較するとGPFXはCPFX, OFLXと同等であり, NFLX, ENXより1管, NAより5管優れた抗菌力であった。*Campylobacter jejuni* 12株のうち1株がNAに対し25 $\mu$ g/mlのMICを示す株があったが, 他剤のMICはGPFX: 0.78, NFLX: 1.56, OFLX: 0.78, ENX: 3.13およびCPFX: 0.78 $\mu$ g/mlであった。

### 5) *Vibrio* spp. (Table 2, 3)

*V. cholerae* 0-1は今回の試験で1株が分離され, GPFXのMICは $\leq$ 0.006 $\mu$ g/mlであった。*V. cholerae* non 0-1は2株分離され, GPFX, NFLX, OFLX, ENX, CPFXおよびNAのMICはそれぞれ0.025, 0.025, 0.025, 0.05~0.1,  $\leq$ 0.006および0.39 $\mu$ g/mlであった (Table 3)。*V. parahaemolyticus* 8株に対するGPFXのMICは0.78~1.56に分布し, MIC<sub>90</sub>は1.56 $\mu$ g/mlで, CPFXのMIC<sub>90</sub>と同じであった。GPFXのMIC<sub>90</sub>はNFLXおよびOFLXのMIC<sub>90</sub>(3.13 $\mu$ g/ml)より1管, ENX(6.25 $\mu$ g/ml)より2管, NA(25 $\mu$ g/ml)より4管優れた抗菌力であった。*V. parahaemolyticus*の中にNAに対し25 $\mu$ g/mlのMICを示す株が1株見られたが, 他剤のMICはGPFX: 0.78, NFLX: 1.56, OFLX: 0.78, ENX: 3.13, CPFX: 0.78 $\mu$ g/mlであった。

### 6) *Plesiomonas* sp. (Table 3)

*P. shigelloides* 3株に対するGPFXのMICは0.025~0.05

$\mu$ g/mlであり, 優れた抗菌力を示した。この3株に対して比較薬剤も強い活性を示し, それぞれのMICはNFLX: 0.05, OFLX: 0.025~0.05, ENX: 0.1, CPFX: 0.0125およびNA: 1.56 $\mu$ g/mlであった。

### 7) *Aeromonas* spp. (Table 3)

*Aeromonas hydrophila* 1株, *Aeromonas sobria* 1株に対するGPFXのMICは0.39, 0.05 $\mu$ g/ml, NFLXは0.2, 0.05 $\mu$ g/ml, OFLXは0.39, 0.025 $\mu$ g/ml, ENXは0.39, 0.1, CPFXは0.1, 0.025 $\mu$ g/ml, ENXは0.39, 0.1 $\mu$ g/mlおよびNAは1.56, 0.78 $\mu$ g/mlであった。

## 2. 全菌株に対するGPFXのMIC (Fig. 4)

感染性腸炎患者, 保菌者由来の全新鮮分離株100株に対するMICの成績をFig. 4に示した。GPFXのMICは $\leq$  0.006~1.56 $\mu$ g/mlに分布し, MIC<sub>90</sub>は0.39 $\mu$ g/mlであった。同系薬剤のMIC分布およびMIC<sub>90</sub>値はそれぞれNFLX: 0.025~3.13, 0.39, OFLX: 0.0125~3.13, 0.39, ENX: 0.025~6.25, 0.78, CPFX:  $\leq$ 0.006~1.56, 0.20, およびNA: 0.2~50, 12.5 $\mu$ g/mlであった。GPFXの抗菌力をMIC<sub>90</sub>で比較すると, CPFXより1管劣り, NFLX, OFLXと同等, ENXより1管, NAより5管優れた抗菌力であった。NAに対し25 $\mu$ g/ml以上のMICを示す株が4株見られたが, 他剤のMICはGPFX: 0.20~0.78, NFLX: 0.39~3.13, OFLX: 0.78~3.13, ENX: 0.78~6.25, CPFX: 0.20~1.56 $\mu$ g/mlであった。

## III. 考 察

ニューキノロン系抗菌薬GPFXの感染性腸炎起因菌新鮮臨床分離株100株 (*Shigella* spp. 37株, *Salmonella* spp. 23株, *Campylobacter* spp. 15株, *Vibrio* spp. 11株, *E. coli* 9株, *Aeromonas* spp. 2株および*P. shigelloides* 3株)に対する抗菌力を, NFLX, OFLX, ENX, CPFXおよびNAの抗菌力と比較した。

GPFXは古いキノロン系抗菌薬であるNAに比較し, 4~5管低い濃度で感染性腸炎起因菌の発育を抑制した。また, 近年開発されたニューキノロン系抗菌薬との比較では, 抗菌力の強さはCPFX > GPFX > OFLX  $\geq$  NFLX > ENXの順であり, GPFXはCPFXに続いて強い抗菌力を示した。NAに対して25 $\mu$ g/ml以上を示す菌株は4株存在したが, GPFXは1.56 $\mu$ g/ml以下の濃度で全株の発育を阻止した。

ニューキノロン系抗菌薬でも, ピークのMICと比較し

Table 4. Susceptibility of total isolated strains of enteritis-causing bacteria to grepafloxacin and five quinolones

Organism	No.		range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
Total clinical isolates	100	grepafloxacin	$\leq$ 0.006~1.56	0.05	0.39
		norfloxacin	0.025~3.13	0.1	0.39
		ofloxacin	0.0125~3.13	0.1	0.39
		enoxacin	0.025~6.25	0.2	0.78
		ciprofloxacin	$\leq$ 0.006~1.56	0.025	0.2
		nalidixic acid	0.2~50	3.13	6.25

3~4管高いMICを示す株が見られており、MICの絶対値は低い、既に今川らが指摘した様に<sup>6)</sup>、あるいは耐性株とみなすべきかも知れぬと言う印象を受ける菌株も存在し、Break pointをどこにおくかは今後の検討課題であると考えられた。

以上の成績からGPFXは感染性腸炎起因菌に対して、強い抗菌力を有しており、臨床的には効果の期待される薬剤であることが示唆された。しかし、*Campylobacter* spp. に対するニューキノロン系抗菌薬の使用は、容易に耐性を獲得することが既に報告されており<sup>6)</sup>、臨床使用に当っては慎重であらねばならない。

以上の成績を総合して判断するとGPFXは胆汁中排泄型<sup>23)</sup>の薬剤であり、かつ血中半減期が長く1日1回投与で十分な臨床効果が得られており<sup>7)</sup>、感染性腸炎の優れた治療薬として期待される薬剤であると言えよう。

なお、本研究はOPC-17116研究会、感染性腸炎研究班一世話人、川崎市立川崎病院入交昭一郎副院長一として行なわれた。研究班の組織は別に報告される臨床成績の論文に示す通りである<sup>7)</sup>。

#### 文 献

- 1) Wakebe H and Mituhashi S: Comparative *in vitro* activities of a new quinolone, OPC-17116, possessing potent activity against Gram-positive bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 36: 2185 ~ 2191, 1992
- 2) Uematsu T, Nagashima S, Takiguchi Y and Nakashima M: OPC-17116, a New Quinolone: Phase I Study. 31st ICAAC (Chicago-Illinois), No. 1481, 1991
- 3) Akiyama H, Koike M, Nii S, Ooguro K and Odomi M: OPC-17116, an excellently tissue-penetrative new quinolone: Pharmacokinetic profiles in animals and antibacterial activities of metabolites. 31st ICAAC, no. 1477, Chicago, October, 1991
- 4) 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
- 5) 今川八東, 福山正文, 川上久美子, 須田織江：Fleroxacin (FLRX) の感染性腸炎起因菌臨床分離株に対する抗菌力。 *感染症学雑誌* 68: 1409~1416, 1994
- 6) Rautelin H, Renkonen O V and Kosunen T: Emergency of fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* subjects from Finland. *Antimicrob Agents Chemother* 35: 2065~2069, 1991
- 7) 入交昭一郎, 他(19施設および関連施設)：感染性腸炎に対するgrepafloxacinの臨床的研究および感染性腸炎患者における糞便中薬剤濃度と腸内細菌叢の検討。 *日化療会誌* 43 (S-1): 319~332, 1995

## *In vitro* antimicrobial activity of grepafloxacin and other new quinolones against clinical isolates of enteritis-causing bacteria

Masafumi Fukuyama, Kumiko Kawakami and Yatsuka Imagawa

Department of Environmental Microbiology, College of Environmental Health, Azabu University

1-17-71 Fuchinobe, Sagamihara, 229, Japan

We determined the minimum inhibitory concentration (MIC) of grepafloxacin (GPFX), a newly developed quinolone-derivative antibacterial agent, against clinical isolates of various bacterial species from enteritis patients, and compared them with those of norfloxacin (NFLX), ofloxacin (OFLX), enoxacin (ENX), ciprofloxacin (CPFX) and nalidixic acid (NA). The MIC<sub>90</sub> of GPFX against 37 strains of *Shigella* spp., 23 strains of *Salmonella* spp., 15 strains of *Campylobacter* spp., 11 strains of *Vibrio* spp., and 9 strains of *Escherichia coli* were 0.1, 0.2, 0.39, 0.78 and 0.1 μg/ml, respectively. The MIC ranges against total clinical isolates (100 strains) were GPFX, ≤0.006 to 1.56 μg/ml; NFLX, 0.025 to 3.13 μg/ml; OFLX, 0.0125 to 3.13 μg/ml; ENX, 0.025 to 6.25 μg/ml; CPFX, ≤0.006 to 1.56 μg/ml and NA, 0.2 to 50 μg/ml. Among the six quinolones, GPFX was 1/2 as active as CPFX, followed by OFLX and NFLX, ENX and NA. GPFX is a newly developed quinolone-derivative antibacterial agent that should prove promising for the treatment of infectious enteritis.